T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

Tez Yöneticisi
Yrd. Doç. Dr. Ufuk USTA

LPA1 VE LPA2 RESEPTÖR EKSPRESYONUNUN ENDOMETRİOİD KARSİNOMLAR VE ENDOMETRİYAL HİPERPLAZİLERDE PROLİFERATİF VE PROGNOSTİK FAKTÖRLERLE KARŞILAŞTIRILMASI

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Ayşegül KAYNAR

EDİRNE-2008

TEŞEKKÜR

Eğitimimde ve tezimin hazırlanmasında destek ve yardımlarını eksik etmeyen hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Ufuk Usta'ya, ayrıca eğitimim sırasında büyük desteklerini gördüğüm Prof. Dr. A. Kemal Kutlu, Prof. Dr. Filiz Özyılmaz, Doç. Dr. Şemsi Altaner, Yrd. Doç. Dr. Ömer Yalçın ve Yrd. Doç. Dr. Fulya Öz Puyan'a, tezimin istatistiksel değerlendirmesinde yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Ufuk Berberoğlu'na, Sayın Doç. Dr. Hakan Karagöl'e ayrıca immünohistokimyasal boyamalarda yardımcı olan Yük. Biolog Muzaffer Tudan'a ve diğer tüm bölüm çalışanlarına ayrı ayrı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

GİRİŞ VE AMAÇ 1

GENEL BİLGİLER 3

EMBRİYOLOJİ 3

ANATOMİ 4

NORMAL ENDOMETRİYUM MORFOLOJİSİ VE FİZYOLOJİSİ ... 5

ENDOMETRİYAL KARSİNOMUN PREKÜRSÖR LEZYONLARI ... 7

ENDOMETRİYAL KARSİNOM 11

GEREÇ VE YÖNTEMLER 23

BULGULAR 27

TARTIŞMA 46

SONUÇLAR 52

ÖZET 54

SUMMARY 56

KAYNAKLAR 58

EKLER

SİMGE VE KISALTMALAR

EK : Endometriyal Karsinom

EEK : Endometrioid Tip Endometriyal Karsinom

FIGO : International Federation of Gynecology and Obstetrics

HE : Hematoksilen Eozin

ISGP : International Society of Gynecological Pathologists

İEK : İntra Epitelyal Karsinom

NEEK : Non-endometrioid Endometriyal Karsinom

PBS : Phosphate Buffered Saline Solution

PCNA : Proliferating Cell Nuclear Antigen

TAH BSO : Total Abdominal Histerektomi Bilateral Salpingo-ooferektomi

WHO : World Health Organisation

GİRİŞ VE AMAÇ

Endometriyal karsinom (EK) kadın genital sisteminin en sık görülen malign tümörü olup, endometrioid ve nonendometrioid olmak üzere genel olarak ikiye ayrılır. En sık gözlenen endometriyal karsinom tipi endometrioid karsinomdur ve bu karsinom karşılanmamış östrojen fazlası ve hiperplazi ile ilişkilidir (1). Endometrioid karsinomun prognozunu belirleyen en önemli parametreler arasında yaş, klinik evre, tümör derecesi, miyometriyal invazyon derinliği ve serviks yayılımı bulunmaktadır (1-4).

Endometriyal hiperplazi geniş bir spektrum oluşturan heterojen özellikte anormal proliferasyonlar grubudur. Bir kısmının endometriyal karsinomun öncül lezyonları olduğu bilinmektedir (5,6). Atipi derecesi hiperplazide maligniteye dönüşümde en önemli parametre olarak kabul edilmektedir (1-3).

Malign değişime yol açan temel fizyopatolojik değişikliklerden başlıcalarının apopitozdan kaçınma, sınırsız çoğalma yeteneği, devam eden anjiogenez, invazyon ve metastaz yeteneği olduğu bilinmektedir. Bu sebeple metastaza sebep olan moleküler değişikliklerin ortaya konması etkili tedavilerin geliştirilmesi için gereklidir. Son zamanlarda invazyona sebep olan ve "fosfolipid büyüme faktörü" ya da "over tümörü aktive edici faktör" olarak da isimlendirilen lisofosfatidik asit (lysophosphatidic acid - LPA) ile ilgili çalışmalara ağırlık verilmektedir (7).

LPA hücreler üzerinde çok geniş etkileri olan temel gliserofosfolipidlerden birisidir. Bu etkilerden başlıcaları düz kas kontraksiyonu, hücre proliferasyonun düzenlenmesi, apopitozun engellenmesi, kemotaksis ve hücreler arası migrasyonun düzenlenmesidir. LPA tüm bu

etkilerini G protein bağımlı reseptörleri üzerinden gerçekleştirmektedir. Bu reseptörlerin başlıcaları LPA1, LPA2 ve LPA3'tür (8-11).

LPA ile ilgili başta over olmak üzere, kolon, mide ve meme tümörü üzerine yapılan çalışmalarda daha çok LPA reseptörlerinin dağılım paterni ve LPA'nın tümör progresyonu üzerindeki olası etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmalara göre LPA1 normal dokuda, LPA2 kanserli dokuda daha yüksek konsantrasyonda bulunmuştur. LPA3 ise hem kanserli dokuda hem de normal dokuda düşük bulunmuştur (11,12).

LPA ile ilgili en çok over tümörlerinde çalışma yapılmış olup, LPA over tümörlü hastaların serumunda ve asit sıvısında yüksek oranlarda tespit edilmiş ve sonuçta LPA için 'over tümörü aktive edici faktör' terimi kullanılmıştır. Over tümörlü hastalar üzerine yapılan bir diğer çalışmada ise LPA'nın selüler invaziviteyi arttırdığı bunu da hem IL-8'i arttırıp indirekt yol ile hem de matriks metalloproteinaz-2'yi (MMP-2) artırarak direkt olarak yaptığı bulunmuştur (13). Kolorektal tümörlerde LPA2 antikoru ile immünohistokimyasal olarak yapılan bir çalışmada normal kolon mukozasına göre kolorektal tümör dokusunda daha kuvvetli reaksiyon görülmüştür. LPA2 / LPA1 oranı tümör derinliği, lenf nodu metastazı ve histolojik derece ya da evresi ile korele bulunmuştur (14). Mide tümörlerinde ise LPA'nın difüz tipe göre intestinal tipte daha fazla salgılandığı ancak difüz tip gastrik kanserlerde özellikle LPA2 ekspresyonun kötü prognozla korele olduğu görülmüştür (15).

Xu Yan ve ark. (16)'nın 48 over kanseri, 36 over dışı diğer jinekolojik kanser (15'i endometriyal kanser, 6'sı serviks kanseri, 15'i primer peritoneal papiller seröz adenokarsinom), 17 benign jinekolojik hastalık, 11 meme kanseri ve 5 lösemi tanılı hastada yaptığı bir çalışmada, plazma LPA seviyeleri over kanserli hastaların %98'inde, diğer jinekolojik kanserli hastaların %95'inde yüksek seviyelerde bulunmuş, ancak meme kanserli ve lösemili hastalarda bu yükseklik tespit edilmemiştir. Bu çalışma ve benzer bazı çalışmaların sonucu olarak da LPA'nın over kanseri ve diğer jinekolojik kanserlerin potansiyel bir belirteci olabileceği öne sürülmüştür (13,16).

Bu çalışmada klinik prognozu bilinen 20 endometrioid tip karsinom ve 40 atipili-atipisiz endometriyal hiperplazili olguda immünohistokimyasal yöntemle LPA1 ve LPA2 antikorlarının ekpresyon paternini araştırıp, verileri Ki-67 ve MMP-2 antikorları ile, ayrıca histopatolojik ve klinik proliferatif ve prognostik faktörlerle karşılaştırmak amacındayız.

GENEL BİLGİLER

EMBRİYOLOJİ

Uterus ve fallop tüpleri kompleks gelişimsel hikayeye sahiptirler. Erkek ve dişi iç genitalyanın prekürsörleri birbirlerinin analoğudur (17).

Fetal yaşamın 6. haftasında ürogenital sinüs ve mezonefrik (wolf) kanallar iyi gelişmiştir. Bu haftada gelişmekte olan overlerin komşuluğundaki çölomik epitelin invajinasyonu ile her iki mülleryen (paramezonefrik) kanal gelişmeye başlar. Mülleryen kanallar mezonefrik kanallar ile ilişkilidir ve bu kanalların normal yapılanması ise mezonefrozun varlığına bağlıdır (17). Mülleryen kanal kaudal yönde ilerlerken orta hatta doğru da ilerler ve distal uçları birleşir. Çok kısa bir süre sonra medial bölümler kaybolur, iki lümen birleşir ve tek bir kavite haline gelirler (uterovajinal primordium). Daha sonra mülleryen kanal ve ürogenital sinüs birleşir. Bu evrede fetusta mülleryen ve mezonefrik duktuslar birlikte bulunur (17,18).

Farklılaşmamış iç genitalyanın dişi veya erkek yönünde farklılaşması fetusun over ya da testise sahip olmasına bağlıdır. Erkek fetusun testisinde bulunan leydig ve sertoli hücreleri testesteron ve nonsteroidal mülleryen inhibitör madde salgılar. Bu salgılar diferansiasyonu, mezonefrik kanallardan erkek genital sistemin oluşmasını ve mülleryen sistemin gerilemesini sağlar (17).

Sekresyon yapan bir testisin yokluğunda ise mezonefrik kanallar gerileyerek mülleryen sistem gelişmesine devam eder (17). Birleşmeyen mülleryen kanallar fallop tüplerini oluşturur. Birleşen bölümler ise uterus ve vajinanın üst 1/3'üne değişim gösterir (17). Vajinanın alt 1/3 kısmı ise ürogenital sinüsten köken alır (18). Mülleryen duktusun kaudal parçasının inkomplet füzyonu uterovajinal anormallikler ile sonuçlanır (17).

Fetal yaşamın ikinci yarısında uterin büyüme belirgin şekilde artar, 28. haftadan doğuma kadar olan yaklaşık 10 hafta içerisinde fetus uterusu iki kat büyüklüğe ulaşır. Erken çocukluk döneminde de serviks korpus parçasının gelişimi devam eder (17).

ANATOMİ

Uterus rektumun önünde ve mesanenin arkasında yer alır. Ön ve arka yüzü yanlarda broad ligamentin ön ve arka yaprakları olarak devam eden pelvik peritonun uzantısıyla kaplıdır. Arka periton yaprağı Douglas poşunun uterin duvarını oluşturur ve ön peritoneal yaprağa göre uterus istmusunun daha uzun bir segmentini örter. Broad ligament ana uterus damarlarını, efferent bağlantısının posterolateral ve alt kısmında bulunan utero-overyan ligament ile ipsilateral uterin kornuya tutunur (17).

Overlerin her birisi utero-overyan ligament ile ipsilateral uterin kornuya bağlıdırlar. Fallop tüpleri de bu posterolateral ve inferiör uterin bağlantılar civarında lokalizedir. Round ligament fallop tüplerinin anterolateral ve inferior kısmında bağlıdır. Uterusun anteriör yüzünde periton azdır, posterior yüz peritondan daha zengindir ve utero-overyan ligament posterior kornu yönünde uterusa bağlanır. Bunun yanında uterusun çevreye tutunmasını sağlayan çok sayıda bağ doku ligamentleri vardır, bunlar kardinal, uterosakral ve pubosakral ligamentlerdir (17).

Erişkin nullipar uterusu 40-80 gram ağırlıkta, uzun eksen boyunca 7-8 cm, iki broad ligament arası 5 cm (kornu-kornu arası), ön-arka ekseni 2,5 cm olan armut şeklinde muskuler bir organdır. Bu ölçümler yaş, menstrüel siklus ve pariteye göre değişkenlik göstermektedir. Genel olarak genç yaş ve yüksek parite ile uterin kavite boyutu korelasyon göstermektedir (17). Prepubertal evrede endometriyal mukoza inaktif durumdadır ve serviks uterusun predominant kısmını oluşturur (1,17). Yetişkin uterusu geniş bir gövde ve daha küçük serviksten oluşur. Gövdenin iki fallop tüpü arasında çizilen hayali çizgi üstünde kalan kısmına fundus denir. Fundusun her iki yanında fallop tüplerinin intramural bölümüyle ilişkili parçasına kornu, uterin korpus ile endoserviks arasındaki şerit şeklindeki bölüme istmus (ya da alt uterin segment) denir. İstmus ile fundus arasındaki kısma ise korpus adı verilir. Uterin kavite üçgen şeklindedir ve uzunluğu yaklaşık 6 cm'dir (2,17). Bu uzunluk pariteye göre kişiden kişiye farklılık gösterir (17). Serviks kabaca silindirik şekilde olup uzunluğu 3-4 cm'dir. Ortasından endoservikal kanal geçer. Bu kanalın dış açıklığı (ya da eksternal os) ektoservikse açılır, internal os ise endometriyal kaviteyi endoserviksten ayırır. Uterusun lateralinde bulunan bağ doku eklerine parametriyum denir.

Parametriyum damar, sinir, lenfatik ve lenf düğümlerini içerir (17). Uterus lenfatikleri oldukça bol lenf nodu ağına akar. Bu lenf nodlarından başlıcaları; parametriyal, paraservikal, internal (hipogastrik), eksternal ve kommon iliak, periaortik ve inguinal lenf nodlarıdır (2).

Uterin kavitenin içini endometriyal mukoza döşer. Bu endometriyal kavite çevresinde kalın muskuler tabaka (ya da miyometriyum) ve serozal örtü bulunur (2). Normal miyometriyum dışta longitudinal içte ise internal os ve tubal ostiuma kadar uzanan sirküler submukozal düz kas tabakasından oluşur. Bu iki kas tabakası arasında rastgele demetlerden oluşan damardan zengin orta kas tabakası bulunur (17).

Endometriyal mukoza gland ve stromadan oluşmaktadır. Derinde bazal tabaka ve yüzeyde fonksiyonel tabaka olmak üzere iki tabakaya ayrılmaktadır (2). Bazal tabaka diğer epitellerin rezerv hücre tabakasına benzer ve menstruasyon sonrası endometriyumun rejenerasyonundan sorumludur. Bazal tabakayı zayıf proliferatif glandlar ve iğsi stroma oluşturur (2,17). Fonksiyonel tabaka yüzeyde kompakt ve derinde spongioz bölüm olmak üzere ikiye ayrılır. Stroma başlıca endometriyal stromal hücreler ve damarlardan oluşur. Granülositler ve lipid içeren stromal köpüksü hücreler diğer kompenentlerdir (2).

Uterusun ana arterleri iki yanda hipogastrik (internal iliak) arterlerin dalları olan sağ ve sol uterin arterlerdir. Bu arterler yanlarda istmus seviyesinde inen ve çıkan dallara ayrılırlar. Çıkan dal overyan arter, inen dal ise vajinal arter ile anastomoz yapar. İnen ve çıkan uterin arterler subserozada çepeçevre kompleks bir ağ oluşturan arkuat arterler ile devam ederler. Bunlar da miyometriyuma penetre olarak radial arterlere dönüşürler. Radial arterler miyometriyumun iç 1/3'ünde düz ve spiral arter olarak devam ederler. Venöz drenaj arteryal kaynağın paralelinde seyreder (17).

Hem korpus hem de servikste lenfatik ağ bulunur. Endometriyumda bu damarlar fonksiyonel tabakanın bezleri ile yakın ilişki içindedir (17).

NORMAL ENDOMETRİYUM MORFOLOJİSİ VE FİZYOLOJİSİ

Normal siklik değişiklikler gösteren endometriyum proliferatif ve sekretuar olmak üzere iki devreye sahiptir. Adetin birinci günü siklusun ilk günüdür ve 14. günde ovulasyon olması ile sekresyon dönemi başlar (1,3).

Proliferatif endometriyum, glandlarda, stromal hücrelerde ve vasküler endotelyal hücrelerde proliferasyon ile karekterizedir. Bu da uterin mukoza hacminde artışı sağlamaktadır. Bu dönemde DNA sentezi ve mitoz artar. Sonuç olarak erken proliferatif fazda glandlar düzdür, orta ve geç proliferatif fazda ise ilerleyici artan bir hacme ve bezlerde kıvrılmaya dönüşüm görülür (1).

Erken proliferatif dönemde endometriyum ince (yaklaşık 1-2 mm), bez stroma oranı 1/1'den küçüktür. Bezler düz, küçük lümenli, dar tübüler şekillidir. Stroma granülasyon dokusunu andırır şekilde bazofilik matriks içinde fibroblast benzeri iğsi hücrelerden oluşur. Arteriol ve venüller belirsiz, lenfositler az sayıdadır (19).

Midproliferatif dönemde endometriyum yaklaşık 3 mm'ye ulaşmıştır. Bez/stroma oranı 1/1'den hafifçe küçüktür. Stroma içinde rastgele dağılmış bezler düz, hafifçe yuvarlaklaşmış, dar, dallanmayan tübüller halindedir. Stroma eozinofilik ve hafif granülerdir. Damarlar henüz belirgin değildir. Stromada tek tek ve ya küçük agregatlar halinde lenfositler izlenebilir (19).

Geç proliferatif dönemde endometriyum yaklaşık 4 mm kalınlığa, bez/stroma oranı ise 1/1'e ulaşır. Bezler düz ve hafif kıvrımlıdır. Psödostratifiye – yüksek kolumnar, küçük nükleollü hücreler ile döşeli epitel seçilmektedir. Apikal mitoz sıktır, stroma selülerdir. Stromal mitoz midproliferatif dönemden daha azdır. Damarlar belirgin değildir. Lenfoid hücreler artmıştır. Bu dönemde yüzey ve bez epitel hücrelerinde özellikle bezlerin ağız kısımlarında pek çok silia izlenir (1).

Sekretuar dönem: Ovulasyondan sonra östrodiol ve progesteron etkisi altındaki endometriyum hızlı bir şekilde sekretuar farklılaşmaya uğrar. Daha önce östrodiol etkisi ile proliferasyon göstermiş olan endometriyum ovulasyondan sonra progesteron etkisi ile hızla sekretuar diferansiasyon göstermeye başlar. Siklusun 14. ve 15. günlerindeki değişiklikler kayda değer değildir. On altıncı günde fonksiyonel tabaka gland hücrelerinin bazalinde küçük silindirik vakuoller belirmeye başlar (sub-nükleer vakuolizasyon). Bu vakuoller anovulatuar sikluslarda östradiol etkisi ile de oluşabilir (1,17). Gland hücreleri uzun ve nükleusları psödostratifiyedir. On yedinci günde olan değişiklikler ovulasyonun olduğunu ilk gösteren delillerdir. Bunlar iyi gelişmiş subnükleer vakuoller ve gland nükleusundaki palizadik dizilimdir (1).

On sekizinci günde oluşan supranükleer vakuoller 19-20. günde apokrin tipte sekresyon ile glandüler lümene geçmeye başlarlar (1,3). Postovulatuar progesteronun artışı ile mitoz engellenir (1). Yirminci günden itibaren stromal değişiklikler ön plana geçer, sırasıyla ödem (20-23. gün), spiral arteriollerin belirginleşmesi (22-25. gün) ve stromada perdesidualizasyon (23-28. gün) gözlenir (1,3,17). Desidualize hücreler sıklıkla hem progesteron, hem de Ki-67 ile kuvvetli reaksiyon verirler. Yirmi altı ve 27. günlerde stroma ekstravaze nötrofil lökositler ve granülositlerce infiltre edilir (1).

Yirmi sekizinci günde başlayan normal menstrual dönem 4 gün sürer (1,3,17). Menstrual kanama bazal tabakadaki bazal arterler ve miyometriyumdaki radial ve arkuat arterlerdeki vazokonstrüksiyon ile kontrol altında tutulur (1). Endometriyumun hızla

dejenerasyonu sırasında önce stromal kanama ve artmış lökosit infiltrasyonu izlenir. Daha sonra fonksiyonel tabaka büzülür ve küçülür. Damar içlerinde ve stromada fibrin trombüsleri görülür. Stroma ayrıştığından bezler rastgele ancak birbirine yakın dağılmıştır. Bu dejenerasyon atipisi malignite ile karıştırılmamalıdır (17).

ENDOMETRİYAL KARSİNOMUN PREKÜRSÖR LEZYONLARI

Endometriyal karsinogenezin iki yolu için iki tip prekürsör lezyon tarif edilmiştir. Endometrioid tipte endometriyal karsinom için prekürsör lezyon atipik hiperplazidir (1,2,17,20). Endometriyal intraepitelyal karsinom ise nonendometrioid endometriyal karsinomların ve bunların sık görülen prototipi olan seröz karsinomun prekürsörüdür (1,20,21).

Endometriyal Hiperplazi

Endometriyal hiperplazi değişik büyüklük ve görünüşteki endometriyal glandların fizyolojik olmayan, invazyon göstermeyen proliferasyonu olarak tanımlanabilir. Proliferatif endometriyumla karşılaştırıldığında gland/stroma oranında artış vardır. Tanı anormal proliferasyon, glandüler yapılardaki değişiklikler ve azalmış stroma ile saptanır. Bu değişik patern üzerinde sitolojik atipi olabilir ya da olmayabilir (5,22).

Endometriyal hiperplazi genellikle perimenapozal dönemde gelişir ve anovulasyon ile ilişkilidir. Tipik olarak hastalarda anormal kanama bulunur. Anovulatuar siklusu olan genç yetişkinlerde, hatta adolesan çağda tanımlanmıştır. Literatürdeki en genç hasta 16 yaşındadır (1,5). Birçoğu endojen ve eksojen kaynaklı yükselmiş veya uzamış östrojenik stimülasyona verilen proliferatif bir cevap olarak ortaya çıkmaktadır (3,6,20,23). Sonuçta hiperplazili hastaların birçoğu ya dirençli anovulatuar siklusa veya eksojen, karşılanmamış östrojen kullanım öyküsüne sahiptir (1,6,23).

Endometriyal hiperplazi geniş bir spektrum oluşturan heterojen özellikte anormal proliferasyonlar grubudur. Bir kısmının endometriyal karsinomun öncül lezyonları olduğu bilinmektedir (5,6). Hiperplazi sınıflamalarının tarihi incelendiğinde Camphell ve Barter (1961), Beutler (1963), Gusberg ve Kaplan (1966), Vellios (1972)'un sunduğu değişik sınıflama ve tanımlamalar dikkati çekmektedir. Bunlardan Vellios'un sınıflaması uzun yıllar boyunca kullanılmıştır. Buna göre hiperplaziler kistik, adenamatöz ve atipik hiperplazi olarak sınıflandırılmıştır. Ancak bu sınıflama her zaman objektif olmamıştır. Hendrikson ve Kempson 1980'de hiperplazileri atipisiz ve atipili olmak üzere iki gruba ayırmış, atipili grubu

da hafif, orta ve şiddetli olmak üzere subgruplandırmıştır. Ancak bu sınıflama da tanı karışıklıklarını önleyememiştir (1,24).

Günümüzde 1985'te Kurman ve Norris tarafından sunulan Dünya Sağlık Örgütü 'World Health Organisation' (WHO) ve Uluslararası Jinekopatologlar Birliği 'International Society of Gynecological Pathologists' (ISGP) tarafından kabul gören hiperplazi sınıflaması kullanılmaktadır (25).

Buna göre hiperplaziler yapısal değişikliklerine göre basit ve kompleks hiperplazi olarak ayrıldıkları gibi, sitolojik ve nükleer atipiye göre atipisiz ve atipili olmak üzere sınıflandırılmaktadır. Böylece her iki tip hiperplazi kabaca atipik ve nonatipik, ayrıca glandüler kalabalıklaşma ve kompleksiteye dayanılarak basit ve kompleks hiperplazi olarak sınıflandırılırlar (25). Ancak basit atipili hiperplazinin nadir görülmesi sebebiyle ISGP hiperplazilerin üç grupta incelenmesini önermiş, atipili hiperplazi grubunu alt sınıfa ayırmadan 'atipik hiperplazi' terimi altında basit ve kompleks atipik hiperplaziyi birleştirmiştir (1,24,25).

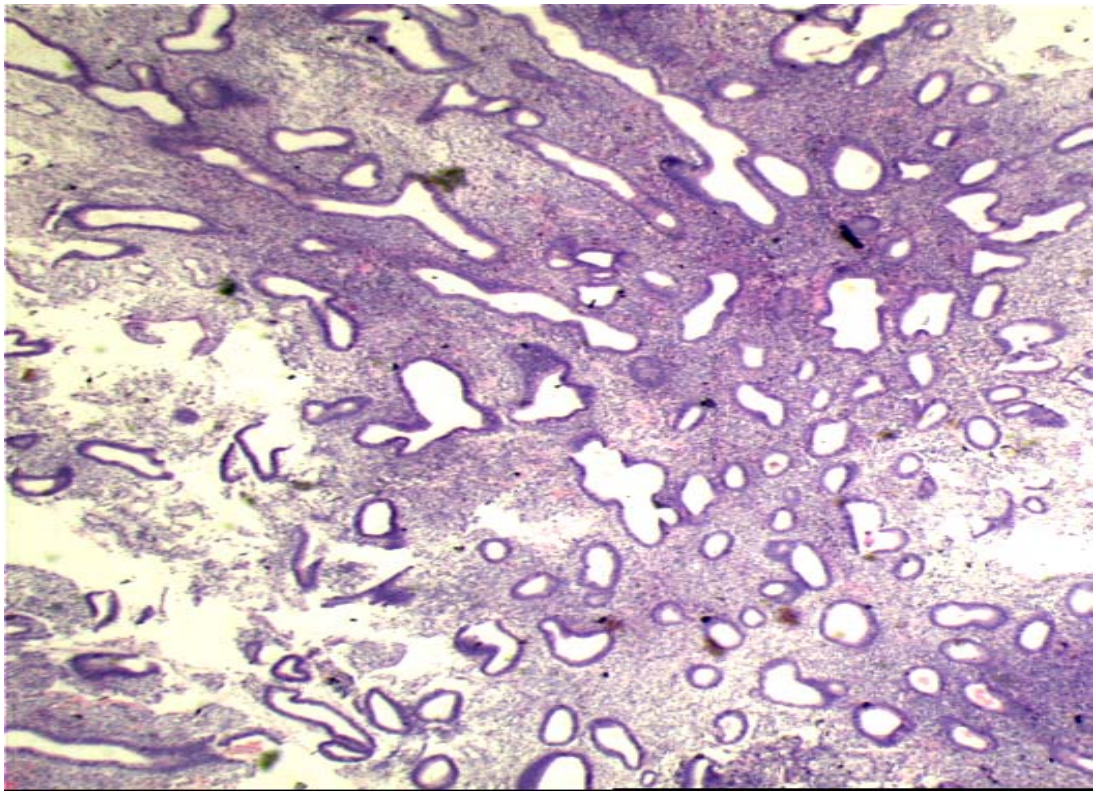
Sitolojik atipi içermeyen hiperplazilerin %2'den azı karsinoma ilerlerken sitolojik atipisi olanların %23'ünde karsinoma ilerleme görülür (1,26). Glandüler kompleksitenin de bir miktar etkisi olmasına karşılık, bu etki sitolojik atipi kadar değildir. Atipisiz hiperplazi için karsinoma ilerleme ortalama 10 yıl gerektirirken, atipik hiperplaziden klinik olarak belirgin karsinoma ilerleme 4-5 yıl gerektirmektedir. Küretajında atipik hiperplazi tanısı alan hastalara bir ay içerisinde histerektomi uygulandığında, bu hastaların %17-25'inde iyi differansiye karsinom görülmektedir (1).

Hiperplastik endometriyum makroskopik olarak ayırt edici özellikte değildir. Histerektomi materyallerinde hiperplazik mukoza genellikle kadifemsi, soluk, yumuşak spongioz doku görünümündedir. Diffüz kalınlaşma tipiktir, fakat fokal kabalaşma veya polipoid gelişimi taklit edebilir. Dilatasyon ve küretajda elde edilen doku hacmi genellikle artmıştır, ancak çok değişken de olabilir. Normal siklusun sekretuar fazı boyunca elde edilen materyalden daha az olabilir.

Genel olarak hiperplazilerde gland/stroma oranı bozulmuştur. Farklı yapısal şekillerde, sayıca artmış glandüler yapılar izlenir. Yapısal anormalliğin artan derecesi ile glandlar kompleksleşir, glandüler proliferasyonlara, tomurcuklanma ve dallanmalara neden olurlar. Artmış proliferasyon ile glandlar kalabalıklaşıp stromayı sıkıştırır, azaltır (1,24,25).

Basit hiperplazilerde glandlar kistik dilate olup, epitel sıklıkla dışarıya doğru çıkıntılar yapacak şekilde genişleme gösterir ve bunlar bol, selüler stroma ile çevrilidir (1,2,17)

(Şekil1). Glandları döşeyen hücreler amfofilik sitoplazmalı psödostratifiye ya da kolumnardır, mitoz sayısı değişkendir (1).



Şekil 1. Basit tipte atipisiz endometriyal hiperplazi (HE x 40)

Kompleks hiperplazi az miktardaki stroma içerisinde kalabalıklaşma gösteren glandlardan oluşur. Sırt sırta vermiş glandlar ve papiller intraluminal tomurcuklanmalar ile karekterizedir. Epitelyal stratifikasyon ve mitotik aktivite genellikle kompleks yapıya paraleldir, fakat bazen düzensizlik de olabilir. Mitotik aktivite genellikle 10 büyük büyütme alanında 5'ten azdır (1).

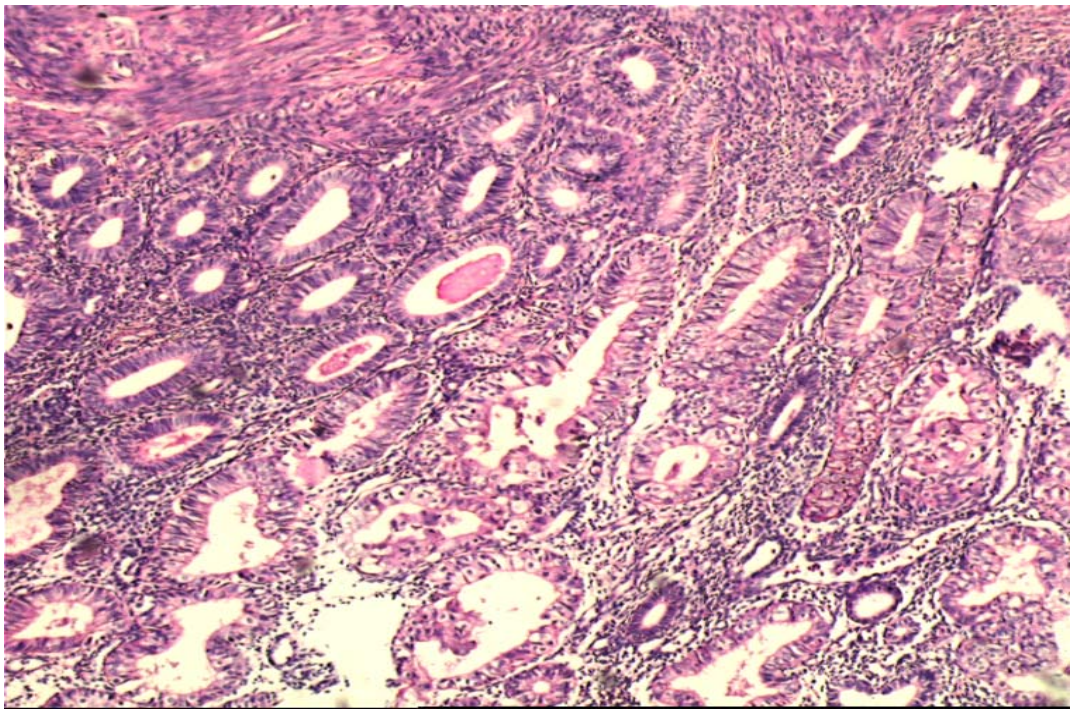
Atipili basit hiperplazilerdeki glandlar atipisiz basit hiperplazilerde görülenlere benzerler. Glandlar geniş stroma ile ayrılırlar. Kompleks hiperplazide görülen sırt sırta verme yoktur. Sadece hücrelerde sitolojik ve nükleer atipi mevcuttur (1).

Atipili kompleks hiperplazide ise glandların şekil ve boyutları birbirinden çok farklıdır. Glandların çevresinde ince bazal membran görülür. Stromaya ve lümene doğru uzanımlar, papiller yapılar ve köprüleşmeler izlenir. Glandlar düzensiz sınırlara sahiptir, belirgin yapısal kompleksite ile sırt sırta verme eğilimi gösterirler. Lümenlerinde ne köpük hücresi ne de akut inflamatuar eksuda bulunur (25).

Atipili hiperplaziyi değerlendirmede en önemli özellik nükleer atipinin değerlendirilmesidir. Epitelde hücresel sıralanma artmıştır, polarite kaybı vardır. Nükleositoplazmik oran artmıştır, nükleus büyük, yuvarlak, veziküle, bazen şeffaf, kromatin kaba granülerdir. Kromatin nükleer membrana yakın kondensasyon gösterir. Belirgin nükleol ile kalınlaşmış irregüler nükleer membran izlenir. Atipi bulguları glandların hepsinde olmayabileceği gibi bir glandın tamamında da olmayabilir (Şekil 2). Mitozun az veya çok olması atipiyi belirlemez, ancak atipik mitotik figür olması önemlidir (25).

Hiperplazide stroma hücreden zengindir. Proliferasyon fazındaki stromal hücrelere benzerler ve bazal membrana paralel seyrederler. Basit hiperplazideki stroma proliferatif endometriyumdan daha kompakttır. Hücreler iğsi görünümde, fakat şişkin, genişlemiş nükleusludur. Sitoplazma belirsizdir, mitoz değişkendir. Kompleks formda stromal hücreler glandüler proliferasyon tarafından baskıya uğramıştır (1).

Hiperplazilerin ayırıcı tanısında düzensiz proliferatif endometriyum, polipler, silyalı hücre değişikliği (tubal metaplazi), kistik atrofi ve endometriyal glandüler ve stromal yıkım göz önüne alınmalıdır (1). Bazı iyi diferansiye karsinomların atipik hiperplaziden ayırımı güç olabilir (1,20). Burada ayırıma öncelikle yardımcı olan stromal reaksiyon ve stromal invazyondur. Stromal invazyonu anlayabilmek için üç kriter vardır; 1) Dezmoplastik yanıt, 2) Yer yer kribriform yapı oluşturacak şekilde birleşik glandüler pattern oluşması, 3) Yaygın papiller pattern (1).



Şekil 2. Atipili endometriyal hiperplazi (HE x 100)

Endometriyal hiperplazide tedavi: Anormal uterin kanaması olan genç yaştaki kadınlara endometriyal biyopsi yapmaya gerek yoktur. Bu yaş grubunda basit veya kompleks hiperplazili bir olgu varsa, lezyonların karsinoma ilerleme riski ileri derecede düşük olduğundan (%1-2), hasta konservatif olarak tedavi edilebilir (1). Sitolojik atipi göstermeyen bir hiperplazi, karsinoma ilerlemeden önce atipili hiperplaziye ilerleyecektir. Bu nedenle takip yeterlidir (1). 40-55 yaşlar arasında görülen basit ve kompleks atipilerin çoğu anovulasyona bağlıdır ve kendisi ile sınırlıdır. Atipili hiperplazi tanısı alan bu yaş grubundaki hastalar projestin veya histerektomi ile tedavi edilebilirler (1).

Postmenapozal hastalarda küretajda atipisiz hiperplazi tanısı verildiğinde, bu genellikle karşılanmamış östrojene bağlı olduğundan konservatif tedavi ilk seçenektir. Ancak atipili hiperplazi tanısı almış bir olgu ise histerektomi ile tedavi edilmelidir (1).

Endometriyal İntraepitelyal Karsinom

Östrojen stimülasyonuna bağlı olmadan tipik olarak endometriyal atrofi zemininden gelişen nonendometrioid kasinomların prototipi seröz karsinomdur. Seröz karsinom sıklıkla prekürsör bir lezyon olan endometriyal intraepitelyal karsinom (EIC) ile ilişkilidir (1,3,20,21,27). Endometriyal intraepitelyal karsinom atrofik endometriyumun yüzeyini ve bezlerini döşeyen hücrelerin nükleuslarında belirgin atipi ile karekterizedir. Yüzeyde sıklıkla hafif papiller bir görünüm vardır ve bazı hücrelerde hiperkromatik nükleusla beraber kabara çivisi morfolojisi vardır. Genişlemiş olan nükleusların granüler veya veziküle kromatin yapısı vardır ve sıklıkla genişlemiş eozinofilik nükleollere sahiptirler. Atipik de dahil olmak üzere sayısız mitotik figür bulunur (1).

ENDOMETRİYAL KARSİNOM

Endometriyal karsinomlar (EK) kadın genital sisteminin en sık görülen malign tümörü olup, %80-85 olguda östrojen bağımlı iken, %10-15 olguda östrojen bağımlı değildir (4). Amerika'da tüm maligniteler içinde meme, kolon ve akciğer karsinomlarından sonra dördüncü sıklıkla görülmektedir. İnsidansı 21/100000'dir (1,19). İnsidans Kuzey Amerika ve Avrupa'da en yüksek iken, gelişmekte olan ülkelerde ve Japonya'da 4-5 kat daha düşüktür (1). Sağlık Bakanlığı Kanserle Savaş Daire Başkanlığı'nın 1999 yılında yayınlanan verilerine göre Türkiye'de EK oranı %3 ile kadın genital sistemi tümörleri içerisinde over ve serviks tümörlerinin ardından üçüncü sıklıkla görülmektedir. Ülkemizde 1998 yılında EK nedeniyle standart ölüm hızı 1.22 olarak hesaplanmıştır (28).

Endometriyal karsinomlar tip I ve tip II olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Tip I endometriyal karsinomlar kronik anovulasyon ya da östrojen replasman tedavisi öyküsüne sahip 40-60 yaşları arasındaki genç hasta grubunda görülür. Genellikle iyi diferansiye, miyometriyum invazyonu olmayan ve endometriyal hiperplazi ile ilişkili olan karsinomlardır (1,2,4). Bu grup tümörler östrojen ve progesteron reseptörleri pozitif, p53 negatif ve Ki-67 indeksi düşük olan tümörlerdir (2). Bu grubun prototipi endometrioid tip endometriyal karsinom (EEK) olup müsinöz ve sekretuar karsinomlar da bu gruba dahildir (1).

Tip II endometriyal karsinomlar ise hiperplazi ve östrojen fazlası ile ilişkisi olmayan saldırgan tümörlerdir (17,20,21,29,30). Bunlar endometriyal atrofi zemininden gelişirler (1,17,21). Hastalar daha çok postmenapozal dönemde olup, tip I tümörlere göre daha ileri yaştadır (1,3). Genellikle östrojen ve progesteron negatif, p53 pozitif tümörlerdir. Ki-67 proliferasyon indeksleri yüksektir (3). Tanı sırasında derin miyometriyal invazyon gösterme eğiliminde olan kötü prognozlu tümörlerdir (1,3,4). Seröz ve berrak hücreli adenokarsinomlar ile az diferansiye karsinomlar bu gruptadırlar (3).

Endometriyal karsinom gelişiminde pek çok risk faktörü belirlenmiştir. Bunlardan en önemlisi progesteron ile kombine edilmeden yapılan östrojen tedavisi ile gelişen hormonal stimülasyondur (1,19,29). İki yıldan fazla karşılanmamış östrojene maruz kalan kadınların endometrioid kanser riski 2-3 kat artmaktadır (1,2,31). Erken yaşta menarj, nulliparite, geç yaşta menapoz da risk faktörleri arasındadır (1,17,31,32). Batı Avrupa ülkelerinde obesite bağımsız bir risk faktörü olup endometrioid karsinomlar ile %40'ın üzerinde ilişkili bulunmuştur (4). Ayrıca diabetes mellitus, hipertansiyon ve yüksek hayvansal içerikli diyet de risk faktörlerindendir (1,19,29).

Son yıllarda meme kanserli hastalarda adjuvan tedavi amacıyla kullanılan tamoksifen de postmenapozal kadınlardaki zayıf östrojenik etkisi nedeniyle EK riskini 2-3 kat arttırmaktadır (29). Ayrıca hayatlarının bir döneminde en az bir yıl süreyle devamlı oral kontraseptif kullanan kadınlarda kullanmayanlara göre EK riskinin %50 azaldığı tespit edilmiştir. Bu koruyucu etki 15 yıl devam etmektedir (1).

Endometriyal Karsinomlarda 2003-Dünya Sağlık Örgütü Sınıflaması (4)

Endometrioid tip adenokarsinom

-Skuamöz diferansiasyon gösteren varyant

-Villoglanduler varyant

-Sekretuar varyant

-Silialı hücreli varyant

Müsinöz adenokarsinom

Seröz adenokarsinom

Berrak hücreli adenokarsinom

Mikst hücreli adenokarsinom

Skuamöz hücreli karsinom

Transisyonel hücreli karsinom

Küçük hücreli karsiom

Az diferansiye karsinom

Diğerleri

Endometrioid Tip Endometriyal Karsinom

Endometriyumun, normal endometriyumu taklit eden bez yapıları oluşturan primer adenokarsinomudur (4). Tüm EK'ların dörtte üçünü oluşturmaktadır (1,3,17,31). Tanım olarak bu tümörler %10'dan fazla skuamöz, seröz, müsinöz veya berrak hücre değişiklikleri göstermezler (1). Tanı sırasında %50 iyi, %35 orta, %15 ise kötü diferansiasyon gösterir (2).

Endometrioid karsinomlu olguların %80'i postmenapozaldir ve yaş ortalamaları 59'dur, sadece %1-8'i 40 yaşın altındadır (1,3,31). Genç hastalarda tümör genellikle düşük derecelidir ve minimal invazivdir (1).

Endometriyal karsinomun ilk belirtisi genellikle anormal vajinal kanamadır (1,31). Makroskopik olarak endometrioid karsinom derin invazyon gösterdiğinde bile genellikle uniform olarak ekzofitiktir. Alt uterin segmente uzanım sıktır, olguların yaklaşık %20'sinde servikal tutulum vardır (1).

''International Federation of Gynecology and Obstetrics'' (FIGO) evreleme sistemi ve WHO'nun uterus karsinomu histopatolojik sınıflamasının en son revizyonunda, tümör derecelendirmesinin hem yapısal patterne, hem de nükleer özelliklere veya her ikisine birden dayandırılması önerilmektedir (1). Yapısal derecelendirmede solid alanların tüm tümör içinde kapladığı alana bakılır ve % olarak ifade edilir. Buna göre %5'ten daha az alan kaplıyorsa derece 1 (Şekil 3), %6-50 arasında alanı solid yapılar oluşturuyorsa derece 2 (Şekil 4),

%50'den daha fazla solid alan varsa bunlar da derece 3 (Şekil 5) olarak derecelendirilir. Bu solid adaların benign solid adalar olan morüller veya skuamöz adalarla karıştırılmaması gerekir (1,3,30). Ayrıca yapısal dereceyle uyumsuz yüksek nükleer atipi varlığında histolojik derece bir derece yükselir (1,4,17). Bu nükleer atipinin aynı zamanda tip 2 EK'ları temsil edebileceği akılda tutulmalıdır. Tip 2 EK'larda nükleer derece daha ön plandadır (4).

Endometrioid karsinomlar metaplazi olarak da adlandırılan çeşitli tiplerde hücresel diferansiasyon da gösterebilirler. Diferansiye hücre tipleri sitolojik olarak sakin müsinöz, sekretuar veya tubal (silialı) hücre tiplerini içerirler. Bu tümörler genellikle düşük dereceli karsinomlarla ilişkilidir ve çok iyi pronoza sahiptirler (33).

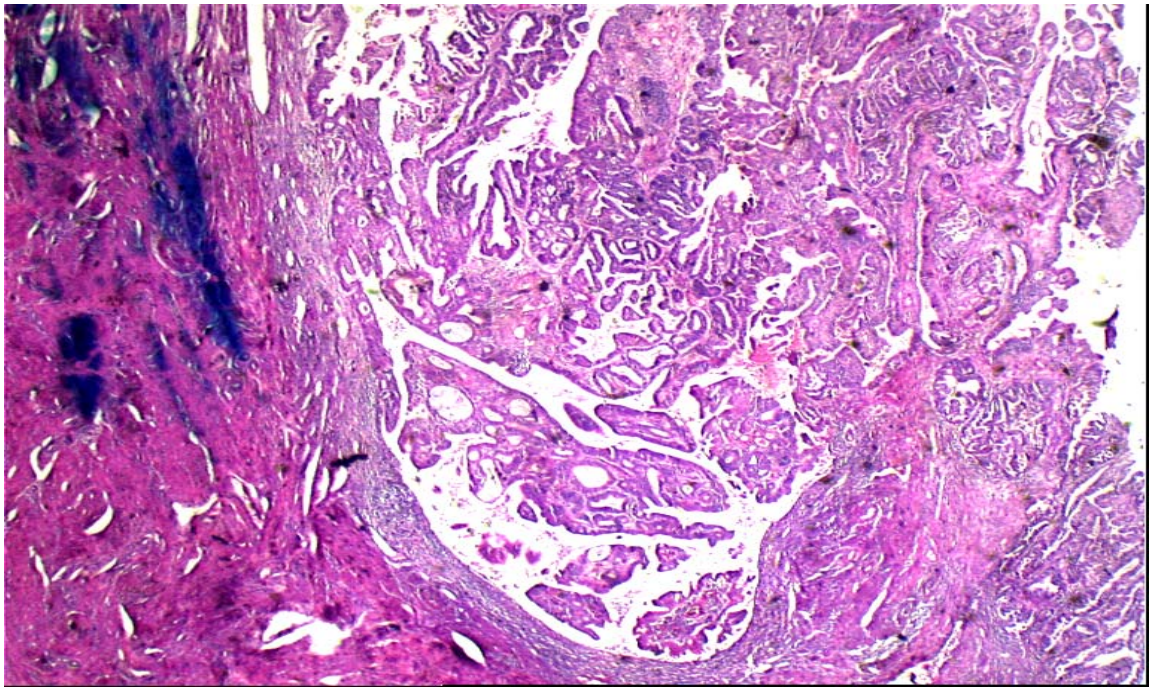
Seröz karsinom ve berrak hücreli karsinom gibi klinik olarak agresif olan özel alt tiplerin derecelendirimesine gerek yoktur, çünkü bunlar doğal olarak yüksek dereceli tümörlerdir (1,3). Derecelendirmeye ihtiyaç göstermeyen bir başka tümör endometrioid karsinom alt tipi olan klinik olarak düşük dereceli kabul edilen ve tanımsal olarak da derece 1 olan sekretuar karsinomdur (3). Bu karsinom EEK'ların %1-2'sini oluşturur. Tümörü oluşturan bezleri döşeyen epitelde sekretuar endometriyuma benzer şekilde subnükleer veya supranükleer glikojen vakuolleri görülür (1). Tıpkı diğer varyantlar gibi EEK'ın bir kompenenti olarak ya da baskın kompenent olarak izlenebilir (4). Bu tümörün kötü prognozlu berrak hücreli karsinomdan ayrılması önemlidir. Ayrıca sekretuar etki içeren atipik hiperplazilerden ayrılmaları güçlük arzedebilir (1).

Endometrioid karsinomda nükleer ve yapısal derece arasında belirgin fark olması olağan değildir ve tümörün seröz papiller karsinom olma olasılığını akla getirmelidir. Nükleer derecenin değerlendirilmesinde nükleus şekil ve ölçüsü, kromatin dağılımı, nükleolün boyutu önemli role sahiptir (28,34).

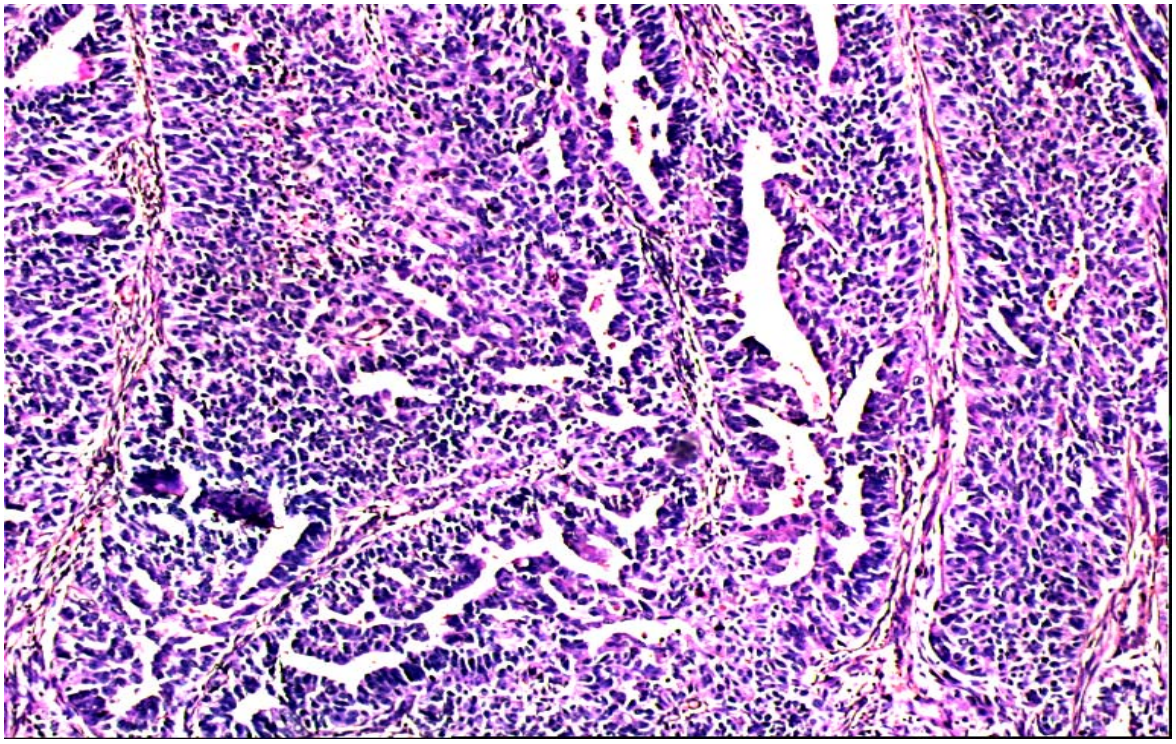
Skuamöz diferansiasyon EEK'ların %20-50'sinde çeşitli miktarlarda görülebilir (4). Skuamöz varyant tanısının konabilmesi için skuamöz kompenentin tümörün en az %10'unu oluşturması gerekir (1). Aslında skumöz diferansiasyonun klinik ya da prognostik önemi olmamakla birlikte tanınması solid büyüme paterninden ayrılması için önemlidir (4).

Villoglandüler varyant ikinci sıklıkla görülen EEK varyantıdır (4). Genellikle EEK'ların fokal bir kompenenti olmakla birlikte tümörün çoğunluğunu oluşturduğunda varyant olarak tanımlanır (3,4). İnce fibrovasküler kor çevresinde dizilmiş genel olarak düşük derecede sitolojik atipi gösteren epitelyal hücrelerin oluşturduğu papiller yapılardan oluşur (1,3). Davranışları düşük dereceli EEK ile benzerdir. Bu varyantın daha agresif seyir gösteren uterusun seröz papiller adenokarsinomlarından ayrılması önemlidir (1,3,4).

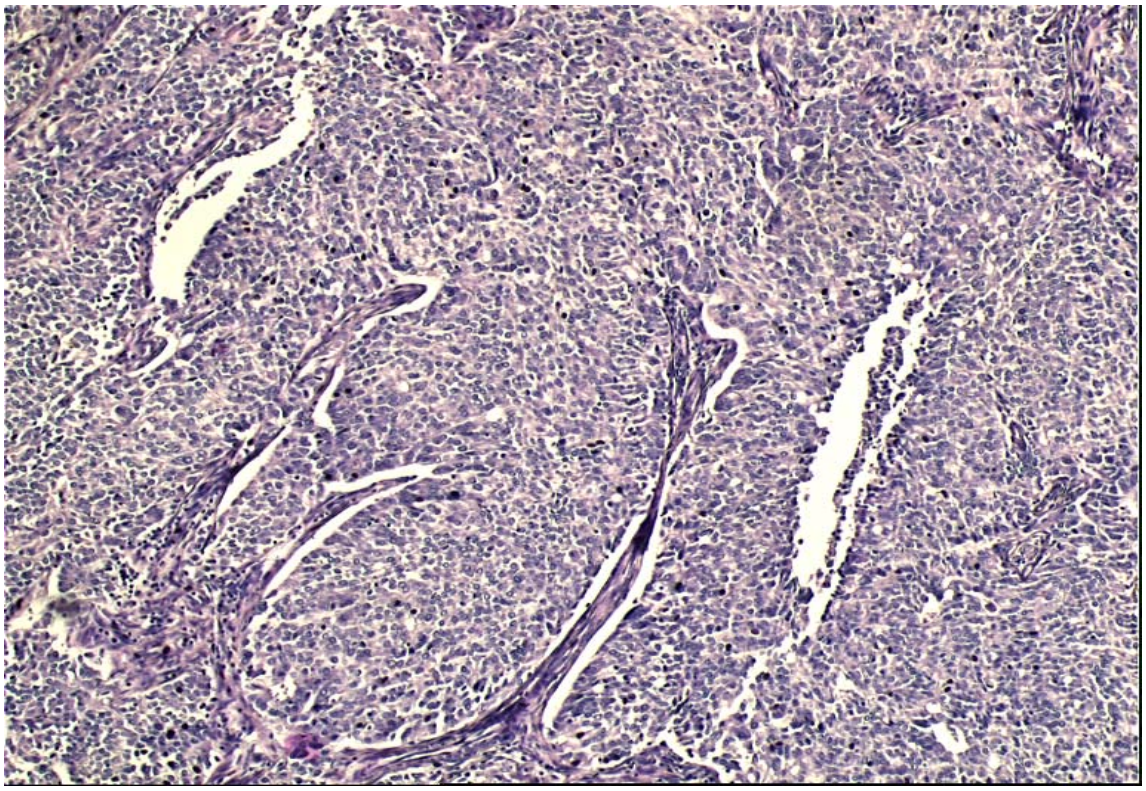
EEK'larda silialı hücreler görülebilmesine rağmen silialı hücreli varyantta malign bezlerin çoğu ya da tamamı tubal epitele benzer silialı hücreler ile döşelidir (3,4). Her zaman iyi diferansiye olup kribriform patern gösterir (1). Bu varyant özellikle silialı hücre metaplazisi gösteren benign proliferasyonlar ile karıştırılmamalıdır (1,2).



Şekil 3. Derece 1 endometrioid karsinom (HE x 40)



Şekil 4. Derece 2 endometrioid karsinom (HE x 100)



Şekil 5. Derece 3 endometrioid karsinom (HE x 100)

Endometriyal Tümörlerde FIGO Evrelemesi, 1988 (4)

Evre I	Tümör uterus korpusuna sınırlı
IA	Tümör endometriyumda sınırlı
IB	Miyometriyumun ½'sinden az invazyon
IC	Miyometriyumun ½'sine eşit ya da daha fazla invazyon
Evre II	Uterus serviks tutulumu
IIA	Sadece endoservikal glandüler tutulum
IIB	Servikal stromal invazyon
Evre III	Pelvik yayılım
IIIA	Serozal ve/veya adneksial tutulum ve/veya pozitif peritoneal sitoloji
IIIB	Vajinal tutulum (direkt ya da metastaz yoluyla)
IIIC	Pelvik ve/veya paraaortik lenf nodlarına metastaz
Evre IV	Pelvis dışına yayılım
IVA	Kolon mukozası ve/veya mesaneye tümör uzanımı
IVB	İntraabdominal ve/veya inguinal lenf nodlarını içeren uzak metastazlar (vajina, pelvik seroza veya adneksler hariç)

Endometriyal Karsinomda Prognostik Faktörler

Endometriyal karsinomda risk faktörleri uterin ve ekstauterin faktörler olmak üzere ikiye ayrılabilir:

a- Uterin faktörler; 1- histolojik tip, 2- derece, 3- miyometriyal invazyonun derinliği, 5- servikal tutulum, 6- vasküler invazyon, atipik endometriyal hiperplazinin varlığı, 7- hormon reseptör durumu, 8- DNA ploidisi.

b- Ekstrauterin faktörler**;** 1- adneksial tutulum, 2- intraperitoneal metastaz, 3- pozitif peritoneal sitoloji, 4- pelvik ve paraaortik lenf nodu metastazı (1).

Ekstrauterin hastalık bulgusu, servikal tutulum veya vasküler invazyon bulunan kadınlar yüksek risk grubunu oluştururlar. Hastalığın tekrarlama oranı eğer bu faktörlerden bir tanesi varsa %20, iki tanesi varsa %43, her üçü de varsa %63'tür. Klinik faktörler arasında yaş, ırk, sosyoekonomik durum endometriyal kanserde prognostik faktörler arasındadır. En önemli prognostik faktör yaştır. Bunu FIGO evresi, tümör derecesi, ırk ve sosyoekonomik durum takip eder (1).

Non-endometrioid karsinomlar tanım olarak yüksek dereceli kabul edildiklerinden derecelendirilmelerine gerek olmasa da EEK'ların derecelendirilmesi prognoz açısından önemlidir (35). Ancak histolojik derece yaş, evre, miyometriyal invazyon derinliği gibi diğer prognostik faktörlerle korelasyon gösterdiğinden bağımsız bir belirleyici değildir (35).

Tümör derecesinden bağımsız olarak miyometriyal invazyon prognozun önemli bir belirleyicisidir (1,3). Gerçekte evre 1 ve evre 2 hastalıklarda miyometriyal invazyon prognozun tek ve en önemli belirleyicisidir (1). Miyometriyal invazyona %25 olguda ileri tanı verildiği tespit edilmiştir. Bunun önlenmesinin en iyi yolu endomiyometriyal bileşkenin düz bir çizgi olmayıp endometriyumun yer yer miyometriyuma giren dalgalı bir çizgi olduğunun hatırlanmasıdır (2,35). Adenomiyozis zemininde gelişen EK'lar da gerçek invazyondan ayrılmalıdır. Çünkü adenomiyozis odağında %25 olguda tümör gelişmekte olup bu kötü prognoz göstergesi değildir (35). Lenf bezi diseksiyonuna karar verilebilmesi için öncelikle miyometriyal invazyon derinliği olmak üzere, tümör tipi ve histolojik derece intraoperatif olarak değerlendirilmelidir (35).

Atipik endometriyal hiperplazi, silialı veya eozinofilik metaplazi ile birlikte olan EEK'lar daha iyi prognozludurlar (2,35). Servikal tutulum hastalığın tekrarlama riski ile ilişkilidir (1). Ekstrauterin hastalık yokluğunda servikal tutulum tekrarlama riskini %16 arttırır. Ekstrauterin risk faktörleri arasında pozitif aortik lenf nodları en önemli prognoz belirleyicisidir (1). Aortik lenf bezleri pozitif olanlarda 5 yıllık sağ kalım %36 iken, negatif olanlarda bu oran %85'e çıkar (1).

Endometrioid karsinomlar immunohistokimyasal olarak östrojen reseptör (ER) ve progesteron reseptör (PR) antikorları ile sıklıkla pozitif reaksiyon verirken, seröz ve berrak hücreli karsinomlar bu antikorlarla hemen daima negatif reaksiyon verir (1,3). Steroid reseptör miktarı ve varlığı FIGO evresi, histolojik derece ve sağ kalım ile koreledir (35).

EEK'ların %67'sinin diploid DNA paternine sahip olduğu bulunmuştur. Böyle tümörler düşük dereceli, yüzeyel invazyon yapan ve daha uzun yaşam süresi ile ilişkili tümörlerdir (35). Bcl-2 kaybının kötü prognoz, artmış miyometriyal invazyon, yüksek FIGO evresi, agresif tümör tipi ve yüksek lenf nodu metastazı ile birlikte olduğu bildirilmiştir (36). p53 tümör supresyon geninin mutasyonu ya da artmış ekspresyonu özellikle seröz karsinomlarda görülmekte olup kötü prognoz belirleyicisidir (37). Ki-67, PCNA ya da MIB-1 ile araştırılan tümör hücre proliferasyon düzeylerinin yüksek oluşunun özellikle evre 1 endometriyal karsinomlarda histolojik derece ve miyometriyal invazyon ile ilişkili olarak rekürrens riskini arttırdığı gösterilmiştir (35).

Endometrioid Karsinomda Tedavi

Endometrioid karsinomun yayılımı, lenfatik ve vasküler dağılım, komşu organlara doğrudan invazyon, transperitoneal ve transtubal ekim yollarıyla olur. Lenfatik metastaz hematojen yayılımdan daha sıktır. Bu nedenle hastaların mevcut tedavisi histerektomi ve lenfadenektomiyi içerir (1).

Pelvik ve paraaortik lenf bezi diseksiyonu şu durumlarda uygulanmalıdır; %50'den fazla miyometriyal invazyon, derece 3 tümör, servikal tutulum, ekstauterin yayılım, seröz papiller, berrak hücreli veya andiferansiye karsinom, palpasyonla büyümüş lenf bezlerinin varlığı (1). Kötü prognostik faktörler bulunduran hastalara postoperatif radyoterapi uygulanır. Adjuvan hormonal veya sitotoksik kemoterapinin radyoterapi ve cerrahiye ek olarak yaşamı uzatmadığı görüldüğünden endometriyal karsinomun tedavi protokolünde yeri yoktur (1). Derece 1 veya derece 2, endometriyumla sınırlı veya minimal invaziv tümörü olan hastalar düşük risk grubu olarak tanımlanırlar ve histerektomiden sonra daha ileri tedaviye ihtiyaçları yoktur (1,2).

Matriks Metalloproteinaz 2

Malign tümörlerin yayılımı çok basamaklı bir proçes olup subepitelyal bazal membran ve ekstraselüler matriksin (ECM) parçalanmasını içermektedir (38). Ekstraselüler matriks tümör progresyonun her basamağında hücrelerin hareketi için başlıca fiziksel bariyerdir.

Ekstraselüler matriks başlıca tip 1, 2 ve 3 kollajenden oluşan intertisyel ECM ve tip IV kollajenin yanısıra laminin ve nidojenden oluşan bazal membranı içermektedir (39).

Matriks metalloproteinazlar (MMPs) ailesi çinko ve kalsiyum bağımlı enzimleri içermekte olup, ECM kompenentlerinin parçalanmasına yol açarak tümör invazyon ve metastazında anahtar rol oynuyor görünmektedir (40,41).

Matriks metalloproteinazlar spesifik oldukları substratlara göre alt tiplere ayrılabilirler. Bunlar stromelizin, kollajenaz, jelatinaz ve membran tip MMP'lardır. Matriks metalloproteinazların birçoğu inaktif zimojenler (proMMPs) şeklinde sekrete edilir ve membran tip MMP'lar dışında ekstaselüler alanda aktive olurlar. Bu aktivasyon belirli bazı proteinazların etkileşimi ile olmaktadır (42,43).

MMP-2 (Jelatinaz A,72 kd tip IV kollajenaz) ve MMP-9 (Jelatinaz B, 92 kd tip IV kollajenaz) tüm bazal membranların kompenenti olan tip IV kollajenin parçalanmasından sorumludur ve büyük bir olasılıkla tümör hücrelerinin stromal ve vasküler invazyonunu stimüle etmektedir (44).

Matriks metalloproteinazların enzimatik aktivitesi moleküler boyutu 21-28 kd arasında olan dört proteinden oluşan doku inhibitör metalloproteinazları (TIMP) tarafından düzenlenmektedir. Bununla birlikte son zamanlarda yapılan bir çalışmada hücre yüzeyindeki TIMP ve membran tip MMPs'ın (MT-MMPs) MMP-2 ve MMP-9'un aktivasyonunda rol aldıkları tespit edilmiştir (45). Özellikle MT1-MMP ve TIMP-2; proMMP-2'nin hücre membranındaki aktivasyonunda önemli rol oynamaktadır (46).

Matriks metalloproteinazların birçoğu hem invivo hem de invitro olarak insan kanser hücrelerinin malign fenotipi ile korele olarak yükselme göstermektedir (47). Klinikopatolojik çalışmalar MMP-2 ve MMP-9 mRNA ekspresyonunun mide, tiroid, meme ve over karsinomları gibi kanserlerin invazyonu ve metastazı ile korele olduğunu göstermektedir (48-51). Di Nezza ve ark. (52)'ları ile Juarlaro ve ark. (53)'ları hiperplastik endometriyum ve endometriyal kanserde MMP-2 ve MMP-9'un aşırı ekspresyonunu ve bunun her ikisi için de histolojik derece ve miyometriyal invazyon ile ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir. MMP-2 ve MMP-9 mRNA'sı değişik derecelerde tümör orjinli epitel hücrelerinin sitoplazmalarında lokalize bulunmuştur (53,54).

Proliferasyon Belirleyicileri

Dokulardaki proliferasyon düzeyini belirlemek amacı ile çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemler mitotik indeksin hesaplanması, AgNOR sayımı, S-faz

reaksiyonu, prolifere olan nükleer antijen (PCNA) ve Ki-67 pozitif hücre popülasyonlarının immünhistokimya ile belirlenmesini içerir (1).

Ki-67 monoklonal bir antikor olup ilk olarak 1983'te Gerdes tarafından bulunmuştur. Ki-67 antijeni hücre siklusunun aktif fazında, hücrelerin onarımı sırasında veya hücre siklusunun başlamasıyla eksprese edilmektedir (55). Ki-67 normal ve neoplastik dokularda hücre proliferasyonunu ölçmede yaygın olarak kullanılmaktadır (55,56). Endometriyumda Ki-67 ekspresyonu proliferasyon fazında, sekresyon ve menstrüasyon fazına göre daha yüksek bulunmuştur (26,57). Diğer organ karsinomlarında yapılan çalışmalarda olduğu gibi endometriyum karsinomlarında da Ki-67 proliferasyon indeksinin tümörün histolojik tip, derece ve evresi ile ilişkili olduğu saptanmıştır (58-61).

Lisofosfatidik Asit

Geçtiğimiz son birkaç dekadda lipidlerin hücre sinyal rolleri ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Sonuç olarak lipidlerin büyüme, diferansiasyon, sağkalım, motilite ve yeniden yapılanma gibi birçok hücresel olayda rol oynadığı gösterilmiştir. Fosfolipidler hücre membranının önemli bir kompenenti iken, daha hidrofilik olan lisofosfolipidlerin belirli bir grubu önemli sinyal molekülü olarak görev yapıyor görünmektedirler. Bunlar içinde LPA, üzerinde en çok çalışılan lisofosfolipittir (8). LPA de nevo fosfolipid biyosentezinde ilk meydana gelen ve en küçük olan gliserofosfolipittir. Fosfat baş bölümü reseptör aktivitesinden, lipofilik kuyruk kısmı ise biyolojik aktiviteden sorumludur (62).

LPA, sfingozin-1-fosfat (S1P) ve sfingozilfosforilkolin (SPC) gibi doğal mekanizmalarla oluşan ve birçok hücre tipi üzerinde çok geniş etkileri olan bir lisofosfolipittir (Tablo 1). Bu etkilerden en önemlileri hücre proliferasyonu, migrasyonu ve nöron retraksiyonunun indüksiyonu, tümör hücre invazyonu ve kemotaksisin stimülasyonudur (63,64). LPA aynı zamanda de nevo membran fosfolipidlerinin biyosentezinde ara üründür. Bu nedenle tüm hücreler membran biyosentezi ile ilişkili küçük bir miktar LPA içerirlerken, aktive trombositler gibi bir kısım hücreler ekstraselüler LPA'nın başlıca kaynağını oluştururlar (63,65).

LPA ve ilişkili lipidler serumun aktif bileşenleri olmakla birlikte aynı zamanda intraperitoneal tümör, özellikle de over karsinomlu hastaların asit sıvısında da önemli ölçüde bulunmaktadır (66,67). CA 125 ve LPA'nın beraber bakıldığı evre 1 ve 2 over kanserlerinden oluşan bir çalışmada, LPA olguların %90'ından fazlasında yükselmiş, CA 125 ise %50'sinden azında yüksek bulunmuştur (16).

LPA over tümörlerinin gelişim, progresyon ve metastazında etkili olmakta ve over kanserli hastaların asit sıvısında ve plazmasında 80 mikromol/L gibi yüksek seviyelerde bulunmaktadır (68).

Tablo 1. Lisofosfatidik asitin majör hücresel etkileri (63,64)

Hücre proliferasyonu (birçok hücre tipinde)
Keratinosit diferansiasyonu
Apopitozdan koruma (özellikle schwann hücreleri, T-lenfoblastoma hücreleri, makrofajlar, renal proksimal tübül hücreleri)
Trombosit agregasyonu
Düz kas kontraksiyonu
Kemotaksis (Dictyostelium amoebae, fibroblast)
"Gap junctional" iletişiminin inhibisyonu (hepatosit, fibroblast)
Klor iyonu ile ilişkili membran depolarizasyonu (fibroblast, nöroblast)
Hücre-hücre agregasyonunun stimülasyonu
Hücre yuvarlanması, nöron retraksiyonu (nöroblastoma hücreleri, kortikal nöroblastlar)
Tümör hücre invazyonu (transselüler migrasyon; hepatom, karsinom, T-lenfoma hücreleri)

Tablo 2. Lisofosfolipid reseptör genleri (11,71,72)

GEN	LİGAND	G PROTEİN	SİNYAL YOLAĞI
lp_{A1}(Edg2/Gpcr26)	LPA	$G_{i/o}$,$G_{12/13}$,G_q	MAPK/ACinhibisyonu/PLC/Rho
lp_{A2}(Edg4)	LPA	$G_{i/o}$,$G_{12/13}$,G_q	MAPK/ACinhibisyonu/PLC/Rho
lp_{A3}(Edg7)	LPA	$G_{i/o}$, G_q	MAPK/AC inhibisyonu/PLC
lp_{B1}(Edg1)	S1P/SPC	$G_{i/o}$	MAPK/ACinhibisyonu/PLC/Rac aktivasvasyonu
lp_{B2}(Edg5)	S1P/SPC	$G_{i/o}$,$G_{12/13}$,G_q	MAPK/cAMPartışı/PLC/Rho/Rac inbisyonu
lp_{B3}(Edg3)	S1P/SPC	$G_{i/o}$,$G_{12/13}$,G_q	MAPK/ACinhibisyonu/PLC/Rho/Rac aktivasyonu
lp_{B4}(Edg8)	S1P/SPC	$G_{i/o}$, ?	AC inhibisyonu
lp_{C1}(Edg6)	S1P/SPC	$G_{i/o}$, ?	MAPK/PLC

AC: Adenil siklaz , **Edg:** Endotelyal diferansiasyon geni , **LPA:** Lisofosfatidik asit, **MAPK**: Mitojen-aktivated protein kinaz, **PLC**: Fosfolipaz C , **S1P:** Sfingozin -1- fosfat, **SPC:** Sfingozin fosforil kolin.

Over tümör hücrelerinin invitro olarak LPA ile muamele edilmesi sonucunda LPA'nın tümör hücrelerinde metastatik fenotip arttırıcı etkiye yol açtığı sonucuna varılmıştır. Bunu ise proteolitik aktivite ve motilite stimülasyonunu arttırıp, tümör hücrelerine daha agresif, invaziv davranış kazandırarak yapmaktadır (69,70). LPA proliferasyon, sağkalım veya metastazda rolü olan genlere ek olarak, c-myc, vasküler endotelyal büyüme faktörü, interlökin-8 ve siklooksijenaz-2 (COX-2) ekspresyonuna yol açmaktadır (65-68). COX-2 prostaglandin sentezindeki katalizör görevinin yanı sıra tümörogeneziste etkilidir. Bunu ise pro- ve antiapopitotik faktör seviyelerini, anjiogenezi stimüle eden büyüme faktörlerini ve MMP seviyelerini arttırarak yapmaktadır (71).

LPA hedef hücreler üzerindeki etkilerini reseptörleri aracılığı ile yapar. LPA reseptörleri endotelyal diferansiasyon geni (Edg) familyasından G protein bağımlı reseptörlerdendir. Bunlar LPA1/Edg-2, LPA2/Edg-4, LPA3/Edg-7 ve yeni tanımlanan LPA4 olmak üzere dört tanedir (10,11,71,72) (Tablo 2).

LPA reseptörlerinin dağılım paterni ratlarda ve insanların normal birçok dokusunda incelenmiştir. Ratlarda LPA1 mRNA ekspresyonu testis, beyin, akciğer, kalp, dalak ve barsak başta olmak üzere birçok değişik dokuda oldukça yüksek, böbrek, timüs, mide ve kas dokusunda ise orta derecede yüksek tespit edilmiştir. İnsanlarda LPA1'in benzer dokularda yaygın ölçüde eksprese edildiği, bunun tersine LPA2 ve LPA3 dağılımının daha sınırlı olduğu tespit edilmiştir ve bu durum LPA'nın farklı biyolojik etkilerini açıklıyabilir sonucuna varılmıştır (73). Konu ile ilgili olarak başta over olmak üzere tiroid, kolon, mide, meme gibi kanser dokularında yapılan birçok çalışmada ise LPA2'nin tümörlü dokularda oldukça yüksek seviyelerde eksprese edildiği ve kanser dokusunda normal dokuya göre LPA2/LPA1 mRNA oranının yükseldiği tespit edilmiştir (74).

LPA'nın proliferatif etkileri ilk defa 1980 yıllarında serumdan fakir Rat-1 ya da insan foreskin fibroblastları üzerinde yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir. Bu çalışmalarda LPA'nın [^{3}H] timidin birleşmesini, adenil siklaz (AC) inhibisyonunu, inositol trifosfat ve intraselüler kalsiyumu ([Ca^{2+}]), protein kinaz C aktivitesini ve araşidonik asit salınımını arttırdığı bulunmuştur. Bu proliferasyon ve AC etkisi pertusis toksin (PTX) tarafından inhibe edilmektedir, bu da spesifik $G_{i/o}$ tip G protein inaktivasyonu yolu ile olmaktadır (75,76). LPA bağımlı G_q aktivasyonu ise fosfolipaz C (PLC)'yi stimüle etmektedir. Bu da kalsiyum ve protein kinaz C'yi aktive etmektedir. G_q ve $G_{12/13}$ 'ün her ikisi birden fosfolipaz A2 (PLA2) ve fosfolipaz D (PLD) aktivasyonu yolu ile araşidonik asit salınımı ve prostaglandin üretimini arttırmaktadır (77). Yapılan birçok çalışmada DNA sentezi stimülasyonu için fosfatidik asit (PA) moleküler yapısının önemli kompenentlerinin gerekli olduğu görülmüştür (78,79).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışmada 2000-2005 yılları arasında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'ndan gönderilen ve endometrioid karsinom tanısı almış 20 olguya ait TAH+BSO materyali ve 2004-2008 yılları arasında atipili (20 olgu), atipisiz (20 olgu) endometriyal hiperplazi tanısı almış 40 olguya ait TAH+BSO ve küretaj materyali olmak üzere toplam 60 olgu araştırma kapsamına alındı. Çalışmamız 2007/33 protokol numarası ile Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Etik Kurulu Başkanlığı'nın 15.02.2007 tarih ve 03 sayılı oturumunda görüşülmüş ve onaylanmış olup buna ilişkin yazı ekte sunulmuştur (EK-1).

Laboratuvar arşivimizden elde edilen parafin bloklardan 5 mikron kalınlıkta alınan kesitler hematoksilen-eozin (HE) ile boyandı. Kesitler ışık mikroskobunda incelenerek endometrioid karsinom tanılı 20 olgu WHO'nun 2003 yılında önerdiği sisteme göre yeniden sınıflandırıldı (4). Bu olgular histolojik derece, miyometriyal invazyon derinliği, anjiolenfatik invazyon, lenf nodu metastazı ve batın yıkama sıvısında tümör hücre pozitifliği açısından yeniden gözden geçirildi. Olguların yaşları patoloji rapor örneğinden, tümörlü hastaların FIGO evreleri ve takip bilgileri ise klinik dosyalarından elde edildi. Histolojik derecesi 3 olan karsinom olgularımızın sayısı az olduğundan yüksek dereceli tümörler olan derece 2 ve derece 3 karsinom olguları "derece 2+3 olgular'' şeklinde değerlendirildi. Aynı şekilde FIGO evre 2 olan olgularımızın sayısı az olduğundan ileri evre tümörler olan evre 2 ve 3 karsinom olguları "evre 2+3 olgular" şeklinde değerlendirildi.

Her olguda tümörü en iyi gösterdiğine inanılan bir parafin blok immünohistokimyasal çalışma için kullanıldı. Tüm antikorlar için overyan seröz karsinom tanısı almış iki vakaya ait parafin bloklar pozitif kontrol olarak kullanıldı.

İMMÜNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEM

İmmünohistokimya immünolojik ilkelere dayanarak, varlığı araştırılan antijenlere karşı geliştirilmiş, poliklonal veya monoklonal antikorlar aracılığıyla dokudaki antijeni götermek amacıyla kullanılan bir yöntemdir (80).

Yöntemin Uygulanışı

1. Atipili-atipisiz hiperplazi ve tümörü en iyi örnekleyen kesite ait parafin bloklardan 4 mikron kalınlığında kesitler yapıldı. Kesitler 1/10'luk Poly –L -Lysine solüsyonu ile muamele edilmiş lamlara alındı.
2. Bir gece 37 ^{0}C etüvde veya 1 saat boyunca 60 ^{0}C etüvde bekletilerek deparafinizasyon işlemi uygulandı.
3. Boyamanın yapılacağı gün deparafinizasyona ksilen ile devam edildi. Bu işlem 10'ar dakikadan 60 ^{0}C etüvde 3 kez bekletme ve her 10'ar dakikanın ardından 5 dakika dışarıda soğumaya bırakma şeklinde uygulandı.
4. Ksilenin giderilmesi için %96'lık alkol muamelesine geçildi. Kesitler 60 ^{0}C etüvde 4 kez 10'ar dakika tutuldu.
5. Lamlar 3 kez distile sudan geçirildi.
6. Antijen geri kazanımı için "EDTA buffer pH 6.O antijen anmasker" (10X, heat – induced epitope) (kod No.REF AP-9004-500 LOT 9004E.704B) solüsyonu kullanıldı, 90 ml distile suya 10 ml sitrat buffer solüsyonu ilave edilerek dilüe edildi.
7. Lamlar hazırlanan solüsyon içinde 600 watt mikrodalga fırında toplam 10 dakika kaynatıldı.
8. 10 dakika mikrodalga içinde ve 10 dakika dışarıda oda sıcaklığına gelinceye kadar bekletildi.
9. Tekrar 3 kez distile suda yıkanan lamlara, dokularda bulunan endojen peroksiti bloke etmek için 10 dakika 37 ^{0}C etüvde methanolde hazırlanmış %3'lük H_2O_2 uygulaması yapıldı.
10. Distile sudan geçirilen lamlar pH 7.4 olarak hazırlanmış PBS solüsyonunda 10 dakika bekletildi.
11. Reaktiflerin kesit dışına taşmasını engellemek için lamlardaki kesitlerin etrafı ''DAKO-Pen'' (kod No.S 2002) ile çizildi.

12. Her bir olgu için elde edilen 4 ayrı kesite oda sıcaklığında, ancak nemli ortamda LPA1 (Rabbit poliklonal human lizofosfatidik asit reseptör Edg2/LPA1, kod No: 15610, GTX70799, Genetex, California, ABD), LPA2 (Rabbit poliklonal human lisofosfatidik asit reseptör Edg4/LPA2, kod No: 15625, GTX71417, Genetex, California, ABD), MMP-2 (Rabbit poliklonal anti-MMP-2, Kod No: GTX 15478, Genetex, California, ABD), Ki-67 (clone MM1, LOT:801716, Novacastro,Newcastle, UK) primer antikorları damlatıldı. LPA1 ve LPA2 için 60 dakika, MMP-2 ve Ki-67 için 30 dakika bekletildi.
13. Lamların üzerindeki antikorlar distile su ile uzaklaştırılıp PBS solüsyonuna alınarak 5 dakika bekletildiler.
14. Universal LSAB 2 kitinin (Kod No.K 0675 DAKO, Carpinteria, CA, ABD) 1 nolu Biotin labeled link (Kod No.1017 DAKO, Carpinteria, CA, ABD) solüsyonu damlatıldı ve 20 dakika bekletildi.
15. PBS solüyonu ile 5 dakika yıkanan lamlara, 2 nolu biotine bağlanacak olan işaretleyici Lab Vision Corporation, Large volume Streptavidin Peroksidase (Ref: TA-125-HR LOT: SHR 41025) damlatıldı ve 20 dakika daha bekletildi.
16. Distile su ile yıkanan lamlar PBS solüsyonunda 5 dakika bekletildi.
17. Lab Vision'a ait 'AEC+Liquid' kitinden karıştırılarak hazırlanan renklendirici solüsyon lamlar üzerine damlatıldı, 10 dakika bekletildi.
18. Distile su ile yıkanan lamlar Mayer hematoksilen solüsyonunda 40 saniye tutularak zıt boyama yapıldı.
19. Musluk suyunda yıkandı.
20. Lamlar %5'lik amonyak solüsyonuna bir kez batırılarak morartma işlemine tabii tutuldu.
21. %96'lık alkolle 2 kez 1'er dakika bekletildi.
22. Asetonda 2 kez 1'er dakika bekletildi.
23. Ksilende 2 kez 1'er dakika bekletildi.
24. Gliserol jel ile kapatıldı.

Kesitlerin kurumaması için işlemlerin tümü oda ısısında ve nemli bir ortamda gerçekleştirildi. Hazırlanan kesitler ışık mikroskobunda değerlendirildi. LPA1, LPA2 ve MMP- 2 için sitoplazmik, Ki-67 için nükleer boyanma dikkate alındı.

LPA1, LPA2 ve MMP-2'nin değerlendirilmesinde boyanma yaygınlığı ve boyanma kuvveti dikkate alındı. Buna göre: derece 0, hiç boyanma yok; derece 1, hücrelerin %1-11'inde boyanma; derece 2, hücrelerin %12-33'ünde boyanma; derece 3, hücrelerin %34-

66'sında boyanma; derece 4, hücrelerin %67-100'ünde boyanma (81). Ayrıca boyanma kuvveti zayıf, orta, kuvvetli boyanma olarak 1'den 3'e kadar skorlandı. Boyanma kuvveti ve boyanma yaygınlığını tek değer altında birleştirmek amacıyla her bir olgu için LPA1, LPA2 ve MMP-2 antikorlarına ait H-skor değerleri bulundu (81), buna göre en yüksek H-skor değeri 4, en düşük H-skor değeri 0 olarak kaydedildi.

$$\text{H-skor} = \frac{\text{Boyanan hücre yüzdesi x (boyanma şiddeti +1)}}{100}$$

Ki-67'nin reaktifliğinin değerlendirilmesinde 150 komşu epitel hücresinde pozitif nükleuslar sayıldı ve bu işlem 5 büyük büyütme alanında tekrar edildi, boyanan hücrelerin toplam sayısı 750'nin yüzdesi olarak hesaplandı.

İSTATİSTİKSEL YÖNTEM

Olgular yaş, LPA1, LPA2, Ki-67 ve MMP-2 antikorları ile boyanma özellikleri yanısıra tümörlü vakalar histolojik derece, FIGO evreleri ve proliferatif aktiviteleri açısından istatistiksel analize tabi tutuldu. İstatistiksel analizler Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Bilgi İşlem Merkezinde bulunan S0064 Minitab Release 13 (Lisans No: WCP 1331.00197) program ile yapıldı. Olguların yaş ortalaması – ortancaları ve LPA1, LPA2 ve MMP-2 antikorlarının tümörlü vakalarda derece ve evre ile olan ilişkilerinde Mann-Whitney U testi kullanıldı. Tüm antikorların her üç olgu grubundaki dağılım paternini belirlemek, H-skor ortalamalarını bulmak ve birbirleriyle karşılaştırmak için Kruskal-Wallis testi kullanıldı. LPA1, LPA2 boyanma paternini MMP-2 ve Ki-67 antikorları ile kıyaslamak amacıyla Pearson korelasyon testi yapıldı. Pearson korelasyon testine göre; korelasyon katsayısı (r) 0-0,24 arası 'zayıf', 0,25-0,49: orta, 0,50-0,74: güçlü, 0,75-1,00: çok güçlü ilişkiyi göstermekte olup, Kruskal-Wallis, Mann-Whitney U ve Pearson korelasyon testlerine göre P değerinin 0,05' in altında olması anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

KLİNİK VE PATOLOJİK BULGULAR

İncelenen 60 olgu endometrioid karsinom ve atipili-atipisiz endometriyal hiperplazi tanısı alanlar olmak üzere 3 büyük gruba ayrılmıştır. Buna göre olgulardan 20 tanesi endometrioid karsinom, 20 tanesi atipili endometriyal hiperplazi, 20 tanesi ise atipisiz endometriyal hiperplazi tanılı olgulardır.

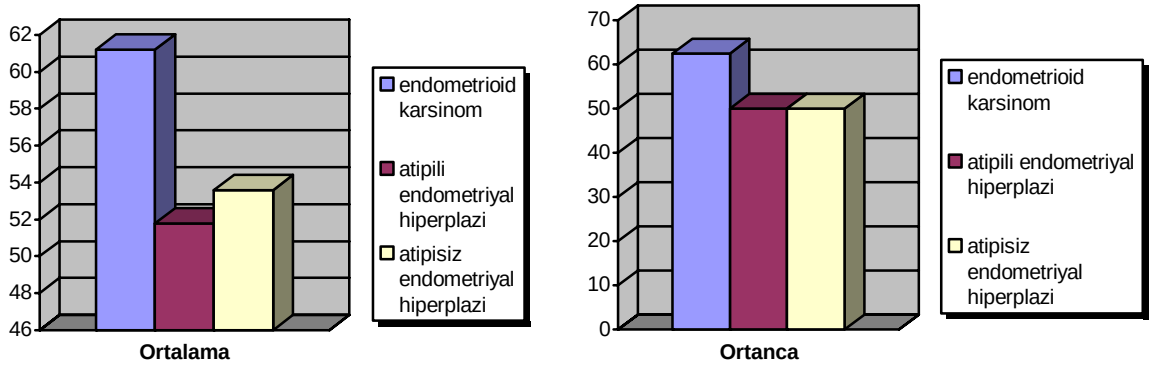
Çalışmaya alınan olguların tümünün yaş ortalaması 55,7 yaş ortancaları ise 52'dir. Endometrioid karsinom olgularının yaş ortalaması 61,2, yaş ortancaları ise 62,5 olarak bulunmuştur. Yaş ortalaması atipili hiperplazide 51,8, atipisiz hiperplazide ise 53,6 olarak tespit edilmiştir. Yaş ortancaları ise atipili ve atipisiz hiperplazinin her ikisinde de 50'dir (Tablo 3, Şekil 6).

Tablo 3. Çalışmaya alınan olguların yaş ortalamaları ve yaş ortancaları

Grup	Ortalama	Ortanca
Endometrioid karsinom	61,2	62,5
Atipili endometriyal hiperplazi	51,8	50
Atipisiz endometriyal hiperplazi	53,6	50

EEK tanısı alan olgulardan 8'i (%40) histolojik derece 1, 8'i (%40) derece 2, 4'ü (%20) derece 3 idi. Bu olgulardan 6'sında benign skuamöz adalar veya morül alanları izlenmiştir. Bir olguda bunlara ek olarak belirgin müsinöz diferansiasyon odakları izlenmiştir. Olguların ikisi ise villoglandüler varyantın özelliklerini taşamaktaydı. Tümör 13 olguda miyometriyumun yarısı ya da daha fazlasını, 7 olguda ise miyometriyumun yarısından azını infiltre etmişti. On olguda anjiolenfatik invazyon mevcuttu. Lenf nodu metastazı 3 olguda

izlendi. Ancak toplam 20 olgunun 13'ünde lenf nodu örneklemesi mevcuttu. Vakaların 3'ünde batın yıkama sıvısında tümör hücresi gözlendi. Olgulardan 10'u (%50'si) evre 1, 3'ü (%15'i) evre 2, 7'si (%35'i) ise evre 3 idi (Tablo 4).



Şekil 6. Çalışmaya alınan olguların yaş ortalamaları ve yaş ortancaları

Histolojik derece miyometriyal invazyon ile karşılaştırıldığında miyometriyumun yarısını ya da daha fazlasını infiltre eden olgulardan 4'ü derece 1, 9'u derece 2+3 idi. Miyometriyumun yarısından azını infiltre eden olgulardan 4'ü derece I, 3'ü derece 2+3 grubundaydı. Histolojik derece yükseldikçe miyometriyal invazyon oranında artış izleniyordu (Tablo 4). Histolojik derece anjiolenfatik invazyon ile kıyaslandığında derece 1 olan 2 olguda anjiolenfatik invazyon gözlenirken, derece 2+3 grubunda 8 olguda anjiolenfatik invazyon vardı. Batın yıkama sıvısında tümör hücresi mevcut olan 3 olgunun hepsi histoojik derece 2+3 idi (Tablo 4).

Tablo 4. Olguların klinik ve patolojik özelliklerinin histolojik dereceye göre dağılımı

Klinik-patolojik özellikler		**Histolojik derece**	
		Derece 1(n=8)	Derece 2+3 (n=12)
Miyometriyal invazyon	< 1/2	4 (%50)	3 (%25)
	>_1/2	4 (%50)	9 (%75)
Anjiolenfatik invazyon	Var	2 (%25)	8 (%66,7)
	Yok	6 (%75)	4 (%33,3)
Lenf nodu metastazı	Var	0 (%0)	3 (%42,.9)
	Yok	6 (%100)	4 (%57,1)
Batın yıkama sıvısında tümör hücresi	Var	0 (%0)	3 (%33,4)
	Yok	4 (%100)	6 (%66,6)
FIGO evresi	I	6 (%75)	4 (%33,3)
	II	2 (%25)	1 (%8,3)
	III	0 (%0)	7 (%58,4)

FIGO: International Federation of Gynecology and Obstetrics.

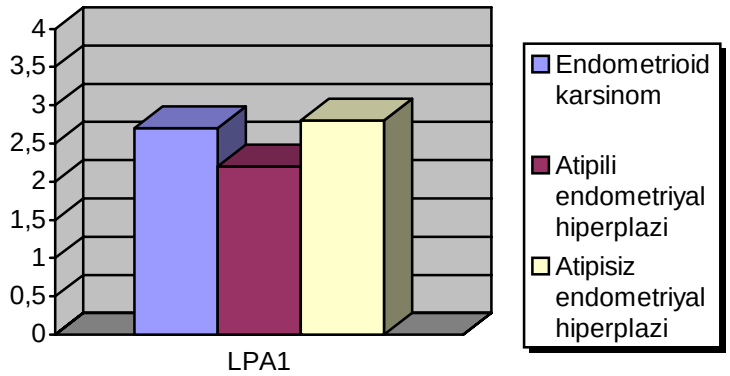
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

LPA1 Ekpresyon Paterni

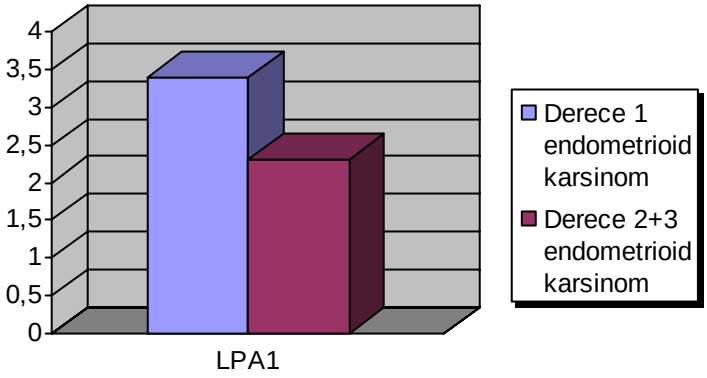
Endometrioid karsinom olgularında LPA1 için en düşük H-skor değeri 0, en yüksek H-skor değeri 3,8 olarak hesaplanmış olup H-skor değerinin ortalaması endometrioid karsinom için 2,7 olarak bulunmuştur. Atipili ve atipisiz hiperplazi olgularında ise LPA1 için H-skor ortalama değerleri sırasıyla 2,2 ve 2,8 olarak hesaplanmıştır (Tablo 5, Şekil 7). Derecelere göre endometrioid karsinom olgularına bakıldığında H-skor ortalaması derece 1 endometrioid karsinomlarda 3,4, derece 2+3 endometrioid karsinomlarda 2,3 olarak hesaplanmıştır (Tablo 6, Şekil 8). LPA1 ile pozitif boyanan (H-skor değeri 1'in üzerinde) vakaların yüzdeleri ise atipisiz hiperplazide %100, atipili hiperplazide %95, derece 1 endometrioid karsinomda %100, derece 2+3 endometrioid karsinomda ise %82 olarak hesaplanmıştır (Tablo 7).

LPA2 Ekspresyon Paterni

Endometrioid karsinom olgularında LPA2 için en düşük H-skor değeri 0.2, en yüksek H-skor değeri 2,7 olarak hesaplanmış olup LPA2 H-skor değerinin ortalaması endometrioid karsinom için 1 olarak bulunmuştur. Atipili ve atipisiz hiperplazi olgularında ise LPA2 antikoru için H-skor ortalamaları sırası ile 2,04 ve 1,8 olarak hesaplanmıştır (Tablo 5, Şekil 9). Derecelere göre endometrioid karsinom olgularına bakıldığında H-skor ortalaması derece 1 endometrioid karsinomlarda 0,9, derece 2+3 endometrioid karsinomlarda ise 1 olarak bulunmuştur (Tablo 6, Şekil 10). LPA2 ile pozitif boyanan vakaların yüzdeleri ise atipisiz hiperplazide %95, atipili hiperplazide %95, derece 1 endometrioid karsinomda %38, derece 2+3 endometrioid karsinomda ise %34 olarak hesaplanmıştır (Tablo 7).

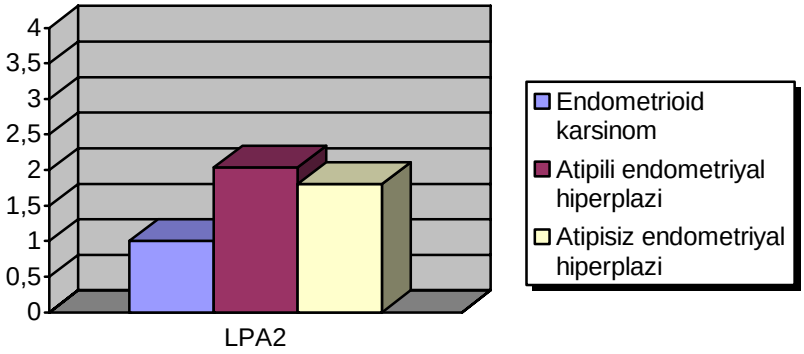


Şekil 7. Endometrioid karsinom ve atipili-atipisiz endometriyal hiperplazilerde LPA1 H-skor değerlerinin karşılaştırmalı görünümü

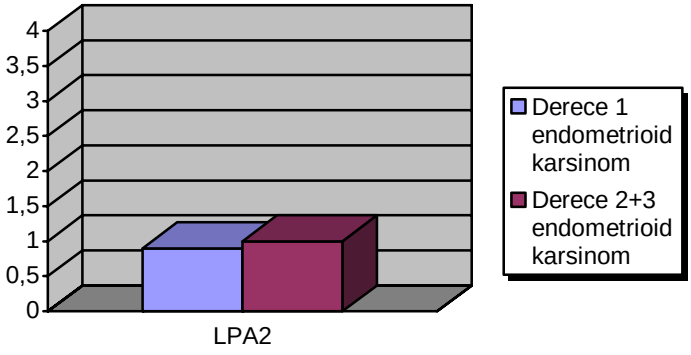


.

Şekil 8. Endometrioid karsinomlarda LPA1 antikorunun H-skor değerlerinde histolojik derece ile ters orantılı düşme gözlenmekte



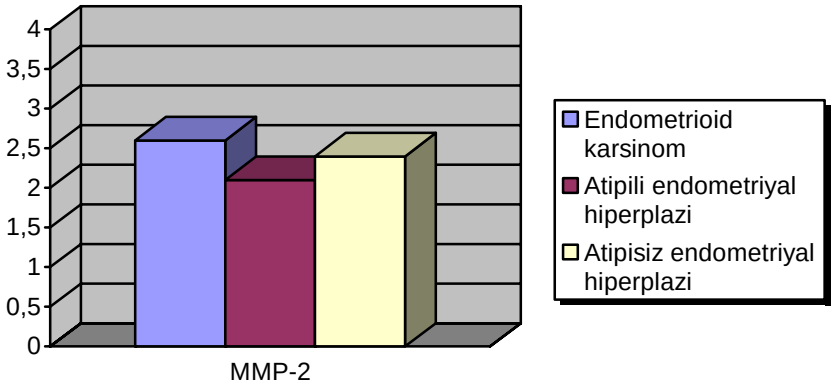
Şekil 9. Endometrioid karsinom, atipili-atipisiz endometriyal hiperplazilerde LPA2 H-skor değerlerinin karşılaştırmalı görünümü



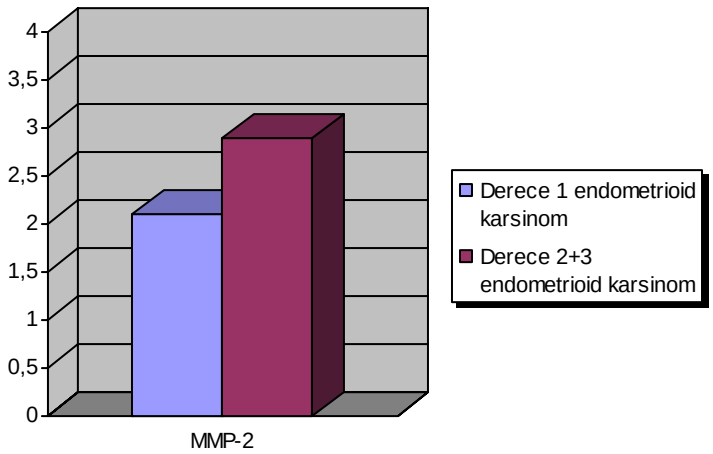
Şekil 10. LPA2 H-skor değerlerinin endometroid karsinomlarda histolojik derece ile ilişkisi

MMP-2 Ekspresyon Paterni

Endometrioid karsinom olgularında MMP-2 için en düşük H-skor değeri 0.8, en yüksek H-skor değeri ise 3,6 olarak hesaplanmış olup MMP-2 H-skor değerinin ortalaması endometrioid karsinom için 2,6 olarak bulunmuştur. Atipili ve atipisiz hiperplazi olgularında ise MMP-2 için H-skor ortalamaları sırası ile 2,1 ve 2,4 olarak hesaplanmıştır (Tablo5, Şekil 11). Derecelere göre endometrioid karsinom olgularına bakıldığında H-skor ortalaması derece 1 endometrioid karsinomlarda 2,1, derece 2+3 endometrioid karsinomlarda ise 2,9 olarak hesaplanmıştır (Tablo 6, Şekil 12). MMP-2 ile pozitif boyanan vakaların yüzdeleri ise atipisiz endometriyal hiperplazide %95, atipili endometriyal hiperplazide %85, derece 1 endometrioid karsinomda %95, derece 2+3 endometrioid karsinomda %100 olarak bulunmuştur (Tablo 7).



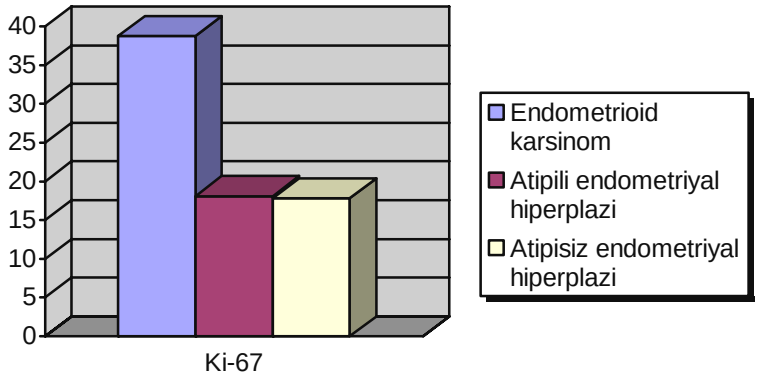
Şekil 11. Endometrioid karsinom, atipili-atipisiz endometriyal hiperplazilerde MMP-2 H-skor değerlerinin karşılaştırmalı görünümü



Şekil 12. MMP-2 H-skor değerlerinin endometrioid karsinomlarda histolojik derece ile doğru orantılı ilişkisi

Ki-67 Ekspresyon Paterni

Endometrioid karsinom olgularında bir olguda en fazla 435 (%58) hücrede pozitif nükleer boyanma bulunmuş, en az boyanmanın olduğu bir olguda ise 75 (%10) adet pozitif nükleer boyanma izlenen hücre sayılmıştır. Tüm endometrioid karsinom olgularında boyanan hücrelerin ortalaması 291 (%38,8) olarak hesaplanmıştır. Bu ortalamalar atipili ve atipisiz endometriyal hiperplazi olgularında sırası ile 135 (%18,1) ve 133 (%17,8) olarak bulunmuştur (Tablo 5, Şekil 13).



Şekil 13. Endometrioid karsinom, atipili ve atipisiz endometriyal hiperplazilerde Ki-67 indeksinin karşılaştırmalı görünümü

Tablo 5. Endometrioid karsinom, atipili ve atipisiz endometriyal hiperplazilerde LPA1, LPA2 ve MMP-2 H-skor ortalama değerleri ve Ki-67 Indeksi*

Gruplar	LPA1/H-skor	LPA2/H-skor	MMP-2/H-skor	Ki-67 %
EEK	2,7	1	2,6	38,8
Atipili EH	2,2	2,04	2,1	18,1
Atipisiz EH	2,8	1,8	2,4	17,8

EEK: Endometrioid tip endometriyal karsinom, **EH:** Endometriyal hiperplazi.

*Kruskal-Wallis testi.

Tablo 6. Derecelerine göre endometrioid karsinomlarda LPA1, LPA2 ve MMP-2 H-skor değerleri*

H. derece	n	LPA1/H-skor		LPA2/H-skor		MMP-2/H-skor	
Derece 1 EEK	8	3,4	**P=0,044**	0,9	p>0,05	2,1	**P=0,049**
Derece 2+3EEK	12 (8+4)	2,3		1		2,9	

H.derece: Histolojik derece, **n:** Olgu sayısı, **EEK:** Endometrioid tip endometriyal karsinom.

*Mann-Whitney U testi.

Tablo 7. Atipili-atipisiz endometriyal hiperplaziler ve derecelerine göre endometrioid karsinomlarda LPA1, LPA2 ve MMP-2 boyanma gözlenen vakaların yüzdeleri

Gruplar	LPA1	LPA2	MMP-2
Atipisiz EH	%100	%95	%95
Atipili EH	%95	%95	%85
Derece 1 EEK	%100	%38	%95
Derece 2+3 EEK	%82	%34	%100

EEK: Endometrioid tip endometriyal karsinom, **EH:** Endometriyal hiperplazi.

Endometrioid karsinom, atipili ve atipisiz endometriyal hiperplazilerde LPA1, LPA2 ve MMP-2 H-skor değerleri ile Ki-67 boyanma farklılıkları kendi aralarında birbirleri ile karşılaştırılmıştır (Tablo 5).

LPA1 için endometrioid karsinom ve atipisiz endometriyal hiperplazi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken ($P>0,05$), atipisiz endometriyal hiperplazide LPA1 H-skor değeri atipili endometriyal hiperplaziden daha yüksek bulunmuş ve bu fark istatistiksel olarak da anlamlılık göstermiştir ($P=0,009$). Endometrioid karsinomda LPA1 H-skor değeri atipili endometriyal hiperplaziden yüksek bulunmuş ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($P>0,05$) (Tablo 8).

Endometrioid karsinom ile atipisiz endometriyal hiperplazi arasında ve endometrioid karsinom ile atipili endometriyal hiperplazi karşılaştırıldığında, LPA2 için H-skor değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P=0,000$). Buna göre LPA2 H-skor değeri endometrioid karsinoma göre sırasıyla atipili ve atipisiz endometriyal hiperplazide daha yüksektir. Atipili endometriyal hiperplazi ve atipisiz endometriyal hiperplazi arasında LPA2 H-skor değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($P>0,05$) (Tablo 9).

Endometrioid karsinom ile atipili ve atipisiz endometriyal hiperplazide MMP-2 H-skor değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($P>0,05$).

Endometrioid karsinom olgularında Ki-67 indeksi atipili ve atipisiz endometriyal hiperplazi olgularından daha yüksek olup, bu fark istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ($P=0,000$). Ancak atipili endometriyal hiperplazi ve atipisiz endometriyal hiperplazi olgularının Ki-67 ile boyanmaları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($P>0,05$).

LPA1, LPA2 ve MMP-2 H-skor değerlerinin endometrioid karsinom olgularında derece ile olan ilişkilerine bakıldığında, LPA1 ve MMP-2 antikorunun derece 1 ve derece 2+3

endometrioid karsinom olgularındaki H-skor değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (P<0,05), buna göre LPA1 H-skor değeri derece 1 endometrioid karsinom olgularında derece 2+3'e göre daha yüksektir (P=0,044*)*. MMP-2 H-skor değeri ise derece 2+3 endometrioid karsinom olgularında derece 1'e göre daha yüksek bulunmuştur (P=0,049*)*. LPA2 H-skor değeri ise derece 1 ve derece 2+3 endometrioid karsinom olgularında birbirine oldukça yakın olup, istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (P>0,05*)* (Tablo 6).

LPA1, LPA2 ve MMP-2 H-skor değerlerinin endometrioid karsinom olgularında evre ile ilişkilerine bakıldığında LPA1 H-skor değeri evre 1'de, LPA2 ve MMP-2 H-skor değerleri ise evre 2 ve 3 tümörlerde daha yüksek bulunmuş ancak bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (P>0,05).

LPA1 ve LPA2 antikorlarının H-skor değerlerini Ki-67 boyanma paterni ile karşılaştırmak için yapılan korelasyon testinde her üç olgu grubunda da LPA1 ve LPA2 ile Ki-67 antikorları arasında zayıf bir ilişki saptanmış olup bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır *(P>0,05)*.

LPA1 ve LPA2 antikorlarının H-skor değerlerini MMP-2 H-skor değerleri ile kıyaslamak için yapılan korelasyon testinde ise sadece endometrioid karsinom olgularında LPA1 ve MMP-2 H-skor değerleri arasında orta derecede bir ilişki saptanmış olup, bu ilişki istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur (P=0,04) (Tablo 10).

Çalışmamızdaki olgulara ait demografik ve morfolojik bulgular Tablo 11'de ayrı ayrı belirtilmiştir. Ayrıca Şekil 14-29'da her üç olgu grubunda LPA1, LPA2, MMP-2 ve Ki-67 antikorları ile elde edilen boyanma paternleri gösterilmektedir.

Tablo 8. LPA1 H-skor değerlerinin atipili -atipisiz endometriyal hiperplazi ve endometrioid karsinomlardaki karşılaştırılması*

Antikor	Gruplar	H-skor	P değeri
LPA1	Atipisiz endometriyal hiperplazi	2,8	**0,009**
	Atipili endometriyal hiperplazi	2,2	
LPA1	Atipisiz endometriyal hiperplazi	2,8	0,987
	Endometrioid karsinom	2,7	
LPA1	Atipili endometriyal hiperplazi	2,2	0,100
	Endometrioid karsinom	2,8	

*Mann-Whitney U testi.

Tablo 9. LPA2 H-skor değerinin atipisiz-atipili endometriyal hiperplazi ve endometrioid tip karsinomlardai karşılaştırılması*

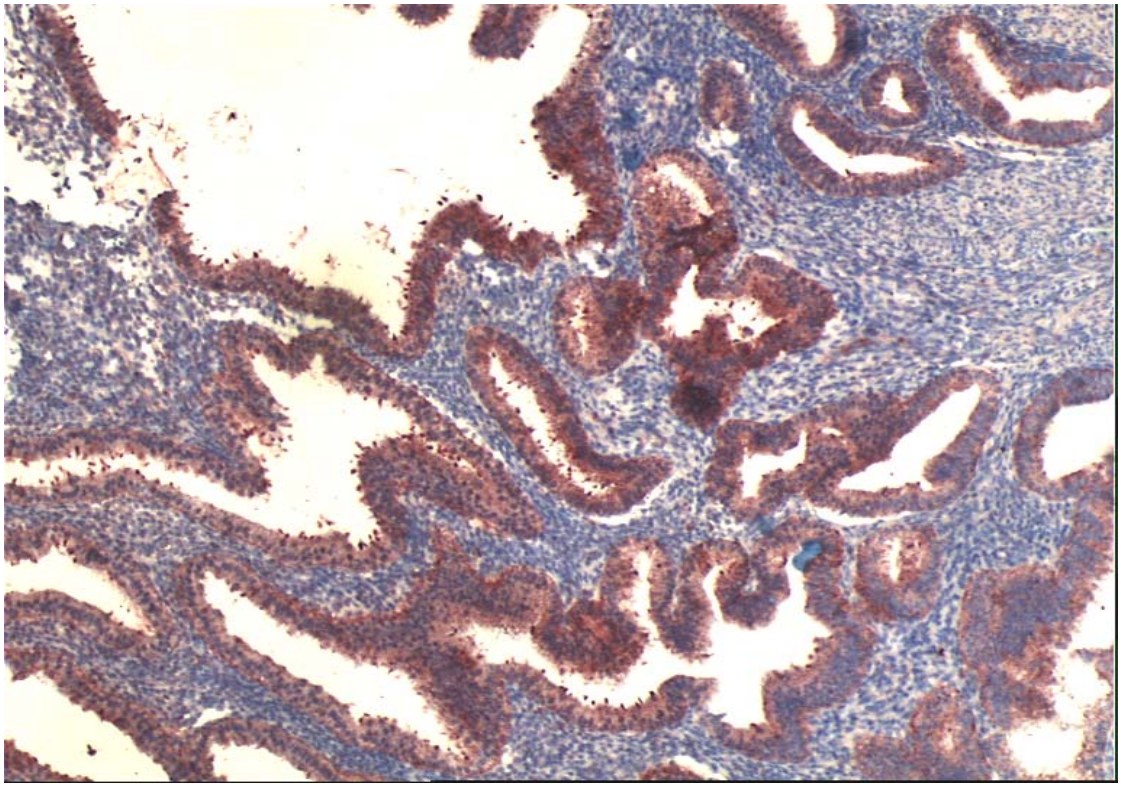
Antikor	Gruplar	H-skor	P değeri
LPA2	Atipisiz endometriyal hiperplazi	1,8	0,446
	Atipili endometriyal hiperplazi	2,04	
LPA2	Atipisiz endometriyal hiperplazi	1,8	**0,000**
	Endometrioid karsinom	1,0	
LPA2	Atipili endometriyal hiperplazi	2,04	**0,000**
	Endometrioid karsinom	1,0	

* Mann-Whitney U testi.

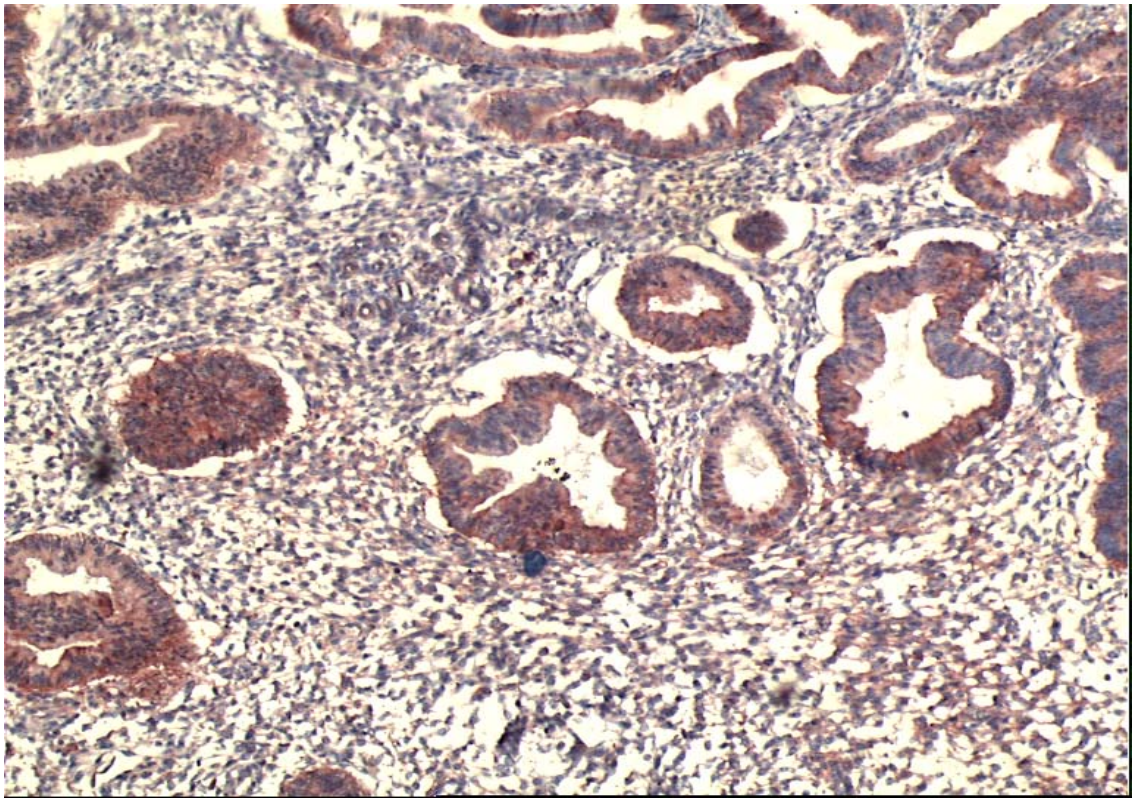
Tablo 10. Atipili-atipisiz endometriyal hiperplaziler ve endometrioid karsinomlarda LPA1 ve LPA2 H-skor değerleri ile MMP-2 H-skor değerleri arasındaki korelasyonun karşılaştırmalı görünümü *

Gruplar	LPA1	LPA2
Atipisiz EH **MMP-2**	0,12 (zayıf ilişki)	0,08 (zayıf ilişki)
Atipili EH **MMP-2**	0, 21 (zayıf ilişki)	0,03 (zayıf ilişki)
Endometrioid karsinom **MMP-2**	0**,** 46 (orta derece ilişki)	0,22 (zayıf ilişki)

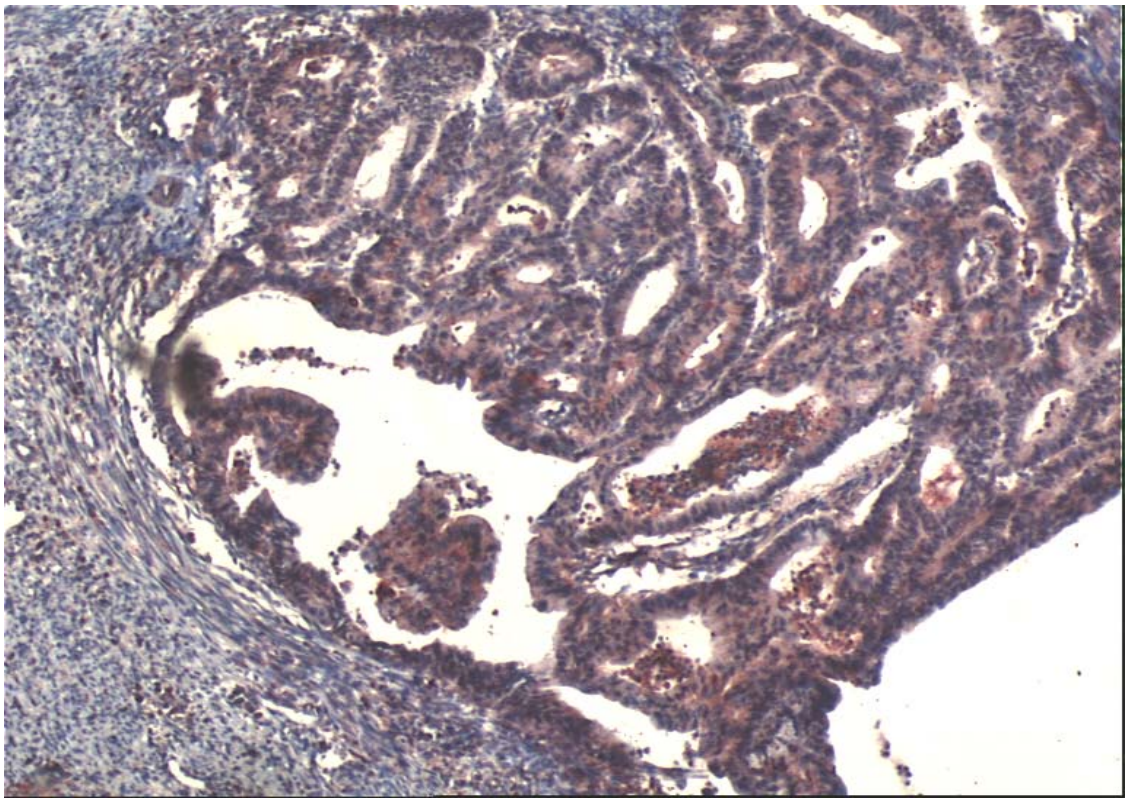
* Pearson Korelayon testi, **EH:** Endometriyal hiperplazi .



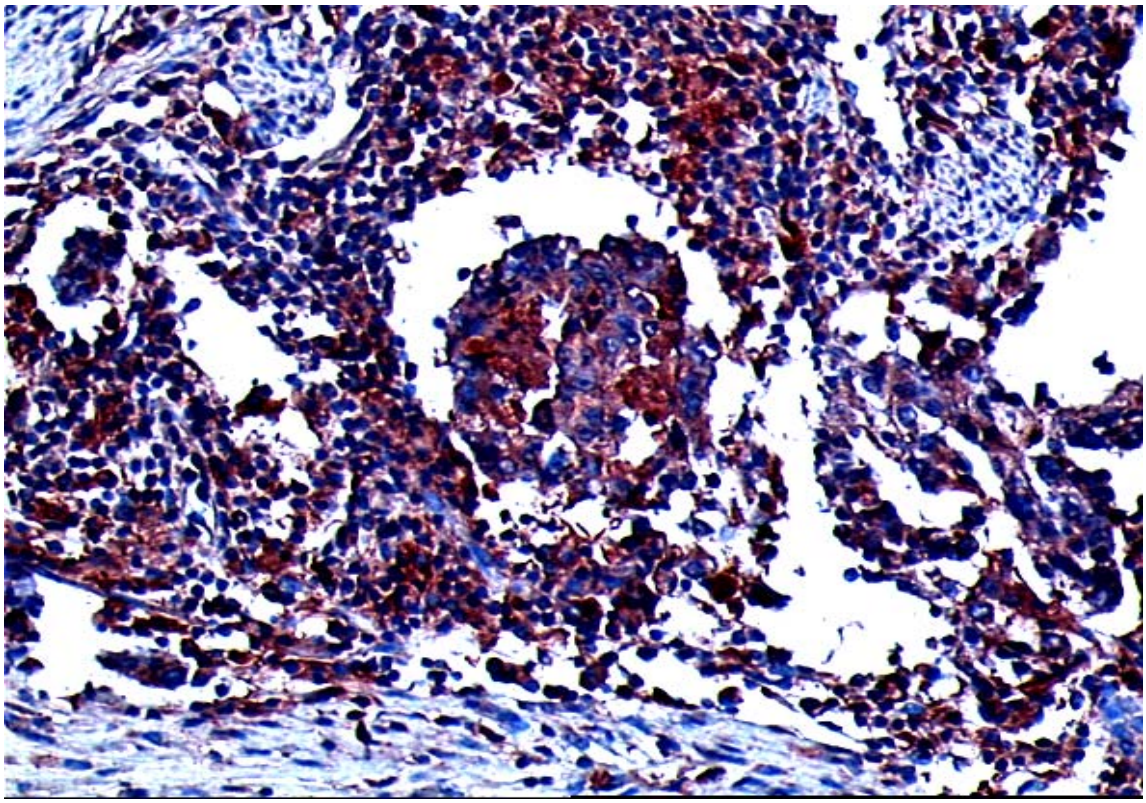
Şekil 14. Atipisiz endometriyal hiperplazide LPA1 ile yaygın ve kuvvetli pozitif boyanma (immünoperoksidaz X 200)



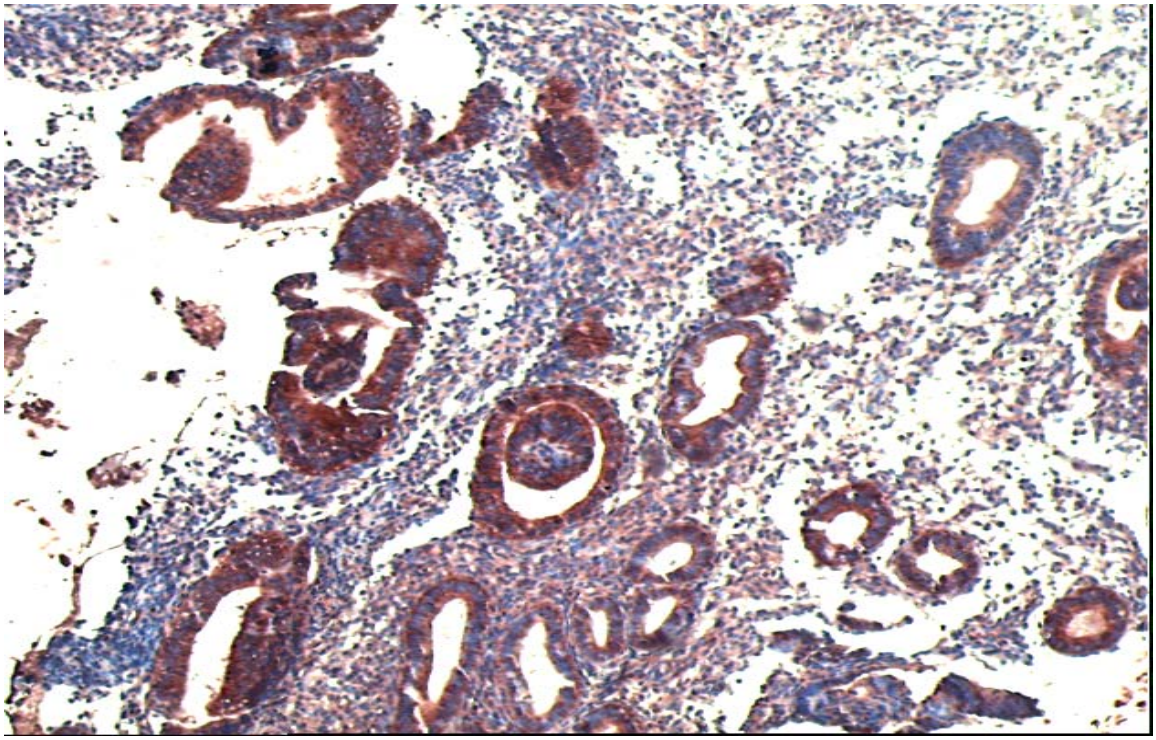
Şekil 15. Atipili endometriyal hiperplazide LPA1 ile fokal orta şiddette boyanma (immünoperoksidaz X 200)



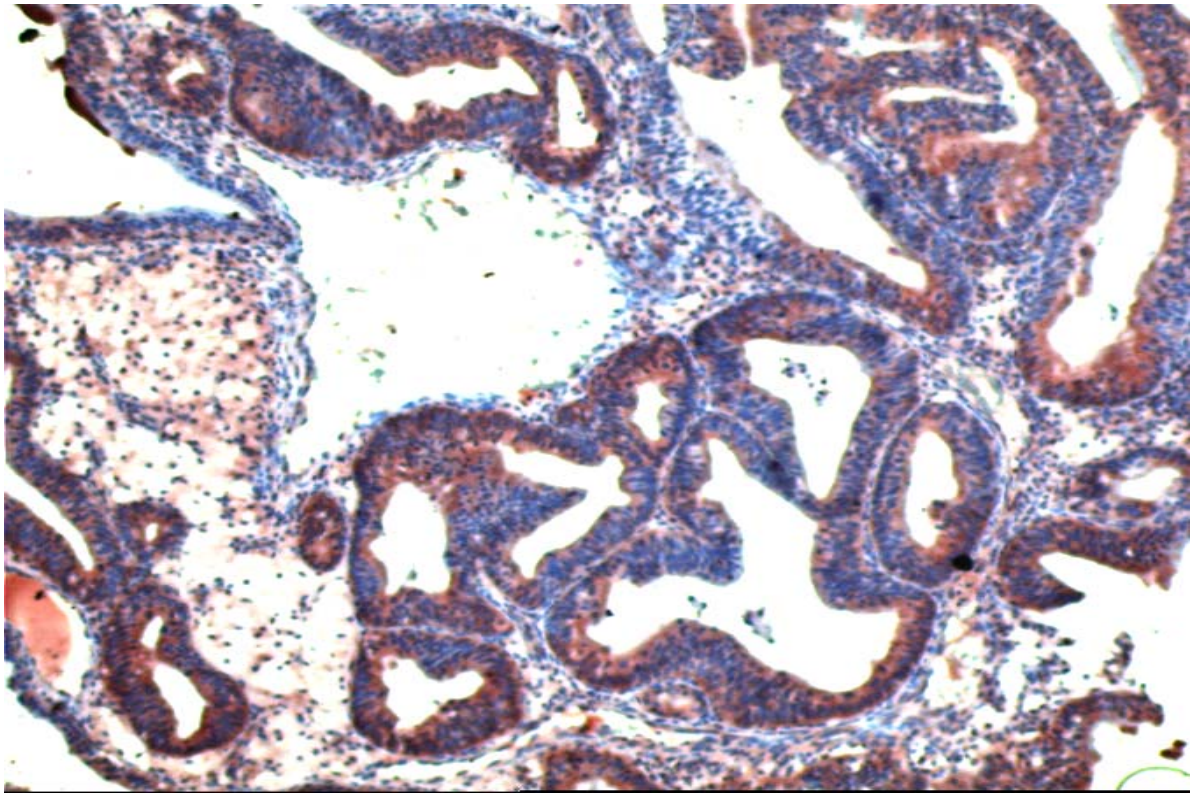
Şekil 16. Derece 1 endometrioid karsinomda LPA1 ile yaygın kuvvetli pozitif boyanma (immünoperoksidaz x 100)



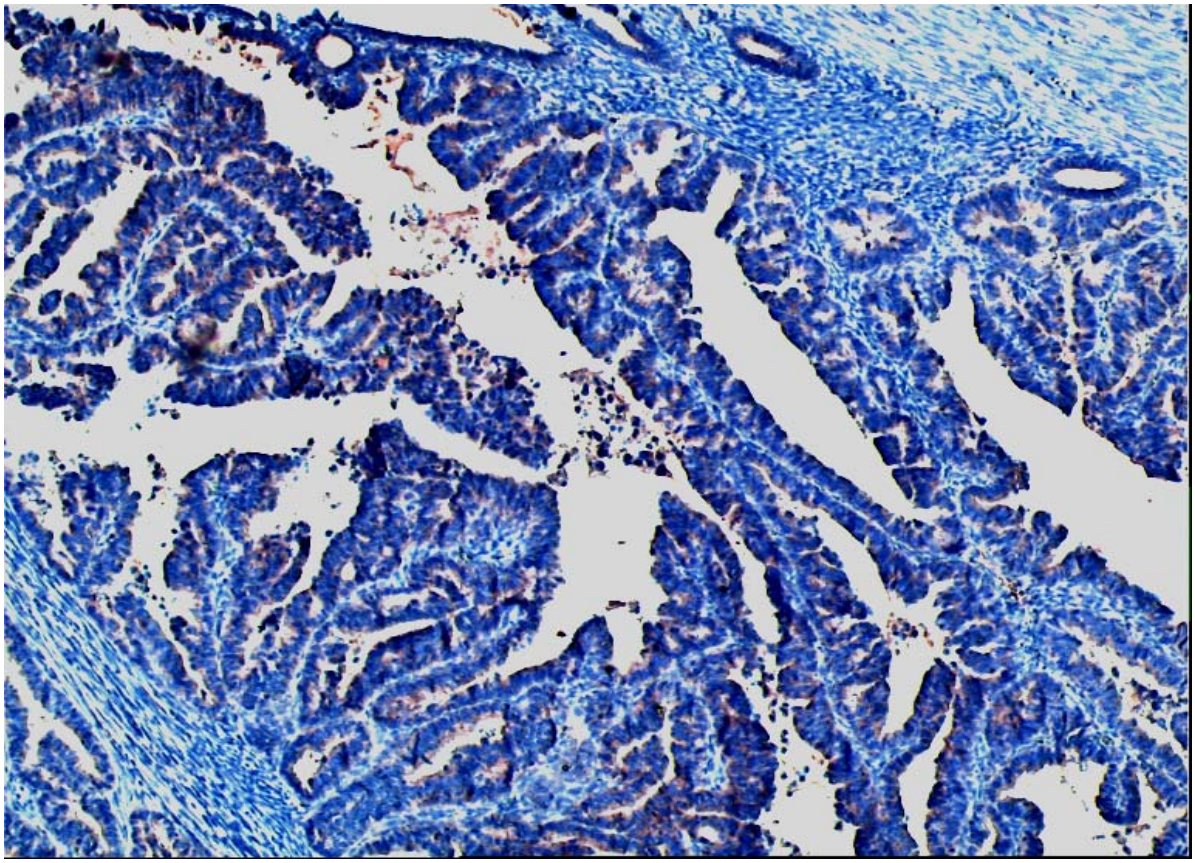
Şekil 17. Derece 3 endometrioid karsinomda LPA1 ile fokal kuvvetli pozitif boyanma (immünoperoksidaz X 400)



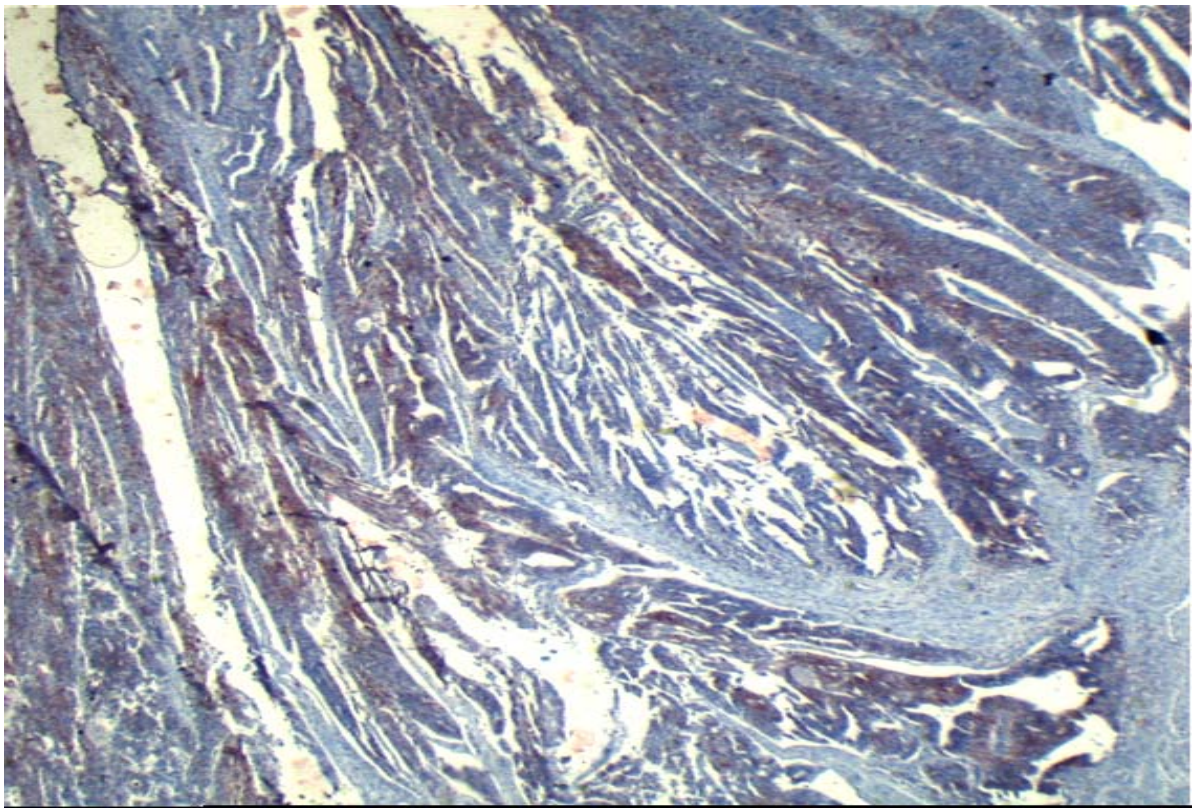
Şekil 18. Atipisiz endometriyal hiperplazide LPA2 ile kuvvetli pozitif reaksiyon (immünoperoksidaz X 100)



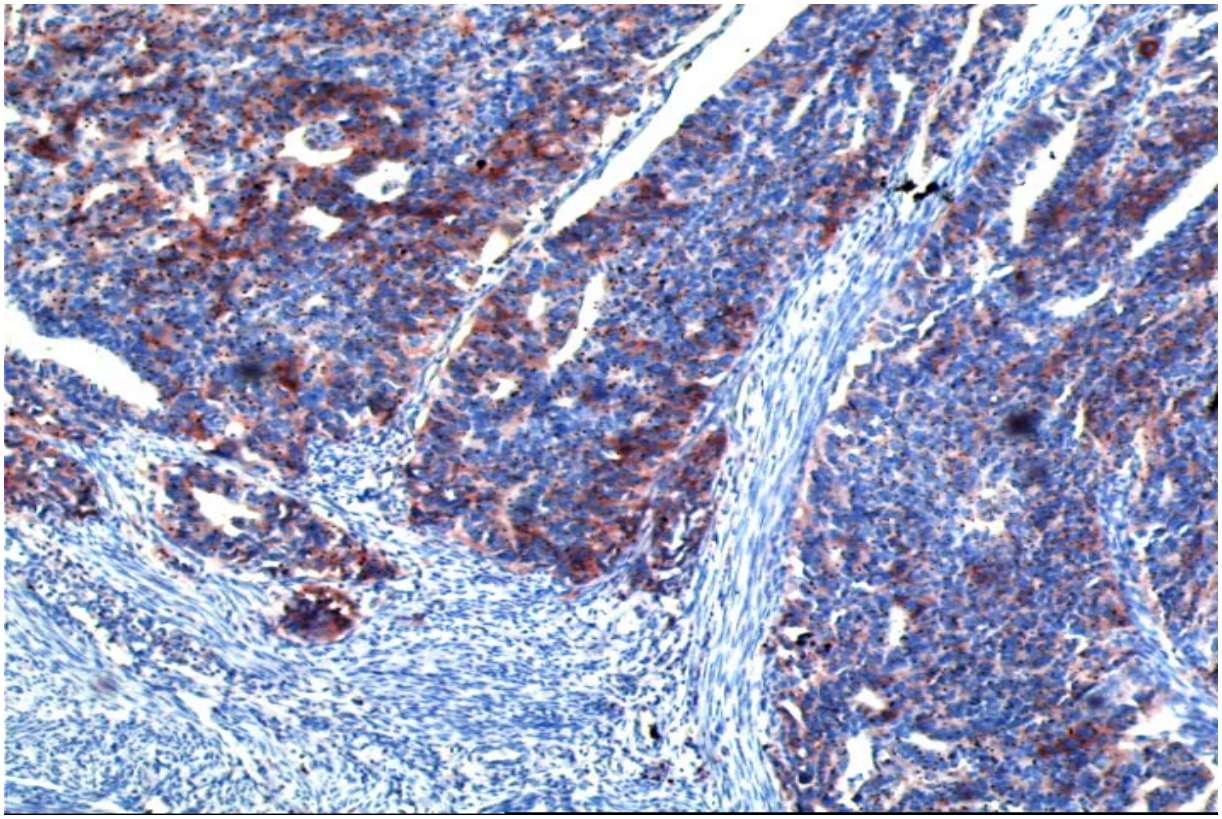
Şekil 19. Atipili endometriyal hiperplazide LPA2 ile fokal kuvvetli boyanma (immünoperoksidaz X 200)



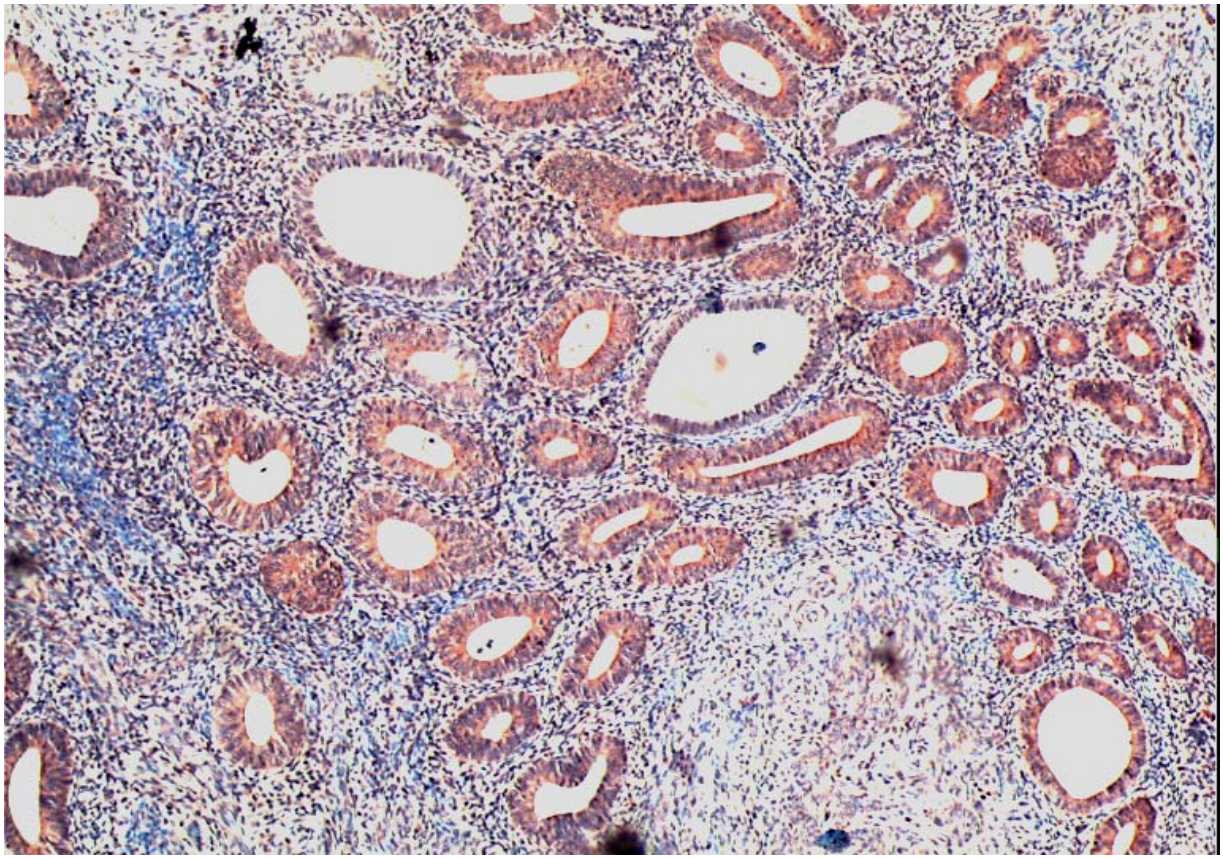
Şekil 20. Derece 1 endometrioid karsinomda LPA2 ile fokal zayıf boyanma (immünoperoksidaz X 100)



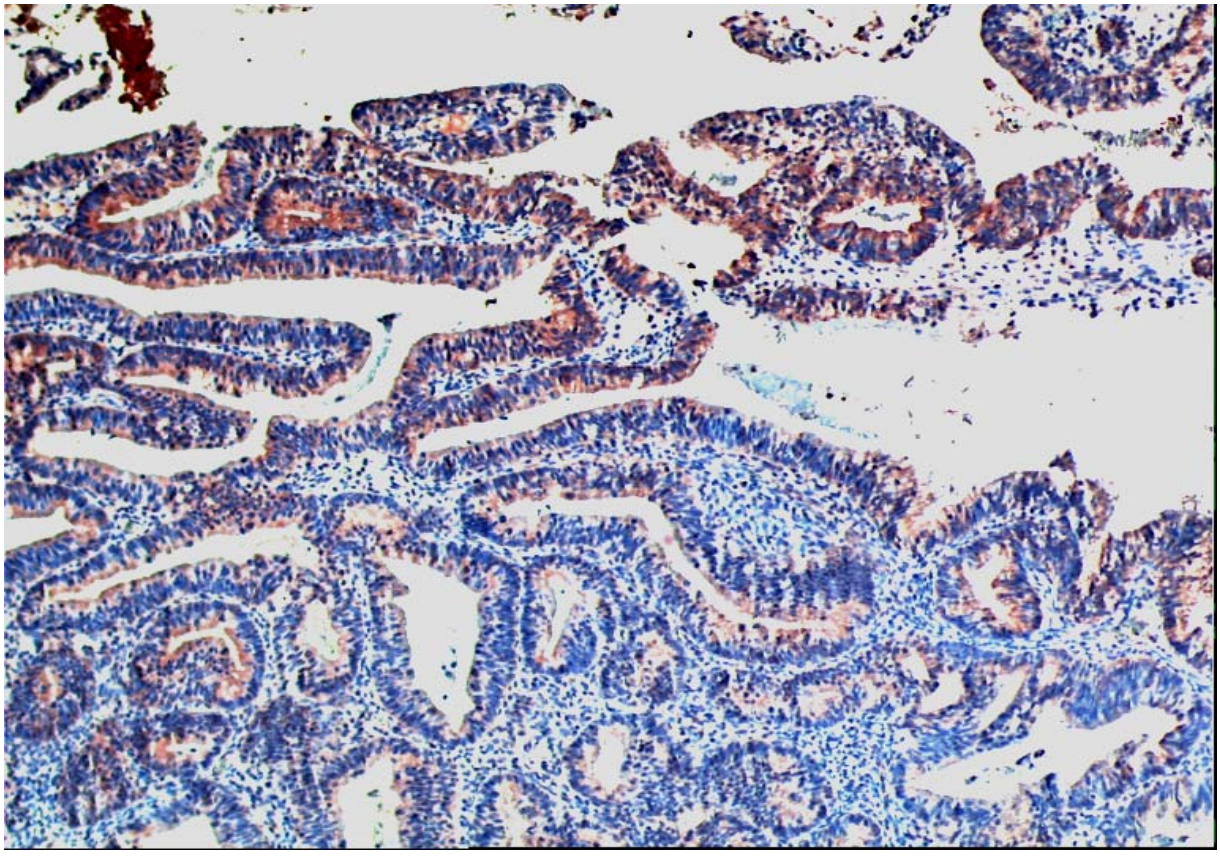
Şekil 21. Derece 2 endometrioid karsinomda LPA2 ile yaygın kuvvetli boyanma (immünoperoksidaz X 100)



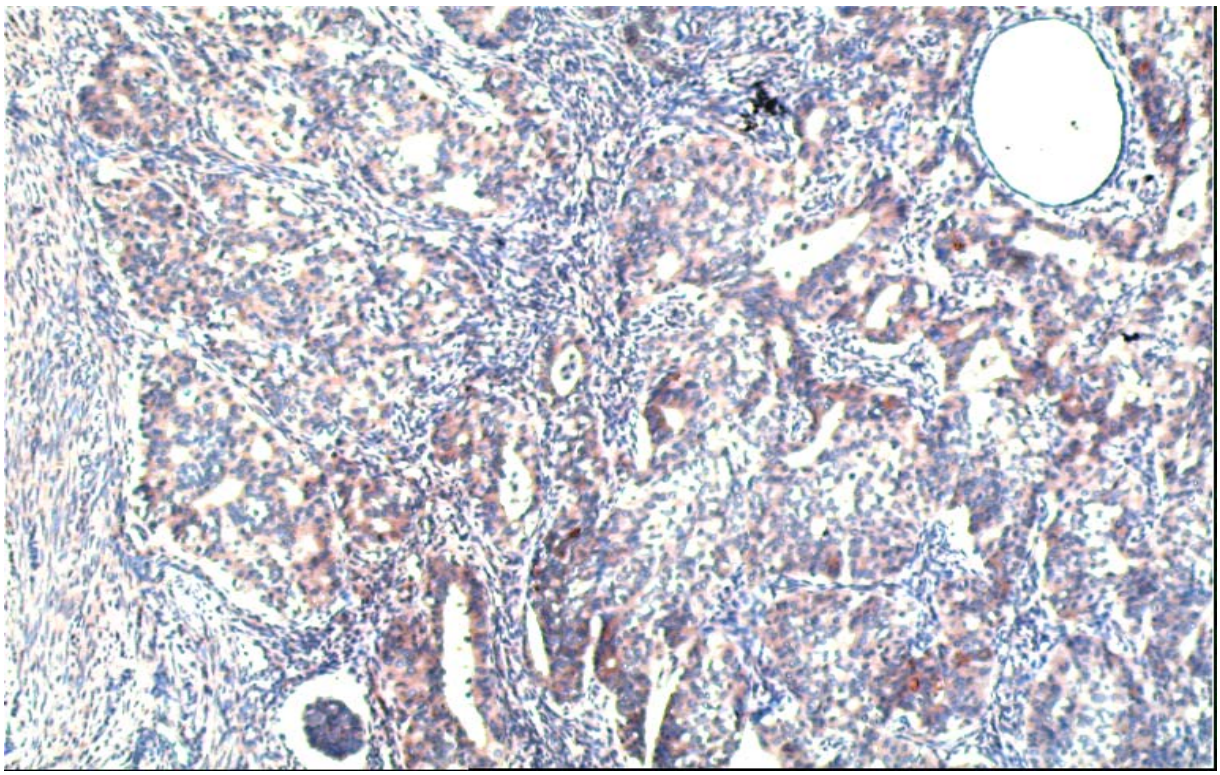
Şekil 22. Derece 3 endometrioid karsinomda LPA2 ile fokal kuvvetli boyanma (immünoperoksidaz X 200)



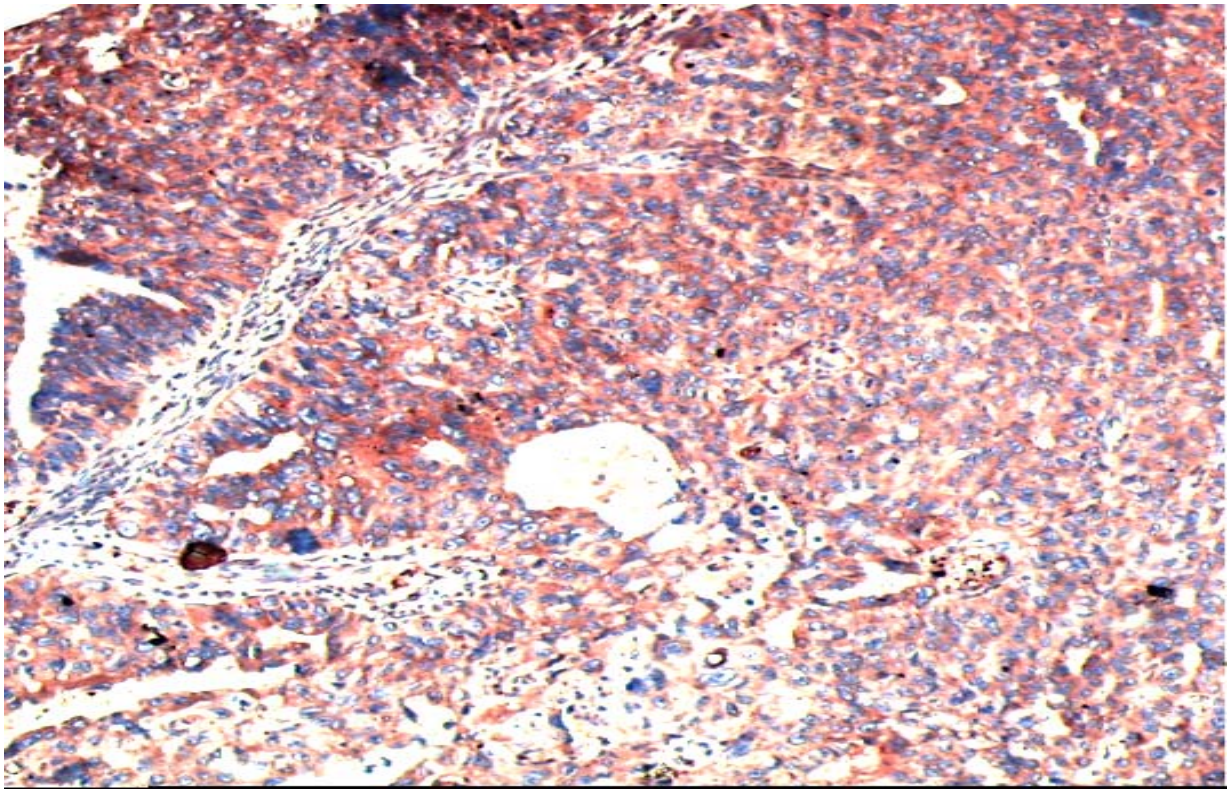
Şekil 23. Atipisiz endometriyal hiperplazide MMP-2 ile yaygın kuvvetli boyanma paterni (immünoperoksidaz x 100).



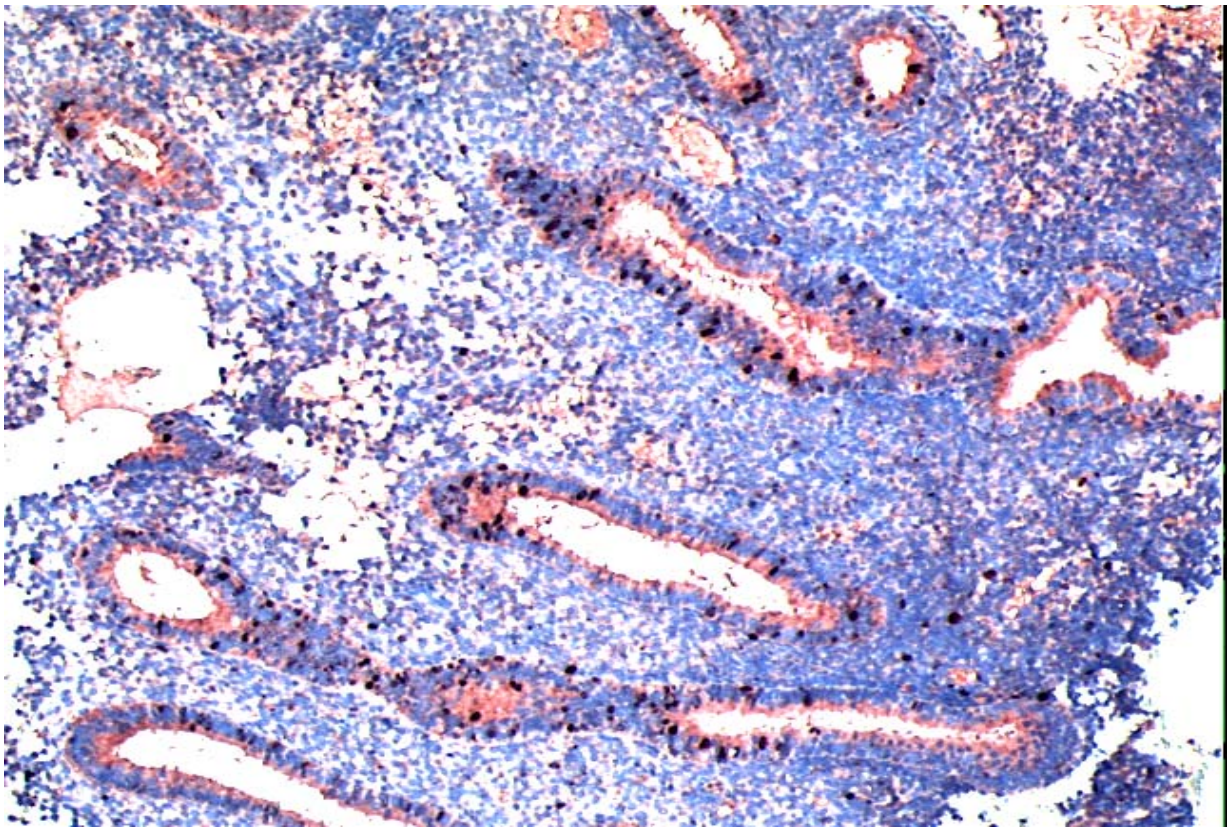
Şekil 24. Derece 1 endometrioid karsinomda MMP-2 ile fokal kuvvetli boyanma (immünoperoksidaz X 100)



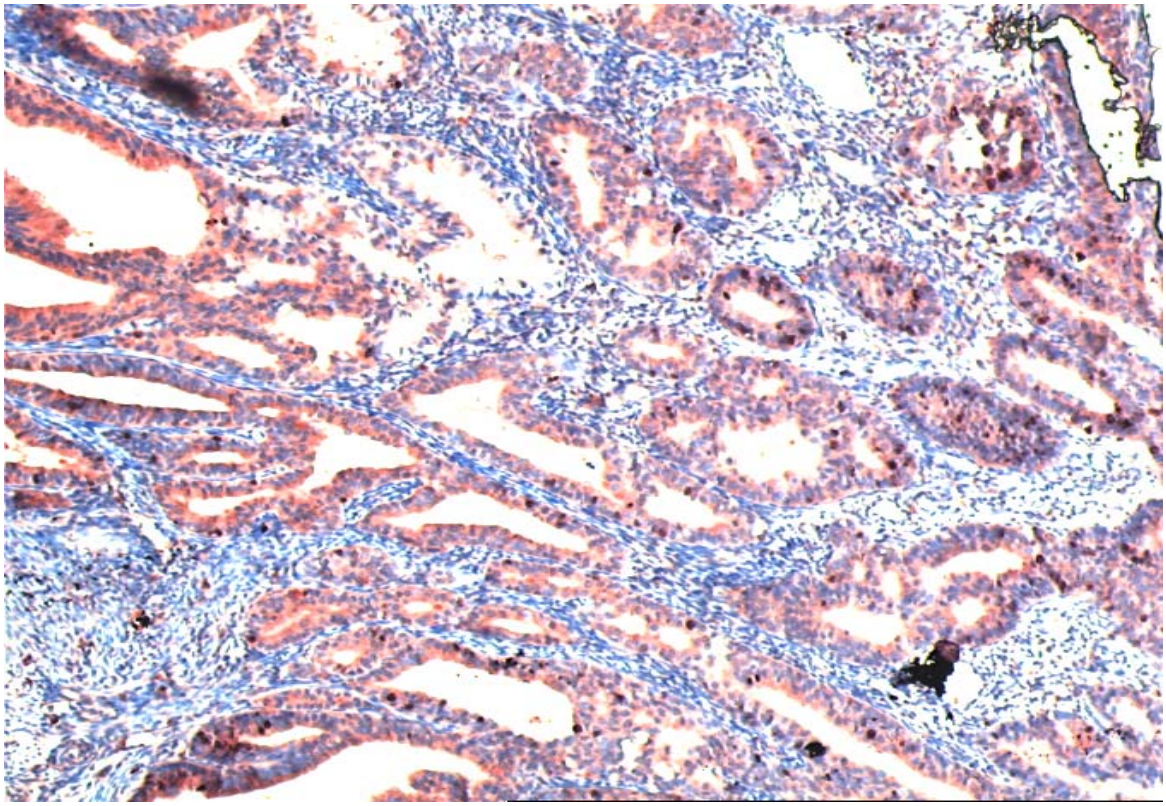
Şekil 25. Derece 2 endometrioid karsinomda derece 1'e göre daha difüz boyanma izlenmekte (immünoperoksidaz x 100)



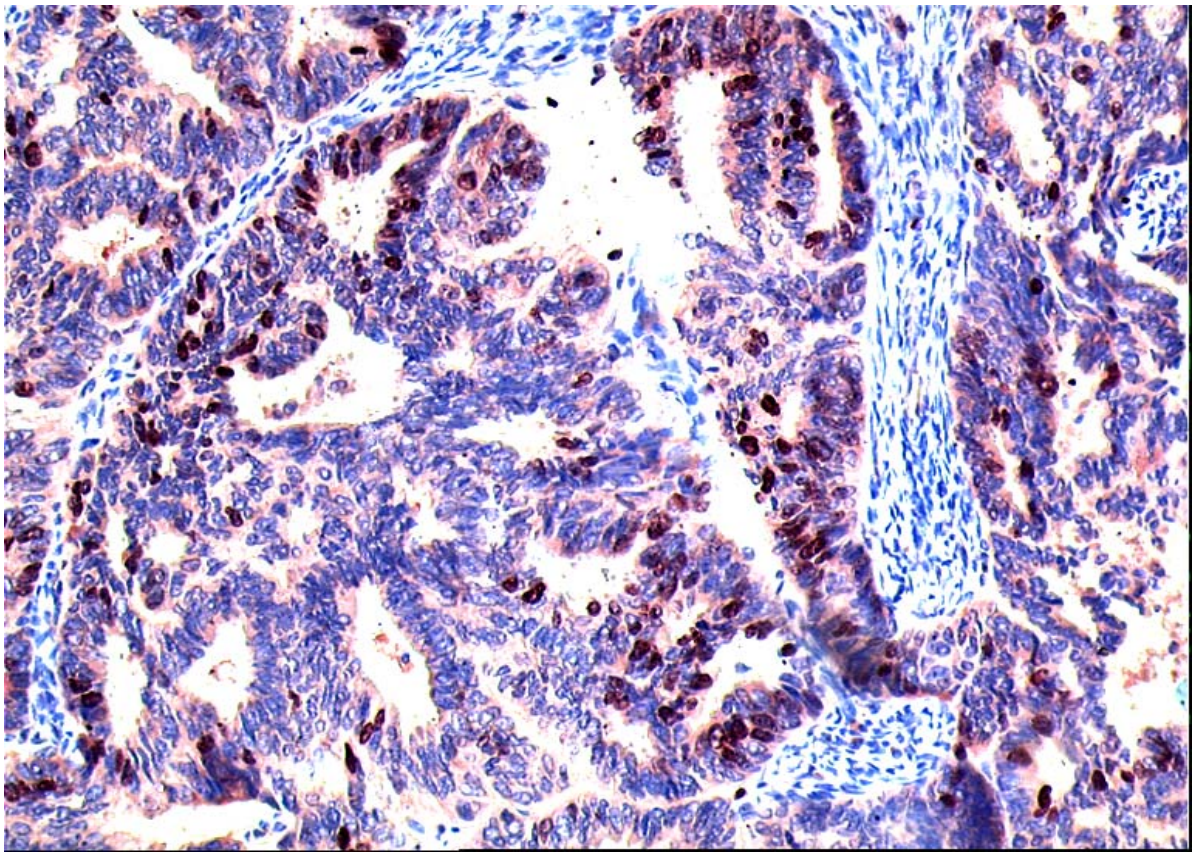
Şekil 26. Derece 3 endometrioid karsinomda MMP-2 ile difüz kuvvetli boyanma (immünoperoksidaz x 400)



Şekil 27. Atipisiz endometriyal hiperplazide Ki-67 ile nükleer boyanma (immünoperoksidaz X 100)



Şekil 28.Atipili endometriyal hiperplazide Ki-67 ile nükleer boyanma (immünperoksidaz X 100)



Şekil 29. Derece 1 endometrioid karsinomda Ki-67 ile pozitif nükleer boyanma (immünoperoksidaz x 400)

Tablo 11. Olguların demografik ve morfolojik bulguları

No	B.No.	Yaş	Tanı	HD	MI	VI	LM	BYS	Evre	LPA1 H-S	LPA2 H-S	MMP2 H-S	Ki-67 %
1	5049-00	74	EEK	2	>1/2	Var	-	var	3A	2,4	2,4	3,6	43
2	5662-00	72	EEK	2	>1/2	yok	yok	yok	2B	1,2	0,6	3,2	47
3	1052-01	61	EEK	3	>1/2	var	-	-	3A	2,7	1,2	3,6	40
4	7294-01	52	EEK	2	>1/2	var	var	yok	3C	3,8	0,8	1,8	10
5	403-02	58	EEK	2	<1/2	yok	yok	yok	3B	0	0,9	2,8	10
6	1250-02	71	EEK	3	<1/2	var	-	var	3A	2,4	0,4	2,8	50
7	4013-02	50	EEK	3	>1/2	yok	-	-	1C	3,8	1,2	3,6	45
8	4875-02	56	EEK	3	>1/2	var	var	var	3C	0	0,4	3,6	45
9	7048-02	70	EEK	1	<1/2	yok	yok	yok	1B	3,8	0,6	2,7	25
10	181-03	68	EEK	1	>1/2	var	yok	-	2B	2,4	0,8	1,8	30
11	5267-03	47	EEK	2	<1/2	yok	yok	-	1B	1,8	0,2	3,2	58
12	5328-03	61	EEK	1	>1/2	yok	yok	yok	1C	3,8	1,5	2,8	45
13	5916-03	68	EEK	1	>1/2	var	yok	yok	1C	3,6	1,5	3,6	50
14	7611-03	68	EEK	1	<1/2	yok	-	-	1B	3,8	1,8	1,2	30
15	7945-03	71	EEK	1	>1/2	yok	yok	yok	1C	3,6	0,4	0,8	10
16	8447-03	39	EEK	1	>1/2	yok	-	-	1C	1,8	0,9	2,4	45
17	8819-03	64	EEK	2	>1/2	var	yok	yok	1C	3	2,7	2,8	48
18	1183-04	73	EEK	1	<1/2	yok	-	-	2A	3,6	0,4	1,8	40
19	695-05	56	EEK	2	>1/2	yok	yok	yok	1C	3,2	0,9	1,8	55
20	1120-05	55	EEK	2	>1/2	var	var	yok	3C	1,4	0,6	3,2	50
21	1013-04	46	Atipili EH							3,6	2,1	1,2	30
22	5096-05	64	Atipili EH							1,2	1,2	2,4	20
23	6044-05	50	Atipili EH							4	2,4	3,6	8
24	8443-05	48	Atipili EH							2,4	1,6	0,8	30
25	2330-06	52	Atipili EH							2,7	2,7	2,8	25
26	2992-06	53	Atipili EH							1,6	1,8	3	5
27	3256-06	51	Atipili EH							1,2	2	1,5	10
28	4134-06	73	Atipili EH							3	1,8	1,6	25
29	4185-06	50	Atipili EH							2,4	1,6	1,2	5
30	5103-06	43	Atipili EH							1,8	3	2,7	10
31	5133-06	46	Atipili EH							1,2	1,6	1,2	25
32	5931-06	44	Atipili EH							2,7	2,7	0,9	10
33	6424-06	52	Atipili EH							2,7	2,8	3,8	25

Tablo 11.(devamı) Olguların demografik ve morfolojik bulguları

No	B.No	Yaş	Tanı	HD	MI	VI	LM	BYS	Evre	LPA1 H-S	LPA2 H-S	MMP-2 H-S	Ki-67 %
34	1002-07	60	Atipili EH							2,8	2,4	2	2
35	1700-07	47	Atipili EH							1,5	1,2	2,7	30
36	1730-07	46	Atipili EH							1,2	1,8	2,8	8
37	2077-07	63	Atipili EH							2	2,4	2,4	30
38	2259-07	49	Atipili EH							0,9	2,1	1,4	5
39	3330-07	47	Atipili EH							2,7	0,9	2,7	40
40	77-08	52	Atipili EH							2	2,8	0,9	8
41	7102-04	71	Atipisiz EH							2,7	2,7	2,7	40
42	9190-04	53	Atipisiz EH							1,6	2,4	1,2	28
43	2198-05	46	Atipisiz EH							2,7	2,1	2,1	32
44	2353-05	78	Atipisiz EH							2	2,7	0,9	1
45	2551-05	47	Atipisiz EH							3,6	2,1	2,1	1
46	2858-05	59	Atipisiz EH							2,8	1,6	1,6	25
47	3080-05	53	Atipisiz EH							3,6	2,1	3,6	3
48	8035-05	48	Atipisiz EH							1,8	1,8	1,8	2
49	8913-05	47	Atipisiz EH							2,8	1,8	2,1	12
50	9642-05	49	Atipisiz EH							3,6	2,1	2,4	5
51	715-06	47	Atipisiz EH							2,8	0,6	3	40
52	931-06	59	Atipisiz EH							4	1,4	3	10
53	1327-06	50	Atipisiz EH							2,8	2,7	2,8	3
54	1426-06	50	Atipisiz EH							2,1	2,7	3,2	35
55	2895-06	68	Atipisiz EH							2,9	1,2	2,4	20
56	5634-06	47	Atipisiz EH							2,8	0,4	2,4	25
57	7271-06	48	Atipisiz EH							3,2	2,3	2,4	5
58	1652-07	51	Atipisiz EH							2,7	2,4	2,1	20
59	2454-07	56	Atipisiz EH							2,7	1,8	2,4	45
60	3218-07	45	Atipisiz EH							3,2	1,6	3,6	1

B.No: Biyopsi numarası, **HD:** Histolojik derece , **MI:** Miyometriyal invazyon derinliği ,**VI:** Vasküler invazyon, **LM:** Lenf nodu metastazı, **H-S:** H-Skor, **EEK:** Endometrioid tip endometriyal karsinom , **EH:** Endometriyal hiperplazi.

TARTIŞMA

Endometriyal karsinom kadın genital sisteminde en sık görülen malign neoplazidir (2,3,17). Endometriyal karsinomlar endometrioid ve özel varyant tipleri olmak üzere iki ana gruba ayrılırlar (3). En sık endometriyal adenokarsinom tipi olan endometrioid karsinomlu olguların %80'i postmenapozaldir ve yaş ortalamaları 59'dur, sadece %1-8'i 40 yaşın altındadır (1,3,31). Çalışma grubumuzdaki EEK olgularının yaş ortalamalarının 61,2 oluşu literatür ile uyumludur.

Anormal vajinal kanama ile semptom veren EK'ların genellikle erken evrede tanı aldıkları bilinmektedir. Çalışma grubumuzun da %50'sini FIGO evre 1 olgular oluşturmaktadır. EEK'ların büyük çoğunluğu histolojik derece 1 olarak ortaya çıkmaktadır (35). Çalışma grubumuzdaki EEK olgularının ise %40'ı derece 1'dir.

Endometriyal adenokarsinomlu hastalarda prognoz genel olarak üç parametreye bağlıdır, bunlar tümörün evresi, miyometriyal invazyonun derinliği, tümörün histolojik alt tipi ve derecesidir (3,31). Tedavinin planlanmasında kullanılan FIGO evrelemesi EK'lı hastalarda tek başına en önemli prognostik belirleyicidir (35). Beş yıllık hastalıksız sağkalım evre 1'de %90, evre 2'de %83 ve evre 3'de ise %43 olarak bildirilmiştir (82). Elimizde 2000-2005 yılları arasında tanı alan ve takip edilen karsinom olgularının hepsine ilişkin ortalama 2 yıllık sağkalım verileri mevcut olup buna göre çalışmamızdaki karsinom olgularında 2 yıllık hastalıksız sağkalım evre 1'de %56, evre 2'de %40, evre 3'de %25'tir. Bu veriler literatür ile kısmen uyumluluk göstermektedir.

EK'larda histolojik derecelendirmenin prognostik değeri olduğu bilinmektedir (83). Zaino ve ark. (84) beş yıllık rölatif sağkalımı derece 1'de %94, derece 2'de %84, derece 3'de

%72 olarak bildirmişlerdir. Elimizde karsinom olgularına ilişkin mevcut olan 2 yıllık sağkalım verilerilerine göre olgularımızda 2 yıllık rölatif sağkalım derece 1'de %75, derece 2 +3'de ise %45'tir. Bu veriler de literatür ile uyumluluk göstermektedir.

LPA değişik hücreler üzerinde çok geniş etkileri olan ve bu etkilerini LPA1, LPA2 ve LPA3 isimli üç adet G protein bağımlı transmembran reseptörleri ile gerçekleştiren en basit bioaktif fosfolipittir (14). Over tümörlerinde yapılmış olan birçok çalışmada LPA'nın proliferasyon, migrasyon, MMP aktivasyonu ve anjiogenezis ile ilişkili faktörlerin sekresyonunu stimüle ettiği rapor edilmiş ve sonuç olarak LPA'nın over tümörü gelişiminde pozitif rol oynadığı ileri sürülmüştür (13,68,70,71). Bununla birlikte LPA'nın diğer birçok tümördeki olası etkisi ve LPA reseptörlerinin bu tümörlerdeki ekspresyon paterni hakkında çok az bilgi mevcuttur (14,85). Endometriyumun premalign ve malign lezyonlarında LPA reseptör ekspresyonuna ilişkin immünohistokimyasal çalışma ise mevcut değildir.

Gschwind ve ark. (86)'nın moleküler düzeyde yaptıkları bir çalışmada LPA'nın 'epidermal büyüme faktör reseptörü (EGFR) transaktivasyonu' olarak da bilinen EGFR'ün tirozin fosforilasyonunu stimüle ettiği tespit edilmiştir. Bu sayede LPA'nın insan kanser hücrelerinde karsinogenezis ile ilişkili proliferasyon ve antiapopitoz gibi birçok biyolojik proçeslere neden olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Shida ve ark. (87) yaptıkları bir çalışmada LPA'nın insan kolon hücrelerinde migrasyon, adezyon, proliferasyon ve anjiogenik faktörlerin sekresyonunu indüklediğini invitro olarak göstermişlerdir. Aoki ve ark. (88) ise bunu sıklıkla lokal kanama ile ilişkili olan kolorektal karsinomlarda kanama odaklarındaki aktive trombositlerden sekrete edilen lisofosfotidilkolin, lisofosfotidiletanolamin ve lisofosfotidilserin gibi lisofosfolipidlerin lisofosfolipaz D aktivitesi ile LPA'ya dönüşümü ile açıklamışlardır.

Dai ve ark. (14) kolorektal karsinom tanısı almış 26 olguda ve normal kolon mukozasına sahip 16 olguda RT-PCR yöntemi ile LPA1 ve LPA2 mRNA seviyelerine bakmışlar ve LPA1 mRNA seviyesini kanser dokusunda normal dokuya göre daha düşük bulmuşlardır. Tersine LPA2 mRNA seviyesini karsinom vakalarında belirgin derecede yüksek tespit etmişlerdir. Ardından LPA2 antikoru ile yaptıkları immünohistokimyasal analizde normal kolorektal dokuya göre kanser dokusunda daha yoğun boyanma izlenmiş olup bu boyanmayı sitoplazmik ve membranöz boyanma paterni şeklinde tespit etmişlerdir. Adenomlarda ise LPA2 boyanma yoğunluğunu normal kolorektal epitele benzer şekilde bulmuşlardır.

Schulte ve ark. (89)'nın tiroid dokusunda yaptıkları bir çalışmada ise LPA2 mRNA seviyesinin normal tiroid ya da guatrlı vakalara göre tiroid kanserlarinde 3 kat arttığı tespit edilmiştir.

Hiroharu ve ark. (15)'nın primer gastrik karsinom tanısı almış olan 204 hastaya ait preperatlarda yaptıkları çalışmalarda LPA2 intestinal tip gastrik karsinom tanılı 88 vakanın %67'inde, diffüz tip gastrik karsinom tanılı 113 vakanın ise %36'sında pozitif bulunmuştur. %50'den fazla vakada kolayca göze çarpan bununla birlikte hemen hemen tüm tümör hücrelerinde mevcut olan sitoplazmik ve membranöz boyanma tespit etmişlerdir. Benzer şekilde bizim vakalarımızda da hemen hemen tüm endometrial karsinomlu olgularda boyanma olmakla birlikte boyanma şiddeti ve yaygınlığı farklılık gösterdiğinden H skorlaması yapılmış ve daha objektif sonuçlar elde edilmiştir (81). Hiroharu ve ark. (15) intestinal tip gastrik karsinomlardaki LPA2 ekspresyonunun yaş haricinde hiçbir prognostik faktörle korelasyonunu tespit edememişler tersine diffüz tip gastrik karsinomlarda LPA2 pozitifliliğinin daha yüksek lenfatik ve venöz invazyon yanısıra yüksek metastatik lenf nodu sayısı ile birlikteliğini tespit etmişlerdir. Bizin çalışmamızda ise endometrioid karsinom LPA2 H-skor değerleri istatistiksel anlamlılık gösterecek şekilde atipili endometriyal hiperplazi ve atipisiz endometriyal hiperplazi LPA2 H-skor değerlerinden düşük bulunmuştur (P<0,05) (Tablo 9). Derece 2+3 endometrioid karsinomlardaki LPA2 H-skor değeri derece 1'e göre hafif yüksek tespit edilmiş ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 6).

Joji ve ark. (90)'nın invaziv duktal karsinom tanısı almış olan 25 vakada RT-PCR yöntemi ile yaptıkları çalışmada ise LPA1 mRNA seviyesi normal ve kanserli meme dokusunda eşit seviyede tespit edilirken, LPA2 mRNA'sının kanser dokusunda normal dokuya göre daha fazla eksprese edildiği, LPA3'ün ise hem kanser dokusunda hem de normal dokuda düşük eksprese edildiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada 84 invaziv duktal karsinom vakasında LPA2 ile yaptıkları immünohistokimyasal çalışmalarda vakaların %57'sinde LPA2 ile karsinom hücrelerinde normal meme epitel hücrelerine göre daha güçlü sitoplazmik ve membranöz boyanma elde etmişlerdir.

Fishman ve ark. (70)'nın yaptıkları bir çalışmada ise LPA'nın over kanserlerinin invazyonunda potansiyel rolü olduğu ve bunu da MMP-2 ve ürokinaz sekresyonunu aktive ederek gerçekleştirdiği rapor edilmiştir.

Bizim çalışmamızda LPA1 ile pozitif boyanan vakaların yüzdesi atipisiz endometriyal hiperplazide %100, atipili hiperplazide %95, derece 1 endometrioid karsinomda %100, derece 2+3 endometrioid karsinomda %82 olarak tespit edilmiştir (Tablo 7). LPA1 en yüksek H-skor değeri atipisiz endometriyal hiperplazide elde edilmiş, bunu az bir farkla endometrioid

karsinom izlemiştir (Tablo 5, Şekil 7). Atipisiz endometriyal hiperplazi ve atipili endometriyal hiperplazi LPA1 H-skor değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (*P*=0,009) (Tablo 8). LPA1 H-skor değeri endometriod karsinom olgularında derece ile ters orantılı bir ilişki göstermiştir. Buna göre derece 1 endometrioid karsinomdaki LPA1 H-skor değeri derece 2+3 endometrioid karsinomdakinden daha yüksek bulunmuştur (*P*=0,044*)* (Tablo 6).

Çalışmamızda LPA2 ile pozitif boyanan vakaların yüzdesi atipisiz ve atipili endometriyal hiperplazide %95, derece 1 endometrioid karsinomda %38 ve derece 2+3 endometrioid karsinomda %34'dür (Tablo 7). LPA2 ile en yüksek H-skor değeri atipili endometriyal hiperplazide elde edilmiş, bunu sırası ile atipisiz endometriyal hiperplazi ve endometrioid karsinom izlemiştir (Tablo 5, Şekil 9).

LPA1 ve LPA2 reseptörlerinin endometriyumun endometrioid tip adenokarsinomu ve prekürsör lezyonlarındaki dağılım paternini araştırmak için yaptığımız bu çalışmada Joji ve ark. (90)'nın meme dokusunda RT-PCR yöntemi ile yaptıkları çalışmaya benzer şekilde LPA1 reseptörü kanser dokusunda atipisiz hiperplaziye benzer şekilde eksprese edilmektedir. Ancak bizim çalışmamızda LPA2 reseptör ekspresyonu diğer birçok organ tümörlerinde yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlara ters olacak şekilde hiperplaziden karsinoma geçişte belirgin bir artış göstermemiş, aksine azalma göstermiştir (Tablo 9).

Endometriyal karsinomların prekürsör lezyonları monoklonal olmakla birlikte son zamanlarda yapılan çalışmalarda hormonal regülasyon, gen mutasyonu, adezyon molekülleri, apopitoz, MMPs ve TIMPs içeren çok basamaklı bir proçes olduğu ileri sürülmüştür (21,91-96). Yapılan birçok moleküler çalışmada MMPs ve TIMPs'ın normal endometriyumun menstrual siklusdaki matriksin yeniden yapılanması üzerine olan rolleri araştırılmıştır (97,98). Hiperplastik endometriyum ve endometrioid tip adenokarsinomdaki ekspresyonları konusunda ise sadece birkaç çalışma mevcuttur. Aglund ve ark. (99) ve Guo ve ark. (100)'nın endometriyal karsinomlarda immünohistokimya ve insitu hibridizasyon yöntemleri ile yaptıkları çalışmalarda MMP-2 ve/veya MMP-9'un histolojik derece ve hastalığın evresi ile korele olduğu tespit edilmiştir.

Graesslin ve ark. (101)'nın hiperplastik endometriyum tanısı almış 39 (17'si atipisiz, 22'si atipili hiperplazi) ve endometrioid karsinom tanısı almış 38 vakada immünohistokimyasal yöntemle yaptıkları çalışmada MMP-2 antikoru ile atipili endometriyal hiperplazide atipisiz endometriyal hiperplaziye göre daha yüksek sitoplazmik boyanma eğilimi tespit edilmiştir. Endometrioid karsinom vakaları ise atipili hiperplazili vakalarına göre daha yüksek boyanma eğilimi göstermiştir. Ayrıca Graesslin ve ark. bu çalışmada

endometrioid karsinom vakalarında MMP-2 ekspresyonunun histolojik derece ile doğru orantılı olarak arttığını tespit etmişler, ancak MMP-2 ekspresyonu ile FIGO evresi, vasküler/lenfatik invazyon ya da hastalıksız sağkalım arasında ilişki bulamamışlardır.

Yapmış olduğumuz çalışmada da MMP-2 antikoru ile önceki çalışmalara benzer şekilde atipili-atipisiz endometriyal hiperplazi ve endometrioid karsinomda epitel hücrelerinde sitoplazmik boyanma tespit edilmiş olup LPA1 ve LPA2 antikorlarındaki değerlendirmeye benzer şekilde H-skor değerleri her vakada ayrı ayrı hesaplanmış, yani boyanma yoğunluğu ve şiddeti tek bir değer altında birleştirilerek daha objektif sonuçlar elde edilmeye çalışılmıştır. Bu şekilde MMP-2 ile pozitif boyanan vakaların yüzdesi atipisiz endometriyal hiperplazide %95, atipili endometriyal hiperplazide %85, derece 1 endometrioid karsinomda %95 ve derece 2+3 karsinomda %100'dür (Tablo 7). Literatürdekine benzer şekilde (102) MMP-2 ile en kuvvetli değeri endometrioid karsinom olgularında elde edilmiştir (Tablo 5). Ancak endometrioid karsinom ile atipili ve atipisiz endometriyal hiperplazi MMP-2 H-skor değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Yine literatürlerdekine benzer şekilde derece 2+3 endometrioid karsinom olgularındaki MMP-2 H-skor değerleri derece 1 endometrioid karsinom olgularına göre belirgin derecede yüksek olup bu fark istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur (*P*=0,049*)* (Tablo 6, Şekil 26).

LPA1 ve LPA2 H-skor değerleri ile MMP-2 H-skor değerlerini birbirleri ile karşılaştırmak için yaptığımız korelasyon testinde ise sadece endometrioid karsinom olgularında LPA1 ve MMP-2 H-skor değerleri arasında orta derecede bir ilişki saptanmış olup, atipili ve atipisiz hiperplazilerde ilişki gösterilememiştir (Tablo 10).

Endometriyal kanser hücrelerinin diferansiasyonu hücre siklusunu destekleyen ve engelleyen çeşitli faktörler ile düzenlenen proliferasyonu gösterbilmek amacıyla uygulanan Ki-67 indeksi, endometriyal karsinomun FIGO evresi, histolojik tipi ve histolojik derecesi ile anlamlı olarak ilişkilidir (61,101). Endometriyal karsinomlarda Ki-67 reaktifliği karsinom derecesi ile birlikte yükselme göstermektedir ve nükleer Ki-67 ekspresyonu bağımsız bir prognostik faktör olarak kabul edilmektedir (102-104). Bizim çalışmamızda da endometrioid karsinom olgularında Ki-67 indeksi atipili ve atipisiz endometriyal hiperplazi olgularından anlamlı olarak daha yüksektir (*P*=0,000) (Şekil 13). LPA1 ve LPA2 antikorlarının H-skor değerlerini proliferasyon indeksi belirleyicisi olan Ki-67 boyanma paterni ile karşılaştırmak için yapılan korelasyon testinde ise her üç olgu grubunda da LPA1 ve LPA2 ile Ki-67 antikorları arasında zayıf bir ilişki saptanmış olup bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (*P*>0,05).

Endometriyum hiperplazilerinde ve kanserlerinde LPA antikor expresyonunu gösteren immunohistokimyasal çalışma literatürde bulunamamıştır. Dolayısı ile çalışmamız bu konuda ilktir. Ayrıca diğer organlar ve organ kanserleri ile ilgili LPA çalışmaları arasında immunohistokimyasal yönteme nadiren başvurulmuştur. Piyasada ticari üretimi yapılan ve dolayısıyla bizim temin edebildiğimiz LPA antikoru poliklonal olup, monoklonal LPA antikorunun ticari üretimi mevcut değildir. Daha önceki çalışmalarda kullanılan LPA antikoru ise çalışmayı yapan kişilerin kendi laboratuvar koşullarında hazırladıkları monoklonal LPA antikorudur. Bu nedenlerle, yaptığımız çalışmanın sonuçlarının özellikle prognozu belirli olan daha geniş seri çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir. Bunun yanısıra benzer immünohistokimyasal çalışmalarda monoklonal LPA2 antikoru kullanılmasının sonucu olumlu yönde etkiliyebileceği düşünülmektedir. Diğer organ karsinomlarında LPA reseptörlerinin özellikle de LPA2'nin dağılım paternine ilişkin immünohistokimyasal yöntem kullanılarak yapılan çalışmalarda LPA immünoreaktivitesi 'LPA pozitif ve LPA negatif olgular' şeklinde değerlendirilmiştir. Biz ise bu çalışmamızda LPA1 ve LPA2'nin yanısıra MMP-2 antikorları ile oluşan immünreaktiviteyi 'H-skor' ve her olgu grubu için ayrı ayrı H-skor ortalaması şeklinde değerlendirdik. Bu değerlendirme şekli ile elde edilen sonuçların daha objektif olduğu düşünüldüğünde, önceki çalışmalar ile yaptığımız çalışma arasındaki farklılıkların kısmen yöntem değişikliğine de bağlı olabileceği söylenebilir.

Görünen odur ki, LPA1 ve LPA2 antikorları endometriyal premalign ve malign lezyonlarda diğer organlardakine göre daha az reaksiyon vermekte olup genel olarak MMP-2 ve prognostik belirleyiciler ile aralarında anlamlı ilişki göstermemektedir. Bu nedenle çalışma sonuçları endometriyal kanserlerin LPA2 ile ilişkisini, belki de bu kanserlerin LPA antagonistleri ile tedavi edilmesini destekler nitelikte değildir ve yeni çalışmaların desteğine ihtiyaç göstermektedir.

SONUÇLAR

Klinik prognozu bilinen 20 endometrioid tip karsinom ve 40 atipili-atipisiz endometriyal hiperplazili olguda immünohistokimyasal yöntemle LPA1 ve LPA2 antikorlarının ekpresyon paternini araştırıp, verileri Ki-67 ve MMP-2 antikorları ile, ayrıca histopatolojik ve klinik proliferatif ve prognostik faktörlerle karşılaştırmak amacıyla yaptığımız bu çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar şunlardır;

1. LPA1 ile elde edilen H-skor değerleri karşılaştırıldığında endometrioid karsinom ile atipili endometriyal hiperplazi ve endometrioid karsinom ile atipisiz endometriyal hiperplazi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yok iken, atipisiz endometriyal hiperplazi ve atipili endometriyal hiperplazi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark elde edilmiştir (P<0,05) (Tablo 8). Buna göre LPA1 reaktivitesi atipisiz endometriyal hiperplazide atipili hiperplaziden belirgin derecede yüksek iken, endometrioid karsinom ile benzer şekildedir.

2. Endometrioid karsinom olgularında LPA1 elde edilen H-skor değerlerinin histolojik derece ile olan ilişkisine bakıldığında LPA1'in derece 1 endometrioid karsinom olgularında decerece 2 + 3'e göre daha yüksek eksprese edildiği tespit edilmiş olup, bu fark istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur (P<0,05) (Tablo 6). Buna göre LPA1'in endometrioid karsinom olgularında histolojik derece ile ters orantılı bir ilişkisi olduğu sonucuna varılmıştır.

3.LPA2 ile elde edilen H-skor değerleri karşılaştırıldığında atipili endometriyal hiperplazi ile endometrioid karsinom ve atipisiz endometriyal hiperplazi ile endometrioid karsinom arasında istatistiksel olarak anlamlı fark elde edilmiştir (P<0,05) (Tablo 9). Buna göre LPA2 reaktivitesi endometrioid karsinoma göre hiperplazide özellikle de atipili

hiperplazide yüksek seviyelerdedir. Atipisiz hiperplazide ise atipili hiperplaziye yakın ancak hafif düşük bulunmuştur.

4. Endometrioid karsinom olgularında LPA2 ile elde edilen H-skor değerlerinin histolojik derece ile olan ilişkisine bakıldığında LPA2'nin derece 2 +3 endometrioid karsinom olgularında derece 1'e göre yüksek oranda eksprese edildiği tespit edilmiştir ancak bu fark istatistiksel anlam taşımamaktadır (Tablo 6).

5. MMP-2 ile elde edilen H-skor değerleri karşılaştırıldığında endometrioid karsinomda en yüksek, atipili hiperplazide en düşük, atipisiz endometriyal hiperplazide ise endometrioid karsinoma yakın ancak hafif düşük ortalama değer elde edilmiş ancak bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

6. Endometrioid karsinom olgularında MMP-2 ile elde edilen H-skor değerlerinin histolojik derece ile olan ilişkisine bakıldığında MMP-2'nin derece 2+3 endometrioid karsinomlu olgularda derece 1'e göre belirgin derece yüksek eksprese edildiği tespit edilmiş ve bu fark istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur (P<0,05) (Tablo 6). Buna göre MMP-2 ekspresyonun endometrioid karsinomlu olgularda histolojik derece ile doğru orantılı olarak arttığı sonucuna varılmıştır.

7. Ki-67, bir proliferasyon indeksi olarak beklendiği gibi, hiperplaziden malignite yönüne ilerlemeyle belirgin bir artış kaydetmektedir ki, bu da atipili ve atipisiz endometriyal hiperplazi ve endometrioid karsinom Ki-67 değerlerinin karşılaştırılması sonucunda elde edilen anlamlı istatistiksel sonuç ile ispatlanmıştır *(*P=0,000*).*

8. LPA1 ve LPA2 antikorlarının H-skor değerlerini MMP-2 H-skor değerleri ile karşılaştırmak amacıyla üç olgu grubu arasında ayrı ayrı yapılan korelasyon testinde sadece endometrioid karsinomlu olgu grubunda LPA1 ve MMP-2 antikorlarının H-skor değerleri arasında istatistiksel olarak da anlamlı bulunan orta dececede bir ilişki saptanmıştır (Tablo 10).

9. LPA1 ve LPA2 antikorlarının H-skor değerlerini Ki-67 boyanma paterni ile karşılaştırmak için yapılan korelasyon testinde her üç olgu grubunda da LPA1 ve LPA2 ile Ki-67 antikorları arasında zayıf bir ilişki saptanmış olup bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (P>0,05).

10. LPA1, LPA2 ve MMP-2 H-skor değerlerinin endometrioid karsinom olgularında evre ile ilişkilerine bakıldığında LPA1 H-skor ortalaması evre 1'de, LPA2 ve MMP-2 H-skor ortalamaları ise evre 2+3 tümörlerde daha yüksek bulunmuş ancak bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (P>0,05)

ÖZET

Endometriyal karsinomlar günümüzde kadın genital sisteminde en sık görülen malign tümörlerdir. Olguların %80 den fazlası tip I (endometrioid tip) adenokarsinom olup tanı sırasında genellikle uterusa sınırlı olmaları nedeniyle tedavi edilebilen ve sıklıkla endometriyal hiperplazi ile ilişkisi olan tümörlerdir.

Lisofosfatidik asit hücreler üzerinde çok geniş etkileri olan temel gliserofosfolipidlerden birisidir. Bu etkilerden başlıcaları; düz kas kontraksiyonu, hücre proliferasyonu regülasyonu, apopitozisin engellenmesi, kemotaksis ve hücreler arası migrasyonun regülasyonudur. Lisofosfatidik asit tüm bu etkilerini G protein bağımlı reseptörleri üzerinden gerçekleştirmektedir. Bu reseptörlerin başlıcaları LPA1, LPA2 ve LPA3'dür. Lisofosfatidik asit ile ilgili başta over olmak üzere, kolon, mide ve meme tümörü üzerine yapılan çalışmalarda daha çok lisofosfatidik asit reseptörlerinin dağılım paterni ve lisofosfatidik asitin tümör progresyonu üzerindeki olası etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmalara göre LPA1 normal dokuda, LPA2 kanserli dokuda daha yüksek konsantrasyonda bulunmuştur. LPA3 ise hem kanserli dokuda hem de normal dokuda düşük bulunmuştur. Endometriyumda ve endometriyal tümörlerde lisofosfatidik asit reseptörlerinin ekspresyon paterni ve lisofosfatidik asitin endometriyal tümörlerdeki olası etkisi konusunda henüz yeterince bilgi mevcut değildir.

Bu doğrultuda endometrial tümörler ve hiperplazilerde lisofosfatidik asitin boyanma paternini değerlendirmek amacıyla Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivinden seçilen 60 adet tanısal olgu çalışmaya dahil edilmiştir. Olguların 20 tanesi endometrioid karsinom, 20 tanesi atipili endometriyal hiperplazi ve diğer 20 tanesi de atipisiz endometriyal hiperplazi tanısı almıştır. Olguların her birine yeni kesitler yapıldıktan sonra

rutin hematoksilen-eozin boyası tekrarlanmış, seçilen tanısal blokların kesitleri immünohistokimyasal olarak LPA1, LPA2, MMP-2 ve Ki-67 antikorları ile boyanmıştır.
Elde edilen verilere göre LPA1 boyanmasının en yüksek düzeylere atipisiz endometriyal hiperplazi olgularında eriştiği ancak endometrioid karsinom olgularında da buna çok yakın değerlerde olduğu görülmüştür. Ayrıca LPA1 boyanmasının endometrioid karsinom olgularında histolojik derece ile ters orantılı bir ilişkisi olduğu tespit edilmiştir. LPA2 boyanmasının en yüksek düzeylere atipili endometriyal hiperplazi olgularında eriştiği, en düşük boyanmanın ise endometrioid karsinom olgularında olduğu görülmüştür. Endometrioid karsinom olgularında LPA2'nin derece ile ilişkisi gösterilememiştir. MMP-2'nin endometrioid karsinom olgularında histolojik derece ile doğru orantılı olarak arttığı tespit edilmiştir. LPA1, LPA2 ve MMP-2 antikorları arasında yapılan korelasyon testinde ise sadece endometrioid karsinom olgularında LPA1 ve MMP-2 H-skor değerleri arasında orta derecede bir ilişki saptanmıştır. LPA1 ve LPA2 ile proliferasyon indeksi belirleyicisi olan Ki-67 arasında yapılan korelayon testinde ise anlamlı bir ilişki gösterilememiştir. LPA1, LPA2 ve MMP-2 H-skor değerlerinin endometrioid karsinom olgularında evre ile ilişkilerine bakıldığında LPA1 H-skor ortalaması evre 1'de, LPA2 ve MMP-2 H-skor ortalamaları ise evre 2+3 tümörlerde daha yüksek bulunmuş ancak bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Anahtar Kelimeler: LPA, immunohistokimya, endometrium, karsinom, hiperplazi

COMPARISON OF LPA1 AND LPA2 RECEPTOR EXPRESSION OF ENDOMETRIOID CARCINOMAS AND ENDOMETRIAL HYPERPLASIAS WITH PROLIFERATIVE AND PROGNOSTIC FACTORS

SUMMARY

Endometrial carcinomas are the most common tumors of the female genitalia. More than 80% of the cases are type I (endometrioid) adenocarcinomas, thus can be curable as they are contined to the uterus at the time of diagnosis and are frequently associated with endometrial hyperplasia.

Lysophosphatidic acid is one of the basic glycerophospholipids which has great influence on cells. Some of these influences are contraction of the smooth muscles, regulation of the cellular proliferation, inhibition of apoptosis, chemotaxis and regulation of the migration between cells. Lysophosphatidic acid achieves all those influences via its G protein bound receptors; mainly LPA1, LPA2 and LPA3 receptors. In the studies about lysophosphatidic acid receptors, bascily held on the ovary and some other organs such as colon, stomach and breast tumors, mostly the distribution pattern of the receptors and their probable affects on tumor progression has been sought. According to those studies LPA1 was in high concentrations in normal tissues while LPA2 was found mostly in cancer tissues. LPA3 was in low levels both in normal and in cancer tissues. There is still less knowledge

about the expression pattern of lysophosphatidic acid in normal endometrium and endometrial tumors and its probable influence on endometrial tumors.

In this concern, 60 diagnostic cases are obtained from the archives of Trakya University Medical Faculty, Pathology Laboratory to evaluate immunohistochemical profile of LPA in endometrial tumors and hyperplasias. Twenty of the cases were diagnosed as endometrioid carcinoma, while 20 were atypical hyperplasia and 20 were hyperplasia without atypia. Each of the cases were evaluated with hematoxylin- eosin stained new sections and immunohistochemically LPA1, LPA2, MMP2 and Ki67 were applied to the sections of selected representative blocks.

According to our findings LPA1 showed most intense staining in the hyperplasia cases without atypia, however, endometrioid carcinoma cases also showed very similar results. LPA1 staining in endometrial carcinoma cases showed an inverse relationship with the increasing grade. LPA2 staining reached highest levels in the atypical hyperplasia cases, and showed lowest staining in the endometrial carcinoma cases. LPA2 staining showed no relationship with grade of the endometrioid tumors. There was a direct relationship between MMP2 staining and histologic grade of the endometrioid tumors. On the correlation test between LPA1, LPA2 and MP2 antibodies, there was an intermediate degree relationship between H-score levels of LPA1 and MMP2 antibodies only in endometrioid carcinoma cases. There was no meaningful relationship between LPA1 and LPA2 antibodies and Ki67 antibody which is used for evaluating the proliferative index. When relationship between H-score values of LPA1, LPA2 and MMP2 antibodies with grades of the endometrioid carcinoma cases is sought, average value for LPA1 was higher in grade I carcinomas, average values of H-scores for LPA2 and and MMP2 were higher in the grade 2+3 cases, however this difference was not significant statistically.

Key words: LPA, immunohistochemistry, endometrium, carcinoma, hyperplasia

:

KAYNAKLAR

1. Hendricson MR, Kempson LR. Uterus and fallopian tubes. Stenberg SS, In histology for pathologists. Ist. New York: Raven pres; 1992.p797–835.

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

3. Hendrickson MR, Longacre TA, Kempson RL. The uterin corpus. In: Mıls SE, Carter D, Reuter VE, Greenson JK, Stoler MH, Oberman HA. Stenberg's diagnostic surgical Pathology. 4th. Ed.Philadelphia: Lipincott Williams & Wilkins; 2004.p.2435–43.

4. World Health Organisation (WHO). Tumors of the breast and female genital tract. Lyon: The institute; 2003.

5. Lee KR, Scully RE. Compleks endometrial hyperplasia and carcinoma in adolescent and young women 15 to 20 years of age: a report of 10 cases. Int J Gynecol Pathol 1989;8: 201–13.

6. Chamlian DL, Taylor HB. Enometrial hyperplasia in young women. Obstet Gynecol 1970;36:659–66.

7. Hecht JH, Weiner JA, Post SR and Chun J. Ventricular zone gene-1 (vzg-1) encodes a lysophosphatidic acid receptor expressed in neurogeni regions of the developing cerebral cortex. J Cell Biol 1996;135:1071–83.

8. Moolenaar WH. Bioactive lysophospholipids and their g protein-coupled receptors. Exp Cell Res 1999;1:230–8.

9. An S, Bleu T, Huang W, Hallmark OG, Coughli SR and Goetzl EJ Identification of cDNAs encoding two G protein-coupled receptors for lysosphingolipid. FEBS Lett 1997;417:279–82.

10. Dempke W, Rie C, Grothey A, Schmoll H-J. Cyclooxygenase-2: a novel target for chemotherapy. J Cancer Res Clin Oncol 2001;127:411–7.

11. Contos JJ, Fukushima N, Weiner JA, Kaushal D, Chun J. Requirement for the lpA1 lysophosphatidic acid receptor gene in normal suckling behavior. Proc Natl Acad Sci USA 2000;97:13384–9.

12. Bandoh K, Aoki J, Hosono H, Kobayashi S, Kobayashi T, Inoue K. Molecular cloning and characterization of a novel human G-protein-coupled receptor, EDG7, for lysophosphatidic acid. J Biol Chem 1999; 274:27776–85.

13. John S, Jason N, Feng-Qiang W, David A, Fishman DA. Lysophosphatidic acid enhances epitelial ovarian carcinoma invasion through the increased expression of interleukin-8 Gynecologic Oncology. 2004; 95:314–22.

14. Dai S, Toshiaki W, Junken A. Aberrant expression of lysophosphatidic acid (LPA) receptors in human colorectal cancer. Laboratory Investigation. 2004: 84;1352–62.

15. Hiroharu Y, Joji K, Dai S, Junken A. Differential Ekspression of Lysophosphatidic Acid Receptor -2 in Intestinal and Diffuse Type Gastric Cancer. Journal of Surgical Oncology 2006;93:30–5.

16. Xu Y, Shen Z, Wiper D, Wu M, Morton RE, Elson P. Lysophosphatidic acid as a potential biomarker for ovarian and other gynecolojic cancars. JAMA 1998;280:719–23.

17. Kurman RJ. Endometrial carcinoma, In: Blaustein's pahology of the female genital tract, 1 st ed. New York: springer; 1994.p.439–87.

18. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Basic Pathology 6th. ed. Philadelphia: WB. SaundersCompany, 1997.p.597–637.

19. Zaino RJ. Interpretion of endometrial biopsies and curettings. 1st ed. Philadelphia, Lipincott-Raven, 1996:11–22.

20. Mark E, Sherman A. Theories of Endometrial Carcinogenesis: A Multidisciplinary Approach Mod Pathol 2000;13:295–308.

21. Ioffe OB, Papadimitriou JC, Drachenberg CB. Correlation of proliferation indices, appopitosis and related oncogene expression (bcl-2 and c-erbB-2) and p53 in proliferative, hyperplastic and malignant endometrium. Hum Pathol 1998;29(10):1150–9.

22. Scully RE. Definition of precurseus in gynecologic cancer; 1981;48:531–7.

23. Whitehead MI, Townsend PT, Pryse-Davies J, Ryder TA, King RJB. Effects of estrojens and progestins on the biochemistry and morphology of the postmenopausal endometrium. N EngI J Med 1981;305:1599–605.

24. Longacre TA, Kempson RL, Hendrickson MR. Endometrial hyperplasia, metaplasia and carcinoma. In: Fox H(ed). Obstetrical and Gynaecological Pathology. 4th ed. NewYork, Chorchill Livingstone, 1995.Vol 1.p.421–510.

25. Kurman R, Kaminski PF, Norris HJ. The behavior of endometrial hyperplasia: a long-term study of ''untreated'' hyperplasia in 1970 patients. Cancer 1985;56:403–12.

26. Ambros RA. Simple hyperplasia of the endometrium: An evoluation of proliferative activitiy Ki–67 immunostaining. Int J Gyn Pathol 2000;19:206–11.

27. Silverberg S G. Problems in the differantial diagnosis of endometrial hyperplasia and carcinoma. Mod Pathol 2000;13:309–27.

28. Kanserle savaş politikası ve kanser verileri (195–1999). T.C. Sağlık Bakanlığı Kanserle Savaş Dairesi Başkanlığı, bakanlık yayın no: 618, Ankara 2002:140–8.

29. Haldun Güner. Jinekolojik onkoloji. 3. baskı. Ankara: Çağdaş medikal kitabevi, 2002:129–49.

30. Kushi AA, Lim P, Aquino-Parsons C, Gilk CB. Markers of Proliferative Activity Are Predictors of Patient Outcome for Low-Grade Endometrioid Adenocarcinoma But Not Papillary Serous Carcinoma of Endometrium, Mod Pathol 2002;15:365–71.

31. Al-Nafussi Al, Hughes DE. Histological diagnosis of tumors by pattern analysis: An A-Z guide. Edward Arnold, 1997:449–51.

32. Ikawa S, Sano T, Furumoto H, Aono T. Multidirectional differantion of endometrial carcinoma with special reference to tumor aggressiveness evaluated Ki–67 expression. Gyn Oncol 1999;72:323–30.

33. Lax FS, Pizer ES, Ronnett BM, Kurman RJ. Comparison of estrogen and progesterone receptor, Ki-67, and p53 immunoreactivity in uterine endometrioid carcinoma and endometrioid carcinoma with squamous, mucinous, secretory and ciliated cell differantion. Hum Pathol 1998; 29(9):924–31.

34. Giuffre G, Fulcheri E, Gualco M, Fedele F, Tuccari G. Standardized AGNOR analysis as a prognostic parameter in endometrial carcinoma, endometrioid type. Analy Quan Cyol Histol 2001;23:31-9.

35. Prat J. Prognostic parameters of endometrial carcinoma. Hum Pathol 2004;35(6):649–62.

36. Erdem O, Erdem M, Dursum A. Angiogenesis, p53, and bcl-2 expression as prognostic indicators in endometrial cancer: Comparsion with traditional clinicopathological variables. Int J Gynecol Path 2003;22:254–60.

37. Prat J, Oliva E, Lerma E. Uterine papillary serous adenocarcinoma: A 10-case study of p53 and c-erbB-2 expression and DNA content. Cancer 1994;74:1778–83.

38. Liotta LA, Rao CN, Barsky SH. Tumor invasion and the extracelluler matrix. Lab Invest 1983;49:636–49.

39. Woessner JF. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling. FASEB J 1991;5:2145–54.

40. Crawford HC, Matrisian LN. Tumor and stromal expression of matrix metalloproteinases and their role in tumor progression. Invasion Metastasis 1994–1995;14:234–45.

41. Furcht LT, Skubitz APN, Fields GB. Tumor cell invasion, matrix metalloproteinases, and the dogma. Lab Invest 1994;70:781–3.

42. Birkedal- Hansen H, Moore WGI, Bodden MK. Matrix metalloproteinases: A Review. Crit Rev Oral Biol Med 1993;4:197–250.

43. Greene J, Wang M, Liu YE, Raymond LA, Rosen C, Shi YE. Moleculer cloning and characterization of human tissue inhibitor of metalloproteinase 4. J Biol Chem 1996;271: 30375–80.

44. Aznavoorian S, Murphy AN, Stetler-Stevenson WG, Liotta LA. Molecular aspects of tumor cell invasion and metastasis. Cancer 1993;71:1368–83.

45. Chambers AF, Matrisian LM. Changing views of the role of matrix metalloproteinases in metastasis. J Natl Cancer Inst 1997;89:1260–70.

46. Butler GS, Butler MJ, Atkinson SJ, Will H, Tamura T, Schade van Westrum S et al. The TIMP2 membrane type 1 metalloproteinase ‘’receptor’’ regulates the concentration and efficent activation of progelatinase A. J Biol Chem 1998;273:871–80.

47. Ray JM, Stetler-Stevenson WG. The role of matrix metalloproteases and their inhibitors in tumour invasion, metastasis and angiogenesis. Eur Respir J 1994;7:2062–72

48. Nomura H, Fujimoto N, Seiki M, Mai M, Okada Y. Enhanced production of matrix metalloproteinases and activation of matrix metalloproteinase 2 (gelatinase A) in human gastric carcinomas. Int J Cancer 1996;69:9–16.

49. Maeta H, Ohgi S, Terada T. Protein expression of matrix metalloproteinases 2 and 9 and tissue inhibitors of metalloproteinase 1 and 2 in papillary thyroid carcinomas. Virchows Arch 2001;438:121–8.

50. Jones JL, Glynn P, Walker RA. Expression of MMP-2 and MMP-9, their inhibitors and the activator MT1-MMP9 in primary breast carcinomas. J Pathol 1999;189:161–8.

51. Sakata K, Shigemasa K, Nagai N, Ohama K. Expression of matrix metalloproteinases (MMP-2, MM-9, MT1-MMP) and their inhibitors (TIMP-1, TIMP-2) in common epithelial tumors of the ovary. Int J Oncol 2000;17:673–81.

52. Di Nezza LA, Misajon A, Zhang J, Jobling T, Quinn MA, Ostör AG et al. Presence of active gelatinases in endometrial carcinoma and correlation of matrix metalloproteinase expression with increasing tumor grade and invasion. Cancer 2002;94:1466–75.

53. Juarlaro M, Loverro G, Vacca A, Cormio G, Ribatti D, Minischetti M et al. Angiogenesis extent and expression of matrix metalloproteinase-2 and -9 correlates with upgrading and myometrial invasion in endometrial carcinoma. Eur J Clin Invest 1999;29:793–801.

54. Soini Y, Alarakkola E, Autio-Harmainen H. Expression of Messenger RNAs for metalloproteinases 2 and 9, type IV collagen, and laminin in nonneoplastic and neoplastic endometrium. Hum Pathol 1997;28:220–6.

55. Lelle RJ. In situ determination of the Ki-67 growth fraction (Ki-67) in human tumors.Acta Histochem Suppl 1990; 9:109-24.

56. Tan M, Strunc E, Scholzen T, Gerdes J, Vollmer G. Extracelluler matrix regulates steady-state Mrna levels of the proliferation associated protein Ki-67 in endometrial cancer cells.Cancer Letters 1999;140:145-52.

57. Vaskiuvuo TE, Stenback F, Karhumaa P. Apopitosis and apoptosis-releated proteins in human endometrium. Molecular and Cellular Endocrinology 2000;165:75–83.

58. Matsomoto Y,Iwasaka T, Yamasaki F,Sugimori H. Apoptosis and Ki-67 expression in adenomyotic lesions and in the corresponding eutopic endometrium. Obstet Gynecol 1999;94:71–7.

59. Pizer E, Lax S, Kuhajda F, Pasternack G, Kurman R. Fatty acid synthase expression in endometrial carcinoma.Cancer 1998;83:528-37.

60. Han A, Hovenden S, Rosenblum N, Salazar H. Adenocarcinoma arising in extraonadal endometriosis. Cancer 1998;83:1163–9.

61. Salvesen HB, Iversan OE, Akslen LA. Identification of high risk patients by assessment of nuclear Ki-67 expression in a prospective study of endometrial carcinomas. Clin Cancer Res 1998;4:2779–85.

62. Santos WL, Rosai JA, Boggs SD, MacDonald TL. The molecular pharmacology of lysophosphatide signaling. Ann N Y Acad Sci 2000;905:233–41.

63. Eichholtz T, Jalink K, Fahrenfort I, Moolenaar WH. The bioactive phospholipid lysophoshatidic acid is released from actived platelets. Biochem J 1993;291:677–80.

64. Moolenaar WH. Lysophosphatidic acid, a multifunctional phosholipid messenger. J. Biol. Chem. 1995;270:12949–52.

65. Yatomi Y, Ruan, FQ, Hakomori SI, Igarashi Y. Sphingosine-1-phosphate: A platelet-activating sphingolipid released from agonist-stimulated human platelets. Blood 1995;86:193–202.

66. An S, Dickens MA, Bleu T, Hallmark OG, Goetzl EJ. Molecular cloning of the human Edg2 protein and its identification as a functional cellular receptor for lysophosphatidic acid. Biochem Biophys Res Commun 1997;231:619–22.

67. Lee MJ, Van Brocklyn JR, Thangada S, Liu CH, Hand AR, Menzeleev R et al. Sphingosine-1-phosphate as a ligand for the G protein-coupled receptor EDG-1. Science (Wash DC) 1998;279:1552-5.

68. Westermann AM, Havik E, Postma FR, Beijnen JH, Dalesio O, Moolenaar WH et al. Malignant effusions contain lysphosphatidic acid (LPA)-like activity. Ann. Oncol. 1998;9:437–42.

69. Fang X, Gaudette D, Fururi T, Mao M, Estrella V, Eder A et al. Lysophospholipid growth factors in the initiation, progression, metastases, and management of ovarian cancer. Ann NY Acad Sci 2000; 905: 88–208.

70. Fishman DA, Liu Y, Ellerbroek SM, Stack MS. Lysophosphatidic acid promotes matrix metalloproteinase (MMP) activation and MMP-dependent invasion in ovarian cancer cells. Cancer Res 2001;61:3194–9.

71. Mills GB, Moolenaar WH. The emerging role of lysophosphatidic acid in cancer. Nat Rev Cancer 2003;3:582–91.

72. Yu-Long H, Meng-Kian T, Edward J. Lysophosphatidic acid induction of vascular endothelial growth factor expression in human ovarian cancer cells. J of the Nat Cancer Ins, Vol.93, No.10,May 16,2001.

73. Contos JJ, Ishii I, Fukushima N, Kingsbury MA, Ye X, Kawamura S et al. Characterization of lpa(2) (Edg4) and lpa(1)/lpa(2) (Edg2/Edg4) lysophosphatidic acid receptor knockout mice: Signaling deficits without obvious phenotypic abnormality attributable to lpa(2). Mol Cell Bio 2002;22:6921–29.

74. Inoue M, Rashid MH, Fujita R, Contos JJ, Chun J, Ueda H. Initiation of neuropathic pain requires lysophosphatidic acid receptor signaling. Nat Med 2004;10:712–8.

75. An S, Bleu T, Hallmark OG, Goetzl EJ. Characterization of a novel subtype of human G protein-coupled receptor for lysophosphatidic acid. J Biol Chem 1998;273:7906–10.

76. Contos JJ, Chun J. Genomic characterization of the lysophosphatidic acid receptor gene, lp(A2)/Edg4, and identification of a frameshift mutation in a previously characterized cDNA. Genomics 2000;64:155–69.

77. Moolenaar WH, Kruijer W, Tilly BC, Verlaan I, Bierman AJ, Laat SW. Growth factor-like action of phosphatidic acid. Nature 1986;323:171-3.

78. Nietgen GW, Durieux ME. Intercellular signaling by lysophosphatidate; recent developments. Cell Adhesions Commun. 1998;5:221–35.

79. Moolenaar W, Van Der Bend R, Van Corven E, Jalink K, Eichholtz T, Van Blitterswijk W. Lysophosphatidic acid: a novel phospholipid with hormone and growth factor-like activities. Cold Spring Harbor Symp. Quant Biol 1992;56:163-7.

80. Atabekoğlu CS, Engin Y, Üstün Y, Aytaç R. Üreme Fizyolojisi ve Adezyon Molekülleri. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 2002;55(1):10-25.

81. Castro A, Johnson MC, Ando M, Cortinez A, Gabler F, Vega M. Role of nitric oxide and bcl–2 family genes in the regulation of human endometrial apopitosis. Fer Ster 2002;78(3):587–95.

82. Maneschi M, Maneschi F, Geraci P. Surgical pathological staging of endometrial adenocarcinoma and results of treatment. Eur J Gynecol Oncol 1992;45:142–6.

83. Zaino JR, Kurman RJ, Diana KL. The utility of the revised international federation of gynecology and obstetrics histological grading of endometrial adenocarcinoma using a defined nuclear grading system. Cancer 1995;75:81–6.

84. Zaino JR, Kurman RJ, Herbold D. The signifiance of squamous diferentiation in endometrial carcinoma. Cancer 1991;68:2293–302.

85. Mills GB, Eder A, Fang X, Hasegawa Y, Mao M, Lu Y et al. Critical role of lysophospholipids in the pathophysiology, diagnosis, and management of ovarian cancer. Cancer Treat Res 2002;107:259–83.

86. Gschwind A, Prenzel N, Ullrich A. Lysophosphatidic acid-induced squamous cell carcinoma cell proliferation and motility involves epidermal growth factor ‘’signal transactivation’’.Cancer Res 2002;62:6329–36.

87. Shida D, Kitayama J, Yamaguchi H, Okaji Y, Tsuno NH, Watanabe T et al. Lysophosphatidic acid (LPA) enhances the metastatic potential of human colon caecinoma DLD1 cells through LPA1. Cancer Res 2003;63:1706–11.

88. Aoki J, Taira A, Takanezawa Y, Kishi Y, Hama K, Kishimato T et al. Serum lysophosphatidic acid is produced through diverse phospholipase pathways. Biol Chem 2002;277:48737–44.

89. Schulte KM, Beyer A, Köhrer K, Oberhauser S, Röher HD. Lysophosphatidic acid, a novel lipid growth factor for human thyroid cells: over-expression of the high-affinity receptor edg4 in differentiated thyroid cancer. Int J Cancer 2001;92:249–56.

90. Joji K, Dai S, Akihiro S. Over-expression of lysophosphatidic acid receptor-2 in human invasive ductal carcinoma. Breast Cancer Res 2004;6:640-6.

91. Sherman ME. Theories of endometrial carcinogenesis: a multidisciplinary approch. Mod Pathol 2000;3:295–308.

92. Inoue M. Current moleculer aspects of the carcinogenesis of the uterine endometrium. Int J Gynecol Cancer 2001;11:339–48.

93. Jovanovic AS, Boynton KA, Mutter GL. Uteri of women with endometrial carcinoma contain a histopathologic spectrum of monoclonal putative precancers, some with microsatellite instability. Cancer Research 1996;56:1917–21.

94. Leblanc M, Poncelet C, Soriano D. Alteration of CD44 and cadherins expression: possible association with augmented aggressiveness and invasiveness of endometrial carcinoma. Virchows Arch 2001;438:78–85.

95. Niemann TH, Trgovac TL, McGaughy VR, Vaccarell L. Bcl-2 expression in endometrial hyperplasia and carcinoma. Gynecol Oncol 1996;63:318–22.

96. Bulletti C, Jasonni VM, Polli V. Basement membrane in human endometrium: possible role of proteolytic enzymes in developing hyperplasia and carcinoma. Ann NY Acad Sci 1991;622:376–82.

97. Goffin F, Munaut C, Frankenne F. Expression pattern of metalloproteinases and tissue inhibitors of matrix-metalloproteinases in cycling human endometrium. Biol Reprod 2003;69:976–84.

98. Kokorine I, Marbaix E, Henriet P. Focal cellular origin and regulation of interstitial collagenase (matrix metallproteinase-1) are related to menstrual breakdown in the human endometrium. J Cell Sci 1996;109(8):2151–60.

99. Aglund A, Rauvala M, Puistola U. Gelatinase A and B (MMP–2 and MMP–9) in endometrial cancer- MMP–9 corelates to the grade and the stage. Gynecol Oncol 2004; 94:699–704.

100. Guo W, Chen G, Zhu C, Wang H. Expression of matrix metalloproteinase–2, -9 and it's tissue inhibitor–1,-2 in endometrial carcinoma. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi 2002;37:604–7.

101. Graesslin O, Cortez A, Fauvet R. Metalloproteinase -2, -7 and -9 and tissue inhibitor of metalloproteinase- 1 and -2 expression in normal, hyperplastic and neoplastic endometrium: a clinical- pathological correlation study. Ann Oncol 2006;17(4): 637–45.

102. Langosch KM, Bamberger AM, Goemann C, Rössing E, Rieck G, Kelp B et al. Expression of cell-cycle regulatory proteins in endometrial carcinomas: correlations with hormone receptor status and clinicopathologic parameters. J Cancer Res Clin Oncol 2001;127:537-44.

103. Morsi HM, Leers MPG, Jager W, Björklund V, Radespiel-Tröger M, Kabarity HE et al. The patterns of expression of an apopitosis related CK–18 neoepitope, the bcl–2 protoonkogene, and the Ki–67 proliferation marker in the normal, hyperplastic and malignant endometrium. Int J Gyn Pathol 2000;19:118–26.

104. Salvesen HB, Iversen OE, Akslen LA. Prognostic significance of angiogenesis and Ki–67,p–53, and p21 expression: A population based endometrial carcinoma study. J Clin Oncol 1999;17:1382–90.

EKLER

EK 1

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Tıp Fakültesi Dekanlığı
Etik Kurulu Başkanlığı

Oturum Sayısı:03 **Karar Tarihi:15.02.2007**

23-Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu 15.02.2007 tarihinde; **"Endometroid tip karsinomlar ve endometrial hiperplazilerde LPA1 ve LPA2 reseptör ekspresyonu ve verilerin proliferatif ve prognostik faktörlerle karşılaştırılması"** adlı TÜTFEK 2007/33 protokol no.lu Dr. Ayşegül İLGİLİ'nin tez çalışmasını incelemek üzere toplandı. Doç. Dr. Betül UĞUR ALTUN, Yrd. Doç. Dr. Hakan ERBAŞ izinli, Yrd. Doç. Dr. Ufuk USTA araştırıcılardan olması nedeniyle katılamadı ve çalışmanın incelenmesine geçildi.

Yapılan inceleme sonunda çalışmanın Fakültemiz Patoloji Anabilim Dalında yapılacağı, **Yrd. Doç. Dr. Ufuk USTA'nın** yürütücüsü olduğu araştırma protokolünün amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Helsinki Deklerasyonu Kararlarına, Hasta Hakları Yönetmeliğine ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve araştırma bütçesinin **Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (TÜBAP)** tarafından desteklenmesi koşuluyla yapılabileceğine mevcudun oybirliği ile karar verildi.

Ünvanı/Adı/Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Dikmen DÖKMECİ Başkan	Farmakoloji	T.Ü.T.F Farmakoloji A.D.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Yrd. Doç. Dr. Ümit N. BAŞARAN Başkan Yardımcısı	Çocuk Cerrahisi	T.Ü.T.F. Çocuk Cerrahisi A.D.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof.Dr. Betül Biner ORHANER Üye	Çocuk Sağ. Ve Hst.	T.Ü.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hst. A.D.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç. Dr. Dilek MEMİŞ Üye	Anesteziyoloji	T.Ü.T.F. Anesteziyoloji A.D.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Doç. Dr. Betül Uğur ALTUN Üye	Endokrinoloji	T.Ü.T.F. İç Hst. A.D.	K	☐ E ☐ H	☐ E ☐ H	
Doç. Dr. Gürcan ALTUN Üye	Adli Tıp	T.Ü.T.F. Adli Tıp A.D.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Yrd. Doç. Dr. Hakan ERBAŞ Üye	Biyokimya	T.Ü.T.F. Biyokimya A.D.	E	☐ E ☐ H	☐ E ☐ H	
Yrd. Doç. Dr. Ufuk USTA Üye	Patoloji	T.Ü.T.F. Patoloji A.D.	E	☒ E ☐ H	☐ E ☒ H	
Ecz. Emine SAKMAN Üye	Eczacı	T.Ü.T.F. Başhekimliği	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Avukat Mustafa POLAT Üye	Ceza Hukuku	T.Ü. Rektörlüğü	E	☐ E ☐ H	☒ E ☐ H	

* Araştırma ile İlişki
** Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Filiz AKATA
Dekan

Posta Adresi:
T.Ü. Tıp Fakültesi Dekanlığı
Güllapoğlu Yerleşkesi
22030 EDİRNE

Tel: (0284) 235 76 53, 235 73 48
Faks: (0284) 235 76 52
e-posta: dekanlik@trakya.edu.tr
Elektronik Ağ: http://tipfak.trakya.edu.tr