

T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**ENDOMETRİYAL KARSİNOMLARDA  
MMP-2, SURVİVİN, PTEN  
EKSPRESYONLARININ ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**L. EVREN YILMAZ**

Danışman Öğretim Üyesi: Prof Dr Meral Koyuncuoğlu

Bu tez Dokuz Eylül Üniversitesi Rektörlüğü Araştırma Fon Saymanlığı 200052  
No'lu proje ile desteklenmiştir.

## İÇİNDEKİLER

|   |       |
|---|-------|
| I. Tablo listesi.....   | i     |
| II. Şekil listesi.....  | ii    |
| III. Resim listesi.....   | iii   |
| IV. Kısaltmalar.....  | iv    |
| V. Teşekkür.....  | v     |
| VI. Özet.....   | 1-2   |
| VII. İngilizce Özet .....   | 3-4   |
| VIII. Giriş ve amaç.....  | 5     |
| 1. Endometriyal karsinomlar hakkında genel bilgi.....               | 6     |
| i. İnsidans ve risk faktörleri.....                                 | 6     |
| ii. Etyopatogenez.....  | 6     |
| iii. Endometriyal karsinomların klinik ve genetik özellikleri ..... | 7-8   |
| iv. Endometriyal karsinomlarda görülen genetik değişiklikler .....  | 9     |
| v. Histolojik tipleri .....   | 9-10  |
| 2. Prognostik faktörler .....                                       | 11-14 |
| 3. Mikrosatellit instabilite.....                                   | 14    |
| 4. PTEN.....  | 15-16 |
| 5. K-ras.....   | 17    |
| 6. HER2/Neu.....  | 17    |
| 7. p53.....   | 17    |
| 8. Survivin.....  | 17-18 |
| 9. MMP-2 .....  | 18    |
| IX. Gereç ve Yöntem.....  | 18-20 |
| X. Bulgular.....  | 21-29 |
| XI. Resimler.....   | 30-32 |
| XII. Tartışma.....  | 33-37 |
| XIII. Sonuç.....  | 37    |
| XIV. Kaynaklar.....   | 38-50 |

## Tablo listesi

|  |    |
|--|----|
| 1. Endometriyal karsinomların klinik ve genetik özellikleri .....  | 7  |
| 2. Endometriyal karsinomlarda görülen genetik değişiklikler.....   | 9  |
| 3. Endometriyal adenokarsinomların evrelendirmesi .....  | 12 |
| 4. Olguların tanıları ve yaş dağılımı.....   | 23 |
| 5. Olguların evrelerine göre dağılımı.....   | 23 |
| 6. Olguların histolojik ve nükleer derecelerine göre dağılımı.....   | 24 |
| 7. MMP-2'nin EAC ve NEAC'li olgularda dağılımı.....  | 24 |
| 8. MMP2 ekspresyonunun histolojik ve nükleer derece arasındaki ilişkisi .....  | 24 |
| 9. Survivin'in nükleer ekspresyonunun EAC ve NEAC'li olgularda dağılımı.....   | 25 |
| 10. Survivin'in sitoplazmik ekspresyonunun EAC ve NEAC'li olgularda dağılımı.....  | 25 |
| 11. Histolojik derece ile survivin'in sitoplazmik ve nükleer ekspresyonunun karşılaştırılması.....   | 26 |
| 12. Nükleer derece ile survivin'in nükleer ve sitoplazmik ekspresyonunun ilişkisi.....   | 27 |
| 13. Histolojik derece ve nükleer derece ile PTEN arasındaki ilişki.....  | 28 |
| 14. PTEN, MMP-2 ekspresyonları ve survivin'in nükleer/sitoplazmik ekspresyonu ile uterin/ekstrauterin hastalık, lenfovasküler aralık invazyonu ve derin myometriyal invazyon ile ilişkisi..... | 29 |

### **Şekil listesi**

1. Endometriyal karsinomların patogenezi .....8
2. Endometriyal karsinomların genetik değişiklikleri.....9

## Resim Listesi

1. MMP-2 pozitif boyanma(Endometrioid adenokarsinom, pT 1b).....30
2. PTEN ekspresyon kaybı(Nonendometrioid adenokarsinom, pT 3a).....30
3. PTEN ekspresyon kaybı(Endometrioid adenokarsinom, pT 2a).....31
4. Survivin nükleer boyanma(Endometrioid adenokarsinom, pT 1b).....31
5. Survivin nükleer boyanma(Endometrioid adenokarsinom, pT 1b).....32
6. Survivin sitoplazmik boyanma(Endometrioid adenokarsinom, pT 3a).....32

## **Kısaltmalar**

1. EAC: Endometrioid adenokarsinom
2. NEAC: Nonendometrioid adenokarsinom
3. MMP-2: Matriks metalloproteinaz
4. MSI: Mikrosatellit instabilite
5. EIN: Endometriyal intraepitelyal neoplazi
6. EIC: Endometriyal intraepitelyal karsinom
7. LVI: Lenfovasküler aralık invazyonu

## TEŞEKKÜR

Tez konusu olarak bu çalışmayı öneren ve hazırlanmasında destek olan Prof. Dr. Meral Koyuncuoğlu'na teşekkür ederim.

Dokuz Eylül Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'ndaki uzmanlık eğitimim sırasında emeği geçen değerli öğretim üyeleri; Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Erdener Özer, Prof. Dr. M. Şerefettin Canda, Prof. Dr. Tülay Canda, Prof. Dr. Uğur Pabuççuoğlu, Prof. Dr. Aydanur Kargı, Prof. Dr. Kutsal Yörükoğlu, Prof. Dr. Sülen Sarıoğlu, Prof. Dr. Özgül Sağıol, Doç. Dr. Banu Lebe, Doç. Dr. Sermin Özkal, Doç. Dr. Burçin Tuna, Doç. Dr. Çağnur Ulukuş, Öğr. Gör. Uzm. Dr. Duygu Gürel'e teşekkür ederim. Ayrıca; değerli araştırma görevlisi arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İstatistiksel değerlendirmede yardımlarından dolayı Dokuz Eylül Üniversitesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı'ndan Öğr. Gör. Uzm. Dr. Hatice Giray'a, Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı'ndan hasta takiplerini değerlendirmede yardımcı olan Doç. Dr. İlknur Bilkay Görken'e ve son olarak; tez çalışmam sırasında ve uzmanlık eğitimim boyunca sabırla beni destekleyen aileme teşekkürler.

## ÖZET

### **Endometriyal Karsinomlarda MMP-2, Survivin, PTEN Ekspresyonlarının Araştırılması**

Dr L. Evren Yılmaz

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı  
evren.yilmaz@deu.edu.tr

**Amaç ve hipotez:** Bu çalışmada, endometrioid ve nonendometrioid adenokarsinomlarda MMP-2, survivin ve PTEN ekspresyonlarının prognostik faktörler, lokal vajinal nüks ve 5 yıllık hastalıksız sağkalım ile ilişkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 1984-2006 yılları arasında, endometriyum karsinomu nedeniyle radikal operasyon uygulanmış veya tanısal amaçlı fraksiyone küretaj yapılmış 95 olguya ait biyopsilere immünohistokimyasal yöntemle MMP-2, survivin ve PTEN uygulanmıştır. Bu antikörlerin ekspresyonlarının tümörün evresi ve histolojik/nükleer derece, 5 yıllık hastalıksız sağkalımla olan ilişkisi araştırılmıştır.

**Bulgular:** Endometrial karsinomlu olguların 21(%22.1)'i Tip 2 endometrial karsinom iken, 74(%77.9)'ü Tip1 endometrial karsinomdu. Bu çalışmada olguların ortalama yaşı 61 ( medyan yaş 61) idi. Olguların %76.8'i evre 1, geri kalanı evre 2 ve 3 idi. MMP-2 sitoplazmik immünoaktivitesinin tümörün evresi, histolojik ve nükleer derecesi ile istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır. Survivin'in nükleer boyanma ile nükleer derece arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmuştur. Survivin'in, sitoplazmik boyanma ile nükleer/histolojik derece arasında ilişki saptanmamıştır. PTEN'in ileri evre tümörlerde, daha az oranda eksprese edildiği saptanmıştır. MMP-2, survivin ve PTEN ile 5 yıllık hastalıksız ve genel sağkalım, lokal vajinal cuff nüksü arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır.

**Sonuç:** Çalışmamızda, endometriyum karsinomlarında immünohistokimyasal olarak uygulanan survivin, MMP-2 ve PTEN'in genel ve hastalıksız sağkalımla ilişkisi bulunmaması nedeniyle, rutin uygulamada kullanımları tartışmalıdır.

Bu bulgular ışığında, geniş serilerde, uzun dönem takipleri olan olgularda, farklı prognostik faktörlerin ele alındığı çalışmaların yapılması gerekmektedir.



**Anahtar kelimeler:** Endometriyal karsinom, prognoz, sağkalım, PTEN, survivin, MMP-2.

## SUMMARY

### **Evaluation of MMP-2, Survivin and PTEN expressions in endometrial carcinomas.**

Dr L. Evren Yılmaz

Dokuz Eylül University, Faculty of Medicine, Pathology Department

evren.yilmaz@deu.edu.tr

**Aim and hypothesis:** In this study, both in endometrioid and non-endometrioid adenocarcinomas, we aimed to search for the relation of expression of MMP-2, survivin, PTEN with the prognostic factors recurrence of vagen cuff disease free 5-year survival.

**Method:** In 9 Eylül University Hospital, between years of 1984 - 2006, biopsies of 95 cases who had underwent either a radical operation for endometrial carcinoma or a curettage for diagnostic purpose were investigated for the expression of MMP-2, survivin, PTEN. The expression results of these antibodies were evaluated for their relation with the stage, histological/nuclear grade and disease free 5-year survival.

**Results:** 21 (22.1%) of the cases with endometrial carcinoma had type 2 endometrial carcinoma, 74 (77.9 %) of them had type 1 endometrial carcinoma. In the present study, the mean age of the cases is 61 (median age is 70.0  $\pm$ 10.3). The 76.8% of the cases are stage 1, the rest of them are stage 2 and 3. We couldn't find a significant relationship between the cytoplasmic immunoreactivity of the MMP-2 and the stage, histological, nuclear grade of the tumor. In our study a significant relation is found between the nuclear expression of survivin and the nuclear, histological grade. Survivin is determined to be expressed in a higher ratio in endometrioid adenocarcinomas, than the nonendometrioid adenocarcinomas. It is found that PTEN expression in advanced stage tumors is low. MMP-2, survivin and PTEN determined to have no relationship with 5-year disease free survival, overall survival and with recurrence of vagen cuff.

**Conclusion:** In this study use of survivin, MMP-2 and PTEN in endometrium carcinomas determined to have no relationship with 5-year disease free survival, overall survival and with recurrence of vagen cuff, so their usage in routine is controversial. Therefore studies should be done evaluating different prognostic factors in large series with long term follow-up.

**Key words:** Endometrial carcinoma, prognosis, survival rate, PTEN, survivin, MMP-2.

## **GİRİŞ VE AMAC**

Endometriyal karsinomlar kadın genital sisteminin en sık görülen malignitesidir. Endometriyal karsinom, birtakım genetik değişiklikler(onkogenlerin aktivasyonu ve tümör supresör genlerin kaybı) sonucu gelişir. Hiperplaziden karsinom gelişiminde hücre büyümesi-hücre ölümü ve apoptozu arasındaki dengenin bozulması rol oynar. Endometriyum karsinomlarında en önemli prognostik parametreler, histolojik tip, histolojik derece ve myometriyal invazyondur.

Endometriyal karsinogeneziste klinikopatolojik korelasyonlara dayalı dualistik model ortaya konmuştur. Buna göre, tip 1 karsinomlar östrojen bağımlı yolla ilişkilidir. Histolojik olarak çoğu tip 1 tümörlerin zemininde hiperplastik endometrium vardır ve düşük dereceli tümörlerdir. Tip 1 endometriyal adenokarsinomlar MSI ve PTEN, PIK3CA, K-Ras, CTNNB1( $\beta$ -katenin) mutasyonları, tip 2 endometriyal kanserler p53 mutasyonları ve kromozomal instabilite, heterozigosite kaybı, Her2/neu amplifikasyonu gösterirler. Tip 2 karsinomlar östrojenden bağımsız olarak, atrofik endometrium zemininde gelişir. Yüksek dereceli tümörler olup, seröz ya da berrak hücre morfolojisindedir.

PTEN/MMAC1/TEP1 kromozom 10q23.3'te lokalize bir tümör supresör gendir. PTEN mutasyonu endometriyal karsinomlu olguların % 34-83'ünde saptanmıştır.

Survivin, apoptoz (programlanmış hücre ölümü) inhibitörüdür. Normal endometriumda hormonal fluktuasyonlara bağlı survivin ekspresyonunda değişiklikler meydana geldiği görülmüştür. Endometriyal adenokarsinomlarda survivin mRNA ve protein ekspresyonu, atipili veya normal endometriumdan daha yüksek bulunmuştur.

Matriks metalloproteinazlar (MMP) çinko bağımlı endopeptidaz ailesidir. İnflamasyon ve tümör invazyonunda doku destrüksiyonuna neden olur. Çoğu malign fenotipli insan kanser hücresinde MMP'nin artmış ekspresyonu bulunmuştur.

Bizim çalışmamızda 95 endometriyal karsinomlu olguda, PTEN, MMP-2, survivin ekspresyonları ile tanımlanmış prognostik faktörler ve sağkalım arasındaki ilişkinin aydınlatılması amaçlanmıştır.

## 1. Endometriyal Karsinomlar Hakkında Genel Bilgi

### *i. İnsidans ve risk faktörleri*

Endometriyal karsinomlar dünyada en sık görülen jinekolojik kanserlerdir. Kadınlarda meme, akciğer, kolorektal karsinomlardan sonra en sık görülen malign tümörlerdir. Her yıl kadınların % 15-20'si endometriyal karsinom tanısı almaktadır. ABD'de her yıl 6000 ölüme neden olmaktadır(1,2).

Endometriyal karsinomda saptanan en önemli risk faktörü kronik karşılanmamış östrojen etkisinde kalmaktır(östrojen replasman tedavisi, erken menarş, geç menapoz, nulliparite) (3-5). İlk doğum yaşının kanser gelişmesinde etkisinin olmadığı bildirilirken, son doğumun ileri yaşta olmasının koruyucu olduğu bildirilmektedir(6). Tamoksifen kullanımı da endometriyal karsinom için risk faktörüdür(7). Obezite, safra kesesi hastalıkları, diyabet, hipertansiyon, infertilite, fiziksel aktivite yokluğu, sosyoekonomik durum endometrial kanser riski oluşturur (8,9). Ailesel öykü diğer bir risk faktörüdür, herediter non-polipozis kolorektal karsinom(HNPCC)'da en sık görülen kolon dışı malignite endometriyal karsinomdur(10,11). Endometriyal karsinom; meme, over ve kolon kanserlerine ikincil gelişen en sık kanserdir(12,13).

### *ii. Etiyopatogenez*

Endometriyal karsinom, birtakım genetik değişiklikler(onkogenlerin aktivasyonu ve tümör supresör genlerin kaybı) sonucu gelişir. Hiperplaziden karsinom gelişiminde hücre büyümesi-hücre ölümü ve apoptozu arasındaki dengenin bozulması rol oynar(14).

1983'te Bokhman endometriyal karsinogeneziste klinikopatolojik korelasyonlara dayalı dualistik modeli ortaya koymuştur. Buna göre, tip 1 karsinomlar östrojen bağımlı yolakla ilişkilidir. Histolojik olarak çoğu tip 1 tümörlerin zemininde hiperplastik endometrium vardır ve düşük dereceli tümörlerdir(15). Tip1 östrojen bağımlı ve tip 2 östrojenden bağımsız olmak üzere histopatolojik olarak 2 tipi vardır(1, 2).

iii. Endometriyal karsinomların klinik ve genetik özellikleri

Endometriyal karsinomların klinik ve genetik özellikleri Tablo 1’de verilmiştir(16).

**Tablo 1.**

|                        | Tip 1   | Tip 2                                      |
|------------------------|---|--|
| Yaş                    | Premenapozal,<br>perimenapozal                      | Postmenapozal                              |
| Karşılanmamış östrojen | Var   | Yok  |
| Hiperplazi             | Var   | Yok  |
| Prekürsör lezyon       | EIN*  | EIC**                                      |
| Histolojik Derece      | Düşük   | Yüksek                                     |
| Myometriyal invazyon   | Minimal   | Derin                                      |
| Spesifik subtipleri    | Endometrioid<br>adenokarsinom                       | Seröz karsinom, berrak<br>hücreli karsinom |
| Davranış               | Stabil  | Progresif                                  |
| Genetik değişiklikler  | MSI, PTEN, K-ras, $\beta$ -<br>katenin mutasyonları | P53 mutasyonları, LOH,<br>HER2/neu         |

\*Endometriyal intraepitelyal neoplazi

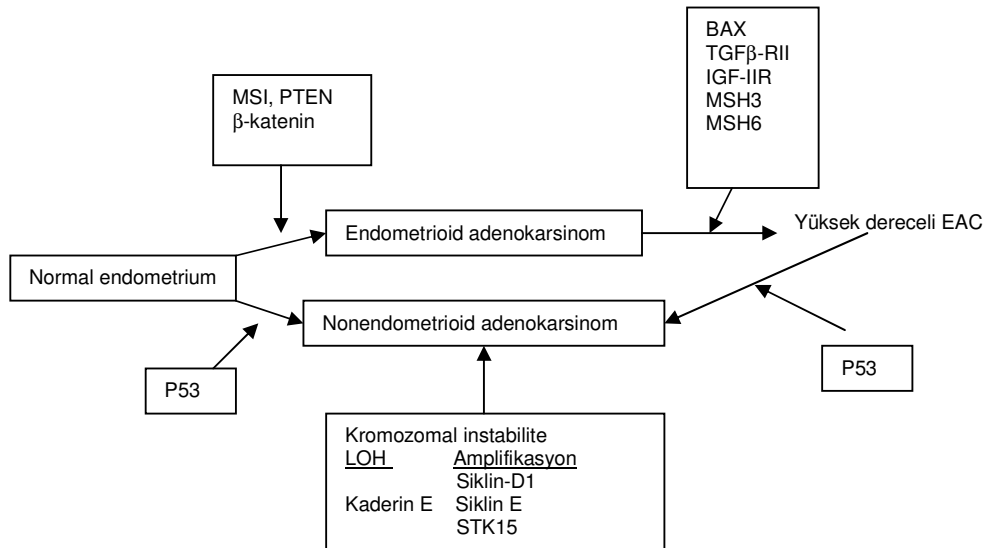
\*\*Endometriyal intraepitelyal karsinom

Tip1 karsinomlar, endometrioid adenokarsinomlardır(EAC). Bunlar endometriyal karsinomların %80’ini oluşturur. Kompleks atipili hiperplazi zemininde gelişir ve östrojen stimülasyonu ile ilişkilidir. Sıklıkla premenapozal veya perimenapozal dönemde görülür. Obezite, hiperlipidemi, anovulasyon, infertilite ve geç menapozla ilişkilidir. Çoğunlukla uterusu sınırlı ve iyi seyirlidir. Dereceleri genellikle düşüktür. Myometriyal invazyon sıklıkla minimaldir(1, 2). Skuamöz diferansiyasyon gösterebilirler(17). Tipik veya iyi diferansiye endometrioid karsinomlar sekretuar veya siliyalı diferansiyasyon gösterebilirler. Bunlar fokal ya da diffüz olabilir. Ancak prognozu etkilemezler.

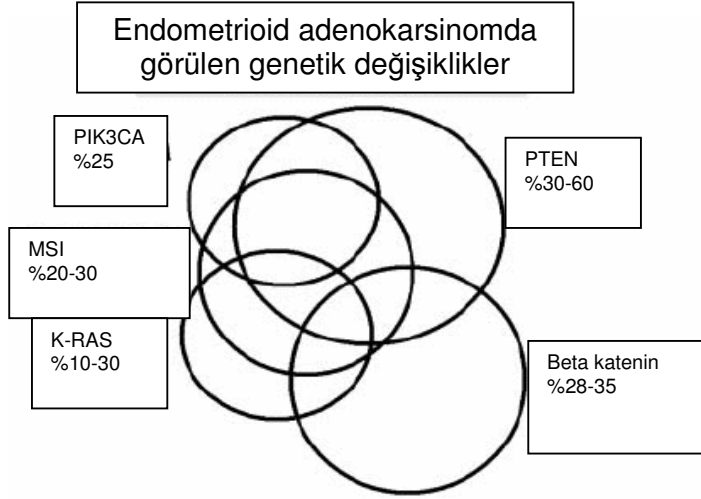
Tip 2 karsinomlar östrojenden bağımsız olarak, atrofik endometrium zemininde gelişir. Yüksek dereceli tümörler olup, seröz ya da berrak hücre morfolojisindedir. Endometrioid karsinomların prekürsörü endometriyal intraepitelyal neoplazi(EIN) iken, endometriyal intraepitelyal karsinom(EIC) seröz karsinomların öncüsüdür(18).

Tip 1 endometriyal adenokarsinomlar MSI ve PTEN, PIK3CA, K-Ras, CTNNB1( $\beta$ -katenin) mutasyonları, tip 2 endometriyal kanserler p53 mutasyonları ve kromozomal instabilite, heterozigosite kaybı, Her2/neu amplifikasyonu gösterirler(1,2). Tip 2, non-endometrioid karsinomlardır (NEAC), endometriyal karsinomların %20'sini oluşturur. Çoğunlukla berrak hücreli ve seröz adenokarsinomlardır. Berrak hücreli karsinom, 2 farklı tümörden, seröz karsinom ya da endometrioid karsinomdan gelişir(19). Bazıları endometriyal polip ya da atrofik endometrium çevresindeki prekürsör lezyonlardan (endometriyal intraepitelyal karsinom) gelişir. Östrojenik stimülasyon ya da hiperplazi ile ilişkili değildir. Dereceleri genellikle yüksek tümörlerdir ve myometriyal invazyon derinliği fazladır(1, 2). Şekil 1'de genetik değişiklikler gösterilmiştir. Farklı olgularda tanımlanan genetik olaylar tek tek ya da farklı oranlarda birkaçı birlikte görülebilmektedir(2). Şekil 2'de endometrioid adenokarsinomdaki genetik değişikliklerin sıklıkları sunulmuştur. Enomoto ve ark. yaptığı çalışmada atipili kompleks hiperplazide %15, hiperplaziden gelişen endometriyal karsinomlarda %31 oranında K-ras gen aktivasyonu saptanırken, p53 inaktivasyonu atipili hiperplazide %8, bundan gelişen endometriyal karsinomda % 23 saptanmıştır(20).

### Şekil 1. Endometriyal karsinomların patogenezi (2).



## Şekil 2. Endometriyal karsinomların genetik değişiklikleri(2).



### iv. Endometriyal karsinomlarda görülen genetik değişiklikler(21)

**Tablo.2** Endometriyal karsinomlarda görülen genetik değişiklikler

| Genetik değişiklik       | Tip 1 karsinomlar | Tip 2 karsinomlar |
|--------------------------|-------------------|-------------------|
| MSI                      | %20-40            | %0-5              |
| PTEN inaktivasyonu       | %35-50            | %10               |
| B-katenin mutasyonu      | %25-40            | %0-5              |
| K-Ras mutasyonu          | %15-30            | %0-5              |
| P53 mutasyonu            | %10-20            | %90               |
| P16 inaktivasyonu        | %10               | %40               |
| E-kaderin değişikliği    | %10-20            | %80-90            |
| HER-2/neu amplifikasyonu | %10-30            | %45               |

### v. Histolojik tipleri

Endometrium karsinomlarının histolojik tipleri şu şekilde sınıflandırılabilir(22):

- A. Endometrioid adenokarsinom(EAC)
  - a. Villoglandüler
  - b. Sekretuar
  - c. Silli hücreli
  - d. Skuamöz diferansiyasyonlu EAC
- B. Seröz karsinom



- C. Berrak hücreli karsinom
- D. Müsinöz karsinom
- E. Skuamöz karsinom
- F. Transizyonel hücreli karsinom
- G. Küçük hücreli karsinom
- H. Mikst karsinom
- İ. Andiferansiye karsinom
- J. Diğerleri

A. Endometrioid adenokarsinom: Endometriyal karsinomlar arasında en sık görülen türdür. Makroskopik olarak ekzofitik, fokal veya diffüz, bazen polipoid gelişim gösterebilmektedir. Mikroskopik olarak tümör derecesine göre değişen morfolojik görünüm sergilemektedir. Sırt sırta vermiş glandüler yapılar, kompleks dallanmalar göstermektedir. Aralarında stroma yoktur.

a. Villoglandüler EAC: İnce fibrovasküler kor içeren, çok katlı kolumnar epitelle döşeli papiller yapılardan oluşmaktadır. Az veya orta derecede atipi içermektedir. Düşük dereceli tümörlerdir.

b. Sekretuar EAC: Erken sekretuar endometriuma benzer genellikle subnükleer veya supranükleer vakuoller içermektedir. İyi diferansiye villoglandüler veya kribriform patern sergilemektedir.

c. Silli hücreli EAC: Endometriyal karsinomların çoğunda silli hücreler görülebilmektedir. Malign glandların çoğunda silli hücre morfolojisi izlenirse ancak bu tanı verilebilmektedir.

d. Skuamöz diferansiasyonlu EAC: Skuamöz diferansiasyon %20-50 oranında görülebilmektedir. Skuamöz diferansiasyonun tanı kriterleri şunlardır: keratinizasyon, intersellüler köprüler, gland formasyonu olmaksızın tabaka halinde büyüme, belirgin hücre sınırları, eozinofilik sitoplazma, nükleus sitoplazma oranının artması.

B. Seröz karsinom: Geniş fibrovasküler kor içeren "hobnail" şekilli hücreler ile çevrili papiller yapılardan oluşmaktadır. Atipi ve mitoz oldukça fazladır. Genellikle kötü prognozlu tümörlerdir.

C. Berrak hücreli karsinom: Daha ileri yaşlarda görülmektedir. Solid, tubulokistik, papiller patern oluşturan tümör hücreleri geniş berrak sitoplazmalı, pleomorfik nükleusludur. Genelde yüksek dereceli, derin invaziv tümörlerdir.

D. Müsinöz karsinom: Genellikle derece 1 tümörlerdir. Müsikarmen pozitif intrasitoplazmik müsin içermektedir. Ayırıcı tanısında endoserviksın primer müsinöz adenokarsinomu düşünölmelidir.

E. Skuamöz karsinom: Histopatolojik görünümü serviks skuamöz hücreli karsinomuna benzer özelliktedir. Genellikle postmenapozal dönemde görölmektedir.

F. Transizyonel hücreli karsinom: Tümör hücrelerinin %90'ından fazlası transizyonel hücre morfolojisindedir. Sitokeratin 20 negatif, %50'si sitokeratin 7 pozitif tümörlerdir. Ayırıcı tanısında mesane ve overin transizyonel hücreli karsinomu yer alır. Sitokeratin 7 pozitif, sitokeratin 20 negatif immünprofil ürotelyal diferansiasyondan çok müllerian diferansiasyonu yansıtır.

G. Küçük hücreli karsinom: Morfolojik olarak akciğerin küçük hücreli karsinomuna benzemektedir. Sitokeratin ve nöroendokrin markerlar pozitifdir. Genellikle evre 1 tümörlerdir.

H. Mikst karsinom: Tip 1 ve tip 2 tümörlerin bir arada görölmesi tanı kriteridir. Minör komponent toplam tümör hacminin %10'u olmalıdır.

İ. Andiferansiye karsinom: Herhangibir diferansiasyon göstermeyen tümörlerdir(22).

## **2. Prognostik faktörler:**

Prognostik faktörler histolojik tip, histolojik derece, cerrahi-patolojik evre, myometriyal invazyon derinliği, vasköler invazyon ve servikal tutulumdur. Uterin faktörler, histolojik tip, histolojik derece, myometriyal invazyon, vasköler invazyon, atipili hiperplazi, servikal tutulum, DNA ploidi ve S-faz fraksiyonu, hormon reseptör durumudur. Ekstrauterin faktörler, pozitif peritoneal sitoloji, adneksiyel tutulum, pelvik-paraaortik lenf nodu metastazı ve peritoneal metastazdır(23,24).

En önemli prognostik parametreler, histolojik tip, histolojik derece ve myometriyal invazyondur(25,26).

### *i. Histolojik derece*

Non-endometrioid karsinomlar yüksek dereceli tümörler olduğundan derecelendirme yapılmaz. Tümör solid komponent oranına göre derecelendirilir: Solid komponent %5'ten az ise, derece 1, %6-50 ise, derece 2, %50'den fazla ise derece 3 olarak derecelendirilmektedir. Solid komponent değerlendirilirken skuamöz diferansiasyon alanları orana dahil edilmez. Derece 3 nükleer özellikler(belirgin nükleer pleomorfizm, kaba kromatin, belirgin nükleol), histolojik olarak derece 1 ya da

2 tümörleri 1 derece yükseltir. Çoğu endometriod adenokarsinomlar histolojik olarak derece 1'dir. Derece 1 tümürlü hastaların 5 yıllık yaşam oranı %94, derece 2 tümürlü hastaların %84, derece 3 tümürlü hastaların ise %72 olarak saptanmıştır(1).

*ii. Endometriyal adenokarsinomların evrelendirmesi:*

Endometrioid karsinomlarda evrelendirme prognostik olarak önemlidir. 1988 International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) evrelendirme sistemi primer olarak yapısal özellikleri baz alır. FIGO evrelendirme sistemi tablo 3'te gösterilmiştir.

**Tablo 3:** FIGO 1988 (1989)'ya göre evrelendirmesi(27).

| EVRE | AÇIKLAMA   |
|------|--|
| IA   | Tümör endometriumda sınırlı  |
| IB   | Myometriyal invazyon <1/2  |
| IC   | Myometriyal invazyon >1/2  |
| IIA  | Endoservikal glandüler tutulum                                       |
| IIB  | Servikal stromal invazyon  |
| IIIA | Tümör seroza ve/veya adneks yayılmış ve/veya (+) peritoneal sitoloji |
| IIIB | Vajinal tutulum veya metastaz  |
| IIIC | Pelvik ve/veya paraaortik lenf nodu metastazı                        |
| IVA  | Tümörün mesane ve/veya barsak mukozasına invazyonu                   |
| IVB  | Uzak metastaz ( intraabdominal ve /veya inguinal lenf nodları dahil) |

*iii. Myometriyal invazyon:*

Myometriyal invazyon, % 25 oranda yanlış değerlendirilir. Endometriyumun myometriuma dilsiz uzantıları ile karışabilir. Adenomyotik odağın tutulumu da dikkatli değerlendirilmelidir(28). Endometriyal stroma olması, benign endometriyal glandların varlığı, desmoplazi ve inflamatuvar yanıtın olmaması adenomyozisi düşündürür(29,30). CD 10 immünohistokimyası adenomyozisteki stromal hücrelerin ayırt edilmesinde yardımcıdır(31). Myometriyal invazyon paterni; myometriyumda dağılmış, yaygın bez, nestler ve eşlik eden stromal reaksiyon ile vasküler

invazyondur. İnvaziv glandlar iyi diferansiye ve stromal yanıt minimal ise; “adenoma malignum paterni” olarak adlandırılır. Stromal yanıtın şiddeti; artmış nüks ve ölüm sıklığı ile orantılıdır(32).

Jinekolojik onkoloji grubunun myometriyal invazyon derecesi ile nüks ilişkisini araştırdığı değerlendirmesinde; myometriyal invazyon olmayan olguların sadece % 1 'inde, 1/3'ten az invazyonda %7, 2/3 invazyonda %14, daha fazla invazyonda ise %15'inde nüks geliştiği bildirilmektedir(24).

Myometriyal invazyon ile 5 yıllık sağkalım arasındaki ilişkiye bakıldığında; endometriuma sınırlı olgularda 5 yıllık sağkalım %94, myometriyumun 1/3'ünden azında invazyon varsa %91, 2/3'ü invaze ise %84, invazyon 2/3'ten fazla ise sağkalım %59 oranında bulunmuştur(33).

#### *iv. Vasküler invazyon:*

Damar invazyonu; derin myometriyal invazyon ve histolojik dereceden bağımsız olarak, nüks ve hastalık nedeni ile ölümden sorumlu öngörülen faktördür(34,35).

#### *v. Endometriyal hiperplazi:*

Endometrioid karsinomlar atipili endometriyal hiperplazilere eşlik eder, silli ya da eozinofilik metaplazi gösterebilir. Bunlar genellikle düşük dereceli tümörlerdir. Yüksek dereceli tümörler daha çok atrofik endometriumdan gelişir(36,37).

#### *vi. Servikal tutulum:*

Servikal tutulum(Evre 2 hastalık) endometriyal karsinomlu olguların % 6-20' sinde görülür. Doğrudan yüzey ya da stromal yayılım şeklinde ya da lenfatik yayılım olarak karşımıza çıkar(38-40).

#### *vii. Serozal invazyon, pozitif peritoneal sitoloji ve adneksiyal tutulum ( Evre IIIA ):*

Endometriyal karsinomlu olguların % 6'sında görülür. Pozitif peritoneal sitoloji; yüksek dereceli tümör, derin myometriyal invazyon ve ekstrauterin yayılımla ilişkilidir(41,42).

#### *viii. Lenf nodu metastazı ( Evre IIIC ):*

Endometriyal karsinomlu olguların % 33'ünde pelvik ve / veya paraaortik lenf nodu metastazı görülür. Pelvik lenf nodu metastazlı olgular, paraaortik lenf nodu metastazlı olanlardan daha iyi prognozludur(24).

#### *ix. Ploidi:*

Endometrioid karsinomların %67'si diploiddir. Non- endometrioid karsinomların %55'i nondiploid DNA paternine sahiptir. Diploid tümörler genellikle düşük dereceli tümörlerdir, anöploid karsinomlardan daha uzun sağkalımla ilişkilidir(43,44).

#### *x. Steroid reseptör:*

Çoğu endometrioid karsinomlar östrojen reseptör (ER) ve progesteron reseptör (PR) pozitif hücrelerden oluşurlar. ER, PR ve bcl-2 varlığı, p53 mutasyonunun olmaması; intratümöral anjiogenezisin az olmasıyla koreledir. Metastazda steroid reseptör pozitifliği tedaviye yön gösterir(1).

### **3. Endometrioid karsinomlarda mikrosatellit instabilite (MSI)**

Mikrosatellitler DNA sekanslarının genom boyunca yaygın kısa çift tekrarlarıdır(1,45,46). İnsersiyon ve delesyon mutasyonların birikimi ile sonuçlanır(1). DNA mismatch repair (MMR) sistem genetik instabilitede santral rol oynar. Memelilerin MMR genleri 9 proteinle kodlanır: MLH1, MLH3, PMS1, PMS2, MSH2, MSH3, MSH4, MSH5, MSH6. MSI, başlangıçta HNPPCC veya Lynch's sendromlu hastalarda bulunurken, sonrasında farklı tümörlerde de saptanmıştır(45,46). Endometriyal karsinom, HNPPCC'li hastalarda 2. en sık karşılaşılan malignensidir. MSI, Lynch's sendromu ile ilişkili endometriyal adenokarsinomlarda %75 iken; sporadik endometriyal karsinomda %20-30 rapor edilmiştir(2,47,48,49). Endometrioid tipte adenokarsinomda, MSI varlığı iyi klinik gidişle beraberdir(1). Herediter endometriyal karsinom daha erken yaşta, yüksek derece ve evrede olup, kribriform patern, müsinöz diferansiasyon ve nekrozla beraberdir. Çoğu endometriyal karsinom (% 90) sporadiktir. Sporadik olgular, müllerian differansiyasyon yollarının heterojen varyantlarıyla oluşur. Sıklıkla endometrioid, seröz ya da berrak hücreli morfolojisindedir(50). Sporadik kolonik, gastrik veya endometriyal karsinomlarda MSI oldukça düşüktür, gen inaktivasyonlarında başka mekanizmaların rolü ileri sürülmektedir. 1998'te MSI gösteren sporadik kanserlerin tümör supresör gen inaktivasyonu mekanizmasında MLH1 sunucusunun hipermetilasyonu tanımlanmıştır(51). MMR defekti, MLH1 sunucu hipermetilasyonuna neden olarak, DNA tamir protein ekspresyonunun kaybına yol açar, bu da değişik sporadik tümörler, örneğin endometriyal karsinomdaki MSI fenotipinden sorumludur(52,53). MLH1 sunucu hipermetilasyonu; endometriyal hiperplazilerde, özellikle atipili

olanlarda saptanmıştır, ki bunlar karsinom prekürsörüdür(54,55). Bu bulgular MLH1 hipermetilasyonunun EAC patogenezinde MSI fenotipi gelişiminde erken bir basamak olduğunu göstermektedir. Diğer genler, PTEN, p16, E-cadherin altere metilasyonla erken değişikliğe sebep olur(Şekil 1)(56,57).

MSI, endometriyal karsinomlarda görülen bir genetik anomalidir. EAC'larda %20-35, NEAC'larda %0-10 görülmektedir(47-49). EAC ve NEAC'ların karsinogenezislerinin farklı olduğu saptanmıştır(47).

MSI ile histolojik derece ya da sağkalım arasındaki korelasyon açıklanamamıştır(49,58,59,60). Bazı çalışmalarda yüksek histolojik derece ve kötü prognozla ilişkili bulunmuştur(49,58,60). Günümüzde MSI, EAC'da iyi prognozu gösterir, örneğin kolorektal karsinomlarda evreden bağımsız olarak iyi prognozla ilişkilidir(61). Bazı serilerde; MSI oranı, pür EAC'lu olgularda % 35 olup, histolojik derece ile korele bulunmuştur(2). MSI gösteren endometriyal karsinomlarda muhtemelen PTEN mutasyonu da saptanır(1).

#### **4. PTEN**

PTEN/MMAC1/TEP1 kromozom 10q23.3'te lokalize bir tümör supresör gendir. Bu genomik bölge çoğu kanserde olan heterozigosite kaybını(LOH) taşır(62). Bir fosfatazla kodlanan PTEN geni; fosfolipid fosfatidilinozitol-trifosfat (PIP3) aktivasyonu ile hücre sinyal iletimine yardımcı olur. PTEN aktivasyonunda azalma ve bu nedenle PIP3 artışı meydana gelir, hücre proliferasyon ve sağkalımında artışla sonuçlanır(63). PTEN mutasyonu endometriyal karsinomlu olguların % 34-83'ünde saptanmıştır(64,65).

PTEN aktivitesinin azalması hücre proliferasyonunun artmasına yol açar. İn vitro çalışmalarda PTEN'in FAK( fokal adhezyon kinaz) yoluyla hücre adezyon ve migrasyonunu sağladığı gösterilmiştir. Sonuçta fosfatidilinozitol 3-kinaz/ Akt-bağımlı hücre büyüme yolağını antagonize ederek; apoptoz ve G1 hücre siklusunda duraklamaya sebep olur(1,66).

DNA metilasyonunda anormallik neoplazilerde sık karşılaşılan bir durumdur(67). Birçok sporadik kanserde mutasyon ve delesyonlara ek olarak, gen inaktivasyonunda alternatif mekanizmalardan biri de tümör supresör genlerin promoter hipermetilasyonudur(68,69). PTEN gen inaktivasyonunda DNA metilasyonunun rolü tam olarak anlaşılammıştır(70).

Endometrium, oldukça proliferatif ve siklik olarak rejenere olan bir dokudur. PTEN'in nükleer ekspresyonunun proliferatif fazda, sekretuar fazdan daha fazla olduğu saptanmıştır. Endometriyal hiperplazilerde atipi olup olmamasının ekspresyonu etkilemediği bulunmuştur(71). Ayrıca sekretuar ve atrofik endometriumda azalmış ekspresyon ya da kayıp saptanmıştır(72).

Endometriyal intraepitelyal neoplazi(EIN); premalign endometriyal glandların klonal çoğalması olarak tanımlanmaktadır. Tip 1 endometrioid adenokarsinomların prekürsörüdür. PTEN ekspresyonu EIN'da %50 oranında bulunmuştur. Bu nedenle EIN tanısında rutin uygulamada PTEN kullanılmamaktadır(73).

PTEN tümör supresör gen fonksiyon kaybı, multistep karsinogenezisin başlamasına sebep olur(74). PTEN fonksiyon kaybı bazı çalışmalarda, endometrial karsinomlarda yaklaşık % 50 (75) bildirilirken, tümöre komşu premalign lezyon içerenlerde bu oran % 83 bulunmuştur.

İmmünohistokimyasal olarak PTEN kaybı saptanan glandlar, PTEN mutasyon ve delesyonlarına sahiptir(76). PTEN kaybı gösteren proliferatif glandlarda östrojene lokal yanıtızsızlık düşünülmemelidir, çünkü bu olguların östrojen ve progesteron seviyeleri normal saptanmıştır(74). Bir çalışmada; PTEN ekspresyonu endometrial hiperplazi, ve karsinomlarında, proliferatif endometriumla karşılaştırılıp, azalmış olduğu tespit edilmiştir. PTEN ekspresyonu prognostik faktörlerle ilişkili bulunmamıştır. PTEN'in prognozla ilişkisine dair henüz literatürde kanıt yoktur(14). Bazı çalışmalarda prognozla PTEN ekspresyon kaybı arasında ilişki bulunsa da(77), farklı otörlere göre, negatif ekspresyon agresif gidişle ilişkili bulunmuştur(78,79).

PTEN ekspresyon kaybı, MSI gösteren tümörlerde yüksek oranda görülür, atipili veya atipisiz endometriyal hiperplazilerde bildirilmiştir(80,81). Endometriyal hiperplazi tip 1 tümörlerin prekürsörüdür ve PTEN tümörigeneziste erken basamaklarda rol oynar(77,80,82). PTEN ekspresyon kaybı hemen her zaman tip 1 tümörlerde MSI ile birlikte görülür, ancak p53 ekspresyonuna eşlik etmez(77,83). Bazı çalışmalarda ekson 5 ve 7 dışındaki PTEN mutasyonlarının tümörün klinik ve patolojik özelliklerinden bağımsız uzun sağkalımla ilişkili olduğu saptanmıştır(84). Bir başka çalışmada PTEN promoter metilasyonunun ileri evreyle korele olduğu bildirilmiştir(85). Bununla beraber PTEN pozitif ileri evre endometriyal karsinomlarda

postoperatif kemoterapi sonrası uzamış sağkalımla ilişkili olduğunu gösteren veriler bulunmaktadır(86).

### **5. K-ras**

K-ras geni, GTPaz aktivitesine sahip, hücre yüzey reseptörleri ve nükleus arasındaki sinyal iletiminde rol oynar. Hücre büyümesi ve diferansiyasyonunda önemlidir. Endometriyal karsinomların %19-46'sında K-ras mutasyonu bildirilmiştir. Tip 1 tümörlerde K-ras mutasyonu % 26 iken, bu oran tip 2 tümörlerde %2'dir(63). K-ras mutasyonu sıklıkla MSI pozitif tümörlerde görülür(87). K-ras mutasyonu endometriyal hiperplazilerde de saptandığından, bu mutasyonun tip 1 tümörlerde erken tümörigenezisi gösterdiği anlaşılmıştır(88).

### **6. HER2/neu**

Epidermal büyüme faktör reseptörü(EGF-R)ne benzer, 185-kDa transmembran reseptör tirozin kinaz tarafından kodlanır. HER2/neu fonksiyonu; heterodimerizasyondur, hücre büyümesi ve diferansiyasyonundan sorumludur(89). HER2/nue ekspresyonu endometriyal karsinomların %9-30'unda bildirilmiştir. Sağkalımla ters orantılıdır(90). Seröz tümörlerde %18-80 gibi değişik oranlarda saptanmıştır(91). Bir çalışmada; 68 seröz karsinom olgusunda HER2/neu ekspresyonu % 18 bulunmuştur ve düşük sağkalımla korele olduğu bildirilmiştir(92).

### **7. p53**

p53 mutasyonu, tip2 karsinomlardan, seröz tümörlerde %90 iken, berrak hücreli tümörlerde %30-40'tır. PTEN ve MSI oranları berrak hücreli tümörlerde, seröz tümörlerden daha yüksek bulunurken, endometrioid tümörlerden ise düşük olduğu saptanmıştır(18,93). K-ras onkogen mutasyonu hem endometriyal hiperplazi, hem de kanserlerinde bulunurken, p53 mutasyonu sadece invaziv kanserlerde bulunur(94,95).

### **8. Survivin**

Survivin, apoptoz (programlanmış hücre ölümü) inhibitörüdür. Fetal dokularda ve kanserli dokularda eksprese edildiği rapor edilmiştir(96,97). Meme, kolon, beyin, lösemi/ lenfoma, akciğer, melanom, over, prostat, renal kanserler gibi farklı tümörlerde eksprese edilir(98). Erişkin dokularında endometrium, timus ve plasenta dışında eksprese edilmez(96,99).



Bir çalışmada proliferatif endometriumda survivin, glandüler epitel ve stromada negatif veya zayıf pozitif saptanmıştır. Yüzey epiteli ve bazal tabaka hücreleri heterojen ve zayıf pozitiflik göstermiştir. Boyanmanın sitoplazmik olduğu görülmüştür. Sekretuar fazda ise bazal tabaka ve fonksiyonel tabaka arasında farklılık bulunmuştur. Fonksiyonel tabakadaki glandüler hücreler nükleer paternde iken, bazal tabaka hücreleri sitoplazmik patern göstermiştir. Geç sekretuar fazda fonksiyonel tabakanın alt kısımlarında kuvvetli pozitiflik saptanmıştır. Bazal tabakada zayıf boyanma gösterirken, stromal hücreler negatif bulunmuştur. Sonuç olarak; normal endometriumda hormonal fluktuasyonlara bağlı survivin ekspresyonunda değişiklikler meydana geldiği görülmüştür(96).

Survivin'in nükleer ve sitoplazmik ekspresyonları farklı özellikleri yansıtır. Sitoplazmik ekspresyon, apoptoz inhibisyonu, nükleer ekspresyon ise proliferasyon promosyonu ile ilişkilidir(100).

### **9. Matriks metalloproteinaz 2 (MMP2)**

Matriks metalloproteinazlar (MMP) çinko bağımlı endopeptidaz ailesidir. Kollajen ve diğer ekstrasellüler matriks makromoleküllerinin degradasyonunda rol oynar. İnflamasyon ve tümör invazyonunda doku destrüksiyonuna neden olur. MMP bazı bioaktif moleküllerin salınımı ve aktivasyonunda önemlidir(101,102,103). Çoğu malign fenotipli insan kanser hücresinde MMP'nin artmış ekspresyonu bulunmuştur(104).

Normal endometriumda MMP-2,-7 ve TIMP-2 epitelyal ekspresyonları proliferatif fazda yüksek bulunmuştur. Sekretuar fazda stromal hücreler güçlü MMP-2, zayıf MMP-7 ve TIMP-2 ekspresyonu göstermiştir. Atipik hiperplastik endometriumda, TIMP-2 ve MMP-2 ekspresyonu yüksek bulunmuştur. Endometrium karsinomunda histolojik derece ile MMP-2 ekspresyonu artarken, TIMP-2 ekspresyonu azalmıştır(105).

### **GEREÇ VE YÖNTEM**

Bu çalışmada, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 1984-2006 yılları arasında, endometrium karsinomu nedeniyle radikal operasyon uygulanmış veya tanısal amaçlı fraksiyone küretaj yapılmış 95 olgu yer almaktadır. Olgulara ait Hematoksilen-Eosin boyalı preparatlar yeniden gözden geçirilmiştir. Tümöre komşu endometriyal hiperplazi alanları da değerlendirilmiştir, ancak

immünohistokimyasal işlem sırasında dökülme nedeniyle hiperplaziler çalışma dışı bırakılmıştır. Her olgu için tümörü en iyi örnekleyen dokuya ait; %10'luk formalinde fiske, parafine gömülü bir blok seçilmiştir. Evre 1a tümörlerde radikal operasyon materyalinde immünohistokimyasal boyama için yeterli tümöral alan izlenmediğinden, sadece bu olgular(7 adet) için, fraksiyone küretaj materyallerinin blokları kullanılmıştır. Seçilen bloklardan hazırlanan 5 mikron kalınlıkta kesitler poli-L-lizin ile kaplı lamlara alınarak immünohistokimyasal boyama için oda ısısında bekletilmiştir.

#### *İmmünohistokimyasal boyama*

Kesitlere standart streptavidin-biotin immunperoksidaz metodu ile MMP-2 (1:50, Diagnostic Bio Systems, ABD) ve survivin (1:100, Diagnostic Bio Systems, ABD) ve PTEN(1:75, Diagnostic Bio Systems, ABD) primer antikoları uygulanarak immunoreaktiviteleri incelenmiştir.

#### *Uygulamada şu aşamalar izlenmiştir:*

- 1- Hazırlanan kesitler 30dk. etüvde 65 derecede bekletilmiştir.
- 2- Polilizinli kesitler ksilolde 20 dk. bekletilerek deparafinize edilmiştir.
- 3- Daha sonra %96'lık alkolden başlayarak %70'lik alkole dek alkol serilerinden geçirilerek rehidrate edilmiştir.
- 4- Kesitlerin çevresi sınırlayıcı kalem ile çerçeve içine alınmıştır.
- 5- Kesitler 20 dk. sitratta kaynatılmıştır.
- 6- Kaynatma sonunda kesitler tris solüsyonuna alınmıştır.
- 7- Kesitlere hidrojen peroksit damlatılmıştır. 15 dakika bekletilmiştir.
- 8- Tris solüsyonunda yıkanmıştır.
- 9- Primer antikolar damlatılarak 1 saat bekletilmiştir.
- 10- Tris solüsyonunda yıkanmıştır.
- 11- Biotin damlatılarak, 15 dakika bekletilmiştir.
- 12- Tris solüsyonunda yıkanmıştır.
- 13- Streptavidin damlatılarak 15 dakika bekletilmiştir.
- 14- Tris solüsyonunda yıkanmıştır.
- 15- DAB kromojen damlatılmıştır. 7 dakika bekletilmiştir.
- 16- Akan suda yıkanmıştır.
- 17- Harris hematoksilen ile boyanmıştır.
- 18- Akan suda yıkanmıştır.

19- Yükselen alkol serilerinden geçirilmiştir.

20- Ksilolde bekletilmiştir.

21- Kapatma(montaj) makinesinde kapatılmıştır.

#### *İmmünreaktivitenin değerlendirilmesi*

Tümör ve tümöre komşu hiperplazi alanları incelenmek üzere kesitler alınmış olmasına karşın, immünohistokimyasal işlemin kaynatma basamağında dokular döküldüğünden tümöre komşu hiperplazi alanlarının immünoreaktivite değerlendirilmesi yapılamamış ve bu nedenle çalışma dışı bırakılmıştır.

Tümör dokusunda, sitoplazmik ve nükleer survivin ekspresyonları ile sitoplazmik MMP-2 ve PTEN ekspresyonları İHK'sal olarak değerlendirilmiştir. Sitoplazmik boyanmanın dağılımı survivin ve MMP-2 için 1'den 4'e kadar skorlanmıştır: diffüz, >% 50 pozitif (skor 4), % 15-50 pozitif (skor 3), fokal, <% 15 pozitif (skor 2), negatif (skor 1). Ek olarak sitoplazmik boyanmanın yoğunluğu 1'den 4'e kadar skorlanmıştır(1, boyanma yok; 2, zayıf; 3,orta derecede; 4, şiddetli)(112). Ayrıca survivin için nükleer boyanmanın dağılım ve yoğunluğu da benzer şekilde skorlanmıştır. Her bir örnek için dağılım (d) ve yoğunluk (y) skorlarının çarpılması ile elde edilen son skor, 0 ise negatif; 4 ve 4'ün altında ise zayıf pozitif ve 4'ün üstünde ise kuvvetli pozitif olarak değerlendirilmiştir(106). PTEN'in sitoplazmik boyanma yoğunluğu ise orta-kuvvetli boyanma pozitif, soluk boyanma negatif kabul edilmiştir(107).

PTEN için, pozitif kontrol olarak önceden denenerek pozitif olduğu bulunmuş proliferatif endometrium, MMP2 için plasenta dokusu, survivin için mide mukozası kullanılmıştır.

#### *İstatistiksel değerlendirme*

SPSS(Scientific Package for social Sciences) 11.0 programı ile yapılmıştır. Tüm verilerin tanımlayıcı ya da dağılımsal değerleri alınmıştır. İstatistiksel analizde; hastanın yaşı, tümörün histolojik tipi, evresi, derecesi ve immunhistokimyasal boyanma özellikleri değerlendirilmiştir. Sonuçlar, Ki-Kare(Chi-Square) testi kullanılarak elde edilmiştir. Olasılık katsayısı (p) 0.05'e eşit ya da 0.05'ten küçük ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Sağkalım, Kaplan-Mayer SPSS 11.0 programı ile belirlenen faktörlerin prognostik değeri Cox regresyon analiziyle hesaplanmıştır.

## BULGULAR

### *Hastaların Özellikleri*

Toplam 95 endometrial karsinomlu olgu çalışmaya alınmıştır. Bunların 21(%22.1)'i Tip 2 endometrial karsinom iken, 74(%77.9)'ü Tip1 endometrial karsinomdur. Bu çalışmada olguların yaşları 34 ile 87 arasında değişmekte olup, ortalama yaş 61 (median 61) bulunmuştur. Olguların yaş dağılımına bakıldığında, <65 yaş olgu sayısı 60 (%63.2), >65 yaş olgu sayısı 35 (%36.8)'tir(Tablo 4).

Olguların evrelere göre dağılımı tablo 5'te gösterilmiştir. Olguların nükleer ve histolojik derecelerine göre dağılımı Tablo 6'da sunulmuştur.

### *İmmunohistokimyasal veriler ile diğer parametreler arasındaki ilişki:*

İmmunohistokimyasal olarak olguların, survivin(sitoplazmik boyanma değerlendirildiğinde) ile 25(%26.3)'i negatif, 70(%73.7)'i pozitif bulunmuştur. Survivin(nükleer boyanma değerlendirildiğinde) ile 32(%33.7)'i negatif, 63(%66.3)'ü pozitif bulunmuştur. MMP-2 ile 33(34.7)'i negatif, 63(66.3)'i pozitif saptanmıştır. PTEN ile olguların 80(%84.2)'si negatif, 15(%15.8)'i pozitif bulunmuştur.

MMP-2'nin EAC ve NEAC olgularındaki ekspresyonu Tablo 7'de sunulmuştur. Evre ile MMP2 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır. Histolojik derece ve nükleer derece ile MMP2 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır(Tablo 8).

Evre ile survivin'in nükleer ve sitoplazmik ekspresyonu arasında ilişki bulunmamıştır. EAC'lu olguların, NEAC olanlara göre survivin'in nükleer pozitifliği anlamlı olarak yüksektir( $p=0.040$ )(Tablo 9). Buna karşın; survivinin sitoplazmik boyanması ile tanılar arasında farklılık bulunmamıştır(Tablo 10). Histolojik derecesi 3 olanlarda; histolojik derecesi 1 ve 2 olanlara göre survivinin nükleer pozitifliği anlamlı olarak az bulunmuştur( $p=0.013$ )(Tablo 11). Histolojik derece ile survivin sitoplazmik ekspresyonu arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır(Tablo 11). Nükleer derecesi 3 olanlarda, nükleer derecesi 1 ve 2 olanlar göre survivin nükleer pozitifliği anlamlı olarak daha az saptanmıştır( $p=0.006$ ). Survivin sitoplazmik boyanma ile nükleer derece arasında ilişki bulunmamıştır(Tablo 12).

PTEN, 95 olgudan 80(%84.2)'inde pozitif, 15(%15.8)'inde negatif bulunmuştur. EAC ve NEAC olgularında, PTEN ekspresyonları arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır. PTEN'in, evresi 2 ve 3 olan tümörlerde, evre 1 olanlara göre daha az

oranda eksprese edildiği saptanmıştır( $p=0.03$ ). Histolojik ve nükleer derece ile PTEN ekspresyonları arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır( $p>0.05$ )(Tablo13).

Hastaların ortalama takip süresi 39 ay olup, en az 9 ay, en çok 151 ay izlenmiştir. Hastalısız median sağkalım 39 aydır. Hastaların takibinde 3 lokal nüks(vagen cuff nüksü) saptanmıştır. En erken lokal nüks 11.ayda, en geç 71. aydadır. Lokal nüks gösteren olguların üçü pT1b G2 endometrioid adenokarsinom'lu olgulardır. Olgulardan birinde senkron over endometrioid adenokarsinomu bulunmaktadır. Metastaz ise 5 olguda saptanmıştır. Bunların 3'ü lenf nodu metastazı iken, 2'si solid organ metastazıdır. Metastaz, en erken 6. ayda, en geç 50. ayda saptanmıştır. Olguların 5'i hastalık dışı nedenle, 4'ü hastalık nedeniyle kaybedilmiştir. Hastalık nedeniyle kaybedilen 4 olgudan 2'sinde solid organ metastazı, 2'sinde lenf nodu metastazı saptanmıştır. Bu olguların 1'inde lenfovasküler aralık invazyonu ve pozitif peritoneal sitoloji bulunmuştur. Kaybedilen olguların biri EAC, diğerleri NEAC'dur. Beş yıllık hastalısız sağkalım %90.5 olup, hastalısız sağkalım ile evre, yaş, nükleer derece, histolojik derece, survivin, MMP-2, PTEN ekspresyonları arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Lokal yinelemesiz(vagen cuff nüksü olmadan) sağkalım ile bu faktörler arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır. Beş yıllık genel sağkalım %89.5 olup, evre ile arasında anlamlı ilişki saptanmıştır( $p=0.05$ ). Evre 1 tümörlerde, evre 2 ve 3 olanlara göre 5 yıllık genel sağkalım daha yüksek bulunmuştur.

Evre 1 olan toplam 73 olgudan, derin myometriyal invazyonu bulunan(pT1c) olgularda(33 olgu) MMP-2 ve survivinin sitoplazmik ve nükleer ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır(sırası ile  $p=0.3$ ,  $p=0.1$ ,  $p=0.1$ ). Bu olgularda derin myometriyal invazyon ile PTEN'in ekspresyon kaybı arasında sınırlı anlamlı ilişki saptanmıştır( $p=0.57$ ).

Tüm olgular içinde 9 olguda lenfovasküler aralık invazyonu görülmüştür. Bu olgular ile MMP-2, survivin sitoplazmik ve nükleer ekspresyonu ile PTEN ekspresyon kaybı arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır( $p=0.7$ ).

Uterin hastalık(pT1 ve pT2) ile ekstrauterin hastalıklı olgular(pT3) karşılaştırıldığında, ekstrauterin hastalık ile MMP-2, survivin sitoplazmik ve nükleer ekspresyonları arasında anlamlı ilişki görülmemiştir(sırası ile  $p=0.8$ ,  $p=0.6$ ,  $p=0.4$ ).

Ekstrauterin hastalıklı 16 olgunun tümünde PTEN ekspresyon kaybı görülmüştür. Ancak istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır(p=0.06)(Tablo 14).

**Tablo 4. Olguların tanıları ve yaş dağılımı(EAC:Endometrioid adenokarsinom, NEAC: Nonendometrioid adenokarsinom)**

| <b>ÖZELLİK</b>     | <b>n (%)</b> |
|--------------------|--------------|
| <b>Tanı (n:95)</b> |              |
| EAC                | 74 (77.9)    |
| NEAC               | 21 (22.1)    |
| <b>Yaş (n:95)</b>  |              |
| 30-39              | 1 (1.1)      |
| 40-49              | 15 (15.8)    |
| 50-59              | 28 (29.5)    |
| 60-69              | 29 (30.5)    |
| 70+                | 22 (23.2)    |

**Tablo 5. Olguların evrelerine göre dağılımı**

| <b>Evre</b>   | <b>n (%)</b>      |
|---------------|-------------------|
| 1a            | 7 (7.4)           |
| 1b            | 33 (34.7)         |
| 1c            | 33 (34.7)         |
| 2a            | 2 (2.1)           |
| 2b            | 4 (4.2)           |
| 3a            | 9 (9.5)           |
| 3b            | 7 (7.4)           |
| <b>Toplam</b> | <b>95 (100.0)</b> |

**Tablo 6. Olguların histolojik ve nükleer derecelerine göre dağılımı**

| <b>Nükleer Derece</b> | <b>n (%)</b> |
|-----------------------|--------------|
| 1                     | 12 (12.6)    |
| 2                     | 55 (57.9)    |
| 3                     | 28 (29.5)    |

---

| <b>Histolojik Derece</b> | <b>n (%)</b>    |
|--------------------------|-----------------|
| 1                        | 30 (31.6)       |
| 2                        | 36 (37.9)       |
| 3                        | 29 (30.5)       |
| <b>Toplam</b>            | <b>95 (100)</b> |

**Tablo 7. MMP-2'nin EAC ve NEAC'li olgularda dağılımı**

| <b>Tanı</b> | <b>MMP2(-)</b> | <b>MMP2(+)</b> | <b>p</b> |
|-------------|----------------|----------------|----------|
|             | <b>n (%)</b>   | <b>n (%)</b>   |          |
| EAC         | 26(35,1)       | 48(64,9)       |          |
| NEAC        | 7 (33,3)       | 14(66,7)       | (=0.878) |
| Toplam      | 33(34,7)       | 62(65,3)       | >0.05    |

**Tablo 8. MMP2 ekspresyonunun histolojik ve nükleer derece arasındaki ilişkisi**

|                          | <b>MMP2(-)</b> | <b>MMP2(+)</b> | <b>p</b> |
|--------------------------|----------------|----------------|----------|
|                          | <b>n (%)</b>   | <b>n (%)</b>   |          |
| <b>Histolojik derece</b> |                |                |          |
| 1                        | 10(33.3)       | 20(66.7)       |          |
| 2                        | 11(30.6)       | 25(69.4)       | (=0.648) |
| 3                        | 12(41.4)       | 17(58.6)       | >0.05    |
| Toplam                   | 33(34.7)       | 62(65.3)       |          |
| <b>Nükleer derece</b>    |                |                |          |
| 1                        | 6(50.0)        | 6(50.0)        |          |
| 2                        | 15(27.3)       | 40(72.7)       | (=0.183) |
| 3                        | 12(42.9)       | 16(57.1)       | >0.05    |
| Toplam                   | 33(34.7)       | 62(65.3)       |          |

**Tablo 9. Survivin'in nükleer ekspresyonunun EAC ve NEAC'li olgularda dağılımı.**

| Tanı   | Survivin   | Survivin   | p       |
|--------|------------|------------|---------|
|        | Nükleer(-) | Nükleer(+) |         |
|        | n (%)      | n (%)      |         |
| EAC    | 21(28.4)   | 53(71.6)   | (=0.04) |
| NEAC   | 11(52.4)   | 10(47.6)   | <0.05   |
| Toplam | 32(33.7)   | 63(66,3)   |         |

**Tablo 10. Survivin'in sitoplazmik ekspresyonunun EAC ve NEAC'li olgularda dağılımı**

| Tanı   | Survivin        | Survivin        | p        |
|--------|-----------------|-----------------|----------|
|        | Sitoplazmik (-) | Sitoplazmik (+) |          |
|        | n (%)           | n (%)           |          |
| EAC    | 18(24.3)        | 56(75.7)        |          |
| NEAC   | 7(33.3)         | 14(66.7)        | (=0.408) |
| Toplam | 25(26.3)        | 70(73.7)        | >0.05    |



**Tablo 11. Histolojik derece ile survivinin sitoplazmik ve nükleer ekspresyonun karşılaştırılması**

|                          | Survivin    | Survivin    | p               |
|--------------------------|-------------|-------------|-----------------|
|                          | sitoplazmik | sitoplazmik |                 |
|                          | (-)         | (+)         |                 |
|                          | n (%)       | n (%)       |                 |
| <b>Histolojik derece</b> |             |             |                 |
| 1                        | 6(20.0)     | 24(80.0)    |                 |
| 2                        | 8(22.2)     | 28(77.8)    | (=0.229)        |
| 3                        | 11(37.9)    | 18(62.1)    | >0.05           |
| Toplam                   | 25(26.3)    | 70(73.7)    |                 |
|                          | Survivin    | Survivin    | p               |
|                          | nükleer(-)  | nükleer (+) |                 |
|                          | n (%)       | n (%)       |                 |
| <b>Histolojik derece</b> |             |             |                 |
| 1                        | 7(23.3)     | 23(76.7)    |                 |
| 2                        | 9(25.0)     | 27(75.0)    | <b>(=0.013)</b> |
| 3                        | 16(55.2)    | 13(44.8)    | <b>&lt;0.05</b> |
| Toplam                   | 32(33.7)    | 63(66.3)    |                 |

**Tablo 12. Nükleer derece ile survivinin nükleer ve sitoplazmik ekspresyonunun ilişkisi**

|                       | <b>Survivin<br/>nükleer (-)<br/>n (%)</b>         | <b>Survivin<br/>nükleer (+)<br/>n (%)</b>         | <b>p</b>        |
|-----------------------|---|---|-----------------|
| <b>Nükleer derece</b> |   |   |                 |
| 1                     | 4(33.3)   | 8(66.7)   |                 |
| 2                     | 12(21.8)  | 43(78.2)  | <b>(=0.006)</b> |
| 3                     | 16(57.1)  | 12(42.9)  | <b>&lt;0.05</b> |
| Toplam                | 32(33.7)  | 63(66.3)  |                 |
|                       | <b>Survivin<br/>sitoplazmik<br/>(-)<br/>n (%)</b> | <b>Survivin<br/>sitoplazmik<br/>(+)<br/>n (%)</b> | <b>p</b>        |
| <b>Nükleer derece</b> |   |   |                 |
| 1                     | 2(16.7)   | 10(83.3)  |                 |
| 2                     | 13(23.6)  | 42(76.4)  | <b>(=0.358)</b> |
| 3                     | 10(35.7)  | 18(64.3)  | <b>&gt;0.05</b> |
| Toplam                | 25(26.3)  | 70(73.7)  |                 |

**Tablo 13. EAC ve NEAC'larda PTEN ekspresyon kaybı, evre, histolojik derece ve nükleer derece ile PTEN arasındaki ilişki**

| <b>Tanı</b>              | <b>PTEN(-)<br/>n (%)</b> | <b>PTEN(+)<br/>n (%)</b> | <b>p</b>        |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------|
| <b>EAC</b>               | 63(85.1)                 | 11(14.9)                 | (=0.736)        |
| <b>NEAC</b>              | 17(81)                   | 4(19)                    | >0.05)          |
| <b>Evre</b>              |                          |                          |                 |
| 1                        | 60(82.2)                 | 13(17.8)                 | <b>(=0.033)</b> |
| 2                        | 4(66.7)                  | 2(33.3)                  | <b>&lt;0.05</b> |
| 3                        | 16(100)                  | 0(0)                     |                 |
| <b>Histolojik derece</b> |                          |                          |                 |
| 1                        | 26(86.7)                 | 4(13.3)                  | (=0.901)        |
| 2                        | 30(83.3)                 | 6(16.7)                  | >0.05           |
| 3                        | 24(82.8)                 | 5(17.2)                  |                 |
| <b>Nükleer derece</b>    |                          |                          |                 |
| 1                        | 10(83.3)                 | 2(16.7)                  | (=0.966)        |
| 2                        | 46(83.6)                 | 9(16.4)                  | >0.05           |
| 3                        | 24(85.7)                 | 4(14.3)                  |                 |

**Tablo 14. PTEN, MMP-2, survivinin nükleer/sitoplazmik ekspresyonu ile uterin/ekstrauterin hastalık, LVI ve derin myometriyal invazyon ile ilişkisi.**

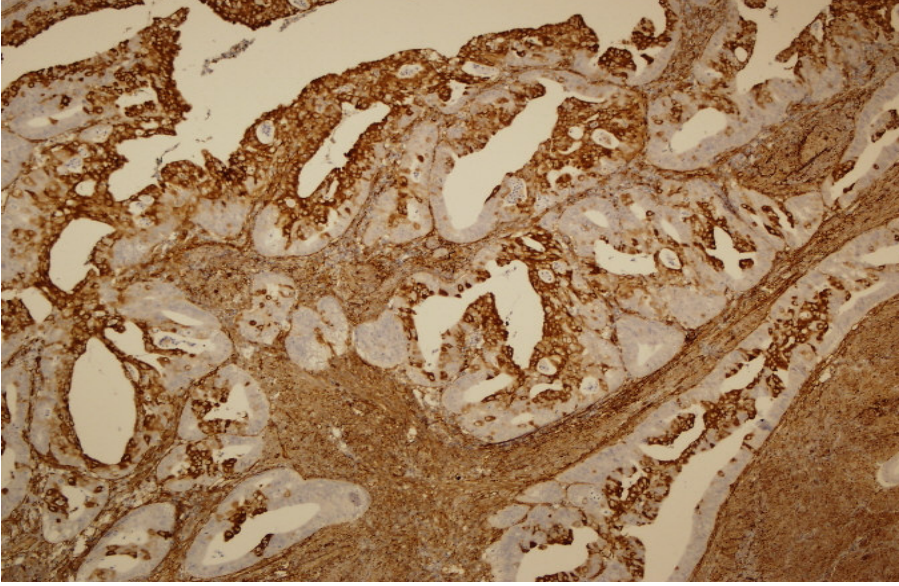
|   | <b>PTEN</b>      | <b>MMP-2</b> | <b>Survivin<br/>nükleer</b> | <b>Survivin<br/>sitoplazmik</b> |
|---|------------------|--------------|-----------------------------|---------------------------------|
| <b>Evre 1 ve 2</b>                          |                  |              |                             |                                 |
| <b>(uterin hastalık)</b>                    | (p=0.06)         | (p=0.8)      | (p=0.4)                     | (p=0.6)                         |
| <b>Evre 3</b>                               | >0.05            | >0.05        | >0.05                       | >0.05                           |
| <b>(ekstrauterin hastalık)</b>              |                  |              |                             |                                 |
| <b>LVI (-)*</b>                             | (p=0.7)          | (p=0.9)      | (p=0.4)                     | (p=0.7)                         |
| <b>LVI (+)**</b>                            | >0.05            | >0.05        | >0.05                       | >0.05                           |
| <b>Evre 1a+1b</b>                           |                  |              |                             |                                 |
| <b>Evre 1c (derin myometriyal invazyon)</b> | <b>(p=0.057)</b> | (p=0.3)      | (p=0.1)                     | (p=0.1)                         |
|   | <b>&gt;0.05</b>  | >0.05        | >0.05                       | >0.05                           |

\*LVI (-): Lenfovasküler aralık invazyonu yok

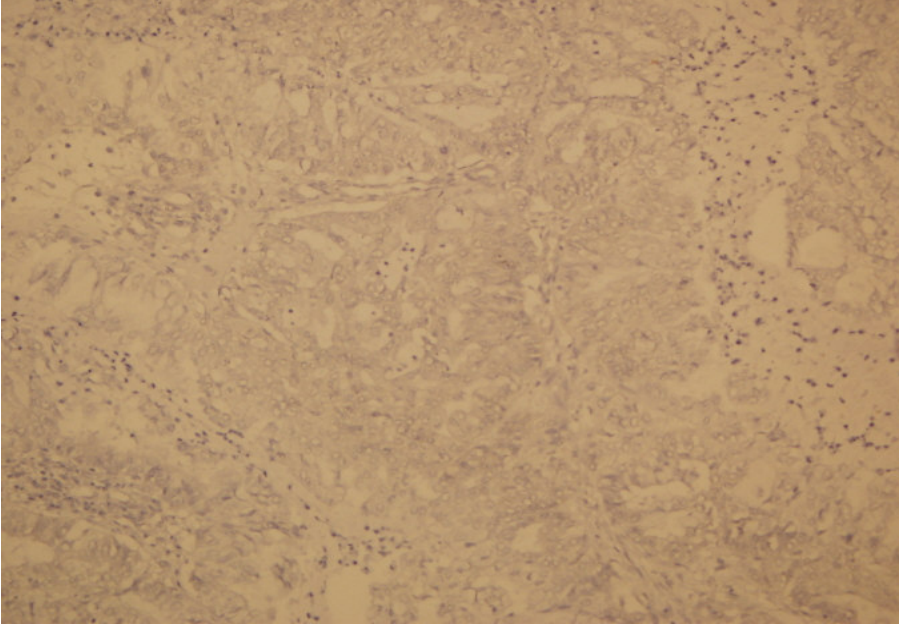
\*\*LVI (+): Lenfovasküler aralık invazyonu var

## RESİMLER

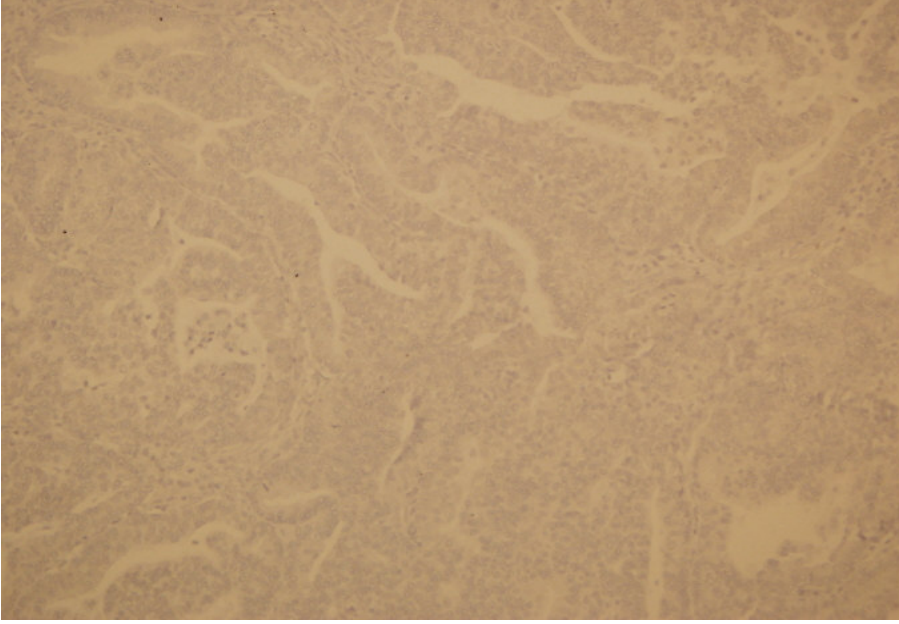
**Resim 1. MMP-2 pozitif boyanma(Endometrioid adenokarsinom, Evre 1b)(X100)**



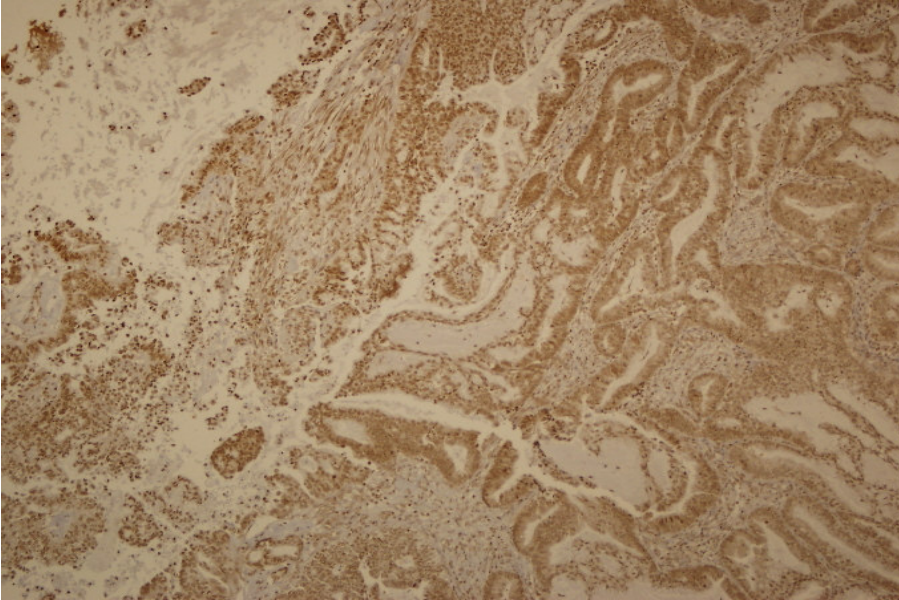
**Resim 2. PTEN kaybı(Nonendometrioid adenokarsinom, Evre 3a)(X100)**



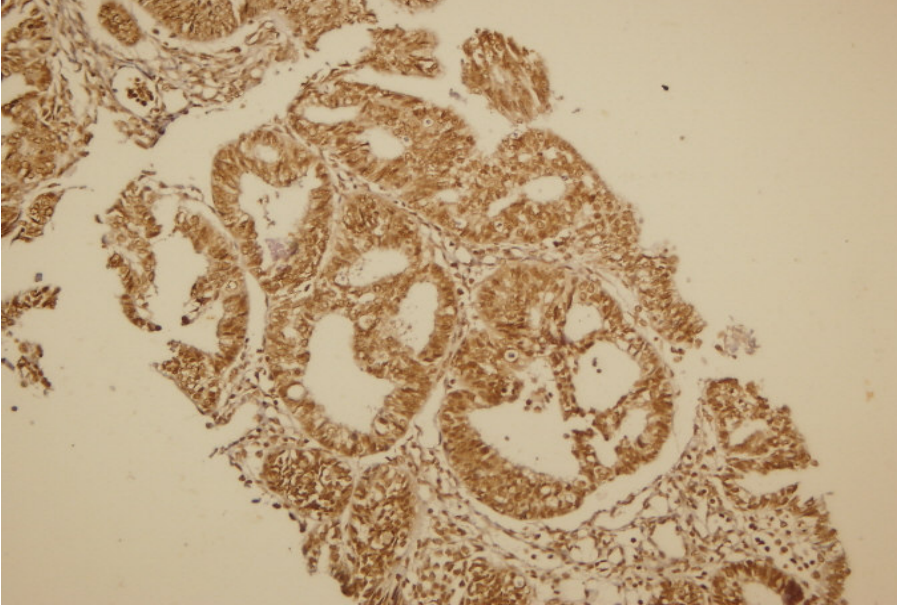
**Resim 3. PTEN kaybı(Endometrioid adenokarsinom, Evre 2a)(X100)**



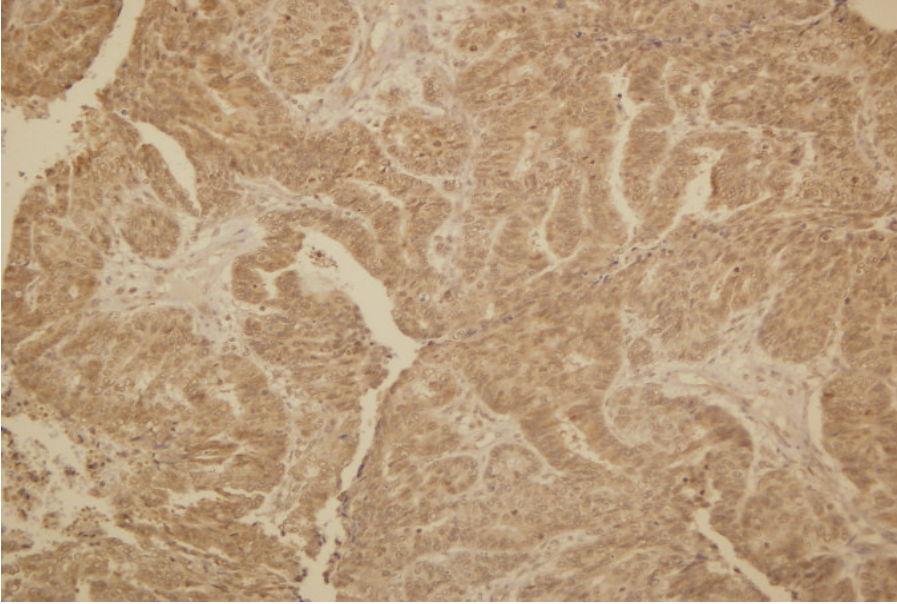
**Resim 4. Survivin nükleer boyanma(Endometrioid adenokarsinom, Evre 1b)(X40)**



**Resim 5. Survivin nükleer boyanma (Endometrioid adenokarsinom, Evre 1b) (X100)**



**Resim 6. Survivin sitoplazmik boyanma (Endometrioid adenokarsinom, Evre 3a) (X100)**



## TARTIŞMA

Endometriyal kanserlerin moleküler patogenezi halen kesin olarak anlaşılammıştır. Çeşitli genetik değişiklikler tanımlanmıştır(108).

Matriks metalloproteinazlar, inaktif zimojenler salgılar, bunlar ekstrasellüler aktive olur. Aktif jelatinazlar endometriyal kanserlerde bulunur ve sonuçta tümör invazyon ve metastazına katkıda bulunurlar(109). Normal endometriumda MMP-2, MMP-7 ve TIMP-2'nin epitelyal ekspresyonları menstrual siklusun proliferatif fazında artmıştır. Sekretuar fazda ise endometriyal stromal hücreler kuvvetli MMP-2 ekspresyonu ve zayıf MMP-7 ve TIMP-1 ekspresyonu göstermiştir. MMP-9, MMP-2 ve MT1-MMP immünreaktif proteinlerinin endometriyal kanserlerde artmış histolojik derece ve myometriyal vasküler/lenfatik invazyonla korele bulunmuştur(104). Bir çalışmada MMP-9, endometriyal kanserlerde normal endometriumdan yüksek bulunmuştur. MMP-2 ise endometriyal kanserler ve normal endometriumda farklılık göstermemiştir. MMP-9'un endometriyal kanser progresyonunda önemli rol oynadığı düşünülürken, MMP-2'nin burada rolü olmadığı anlaşılmıştır(110).

Endometriyal MMP transkripsiyonu steroid hormonlarla düzenlenir(111). Erken evrede endometriyal karsinomlarda progesterin tedavisi başarılı bulunmuştur(101). MMP-2 ile immun boyamada negatiflik iyi prognoz ve sağkalımla ilişkilidir. MMP-2, derece 3 endometrium karsinomlarında pozitif bulunmuştur(111,112). MMP-1 tüm folliküler tiroid lezyonlarında pozitif bulunmuştur. MMP-2 ve MMP-7 yaygın invaziv ve minimal invaziv folliküler karsinomlarda pozitif bulunmuştur, folliküler adenom ve adenomatöz guatr olgularında bir olgu dışında negatif bulunmuştur(113). Diğer yönden MMPs, pek çok malign tümörde agresif davranışla ilişkilidir. MMP-2 derin invazyon gösteren endometrium karsinomu ve lenf nodu metastazı olanlarda daha yüksek bulunmuştur(114,115). İlk kez COX-2 ve matriksmetalloproteinazların birlikte ele alındığı bir çalışmada; MMP-2, MMP-9 ve COX-2 primer endometriyal karsinomlarda tümör agresifliği ile korele bulunmuştur(116). Bir başka çalışmada primer endometrioid adenokarsinomlarda, özellikle grade 3 olanlarda MMP-2 pozitif bulunmuş ve sağkalım analizinde MMP-2 negativitesinin; iyi prognozla ilişkili olduğu ortaya konmuştur(112).

MMP-2 mide karsinomlarında derin invazyon, bölgesel lenf nodu metastazı ile korele bulunmuştur. Ancak; cinsiyet, gastrik lokalizasyon, tümör boyutu, histolojik tip



ya da derece ile ilişkisi saptanmamıştır(117). Pankreas karsinomlarında MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonlarına bakıldığında, MMP-9 normal ve pankreas kanserinde pozitif iken, MMP-2 normal dokuda negatif, pankreas kanserinde pozitif bulunmuştur. Bu da MMP-2'nin pankreatik kanser için spesifik bir marker olduğunu göstermiştir(118). Serviks skumöz hücreli karsinomlarda MMP-2 ekspresyonunun servikal neoplastik transformasyonun erken belirleyicisi olduğu bulunmuştur. İnvaziv davranışın göstergesi kabul edilmiştir. Ayrıca yüksek skorlu MMP-2 pozitivitesinin kötü histolojik diferansiyasyon ve lenf nodu metastazı ile korele olduğu gösterilmiştir(119).

Over adenokarsinomlarında MMP-2 stromal pozitivitesi; ileri evre, yüksek derece, seröz subtip, küçük tümör boyutu ve artmış rekürrens ile ilişkili bulunmuştur. Stromal MMP-2 pozitifliği meme, akciğer, mide kanserlerinde saptanmıştır. Stromal MMP-2 ekspresyonu kötü klinik seyirle koreledir. Ovaryan karsinomlarda stromal MMP-2 invazyon sürecinin erken bulgusudur(120).

Endometriyal karsinomlu 50 olguda uygulanan MMP-2 ve TIMP-2 immünohistokimyasında, histolojik derece arttıkça, MMP-2 ekspresyonun arttığı, TIMP-2 ekspresyonun ise azaldığı saptanmıştır. MMP-2 ekspresyonu lenf nodu metastazı ile korele olduğu bulunmuştur. TIMP-2 ekspresyonu derin myometriyal invazyon, lenfovasküler aralık tutulumu ve lenf nodu metastazı ile ilişkili bulunmuştur. MMP-2 ve TIMP-2 ekspresyonunun endometriyal tümörlerde lokal ve uzak yayılım ile korele olduğu düşünülmüştür(121). Endometrioid adenokarsinomlu 112 olguda MMP-2 %80 oranında saptanmıştır. Tüm derece 3 tümörlerde MMP-2 pozitif bulunmuştur. MMP-2 negatifliği endometrioid endometriyal karsinomlarda iyi prognozla ilişkili olabileceği saptanmıştır(122).

Bizim çalışmamızda ise MMP-2 ile nükleer derece, histolojik derece, evre arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır. Hastalısız 5 yıllık sağkalım, lokal nüks ve lenfovasküler aralık invazyonu ile MMP-2 arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Serviks karsinomlarında yapılan bir çalışmada MMP-2, MMP-7 ve survivinin immünohistokimyasal ekspresyon farklılıklarına bakılmıştır. MMP-2 ve MMP-7 ise; skuamöz hücreli karsinom olgularında eksprese edilmiştir. Survivin adenokarsinom olgularında anlamlı kuvvetli pozitif bulunmuştur ve yaş, klinik evre, histolojik tip veya menapozal durum ile ilişkisi saptanmamıştır(123,124).

Survivin'in endometriyal tümörigenezisteki rolü tam olarak anlaşılammıştır. Endometriyal karsinomlar için survivin bir diagnostik tümör belirleyicisidir ve ayrıca prognostik bilgi sağlar. Bir çalışmada survivin'in nükleer ve sitoplazmik immünoreaktivitesinin klinik evre, histolojik derece, myometriyal invazyon, sağkalımla ilişkisine bakılmış ve kötü klinik gidişle korele olduğu bulunmuştur(97). Bazı çalışmalarda ise endometrium kanserli olgularda survivin'in histolojik tip, derece, evre veya sağkalımla istatistiksel ilişki bulunmamıştır(125). Farklı serilerde survivin ekspresyonu agresiflik, artmış rekürrens, tedaviye direnç ve azalmış apoptotik indeksle korele bulunmuştur(97,126,127).

Endometriyal adenokarsinomlarda survivin mRNA ve protein ekspresyonu, atipili veya normal endometriumdan daha yüksek bulunmuştur(128). Bir çalışmada survivin mRNA'nın endometriyal kanser için spesifik bir belirleyici olmadığı, ancak; endometriyal mukozanın tümör progresyonunda önemli rol oynadığı bulunmuştur(129).

Survivin, MMP-2, MMP-9, MT1-MMP mRNA ekspresyonları; endometriozis olgularında agresif pigmente lezyonlarda, normal endometriumdan daha yüksek bulunmuştur. Survivin ve MMPs upregülasyonu sağkalım ve endometriozisin invazyonu ile ilişkili bulunmuştur(130).

Survivin normal kolon mukozasında eksprese edilmezken, displazi derecesi ile doğru orantılı olarak arttığı tespit edilmiştir. Ancak yüksek dereceli displazi ile karsinom arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır(131). Glioblastoma multiformede survivin ekspresyonuna bakıldığında; derece 2-3 gliomlardan daha yüksek oranda eksprese edildiği saptanmıştır(132).

Over karsinomlarında ise, survivin ekspresyonu tümörün evresi, histolojik derecesi ve lenf nodu metastazı ile korele bulunmuştur(133). Survivin ekspresyonu pediatrik malignansilerde de saptanmıştır(134).

Çalışmamızda survivin'in nükleer ekspresyonunun nükleer derece ve histolojik derece ile anlamlı ilişkili olduğu saptanmıştır. Nükleer derecesi yüksek olan olgularda survivin'in, düşük nükleer dereceli olgulara göre daha az oranda eksprese edildiği bulunmuştur. Ancak, survivin'in 5 yıllık hastalısız sağkalım, lokal nüks ve lenfovasküler aralık invazyonu ile arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

PTEN proteininin normal endometriumda eksprese edildiği, özellikle proliferatif fazda, sekretuar fazdan daha yüksek oranda bulunduğu bilinmektedir. Bir alışmada PTEN ekspresyonu endometriyal intraepitelyal neoplazi, endometriyal karsinoma ve proliferatif faz endometriumda farklılık göstermemiştir(135).

PTEN gen mutasyonları endometriyal kanserlerin 1/3'ünde saptanmıştır(65). PTEN gen mutasyonu, normal diferansiyasyon veya histoloji kaybı olmadan önce endometriyal karsinogeneziste erken saptanan bir bulgudur. Premalign hiperplazilerde %20 oranında saptanmıştır(136). Bir alışmada PCR yöntemi ile endometriyal hiperplazilerde PTEN gen mutasyonu %19(atipili), %21(atipisiz) oranında saptanmıştır(81).

Bir çalışmada 80 endometriyal karsinom olgusunda p53 pozitifliği, ileri evre, lenf nodu metastazı ve nonendometrioid histoloji ile korele bulunmuştur(137,138). Pozitif  $\beta$ -katenin azalmış evre, düşük derece, negatif lenf nodu ile ilişkili bulunurken, PTEN pozitifliği azalmış evre, negatif lenf nodu ile korele bulunmuştur. Sadece  $\beta$ -katenin bağımsız prognostik faktör bulunmuştur.  $\beta$ -katenin ekspresyon kaybı endometriyal karsinomlarda kötü prognozla ilişkili ve PTEN kaybı evre 1 hastalarda kötü klinik gidişle beraber olduğu saptanmıştır(107). Mutasyonla PTEN inaktivasyonu, mikrosatellit instabilite gösteren endometrioid histolojideki endometriyal tümörlerde görülen en sık genetik değişikliktir(108). PTEN mutasyonu premalign lezyonlarda, örneğin, kompleks atipili hiperplazilerde bulunmuştur(139,140). Moleküler temel tam olarak açıklanamadığı için, PTEN ile prognoz arasındaki ilişki net değildir(141,142,143). PTEN ile diğer genetik değişiklikler arasındaki bağlantı tam olarak bilinmemektedir. Zhou ve arkadaşlarına göre; PTEN, Akt aktivasyonunu inhibe ederek HTERT mRNA düzeyini azaltma yoluyla telomeraz aktivitesini düzenler. Böylece PTEN kaybı endometriyal hücreleri yüksek düzeyde telomeraz ekspresyonuna devam etmesini sağlar ve endometriumdaki neoplastik transformasyonu kolaylaştırır(144).

Günümüzdeki deneysel ve moleküler çalışmalarda, p53 ve PTEN arasındaki etkileşim birçok kanser formunda öne sürölmektedir(144,145). Örneğin; PTEN downregölasyonu ve p53 mutasyonu baş-boyun skuamöz hücreli karsinomlarda rapor edilmiştir(146). Bu iki tümör supresör geninde anormallik endometriyal karsinogeneziste geç fazda saptanmıştır(147).

PTEN mutasyonları yüksek dereceli gliblastoma, prostatın sporadik kanserlerinde, tiroid, endometrium, memede rapor edilmiştir(65,75,148,149). Ayrıca melanom, akciğer, mesane kansinomlarında da bildirilmiştir(150).

Sun H ve arkadaşları endometriyal karsinomlu 57 olguda %24 oranında PTEN gen mutasyonu saptanmıştır. PTEN inaktivasyonu, endometriyal karsinogenezisin erken evrelerinde bulunmuştur(151). Endometriyal karsinomlarda PTEN gen inaktivasyonu allelik kayıp ve nokta mutasyonu ile meydana gelir(150,152).

Bir başka çalışmada 38 endometriyal karsinomlu olgudan 17'sinde(%44.7) PTEN mutasyonu saptanmıştır. EAC'lu olguların %51.5'inde bulunurken, NEAC'lu olgularda pozitiflik saptanmamıştır. Bu PTEN mutasyonu gösteren tümörlerin 9'unda MSI pozitif, 8'inde MSI negatif bulunmuştur. PTEN mutasyonu ile histolojik derece veya evre arasında korelasyon bulunmamıştır(83).

Bizim çalışmamız da yukarıda bahsedilen çoğu çalışmayı destekler nitelikte olup, PTEN'in, evresi 2 ve 3 olan tümörlerde, evre 1 olanlara göre daha az oranda eksprese edildiği saptanmıştır. EAC ve NEAC olgularında, PTEN ekspresyonları arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır. Histolojik derece, nükleer derece, hastalısız 5 yıllık sağkalım ve lokal nüks ile PTEN arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Ancak derin myometriyal invazyon ile sınırlı anlamlı ilişki saptanmıştır( $p=0.057$ ).

## SONUÇ

Bu çalışmada survivinin nükleer ekspresyonu ile tümörün nükleer ve histolojik derecesi arasında anlamlı ilişki bulunmasına karşın, survivinin nükleer ve sitoplazmik ekspresyonun, 5 yıllık hastalısız sağkalım, lokal nüks, lenfovasküler aralık invazyonu ve derin myometriyal invazyon arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır. Benzer şekilde MMP-2 ve PTEN ile 5 yıllık hastalısız sağkalım, lokal nüks, lenfovasküler aralık invazyonu ve derin myometriyal invazyon arasında da anlamlı ilişki bulunmamıştır. PTEN ekspresyon kaybının, ileri evre ve derin myometriyal invazyonu bulunan olgularda daha fazla oranda olduğu dikkati çekmiştir.

Çalışmamızda, endometriyum karsinomlarında immünohistokimyasal olarak uygulanan survivin, MMP-2 ve PTEN'in genel ve hastalısız sağkalımla ilişkisi bulunmaması nedeniyle, rutin uygulamada kullanımları tartışmalıdır.

Bu bulgular ışığında, uzun süreli takibi bulunan geniş seri olgularda, farklı prognostik faktörlerin ele alındığı çalışmaların yapılması uygun olur.

## KAYNAKLAR

1. Jaime Prat. Prognostic Parameters of Endometrial Carcinoma. *Hum Pathol.* 2004; 35(6).
2. Jaime Prat, Alberto Gallardo, Miriam Cuatre Casas et al. Endometrial carcinoma: pathology and genetics. *Pathology* 2007;39(1):72–87.
3. Kari H, Justo L, Charlotta G. Endometrial cancer: Population attributable risks from reproductive, familial and socioeconomic factors. *Eur J Cancer.* 2005;41:2155-59.
4. Tavassoli FA, Deville P, eds. World Health Organization Classification of Tumors: Pathology and Genetics. Tumors of the Breast and Female Genital Organs. Lyon, France: IARC Pres, 2003:217-27.
5. Hinkula M, Pukkala E, Kyyronen P, et al. Grand multiparity and incidence of endometrial cancer: a population-based study in Finland. *Int. J Cancer.* 2002;98: 912-15.
6. Lambe M, Wu J, Weiderpass E, et al. Childbearing at older age and endometrial cancer risk (Sweden). *Cancer Causes Control.* 1999;10:43-49.
7. IARC. Some pharmaceutical drugs. In: IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. IARC;1996.
8. Olson S, Vena L, Dorn J, et al. Exercise, occupational activity, and risk of endometrial cancer. *Am Epidemiol.* 1997;46-53.
9. Hemminki K, Zhang H, Czene K. Socioeconomic factors in cancer in Sweden. *Int J Cancer.* 2003;105:692-700.
10. Nelson CL, Sellers TA, Rich SS, et al. Familial clustering of colon, breast, uterine, and ovarian cancers as assessed by family history. *Genet Epidemiol.* 1993;10:235-44.
11. Hemminki K, Li X, Czene K. Familial risk of cancer: data for clinical counseling and cancer genetics. *Int J Cancer.* 2004;108:109-14.
12. Burke T, Eifel P, Muggia F. Cancer of the uterine body. Lippincott-raven. 1997;1478-99.
13. Hemminki K, Aaltonen L, Li X. Subsequent primary cancers after endometrial and ovarian cancer. *Cancer.* 2003;97:2432-39.

14. S. Erkenli, F. Kayaselcuk, E. Kuscu, et al. Expression of survivin, PTEN and p27 in normal, hyperplastic, and carcinomatous endometrium. *Int J Gynecol Cancer*. 2006;16:1412–18.
15. Horn LC, Schnurrbusch U, Bilek K, et al. Risk of progression in complex and atypical endometrial hyperplasia: clinicopathologic analysis in cases with and without progestogen treatment. *Int J Gynecol Cancer*. 2004;14:348–53.
16. Bockman JV. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol*. 1983;15:10–7.
17. K Chinen, K Kamiyama, T Kinjo, et al. Morules in endometrial carcinoma and benign endometrial lesions differ from squamous differentiation tissue and are not infected with human papillomavirus. *J Clin. Pathol*. 2004;57:918-26.
18. Fu-Shing Liu. Molecular carcinogenesis of endometrial cancer. *Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology*. 2007;46(1):26-32.
19. An HJ, Logani S, Isacson C, Ellenson LH. Molecular characterization of uterine clear cell carcinoma. *Mod Pathol*. 2004;17:530–7.
20. Enomoto T, Fujita M, Inoue M, et al. Alterations of the *p53* tumor suppressor gene and its association with activation of the *c-K-ras-2* proto-oncogene in premalignant and malignant lesions of the human uterine endometrium. *Cancer Res*. 1993;53:1883-88.
21. Sigurd F. Lax. Molecular genetic changes in epithelial, stromal and mixed neoplasms of the endometrium . *Pathology*. 2007;39(1):46–54.
22. Tavassoli FA, Deville P, eds. World Health Organization Classification of Tumors: Pathology and Genetics. Tumors of the Breast and Female Genital Organs. Lyon, France: IARC Pres, 2003:217-27.
23. Boronow RC, Morrow CP, Creasman WT, et al. Surgical staging in endometrial cancer: Clinical-pathological findings of a prospective study. *Obstet Gynecol*. 1984; 63:825-32.
24. Morrow CP, Bundy BN, Kurman RJ, et al. Relationship between surgical-pathological risk factors and outcome in clinical stage I and II carcinoma of the endometrium. A Gynecologic Oncology Group Study. *Gynecol Oncol*. 1991;40:55-65.
25. DiSaia PJ, Creasman WT, Boronow RC, et al. Risk factors and recurrent patterns in stage I endometrial cancer. *Am J Obstet Gynecol*. 1985;151:1009-15.

26. Zaino RJ, Kurman RJ, Diana KL, et al. The utility of the revised International Federation of Gynecology and Obstetrics histological grading of endometrial adenocarcinoma using a defined nuclear grading system. A Gynecologic Oncology Group Study. *Cancer*. 1995;75:81-86.
27. Jo Bailey, John Murdoch. Endometrial cancer. *Current Obstetrics & Gynaecology*. 2004;14:37-342.
28. Silverberg SG. Problems in the differential diagnosis of endometrial hyperplasia and carcinoma. *Mod Pathol*. 2000;13:309-27.
29. Hall B, Young RH, Nelson JH. The prognostic significance of adenomyosis in endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol*. 1984;17:32-40.
30. Mittal KR, Barwick KW. Endometrial adenocarcinoma involving adenomyosis without true myometrial invasion is characterized by frequent preceding estrogen therapy, low histological grades, and excellent prognosis. *Gynecol Oncol*. 1993;49:197-201.
31. Koshiyama M, Suzuki A, Ozawa M, et al. Adenocarcinoma arising from uterine adenomyosis: A report of four cases. *Int J Gynecol Pathol*. 2002;21:239-45.
32. Longacre TA, Hendrickson MR. Diffusely infiltrative endometrial adenocarcinoma: An adenoma malignum pattern of myoinvasion. *Am J Surg Pathol*. 1999;23:69-78.
33. Zaino RJ, Kurman RJ, Herbold D, et al. The significance of squamous differentiation in endometrial carcinoma. *Cancer*. 1991;68:2293-2302.
34. Hanson MB, van Nagell JR, Powell DE. The prognostic significance of lymphovascular space invasion in stage I endometrial cancer. *Cancer*. 1985;55:1753-57.
35. Gal D, Recio FO, Zamurovic D, et al. Lymphovascular space involvement: A prognostic indicator in endometrial adenocarcinoma. *Gynecol Oncol*. 1991;42:142-5.
36. Beckner ME, Mori T, Silverberg SG. Endometrial carcinoma: Nontumor factors in prognosis. *Int J Gynecol Pathol*. 1985;4:131-45.
37. Katu T, Silverberg SG, Tsukamoto N, et al. Association of endometrial epithelial metaplasias with endometrial carcinoma and hyperplasia in Japanese and American women. *Int J Gynecol Pathol*. 1993;12:297-300.
38. Wolfson A, Sightler S, Markoe A, et al. The prognostic significance of surgical staging for carcinoma of the endometrium. *Gynecol Oncol*. 1992;45:142-46.

39. Fanning J, Alvarez P, Tsukada Y, et al. Prognostic significance of the extent of cervical involvement by endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 1991;40:46-47.
40. Jordan LB, Al-Nafussi A. Clinicopathological study of the pattern and significance of cervical involvement in cases of endometrial adenocarcinoma. *Int J Gynecol Cancer*. 2002;12:42-8.
41. Kadar N, Homesley HP, Malfetano JH. Positive peritoneal cytology is an adverse risk factor in endometrial carcinoma only if there is other evidence of extrauterine disease. *Gynecol Oncol*. 1992;46:145-9.
42. Grimshaw R, Tupper W, Fraser R, et al. Prognostic value of peritoneal cytology in endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol*. 1990;36:97-100.
43. Geisinger KK, Homesly HD, Morgan TM, et al. Endometrial adenocarcinoma. A multiparameter clinicopathological analysis including the DNA profile and the sex steroid hormone receptors. *Cancer*. 1986;58:1518-25.
44. Stendahl U, Strang P, Wagenius G, et al. Prognostic significance of proliferation in endometrial adenocarcinomas: A multivariate analysis of clinical and flow cytometric variables. *Int J Gynecol Pathol*. 1991;10:271-84.
45. Aaltonen LA, Peltomaki P, Leach FS, et al. Clues to the pathogenesis of familial colorectal cancer. *Science*. 1993;260:812-6.
46. Thibodeau SN, Bren G, Schaid V. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. *Science*. 1993;260:816-9.
47. Catasús LI, Machin P, Matias-Guiu X, et al. Microsatellite instability in endometrial carcinomas clinicopathologic correlations in a series of 42 cases. *Hum Pathol*. 1998;29:1160-4.
48. Risinger JI, Berchuck A, Kohler MF, et al. Genetic instability of microsatellites in endometrial carcinoma. *Cancer Res*. 1993;53:5100-103.
49. Caduff RF, Johnston CM, Svoboda-Newman SM, et al. Clinical and pathological significance of microsatellite instability in sporadic endometrial carcinoma. *Am J Pathol*. 1996;148:1671-8.
50. Parc YR, Halling KC, Burgart LC et al. Microsatellit instability and hMLH1/hMSH2 expression in young endometrial carcinoma patients: associations with family history and histopatology. *Int J Cancer*. 2000;86:66-9.



51. Herman JG, Umar A, Polyak K, et al. Incidence and functional consequences of hMLH1 promoter hypermethylation in colorectal carcinoma. *Proc Natl Acad Sci.* 1998;95:6870–5.
52. Esteller M, Levine R, Baylin SB, et al. MLH1 promoter hypermethylation is associated with the microsatellite instability phenotype in sporadic endometrial carcinomas. *Oncogene.* 1998;17:2413–7.
53. Cunningham JM, Christensen ER, Tester DJ, et al. Hypermethylation of the hMLH1 promoter in colon cancer with microsatellite instability. *Cancer Res.* 1998;58:3455–60.
54. Lax SF. Dualistic model of molecular pathogenesis in endometrial carcinoma. *Zentralbl Gynakol.* 2002;124(1):10-6.
55. Esteller M, Catusus L, Matias-Guiu X, et al. hMLH1 promoter hypermethylation is an early event in human endometrial tumorigenesis. *Am J Pathol.* 1999; 155: 1767–72.
56. Ahuja N, Mohan AL, Li Q, et al. Association between CpG island methylation and microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res.* 1997;57:3370–4.
57. Weisenberger DJ, Siegmund KD, Campan M, et al. CpG island methylator phenotype underlies sporadic microsatellite instability and is tightly associated with BRAF mutation in colorectal cancer. *Nature Genet.* 2006;38:787–93.
58. Kobayashi K, Sagae S, Kudo H, et al. Microsatellite instability in endometrial carcinomas: frequent replication errors in tumors of early onset and/or of poorly differentiated type. *Genes Chromosomes Cancer.* 1995;14:128–32.
59. Basil JB, Goodfellow PJ, Rader JS, et al. Clinical significance of microsatellite instability in endometrial carcinoma. *Cancer.* 2000;89:1758–64.
60. Black D, Soslow RA, Levine DA, et al. Clinicopathologic significance of defective DNA mismatch repair in endometrial carcinoma. *J ClinOncol.* 2006;24:1745–53.
61. Gryfe R, Kim H, Hsieh ET, et al. Tumor microsatellite instability and clinical outcome in young patients with colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2000;342:69–77.
62. Ali IU, Schriml LM, Dean M. Mutational spectra of PTEN/MMAC1 gene: a tumor suppressor with lipid phosphatase activity. *J Natl Cancer Inst.* 1999;91:1922–32.
63. Djordjevic B, Stanojevic Z. Endometrial carcinoma and precursor lesions. *Srp Arh Celok Lek.* 2007;135(3-4):230-4.

64. Mutter GL, Lin MC, Fitzgerald JT, et al. Altered PTEN expression as a diagnostic marker for the earliest endometrial precancers. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92:924-30.
65. Risinger JI, Hayes AK, Berchuck A, et al. PTEN/MMAC1 mutations in endometrial cancers. *Cancer Res.* 1997;57:4736-38.
66. Di Cristofano A, Pandolfi PP. The multiple roles of PTEN in tumor suppression. *Cell.* 2000;100:387-89.
67. Baylin SB, Herman JG, Graff JR, et al. Alterations in DNA methylation: a fundamental aspect of neoplasia. *Adv Cancer Res.* 1998;72:141-196.
68. Herman JG, Latif F, Weng Y, et al. Silencing of the VHL tumor-suppressor gene by DNA methylation in renal carcinoma. *Proc Nat Acad Sci Wash.* 1994;91:9700-04.
69. Jones PA, Laird PW. Cancer epigenetics comes of age. *Nature (Genet).* 1999; 21(2):163-7.
70. Salvesen HB, MacDonald N, Ryan A, et al. PTEN methylation is associated with advanced stage and microsatellite instability in endometrial carcinoma. *Int. J. Cancer.* 2001;91:22-26.
71. Kimura F, Watanabe J, Hata H, et al. PTEN immunohistochemical expression is suppressed in G1 endometrioid adenocarcinoma of the uterine corpus. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2004;130:161-168.
72. Mutter GL, Lin MC, Fitzgerald JT, et al. Changes in endometrial PTEN expression throughout the human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:2334-8.
73. Crum CP, Lee KR. *Diagnostic Gynecologic and Obstetric Pathology.* Elsevier Saunders USA. 2006:498-500.
74. Mutter GL, Ince TA, Baak J.P.A, et al. Molecular Identification of Latent Precancers in Histologically Normal Endometrium. *Cancer Research.* 2001;61:4311-14.
75. Tashiro H, Blazes M, Cho K, et al. Mutations in PTEN are frequent in endometrial carcinoma but rare in other common gynecological malignancies. *Cancer Res.* 1997; 57:3935-40.
76. Mutter G, Lin MC, Fitzgerald JT, et al. Altered PTEN expression as a diagnostic marker for the earliest endometrial precancers. *J Natl Cancer Inst. (Bethesda)* 2000; 92:924-930.

77. Risinger JI, Hayes K, Maxwell GI, et al. PTEN mutation in endometrial cancers is associated with favorable clinical and pathological characteristics. *Clin Cancer Res.* 1998;4:3005-10.
78. Terakawa N, Kanamori Y, Yoshida S. Loss of PTEN expression followed by Akt phosphorylation is a poor prognostic factor for patients with endometrial cancer. *Endocr Relat Cancer.* 2003;10:203–8.
79. Salvesen HB, MacDonald N, Ryan A et al. PTEN Methylation Is Associated With Advanced Stage and Microsatellite Instability in Endometrial Carcinoma. *Int J Cancer.* 2001;91:22–6.
80. Levine RL, Cargile CB, Blazes MS, et al. PTEN Mutations and Microsatellite Instability in Complex Atypical Hyperplasia, a Precursor Lesion to Uterine Endometrial Carcinoma, *Cancer Research.* 1998;58:3254-58.
81. Maxwell GL, Risinger JI, Gumbs C, et al. Mutation of the PTEN Tumor Suppressor Gene in Endometriyal Hyperplasias. *Cancer Research.* 1998;58:2500-03.
82. Latta E, Chapman WB. PTEN mutations and evolving concepts in endometrial neoplasia. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2002;14:59-65.
83. Bussaglia E, del Rio E, Matias-Guiu X, et al. PTEN mutations in endometrial carcinomas. A molecular and clinicopathological analysis of 38 cases. *Hum Pathol.* 2000;31:312-17.
84. Minaguchi T, Yoshikawa H, Oda K, et al. PTEN mutation located only outside 5, 6, and 7 is an independent predictor of favorable survival in endometrial carcinomas. *Clin Cancer Res.* 2001;7:2636-42.
85. Salvesen HB, MacDonald N, Ryan A, et al. PTEN methylation is associated with advanced stage microsatellite instability in endometrial carcinoma. *Int J Cancer.* 2001;91:22-26.
86. Terakawa N, Kanamori Y, Yoshida S. Loss of PTEN expression followed by Akt phosphorylation is a poor prognostic factor for patients with endometrial cancer. *Endocr Relat Cancer.* 2003;10:203-208.
87. Lax SF, Kendall B, Tashiro H, et al. The frequency of p53, K-ras mutations, and microsatellite instability differs in uterine endometrioid and serous carcinoma: evidence of distinct molecular genetic pathways. *Cancer.* 2000;88:814-24.

88. Sasaki H, Nishii H, Takahashi H, et al. Mutation of the Ki-ras protooncogene in human endometrial hyperplasia and carcinoma. *Cancer Res.* 1993;53:1906-10.
89. Dougal WC, Qian X, Peterson NC, et al. The neu-oncogene: signal transduction pathways, transformation mechanisms and evolving therapies. *Oncogene.* 1994;9:2109-23.
90. Niederacher D, An HX, Cho YJ, et al. Mutations and amplification of oncogenes in endometrial cancer. *Oncology.* 1999;56:59-65.
91. Santin AD, Bellone S, Gokden M, et al. Overexpression of HER2/neu in uterine serous papillary cancer. *Clin Cancer Res.* 2002;8:1271-79.
92. Slomovitz BM, Broaddus RR, Burke TW, et al. Her2/neu overexpression and amplification in uterine papillary serous carcinoma. *J Clin Oncol.* 2004;22:3126-32.
93. Lax SF, Abeler VM, Regitnig P. Molecular genetic analysis of endometrial carcinoma: Evidence for 2 genetically distinctive entities. *Virchows Arch.* 2001; 439:247.
94. Lukes AS, Kohler MF, Pieper CF, et al. Multivariable analysis of DNA ploidy, p53, and HER-2/neu as prognostic factors in endometrial cancer. *Cancer.* 1994;73:2380-5.
95. Kohler MF, Nishii H, Humphrey PA, et al. Mutation of the p53 tumor-suppressor gene is not a feature of endometrial hyperplasias. *Am J Obstet Gynecol.* 1993;169:690-4.
96. Konno R, Yamakawa H, Utsunomiya H, et al. Expression of survivin and Bcl-2 in the normal human endometrium. *Molecular Human Reproduction.* 2000;6(6):529-34.
97. Takai N, Miyazaki T, Nishida M, et al. Survivin expression correlates with clinical stage, histological grade, invasive behavior and survival rate in endometrial carcinoma. *Cancer Lett.* 2002;184(1):105-16.
98. Tamm L, Wang Y, Sausville E, et al. IAP-family protein Survivin inhibits caspase activity and apoptosis induced by Fas (CD 95), Bax, Caspases, and anticancer drugs. *Cancer Res.* 1998;58:5315-20.
99. Ambrosini G, Adida C, Altier DC. A novel-anti-apoptosis gene, Survivin, expressed in cancer and lymphoma. *Nature Med.* 1997;3:917-21.
100. Ulukus CU, Kargi A, Sis B, et al. Survivin Expression in Non-small-cell Lung Carcinomas: Correlation With Apoptosis and Other Apoptosis-related Proteins,

Clinicopathologic Prognostic Factors and Prognosis *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2007;15(1):31-7.

101. Nezza LA, Jobling T, Salamonsen LA et al. Progesterin suppresses matrix metalloproteinase production in endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2003;89:325-33.

102. Edwards DR, Murphy G. Proteases-invasion and more. *Nature*. 1998;394(6693):527-8.

103. Shapiro SD. Matrix metalloproteinase degradation of extracellular matrix: biological consequences. *Curr Opin Cell Biol*. 1998;10:602-8.

104. Ray JM, Stetler-Stevenson WG. The role of matrix metalloproteases and their inhibitors in tumour invasion, metastasis and angiogenesis. *Eur Respir J*. 1994;7:22062-72.

105. O.Graesslin, A.Cortez et al. Metalloproteinase -2,-7,-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and -2 expression in normal, hyperplastic and neoplastic endometrium: a clinical- pathological correlation study. *Annals of Oncology*. 2006; 17:637-45.

106. Lian-Jie Lin, Chang-Qing Zheng et al. Expression of survivin protein human colorectal carcinogenesis. *World J Gastroenterol*. 2003;9(5):974-7.

107. P. Athanassiadou, P. Athanassadesy, D. Grapsa et al, The prognostic value of PTEN, p53, and beta-catenin in endometrial carcinoma: a prospective immunocytochemical study. *Int J Gynecol Cancer*. 2007;17:697–704.

108. Salvesen HB, Akslen LA. Molecular pathogenesis and prognostic factors in endometrial carcinoma. *APMIS*. 2002;110:673-89.

109. Di Nezza LA, Misajon A, Zhang J, et al. Presence of active gelatinases in endometrial carcinoma and correlation of matrix metalloproteinase expression with increasing tumor grade and invasion. *Cancer*. 2002;94(5):1446-75.

110. Bogusiewicz M, Stryjecka-Zimmer M, Rechberger T .Activity of matrix metalloproteinases -2 and -9 (MMP-2 and MMP-9) and content of their tissue inhibitors in endometrial cancer--a preliminary study. *Ginekol Pol*. 2007;78(5):366-72.

111. Adamiak A. Prognostic value of serum MMP-2 level in uterin cancer affected women. *Ginekol Pol*. 2000;71(9):1198-201.

112. Talvensaaari-Mattila A, Santala M. Prognostic value of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) expression in endometrial endometrioid adenocarcinoma. *Anticancer Res.* 2005;25(6B):4101-5.
113. Cho Mar K, Eimoto T, Tateyama H, Arai Y, et al. Expression of matrix metalloproteinases in benign and malignant follicular thyroid lesions. *Histopathology.* 2006;48(3):286-94.
114. Cho Mar K, Eimoto T. Expression of matrix metalloproteinases in benign and malignant follicular thyroid lesions, *Histopathology.*2006;48(3):286-94.
115. Yoshida H, Sumi T. Expression of survivin and matrix metalloproteinase in adeno carcinoma and squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Oncol Rep.* 2003;10(1):45-9.
116. Karahan N, Güney M, Baspinar S, Oral B. Expression of gelatinase (MMP-2 and MMP-9) and cyclooxygenase-2 (COX-2) in endometrial carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2007;28(3):184-8.
117. Sundblad A, Ricci L. MMP-2 expression(type IV collagenase) in gastric cancer. *Acta Gastroenterol Latinoam.* 1998;28:4,287-90.
118. Koshiha T, Hosotani R, Fujimoto K, et al. Detection of matrix metalloproteinase activity in human pancreatic cancer. *Surg Today.* 1997;27:4,302-4.
119. Talvensaaari M, Apaja-Sarkkinen M, Höyhtya M, et al. Matrix Metalloproteinase 2 Immunoreactive Protein Appears Early in cervical epithelial dedifferentiation. *Gynecol Oncol.* 1999;72:306-11.
120. Torng PL, Mao TL, Chan WY, et al. Prognostic significance of stromal metalloproteinase-2 in ovarian adenocarcinoma and its relation to carcinoma progression. *Gynecol Oncol.* 2004;92 :559-67.
121. Graesslin O, Cortez A, Uzan C, et al. Endometrial tumor invasiveness is related to metalloproteinase 2 and tissue inhibitor of metalloproteinase 2 expressions. *Int J Gynecol Cancer.* 2006;16(5):1911-7.
122. Talvensaaari-Mattila A, Santala M, Soini Y,et al. Prognostic value of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) expression in endometrial endometrioid adenocarcinoma. *Anticancer Res.* 2005;25(6B):4101-5.

123. Yoshida H, Sumi T. Expression of survivin and matrix metalloproteinase in adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Oncol Rep.* 2003;10(1):45-9.
124. Espinosa M, Cantú D, Herrera N, et al. Inhibitors of apoptosis proteins in human cervical cancer. *BMC Cancer.* 2006;6:45.
125. Pallares J, Martinez-Guitarte JL, Xavier D, et al. Survivin expression in endometrial carcinoma a tissue microarray study with correlation with PTEN and STAT-3. *Int J Gynecol Pathol.* 2005;24:247-53.
126. Altieri DC. Survivin, versatile modulation of cell division and apoptosis in cancer. *Oncogene.* 2003;22:8581-9.
127. Tran J, Master Z, Yu JL, et al. A role for survivin in chemoresistance of endothelial cells mediated by VEGF. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002;99:4349-54.
128. Ai Z, Yin L, Zhou X, et al. Inhibition of survivin reduces cell proliferation and induces apoptosis in human endometrial cancer. *Cancer.* 2006;107(4):746-56.
129. Lehner R, Enomoto T, McGregor JA, et al. Correlation of survivin mRNA detection with histologic diagnosis in normal endometrium and endometrial carcinoma. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2002;81(2):162-7.
130. Ueda M, Yamashita Y. Survivin gene expression in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(7):3452-9.
131. Lian-Jie Lin, Chang-qing Zheng, et al. Expression of survivin protein in human colorectal carcinogenesis. *World J Gastroenterol.* 2003;9(5):974-77.
132. Kleinschmidt-DeMasters et al. Protein and messenger RNA expression and comparison with telomerase levels. *Arch Pathol Lab Med.* 2003;127(7):826-33.
133. Yin RT, Peng ZL, Yang KX, Kang DY. Survivin expression in ovarian carcinoma] *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2006;37(2):215-7, 233.
134. Fangusaro JR, Caldas H, Jiang Y, et al. Survivin: an inhibitor of apoptosis in pediatric cancer. *Pediatr Blood Cancer.* 2006 ;47(1):4-13.
135. Cirpan T, Terek MC, Mgoyi L, et al. Immunohistochemical evaluation of PTEN protein in patients with endometrial intraepithelial neoplasia compared to endometrial adenocarcinoma and proliferative phase endometrium. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2006;27(4):389-92.

136. Maxwell GL, Risinger JI, Gumbs C, et al. Mutation of the PTEN tumor suppressor gene in endometrial hyperplasias. *Cancer Res.* 1998;58(12):2500-3.
137. Alkushi A, Lim P, Coldman A et al. Interpretation of p53 immunoreactivity in endometrial carcinoma: establishing a clinically relevant cut-off level. *Int J Gynecol Pathol.* 2004;23:129–37.
138. Ito K, Watanabe K, Nasim S et al. Prognostic significance of p53 overexpression in endometrial cancer. *Cancer Res.* 1994;54: 4667–70.
139. Ellenson LH. Early molecular changes in endometrial cancer. *Int J Gynecol Cancer.* 2005;15:399–400.
140. Matias-Guiu X, Catusus L, Bussaglia E et al. Molecular pathology of endometrial hyperplasia and carcinoma. *Hum Pathol.* 2001;32:569–77.
141. Inaba F, Kawamata H, Teramoto T et al. PTEN and p53 abnormalities are indicative and predictive factors for endometrial carcinoma. *Oncol Rep.* 2005;13:17–24.
142. Kimura F, Watanabe J, Hata H et al. PTEN immunohistochemical expression is suppressed in G1 endometrioid adenocarcinoma of the uterine corpus. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2004;130:161–8.
143. Ali IU, Schriml LM, Dean M. Mutational spectra of PTEN/MMAC1 gene: a tumour suppressor with lipid phosphatase activity. *J Natl Cancer Inst.* 1999;91:1922–32.
144. Zhou CA, Bae-Jump VL, Whang B, et al. The PTEN tumor suppressor inhibits telomerase activity in endometrial cancer cells by decreasing hTERT mRNA levels. *Gynecologic Oncology.* 2006;101:305-10.
145. Stambolic V, MacPherson D, Sas D et al. Regulation of PTEN transcription by p53. *Mol Cells.* 2001;8:317–25.
146. Singh B, Reddy PG, Goberdhan A et al. p53 regulates cell survival by inhibiting PIK3CA in squamous cell carcinomas. *Genes Rev.* 2002;16:984–93.
147. Inaba F, Kawamata H, Teramoto T et al. PTEN and p53 abnormalities are indicative and predictive factors for endometrial carcinoma. *Oncol Rep.* 2005;13:17–24.



148. Bostrom J., Cobbers J.M., Wolter M., et al. Mutation of the PTEN (MMAC1) tumor suppressor gene in a subset of glioblastomas but not in meningiomas with loss of chromosome arm 10q. *Cancer Res.* 1998;58:29-33.
149. Stambolic V., Tsao MS., Macpherson D., et al. High incidence of breast and endometrial neoplasia resembling human Cowden syndrome in pten<sup>+/-</sup> mice. *Cancer Res.* 2000;60:3605-11.
150. Gulberg P, Straten P, Birck A, et al. Disruption of the MMAC1/PTEN gene by deletion or mutation is a frequent event in malignant melanoma. *Cancer Res.* 1997;57(17):3660-3.
151. Sun H, Enomoto T, Fujita M, et al. Mutational analysis of the PTEN gene in endometrial carcinoma and hyperplasia. *Am J Clin Pathol.* 2001;115(1):32-8.
152. Simpkins SB, Peiffer-Schneider S, Mutch DG, et al. PTEN mutations in endometrial cancers with 10q LOH: additional evidence for the involvement of multiple tumor suppressors. *Gynecol Oncol.* 1998;71:391-5.