

Endometrioid Adenokarsinomlarda Heat-Shock Protein 70, 90 ve Tenasin Ekspresyonunun Myometrial İnvazyon Derinliği ile İlişkisi*

THE RELATIONSHIP BETWEEN HEAT-SHOCK PROTEIN 70, 90 EXPRESSION AND MYOMETRIAL INVASION

Meral KOYUNCUOĞLU*, Gözde GÖRÜCÜ*, Uğur SAYGILI**, İlknur BİLKAY GÖRKEM***, Emek ÖZEN*, Turhan USLU**, Oktay ERTEN**

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı*

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı**

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı***

ÖZET

Amaç: Endometrial kanserli olgularda HSP70, 90 ve tenasinin immunohistokimyasal ekspresyonunu incelemek ve HSP70, 90 ve tenasin ekspresyonu ile histolojik derece, evre, yaş ve myometrial invazyon ile ilişkisini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada 78 endometrial kanserli olguda HSP70, 90 ve tenasinin ekspresyonu immunohistokimyasal yöntemle incelendi ve HSP70, 90 ve tenasin ekspresyonu ile histolojik derece, evre, yaş ve myometrial invazyon ile ilişkisi araştırıldı.

Bulgular: HSP 70 ekspresyonu olguların %89.7'sinde (70 olgu) görüldü. HSP70 ekspresyonu ile histolojik derece, evre ve yaş arasında ilişki yoktu. Ancak myometrial invazyon derinliği ile ilişki saptandı ($p<0.05$). HSP90 ekspresyonu olguların %60.5 inde (48 olgu), tenasin ekspresyonu ise %34.6 olguda (27 olgu) görüldü. HSP 90 ve tenasin ekspresyonu ile histolojik derece, evre, yaş ve myometrial invazyon arasında ilişki görülmedi. Tenasinin stromal ekspresyonu, histolojik derecesi yüksek olan olgularda yoğun olarak görüldü.

Sonuç: Endometrial kanserlerde HSP 70 ekspresyonu, kötü prognostik faktör olarak değerlendirilebilir.

Anahtar sözcükler: Endometrioid adenokarsinom, heat shock protein 70,90, tenasin, prognoz.

SUMMARY

Object: Our aim is to investigate to immunohistochemical expression of HSP 70,90 and tenascin in endometrioid adenocarcinoma and to search for the relationship between HSP 70,90 and tenascin expression and histological grade, stage, age and myometrial invasion.

Material and method: We analyzed the expression of HSP 70,90 and tenascin by immunohistochemistry in 78 cases with endometrioid adenocarcinoma and the relationship between HSP 70,90 and tenascin expression and histological grade, stage, age and myometrial invasion.

Results: The expression of HSP 70 was observed in 89.7% (70 cases). There was no relationship between HSP70 expression and histological grade, stage and age. But we

Meral KOYUNCUOĞLU

Dokuz Eylül Üniversitesi

Tıp Fakültesi

Patoloji Anabilim Dalı

Tel: 232 2595959 - 3433

Fax: 232 277 72 74

* Bu çalışma 20-26 Ekim 2001 tarihinde yapılan XV. Ulusal Patoloji Kongresi'nde sözlü olarak sunulmuştur.

found positive relationship between HSP 70 expression and myometrial invasion ($p < 0.05$). The expression of HSP90 and tenascin C were observed in 60.5% (48 cases), 34.6% (27 cases) respectively. There was no relationship between HSP90 and tenascin expression and histological grade, stage and myometrial invasion.

Conclusion: The expression of HSP 70 in endometrioid adenocarcinoma may be considered as a poor prognostic factor.

Key words: Endometrioid adenocarcinoma, heat shock protein 70,90, tenascin, prognosis

Endometrium karsinomu kadın genital sistemini en yaygın görülen invaziv tümördür ve tüm kadın genital sistemi kanserlerinin %45'ini ve kadınlarda görülen tüm malignitelerin %11'ini oluşturur. Endometrium karsinomu olgularının yaklaşık %80'i postmenapozaldır ve %75'inde tanı konduğu anda kanser uterusu sınırlıdır. Evreden bağımsız 5 yıllık sağkalım oranı %83.4 olarak bildirilmektedir (1-6). Ortalama görülme yaşı 60'dır. Elli yaşından genç hastalarda; olguların yaklaşık %50'si, 50 yaşından büyük hastalarda ise %25'i iyi diferansiyedir.

Sıyahlarda daha ileri evre, daha yüksek derece ve daha derin myometrial invazyon yapma eğilimi bulunmaktadır (7). Östrogen uyarımı ile ilişkili olarak gelişen endometrial hiperplaziler endometrioid karsinomun prekürsörü olarak kabul edilmektedir (6). Tamoksifen kullananlarda endometrium karsinomu gelişme riski ile ilgili olarak çeşitli çalışmalarda %0.5 ile %6 arasında değişen farklı değerler verilmektedir (1,2). Kullanılan tamoksifen dozu, hastanın yaşı ve kullanım süresi risk artışını etkileyen faktörlerdir.

Endometrial karsinomda konstitüsyonel risk faktörleri olarak obezite ve uzun boylu olmak, hipertansiyon, diabetes mellitus, parite, erken menarş ve geç menapoz, menstrüel bozukluklar, spontan abortus, safra kesesi hastalıkları, polikistik over sendromu, radyasyon etkisi ve diğer kanserlerin olması sayılabilir. Ayrıca sigara kullanımı ve yakın akrabalar arasında endometrium karsinomu görülme insidansının yüksek olması [kansere aile sendromu (lynch tip 2)] da endometrial karsinom riskini artıran faktörler arasında sayılabilir (8-11).

Evre, endometrium karsinomlarında kesin olarak bilinen en önemli prognostik faktördür. 1988 yılında yeniden düzenlenmiş olan FIGO (International

Federation of Gynecology and Obstetrics) evreleme sisteminde major prognostik faktörler tümör derecesi, myometrial invazyon ve tümörün uterus korpusu dışına yayılımıdır (12-14). FIGO evreleme sisteminde göre hastalıklı 5 yıllık sağkalım; evre I hastalarda %90 iken, evre II hastalarda %83, evre III hastalarda %43 olarak bulunmuştur. İnvazyon derinliği, rekürrens gelişimi, vasküler invazyon ve lenf düğümü metastaz sıklığı ile ilişkilidir (1,4).

Damar invazyonu olmayan olgularda 5 yıllık sağkalım %91.4 iken, damar invazyonu varlığında bu oran %73.4'tür. Uterin damar invazyonu ve tümör derecesi metastaz için bağımsız göstergelerdir (12).

Endometrium karsinomlarında evre, en önemli prognostik göstergedir. Bununla birlikte bir grup erken evre hastada; benzer histopatolojik bulguların gözleendiği diğer hastalardan daha kötü prognoz saptandığından, bu grubun saptanarak adjuvan tedavi ile olası bir progresyonun önüne geçilmesi amacıyla farklı prognostik belirleyiciler üzerinde çalışılmaktadır.

Meme karsinomu olgularında hormon reseptörleri hastanın yönlendirilmesi açısından belirli bir yere sahipken endometrial karsinom olgularında hormon reseptör durumunun klinik önemi açık değildir. Pek çok kaynakta östrojen ve progesteron reseptör (ER ve PR) pozitifliğinin tümörün iyi diferansiyel olma eğilimiyle ve iyi prognozla ilişkili olduğu kabul edilmektedir. Endometrial karsinomlarda, östrojen reseptör durumunun ek tedavi planlanması açısından, tümörün evre ve derecesinden bağımsız prognostik bilgi verdiği düşünülmektedir. Bununla birlikte progesteron reseptörü durumunun ise hastalıklı sağkalım ile ilişkili olduğu ileri sürülmektedir (15-19). Ayrıca kötü prognostik faktör olarak değerlendirilen artmış p53 ekspresyonu ve ER ile PR varlığı arasında ters bir ilişki

de vurgulanmaktadır (20,21).

Endometrial karsinomların büyük çoğunluğunda diploid DNA içeriği bulunmaktadır, aneuploid olan olguların daha agresif seyretmeye ve rekürrense eğilimli olduğu ve tanı anında daha ileri evre oldukları bildirilmiştir (22).

Isı şok proteinlerinden (Heat Shock Protein) (HSP70-HSP90-HSP27) HSP70, insan meme tümörleri ve diğer bazı tümörlerce eksprese edilen bir antiapoptotik eşlikçi (chaperone) proteindir. HSP70 farklı orjini çeşitli malign tümörlerde güçlü bir şekilde eksprese edilirken normal hücrelerde ekspresyonu strese bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Temelde tüm hücreler 70-kDa ağırlığında ısı şok proteini benzeri protein eksprese ederler ve bu protein HSP70 ile büyük oranda homologdur. HSP90 ise steroid reseptör fonksiyonlarını düzenleme görevini üstlenmiştir. Bir çalışmada, HSP70 pozitif olguların kötü prognozla, ve kuvvetli HSP90 ekspresyonu gösteren olguların ise daha iyi prognozla ilişkili olduğu bildirilmiştir. HSP27 endometrium karsinomlarında iyi differansiye ve düşük evre olan olgularda daha fazla eksprese edilmesi nedeni ile önemli bir prognostik faktör olarak kabul edilebilir. HSP27'nin bir rolü de letal olmayan ısı şoku ya da diğer stresler sonrası kemoterapiye direnç yaratmasıdır (23-27).

Tenasin yüksek moleküler ağırlıklı multifonksiyonel bir ekstrasellüler matriks glikoproteinidir. Gelişim ve neovaskularizasyon aşamalarında andiferansiye tümörlerin stromasında mezenkimal-epitelyal etkileşimle ilişkili olarak eksprese edilir (28) ve sitotaktin, hexabrachion protein, myotendinöz antijen, nöronektin ve glioma mezenkimal ekstrasellüler matriks gibi çeşitli farklı şekillerde adlandırılmıştır.

Tenasin molekülü disülfid bağlı bir hegzamerdir. Türlerine göre subunitin moleküler ağırlığı 190-320 kDa arasında değişir. Kültürde tenasin fibroblastlar ve glial hücreler tarafından üretilir ve salgınır (29). Normal insan dokusunda tenasin; fibroblastlar ve embrionik mezenkimde, tendon ve ligamanlarda, gelişmekte olan kıkırdakta, dermo-epidermal bileşkede, lamina propriada ve kan damarlarının ekstrasellüler

matriksinde gösterilebilir. Ekstrasellüler matrikste (ESM) kondroitin sulfat, proteoglikanları tenasine bağlayan tek proteindir. Tenasinin dağılımı diğer ESM elemanlarından biraz farklılık gösterir.

Tenasin embriyogenez ve büyüme sırasında pek çok dokuda geçici olarak eksprese edilir; ayrıca iyileşen yaralarda ve tümör stromasında da bulunur. Normal erişkin insan dokularında tenasin damar duvarlarındaki düz kasta da değişken bir şekilde bulunabilir. Hücre adezyonu ve motilitesi, migrasyon, epitelyal hücrelerin yüzeyden dökülmesi, hücre büyümesinin uyarıcısı doku sınırlarının demarkasyonu ve doku yapılanma süreçlerinde de rol sahibi olabilir. Tenasin ekspresyonu hücre proliferasyonu ve migrasyonu ile koreledir. Hücre göçünde hücrenin tenasine bağlanması geçicidir ve hemen ardından hızlı bir ayrışma oluşur. Fibronektin gibi tenasin de ligandın integrinler tarafından tanınması için arginin-glisin-aspartik asit sekansına ihtiyaç duyan cell-substrate adezyon molekülüdür. Tenasin bağlayan bir integrin reseptörü gösterilmiştir. Tenasinin gliomlar, meme tümörleri, skuamöz hücreli karsinomlar ve akciğer karsinomları gibi pek çok tümörün stromasında eksprese edildiği bildirilmiştir (29-34); ve bu çalışmalarda tenasin ekspresyonu göreceli olarak mezenkimal yapılara spesifiktir. Tümörlerde tenasin ekspresyonu belki de tümör hücrelerinin çevre stromal hücreleri tümör stroması olarak organize etmeye zorlamak gibi bir parakrin etkisi olabilir. Tenasin C ekspresyonu embriyogenez ve karsinogeneze sınırlı olmayıp birçok normal dokularda, reparatif ya da reaktif süreçlerde ve pek çok neoplazide de gösterilmiştir. Bunun yanı sıra tenasinin hücre adezyonu, migrasyon ve yayılımında rol oynadığına inanılmaktadır (35).

Bu çalışmanın amacı, kadınlarda yaygın olarak görülen endometrioid tüpte endometrial kanserlerde HSP70, HSP90 ve tenasin ekspresyonunun histolojik derece, evre, yaş ve myometrial invazyon ile ilişkisini araştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada Dokuz Eylül Üniversitesinde 1992-2001 yılları arasında endometrioid adenokarsinom

nedeniyle radikal operasyon uygulanan ve Patoloji Anabilim Dalı'nda değerlendirilmiş 78 olgu yer almaktadır.

Olgulara ait hematoksilin-eosin boyalı preparatlar gözden geçirilmiştir. WHO'ya göre histolojik derecelendirmeleri (derece 1, 2, 3) ve yeniden düzenlenmiş FIGO sistemine göre evrelendirmeleri yapılmıştır. Her olgu için tümörü en iyi örnekleyen alana ait %10'luk formalinde fikse parafine gomulu bir blok seçilmiştir. Seçilen bloklardan hazırlanan 5 mikron kalınlıkta kesitler poly-L-lysin ile kaplı lamlara alınarak immunhistokimyasal boyama için en az 24 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir.

Immünohistokimyasal Boyanın Yapılışı:

Immünohistokimyasal boyama, streptavidin-biotin peroksidaz yöntemi ile yapılmıştır.

HSP90 immunreaktivitesi için kesitler sitrat tamponda (pH 6.0) mikrodalga fırında iki kez 5'er dakika kaynatılmıştır.

Tenasin immunreaktivitesi için boyanma yapılabilen antijenin açığa çıkması için kesitlere 1 saat süreyle tripsin uygulanmıştır.

Tenasin ve HSP70 primer antikörleri ile ½ saat süre ile (1/25 dilüsyonda, Dako Company); HSP90 için ise 1 saat süre ile (1/50 dilüsyonda, Novocastra Laboratories) oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Antijen-antikör bağlanmasını göstermek için önceden hazırlanmış olan 3,3'-Diaminobenzidin tetrahidroklorür (DAB) kullanılmıştır.

Kesitlere Mayer'in hematoksileni ile zıt boyama yapılmıştır.

Kesitler dehidrate edildikten sonra 10 dk. ksilolde bekletilerek saydamlaştırılmış ve balsam ile kapatılmıştır.

Immünohistokimyasal Değerlendirilmesi:

HSP70: Pozitif kontrol olarak kullanılan tonsil dokusunda epitelial hücrelerde diffüz güçlü sitoplazmik boyanma gözlenmiştir. HSP 70 ile diffüz sitoplazmik boyanma gösteren tümör hücreleri boyanma yoğunluğuna göre; - (boyanma yok), + (zayıf boyanma), ++

(kuvvetli boyanma) olarak değerlendirilmiştir (25).

Tenasin: Tenasin ile tümör stromasında ve bazı tümör hücrelerinde sitoplazmik boyanma izlenmiştir. Pozitif kontrolü kendi içindeki damar duvarı ve bağ dokuda sitoplazmik ve intersellüler alanlardaki boyanma olan tenasin ile boyanma gösteren stromal hücreler X400 büyütmede 5 alanda sayılmış yüzde oranına göre - (boyanma yok), + (%1-50 arası sayıda hücresel pozitiflik), ++ (%50'den fazla sayıda hücresel pozitiflik) olarak değerlendirilmiştir (34). Tümör hücrelerindeki sitoplazmik tenasin ekspresyonu; - (boyanma yok), + (%1-25 arası sayıda hücresel pozitiflik), ++ (%25-75 arası sayıda hücresel pozitiflik), +++ (%75'den fazla sayıda hücresel pozitiflik) olarak değerlendirilmiştir. Tenasin ile boyanmanın hücrelerin apikal yüzeylerinde ve intersellüler alanlarda daha belirgin olduğu dikkati çekmiştir. Bazı olgularda tümör dokusunda ve komşu non-neoplastik endometrial dokularda bezleri çepeçevre saran bazal membran boyunca subglanduler kuvvetli pozitiflik dikkati çekmiştir.

HSP90: Pozitif kontrolü endometrium dokusu olan HSP90 ile tümör hücrelerinde ve komşu non-neoplastik endometrial epitel hücrelerinde diffüz sitoplazmik boyanma gözlenmiştir. HSP90 ile immunreaktivitenin değerlendirilmesi tümör hücrelerindeki boyanma yoğunluğuna göre - (boyanma yok), + (zayıf boyanma) ve ++ (kuvvetli boyanma) olarak değerlendirilmiştir (25). Bazı olgularda tümör hücrelerinin %10'undan fazla olmamak üzere fokal pozitiflik ya da diğer tümör hücrelerine göre daha yoğun boyanma gösteren hücreler bulunduğu dikkati çekmiştir.

İstatistiksel Analiz:

İstatistiksel işlemler tüm verilerin tanımlayıcı ya da dağılımsal değerleri alınarak SPSS (Scientific Package for Social Sciences) programı ile IBM uyumlu bilgisayarda yapıldı. İstatistiksel analizde; hastanın yaşı, tümörün derecesi, evresi, myometrial invazyon derinliği ve immünohistokimyasal özellikleri değerlendirildi. Sonuçlar; Ki-Kare (Chi-Square) ve Spearman korelasyon testleri kullanılarak elde edildi. Olasılık katsayısı (p) 0.05'e eşit ya da 0.05'ten küçük ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi (p<0.05).

BULGULAR

Hastaların özellikleri: Bu çalışmada yer alan olguların ortalama yaşı 58.3'tür (30-95). 78 olgunun 18'si 50 yaş ve altı; 60'ı ise 51 yaş ve üstü hastalardır.

FIGO evreleme sistemine göre: 63 olgu evre I (% 81) (14 olgu evre Ia, 30 olgu evre Ib, 19 olgu evre Ic); 4 olgu evre II (% 5) (1 olgu evre IIa, 3 olgu evre IIb); 10 olgu evre III (%13) (6 olgu evre IIIa, 4 olgu evre IIIc)'tür, çalışmamızda evre IV olgu bulunmamaktadır.

Otuz üç hasta derece 1, 40 olgu derece 2, 5 olgu derece 3 tür.

Bu çalışmada olguların 8'i (%10.3) HSP 70 ile boyanmamış, 20'si (%25.6) +; 50'si ise (% 64.1) ++ boyanma göstermiştir. Olguların HSP70 ile boyanma özellikleri tümör içinde heterojen olup, değerlendirme boyanmanın en yoğun olduğu alanlarda yapılmıştır. İstatistiksel analiz için; bu olgular negatif ve pozitif olarak iki gruba ayrılmıştır. Buna göre 8 olgu (%10.3) HSP70 ile boyanma göstermezken 70 olgu (%89.7) HSP70 ekspresyonu göstermiştir.

Olguların HSP70, HSP90 ve tenasin immuno reaktivitelerinin yaş, evre ve derecelerine göre dağılımı Tablo I'de özetlenmiştir.

HSP70 ile olumlu boyanan olguların 9'u (%12.9) evre Ia, 27'i (%38.6) evre Ib, 20'i (%28.6) evre Ic, 1'i (%1.4) evre IIa, 3'ü evre IIb (%4.3), 6'sı (%8.6) evre IIIa, 4'ü (%5.7) ise evre IIIc olgulardan oluşmaktadır. HSP70 pozitifliği ile evre arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır ($p>0.05$) (Tablo I).

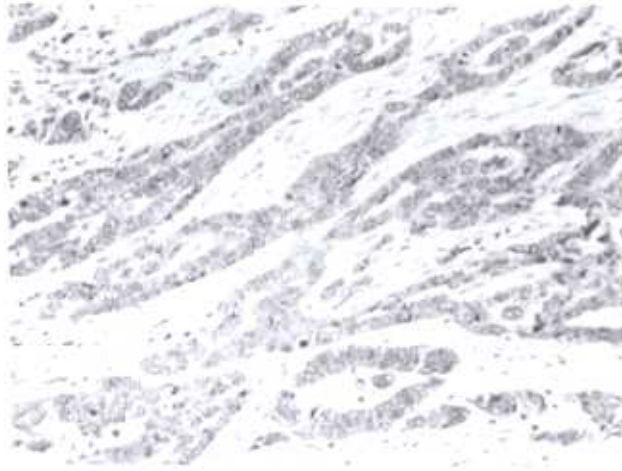
Olgular myometrial invazyon varlığına göre gruplandığında ise myometrial invazyonu olan olgularda HSP70 reaktivitesi anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0.017$; $r=0.3$) (Tablo II) (Şekil 1). Yine bu olumlu boyanan olguların 29'u (%41.4) derece 1, 36'sı (%51.4) derece 2, 5'i ise (%7.1) derece 3 olgulardır. HSP70 reaktivitesi ile tümör derecesi arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır ($p=0.298$) HSP70 ekspresyonu gösteren olguların 17'si (%24.3) 50 yaşın altındayken 53'ü (%75.7) 51 yaş ve üzeri grupta yer almaktadır. HSP70 pozitifliği ile hasta yaşı arasında da istatistiksel anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır ($p=0.965$).

Tablo I. Olguların HSP70, HSP90 ve Tenasin ile boyanma özellikleri

Hasta sayısı		HSP70			HSP90			TENASIN							
								stomal			Tümör Hücreсі				
		-	+	++	-	+	++	-	+	++	-	+	++	+++	
Toplam	78	8	20	50	30	35	13	18	33	27	51	18	4	5	
yaş	<50	17	2	3	14	7	9	3	3	7	9	14	5	-	-
	>50	61	6	17	36	23	26	10	15	26	18	37	13	4	5
P		>0.05			>0.05			>0.05			>0.05				
Evre	I a	14	5	4	5	6	5	3	2	9	3	8	3	2	1
	I b	30	3	7	20	10	16	4	7	14	9	24	5	-	1
	I c	20	0	4	16	6	11	3	4	9	7	9	8	2	1
	II a	1	-	-	1	1	-	-	1	-	-	1	-	-	-
	II b	3	-	2	1	2	-	1	1	1	1	1	-	-	2
	III a	6	-	4	2	2	2	2	3	-	3	5	1	-	-
	III b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	III c	4	-	-	4	3	1	-	-	-	4	3	1	-	-
	IV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P		>0.05			>0.05			>0.05			>0.05				
derece	1	33	4	11	18	14	12	7	8	16	9	21	8	2	2
	2	40	4	6	30	14	20	6	10	16	14	26	9	2	3
	3	5	-	3	2	2	3	-	-	1	4	4	1	-	-
P		>0.05			>0.05			>0.05			>0.05				

Tablo II. Myometrial invazyon derinliği ile HSP70, HSP90 ve tenasin ekspresyon ilişkisi

Hasta sayısı		HSP70			HSP90			TENASIN							
		-	+	++	-	+	++	stromal			Tümör Hücresi				
		-	+	++	-	+	++	-	+	++	-	+	++	+++	
Toplam		64	8	15	41	22	32	10	13	32	19	41	16	4	3
Evre	I a	14	5	4	5	6	5	3	2	9	3	8	3	2	1
	I b	30	3	7	20	10	16	4	7	14	9	24	5	-	1
	I c	20	0	4	16	6	11	3	4	9	7	9	8	2	1
P		<0.05			>0.05			>0.05			>0.05				



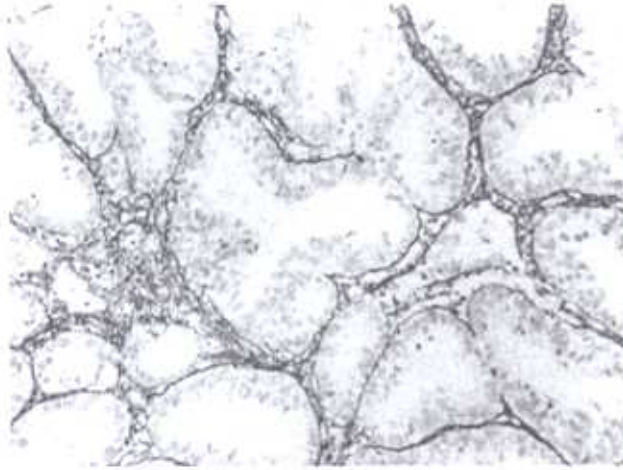
Şekil 1. Evre Ic derece 2 olan endometrioid adenokarsinomda HSP70 immunoreaktivitesi (x100)

Olguların 18'inde (% 23.1) stromal tenasin boyanması gözlenmemiş olup 33'ünde (% 42.3) +; 27'sinde ise (%34.6) ++ yoğunlukta boyanma izlenmiştir. Özetle olguların 18'inde (%23.1) stromal tenasin boyanması gözlenmezken 60'ında (%76.9) tenasin ile çeşitli yoğunluklarda stromal boyanma görülmüştür. Şekil 2'de tenasin ile ++ stromal boyanma izlenmektedir. Tenasin ile olumlu boyanan olguların evrelere göre dağılımı şöyledir: 12 olgu (%20) evre Ia, 23 olgu (%38.3) evre Ib, 16 olgu (%26.7) evre Ic, 2 olgu (%3.3) evre IIb, 3 olgu (%5) evre IIIa ve 4 olgu (%6.7) evre IIIc'dir. Çalışmamızdaki evre IIa olan 1 olgu tenasin ile stromal boyanma göstermemiştir. Stromal tenasin reaktivitesi ile FIGO evresi arasında anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır ($p=0.349$). Serimizde tenasin ile stromal boyanma gösteren olguların 25'i (%41.7) derece 1, 30'u (%50) derece 2, 5'i (%8.3) ise derece 3 olgulardır. Stromal tenasin reaktivitesi ile

tümör derecesi arasında anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır ($p=0.165$); bununla birlikte derece 1 ve 2 olan tümörler gruplandığında derece 3 tümörlere göre istatistiksel açıdan anlamlı oranda yoğun tenasin ekspresyonu gösterdikleri saptanmıştır ($r=0.239$; $p=0.035$). 50 yaş üzeri hastalardan 44'ü (%73.3) tenasin ile stromal boyanma gösteren gruba dahilken 16'sı (%26.7) tenasin ile boyanma göstermemiştir. Tenasinin stromal ekspresyonu ile yaş arasında anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır ($p=0.393$). Ayrıca birkaç olguda tenasin ile Kressner ve ark.nın (36) kolorektal karsinomlarda tanımladıklarına benzer subglandular paternde boyanma gözlenmiştir.

Bu çalışmada tenasin antikoruna ile tümör hücrelerinde de boyanma izlenmiştir. Bu boyanma hücrelerin birbirlerine bakan yüzlerinde ya da sitoplazmalarında globüler tarzdadır (Şekil 3). Tümör hücrelerinde tenasin ile boyanma bulunan olguların bir kısmında stromal tenasin boyanması bulunmamaktadır ve tenasin için antikorla tümör hücresi ile tümör stromasının boyanması arasında negatif bir istatistiksel ilişki olmakla birlikte bu ilişki anlamlı değildir ($p=0.118$, $r=-0.178$). Tümör hücreleri tenasin ile boyanma özelliklerine göre sınıflandığında 51 olgu (%65.4) negatif, 18 olgu (%23.1) +, 4 olgu (%5.1) ++ ve 5 olgu (%6.4) +++ yoğunlukta boyanmıştır. Tümör hücresinde tenasin ile boyanma gözlenen olguların ise evrelere göre dağılımı şöyle bulunmuştur: 23 olgu (%85.2) evre I, 2 olgu (%7.4) evre II, 2 olgu (%7.4) evre III iken bu olguların 12'si (%44.4) derece 1, 14'ü (%51.9) derece 2 ve 1'i (%3.7) derece 3'dür. Adenokarsinom hücrelerinde tenasin ekspresyonu evre ($p=0.543$) ve derece ($p=0.784$) ile ters yönde bir ilişki

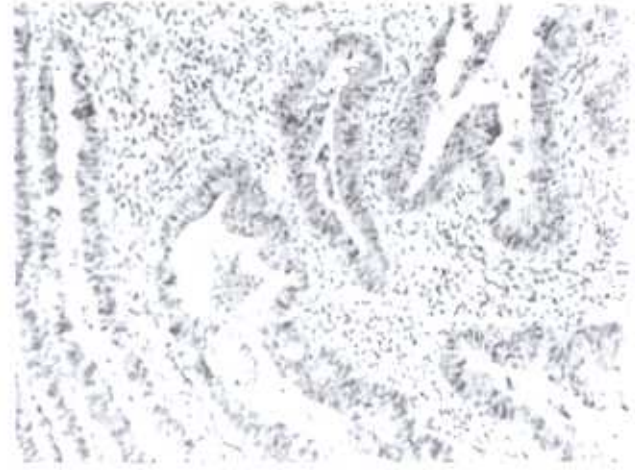
gösteriyor olsa da bu değerler istatistiksel açıdan anlamlı değildir (Tablo I). Myometrial invazyon ile tenasin ekspresyonu ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0.251$, $r=-0.132$) (Tablo II).



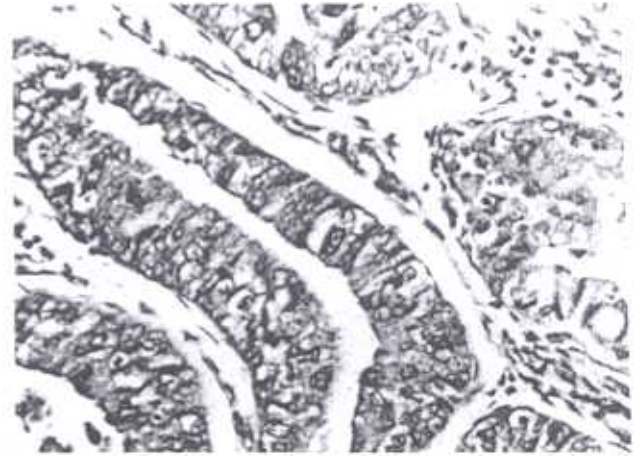
Şekil 2. Tenasin ile stromal boyanma görülmektedir (x100)

HSP90 ile tümör hücrelerinde diffüz sitoplazmik boyanma gözlenmiştir. HSP90 immunoreaktivitesine göre olgular sınıflandırıldığında; 30 olgunun (%38.5) boyanma göstermediği gözlenmiştir. Boyanma gösteren 48 olgunun (%60.5) 35'i (%44.9) + yoğunlukta; 13'ü ise (%16.7) ++ yoğunlukta boyanmışlardır. HSP90 ile olumlu boyanan olgulardan 8'i (%16.7) evre Ia; 20'si (%41.7) evre Ib; 14'ü (%29.2) evre Ic; 1'i (%2.1) evre IIb; 4'ü (%8.3) evre IIIa ve 1'i ise (%2.1) evre IIIc'dir. HSP90 immunreaktivitesi ile hastalık evresi arasında ters yönde bir ilişki bulunmakla birlikte istatistiksel açıdan anlamlı değildir ($p=0.205$). HSP90 ile olumlu boyanan olgular derecelerine göre sınıflandırıldığında 19 olgu (%39.6) derece I; 26 olgu (%54.2) derece II ve 3 olgu (%6.3) derece III grubunda yer almaktadır. HSP90 immunreaktivitesi ile tümör derecesi arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p=0.638$). Yaş ile HSP90 immunreaktivitesi arasında anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır ($p=0.878$). Bazı olgularda fokal pozitiflik saptanmış olup evre, yaş derece ya da myometrial invazyon ile bir korelasyon göstermemektedir (Şekil 4) (Tablo I, II). HSP70 ve HSP90 immunoreaktivitesi arasında

istatistiksel olarak anlamlı, ters yönde bir ilişki bulunmaktadır ($r=-0.312$; $p=0.05$).



Şekil 3. Tümör hücrelerinde tenasin ekspresyonu (x200)



Şekil 4. HSP90 ile evre Ia derece 2 endometrioid adenokarsinomda immunoreaktivite.

TARTIŞMA

Endometrial karsinomda 5 yıllık sağkalım %80-85'dir; fakat pek çok bağımsız prognostik göstergeler tanımlanmıştır. Östrojen ilişkili risk faktörleri bulunan hastalarda 5 yıllık sağkalım %85.6 iken bulunmayanlarda %58.8 olarak bildirilmiştir. Myometrial invazyon derinliği ve FIGO evresi, nükleer derece de prognostik önem taşımaktadır. Derece I için 5 yıllık sağkalım oranı %87; derece II için %75, derece III için ise %58'dir.

Tümörün histopatolojik türü de prognoza etkileyen faktörlerden biridir (1-13).

Endometrial karsinom olgularında tümörle ilişkili ölüm riskini arttıran çeşitli parametreler üzerinde çalışılmış olmakla birlikte bir grup hastanın bu alışılmış parametrelere göre düşük ya da orta derecede risk grubunda olmasına rağmen hastalığın kötü seyrettiği bilinmektedir. Bu günümüzde kabul gören prognostik parametrelerin yetersizliği ve endometrial karsinomun biyolojik davranışındaki değişkenlik sonuçlarına işaret etmektedir. Proliferatif davranış anomalileri karsinogenez ve tümör progresyonuyla ilgilidir ve prognostik bilgi verir (37).

Dizimizde Patoloji Anabilim Dalı'nda 1992-2001 yılları arasında tanı alan endometrioid adenokarsinom olguları incelenmiş olup olguların büyük bir kısmı izlem dışı olduğundan HSP70, HSP90 ve tenasin ekspresyon özellikleri ile sağkalım arasındaki ilişki sağlıklı olarak değerlendirilememiştir. Endometrial karsinomlarda FIGO evresi bilinen en iyi prognostik göstergedir. Bazı çalışmalarda yaş ve myometrial invazyon derinliğinin tümör tipi ve derecesinden daha önemli prognostik faktörler olduğu bildirilmiştir. Endometriuma sınırlı evre Ia tümörlerde 5 yıllık sağkalım oranı %88.7, myometrium kalınlığının yarısından fazlasına invazyon gösteren evre Ic tümörlerde bu oran %63.5'dir. Bu çalışmada olguların 14'ü (%17.9) endometriuma sınırlı, 30'u (%38.5) myometrial invazyon göstermekte ve myometrium kalınlığının yarısından daha azını infiltre etmektedir. 20 (%25.6) olguda ise myometrial kalınlığın yarısından fazlası infiltredir. Endometrial karsinomlarda tümör derecesi ile myometrial invazyon derinliğini karşılaştıran bir çalışmada (13) derece 1 tümörlerde %8.7, derece 3 tümörlerde ise %43.5 oranında myometrial invazyon derinliğinin myometrial kalınlığın yarısından fazla olduğu saptanmıştır. Bizim çalışmamızda, tümör derecesi ile myometrial invazyon derinliği arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki bulunmaktadır ($p=0.001$). Myometrial invazyon derinliği değerlendirilirken adenomyozis odağında gelişen karsinom ile ayırmanın yapılması önem kazanmaktadır (1).

Isı şok proteinleri, hemen tüm organizmalarda bulunan ve stres durumlarında ortaya çıkan proteinlerdir. Bununla birlikte HSP'lerinin fizyolojik durumlarda da ortaya çıkabileceğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır. 90kDa ağırlığındaki HSP (HSP90) steroid reseptör fonksiyonlarını düzenlemektedir, 72 kDa ağırlığındaki HSP de (HSP70) benzer şekilde seks steroid reseptörleriyle ilişkilidir. Nanbu ve ark. (25) immüno-kimyasal olarak gösterilen HSP70 ekspresyonunun normal sıklık endometriuma sekretuar fazda artış gösterdiğini bildirmişler ve bunun hücre proliferasyonunun hormonal regülasyonu ya da seks steroid reseptörlerinin azalmasına bağlı olabileceğini öne sürmüşler, iyi differansiye endometrial karsinom olgularında HSP70 için daha yüksek pozitiflik gösterilmiştir; aynı çalışmada HSP90 pozitifliğinin ER ve PR pozitifliği ile paralellik gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca normal menstruel siklusta endometrial bezlerde HSP90 ekspresyonundaki değişiklikler, ER ve PR ekspresyonuyla koreledir ve HSP90 steroid reseptör proteinlerini bağlayarak fonksiyonlarını düzenler. Benzer şekilde meme karsinomu olgularında da HSP90 pozitifliğinin ER ve PR ile korele olduğu bildirilmiştir (25). Bu veriler HSP90'ın artmış ekspresyonu endometrial karsinomlarda yüksek seks steroid reseptör düzeyleri ve tümör hücrelerinin östrojene yanıtı ile korelasyon gösterdiğini düşündürmektedir. HSP70 de benzer şekilde seks steroid reseptörlerini bağlamaktadır, fakat reseptör aktivasyon yolundaki kesin işlevi bilinmemektedir. Normal endometriuma, HSP70 folliküler faz boyunca bazal tabakanın glandular ve stromal hücreleri tarafından eksprese edilir fakat fonksiyonel tabaka HSP 70 negatiftir. Bu ekspresyon paterni seks steroidlerinin ekspresyonuyla paralellik göstermez. İn vitro yapılan çalışmalarda HSP70'in seks steroid reseptörlerini fonksiyonunu baskıladığı ileri sürülmüştür (25). Bunun sonucu olarak da iyi differansiye tümörler ER ve PR pozitif fakat HSP70 negatîf olma eğilimindedirler.

HSP 70 artmış ekspresyonu kanser hücrelerinde tümöre dönüşme eğilimini artırır ve bu da myc proteinini adenovirus E1A ve p53 proteini gibi onkogen ürünleri tarafından indüklenir. p53 ekspresyonu ve

seks steroid reseptör pozitifliği arasında ters bir ilişki bulunduğu daha önceden endometrial, ovarian ve meme kansinomlarında gösterilmiştir. Endometrial kansinomlarda p53 tümör supresör geninde mutasyon ve artmış p53 protein ekspresyonu sıklıkla non-endometrioid tip kansinomlarda ve ileri evre hastalıkta bildirilmiştir (25) ve yine bu grup hastalarda seks steroid reseptörleri sıklıkla negatiftir. Sonuçta HSP70 ekspresyonu artışı özellikle ileri evre ve non-endometrioid kansinomlarda ve p53 proteini ekspresyon eden tümörlerde seks steroid reseptörlerinin kaybında bir rol oynuyor olabilir (38). HSP70, hücreleri pek çok apoptotik ve nekrotik uyarının etkisinden korur, ve hücreye yaşam şansı tanır. Çeşitli tümöral ve non-tümöral hücrede apoptozisin engellenmesi görevini görür. Hücre stresi ve ölümü birbirleriyle ilişkilidir, HSP'ler gibi moleküler şaperonlar stress tarafından indüklenir ve apoptozisin kontrolünde düzenleyici bir anahtar rolü oynar. HSP bağımlı apoptozisten korunma yolları bilinmemekle birlikte HSP70 hücreleri ısıya bağlı apoptozisten koruduğu in vitro çalışmalarda gösterilmiştir (39).

HSP27 ve HSP90 normal endometriumda serum estradiol düzeyi ile paralellik gösteren bir şekilde proliferatif fazda kuvvetli, sekretuar fazda zayıf olarak boyanma göstermektedir. HSP27 için daha belirgin olmak üzere HSP'lerin endometrial hiperplazi olgularında artmış ekspresyonları bildirilmiştir. Endometrial kansinomda HSP27 reaktivitesi, bezler boyunca heterojenik ve proliferatif fazda olduğundan daha az yoğun olarak boyanma göstermekte; bununla birlikte bazı kansinom ve hiperplazi olgularında HSP27'nin artmış ekspresyonu da gözlenebilmektedir. HSP70 immunreaktivitesi menstrual siklus boyunca değişmez ve endometrial hiperplazi ve kansinom olgularında da benzer şekilde boyanma gösterir. Sonuçta endometrial epitelde HSP27 ve HSP90 ekspresyonu hücre proliferasyonu ile ilişkililikten, HSP27 endometrial kansinomlarda ER durumunun azalmasına bağlı olarak daha az ekspresyon edilmektedir.

Bu çalışmada HSP70 ile olguların 50'si (%64.1) yoğun olmak üzere 70'i olumlu boyanmıştır. Olumlu boyanan olgular, yaş, tümör derecesi ve evre yönünden

değerlendirildiğinde, HSP70 ekspresyonunun bu iyi bilinen prognostik parametrelerle korelasyon göstermediği gözlenmiştir. Yine bir prognostik belirleyici olarak kabul edilen myometrial invazyon derinliği ile HSP70 ekspresyonu arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki bulunmaktadır ($p=0.017$). Çalışmamızda HSP90 ile tüm olguların 48'i (%60.5) olumlu boyanmıştır. HSP90 ekspresyonu yaş, evre, tümör derecesi ve myometrial invazyon derinliği açısından değerlendirildiğinde istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır. Serimizde HSP90 ve HSP70 ile olumlu boyanan olgular karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı ters bir ilişki bulunmaktadır ($p=0.05$).

Diğer organ tümörleri ile HSP'lerinin ilişkisini inceleyen çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Bir çalışmada, TNF α ve HSP70-2 genlerinde alterasyonlar artmış meme kansinomu riski ile ilişkilidir (40). Malign melanomalarda ise HSP70 ekspresyonu kötü prognozla ilişkilidir (41). Yüksek dereceli ve kas invazyonu gösteren mesane tümörlerinde yüksek HSP90 ekspresyonu bulunmaktadır (42). Bir çalışmada prostat kansinomlarında HSP70'in erken dönemde olumlu boyanma göstermezken ileri evrede artmış ekspresyonu bulunması dikkat çekicidir (43). HSP70 pozitifliği kondrosarkomlarda diferansiyasyonla koreledir (44).

Tenasin C, tenasin ailesinin prototipik üyesidir, gelişme halindeki dokularda ve tümör matriksi gibi patofizyolojik durumlarda belirgin olarak ekspresyon edilen bir glikoproteindir (45). Hücreler ve ekstrasellüler matriks arası adeziv ilişkiler büyüme, epitel morfogenez ve angiogenez gibi morfogenetik süreçler üzerinde önemli rol oynar. Anjiogenez sırasında yeni kan damarları kapillerlerin var olan damarlardan filizlenmesiyle (sprouting) oluşur. Bunun için ekstrasellüler matriksin yıkımı ve yeniden düzenlenmesi gereklidir. Bir ekstrasellüler matriks proteini olan tenasin-C, 21 ve v3 gibi anjiogenezde rolleri gösterilmiş çeşitli integrinleri bağlar. Tenasin-C'nin bazı fragmanları intakt molekülden daha adeziv özelliktedir, bu da intakt molekülün adeziv ve kontradeziv domainler içeriyor olduğunu göstermektedir. Bu özellikleri taşıyan diğer glikoproteinler gibi tenasin-C de hücrenin

adeziv, motil ve proliferatif davranışını düzenleme görevini üstlenmektedir (46). Embriyonik gelişme sırasında Tenasin-C pek çok doku ve organda yüksek oranlarda bulunmaktadır, bunun tersine normal erişkin dokusunda tenasin seviyesi düşüktür. Tenasin-C ekspresyonu yara iyileşmesi, sinir dokusunun rejenerasyonu, artrit ve tümör oluşumu gibi anjiogenezle ilişkili olan pek çok dokuda da artmış olarak gözlenmiştir (45). Çözünür özellikteki tenasin-C endotelial hücrelerde fokal olarak adezyonu azaltmakta ve endotelial hücre göçünü artırmaktadır. Ayrıca tenasin-C endotelial hücrelerin basic fibroblast growth factor (bFGF) gibi büyüme faktörlerine mitojenik yanıtını da artırmaktadır. Anjiogenez; TGF, tümör nekroz faktörü, PDGR-BB, vasküler endotelial growth faktör, aFGF ve bFGF gibi çeşitli anjiogenetik stimuluslar tarafından başlatılır (46).

Tümör dokusunda tenasin tümör hücresi aracılığıyla; fibroblastlar, tümör hücreleri ve/ya da endotel hücreleri tarafından üretilmektedir. Tenasinin kesin fonksiyonu halen tartışmalı olsa da çeşitli karsinomlarda stromal dokunun önemli bir parçası olduğu gösterilmiştir (31,32). Endometrial tümörlerde tenasin ekspresyonu ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Endometrial karsinomlarda stromal hücrelerde ve tümör hücrelerinde tenasin ekspresyonu bildirilmiştir. Metastatik olgular, derin myometrial invazyon ve vasküler invazyon bulunan olgularda tenasin ekspresyonu anlamlı derecede yüksek olarak bildirilmiştir (38,45).

Bugüne dek pek çok tümörde tenasin ekspresyonu ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Kadın genital sisteminin bir başka sık görülen tümörü olan servikal karsinomlar ve preneoplastik ve nonneoplastik lezyonlarda yapılan çalışmalarda normal servikste bazal membran boyunca görülen tenasin ekspresyonunun servistte artmış olduğu, servikal intraepitelial lezyonlarda (CIN) ve karsinoma in situ olgularında daha fazla artmış olduğu gözlenmiştir. Invaziv karsinomlarda ise stromada ve invaziv tümör hücre adalarının çevresinde çok yoğun tenasin ekspresyonu olduğu bildirilmektedir (47).

Tenasinin iyi bilinen bir yerleşim yeri ise glial tü-

mörlerde ekstrasellüler matriksin primer adezyon reseptör sisteminde bulunuyor olmasıdır (28). Tenasin C astrositler ve diğer hücreler tarafından salgılanır ve nöronal migrasyon, aksonal büyüme ve doku sınırlarının oluşumunda rol oynar. Glial tümörlerde tenasin C akümüasyonu tümörün histolojik derecesiyle ve tümör dokusundaki neovaskularizasyonla yakından ilişkilidir. Astroitik tümörlerde de tümör hücrelerinde ve tümör hücreleri çevresini bir ağ gibi saran tarzda tenasin ekspresyonu bulunmakta, yüksek dereceli astroitik tümörlerde bu ekspresyon artmaktadır. Oligodendroglial tümörlerde tümör derecesi ile artan tenasin reaktivitesi bildirilmiştir (48).

Tenasin larinksin epitelyal hiperplastik lezyonları ve skuamöz hücreli karsinomlarında artmış olarak stromal ekspresyon göstermektedir. Ayrıca ekspresyonu desmoplazinin derecesiyle artmakta fakat lenfositik infiltrasyonun yoğunluğuyla ve skuamöz hücreli karsinomun diferansiasyonu ile ters orantılı olarak değişmektedir (28-31).

Meme karsinomunda vaskülarite artışı ve tenasin ekspresyonunda artış korelasyon göstermektedir (32-34). Tenasin ekspresyonu nükleer derece, histolojik derece ve kombine derece ile korele olarak bulunmuştur fakat sağkalımla ilişkisi gösterilemediğinden prognostik belirleyici olarak değeri sınırlıdır (47).

Prostat tümörlerinde düşük ve orta derecede differansiye olan tümörlerde tenasin boyanması az differansiye olanlara göre daha kuvvetli olarak saptanmıştır. (49,50) Benzer şekilde bizim çalışmamızda, bir adenokarsinom olan endometrial karsinomlarda da tenasin ekspresyonunu bez çevrelerinde yoğunluk gösterdiği ve WHO derecesi 3 olan tümörlerde derece 1 ve 2 olanlara kıyasla daha yoğun pozitiflik saptanmıştır ($p=0.035$).

Tenasin malign deri tümörlerinde de antiadheziv ve motilite indükleyici faktör olarak rol oynar; ayrıca tenasin ekspresyonunun dermatofibrom ve dermatofibrosarkoma protuberans ayırımında kullanılabilmesine ilişkin öneriler bulunmaktadır (51).

Sonuç olarak endometrial karsinomlarda HSP70

ekspresyonundaki artışın myometrial invazyon ile ilişkili olduğunu düşünüyoruz. Çalışmamızda tenasin ekspresyonu ile tümör evre ve derecesi ile diğer iyi bilinen prognostik belirleyiciler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Bununla birlikte tümör derecesi 1 ve 2 olan olgular gruplandığında derece 3 olan olgulardan daha yoğun tenasin ekspresyonu gösterdikleri gözlenmiştir ($p=0.035$); sonuç olarak tenasin ekspresyonu tümör differansiasyonu ile ilişkilidir. Bununla birlikte tenasin ekspresyonu diğer iyi bilinen prognostik parametrelerle korelasyon göstermemektedir. Çalışmamızda HSP90 immuno-reaktivitesi ile yaş, evre, tümör derecesi arasında anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır. Prognostik faktörleri sorgulayan çalışmalarda bu parametreler ile uzun dönem sağkalm karşılaştırılması daha değerli sonuçlar verecektir.

KAYNAKLAR

1. Kurman RJ, Zaino RJ, Norris HJ. Endometrial Carcinoma. In: Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract. 4th ed. New York: Springer-Verlag, 1994:439-486.
2. Longacre TA, Kempson RL, Hendrickson MR. Endometrial hyperplasia, metaplasia and carcinoma. Obstetrical and Gynaecological pathology (Ed. Fox H). 4th Ed. Churchill Livingstone, New York, 1995:421-511.
3. Rose PG. Endometrial carcinoma. N. England J Med 1996;335, 640-649.
4. Homesley HD, Zaino R. Endometrial Cancer: Prognostic Factors. Semin in Oncol 1994;21; 71-78.
5. Gehring PA, Van LL, Olatidoye B, et al. Estrogen receptor status determined by immunohistochemistry as a predictor of the recurrence of stage I endometrial carcinoma. Cancer 1999; 86:2083-2089.
6. Gordon MD, Ireland K. Pathology of hyperplasia and carcinoma. Sem in Oncol 1994; 21:64-70.
7. Aziz H, Hussain F, Edelman S, et al. Age and race as prognostic factors in endometrial carcinoma. Am J Clin Oncol 1996; 19:595-600.
8. Daniell HJ. More Advanced-stage tumors among smokers with endometrial cancer. Am J Clin Pathol 1993; 100:439-443.
9. Clement PB, Scully RE. Endometrial hyperplasia and carcinoma. In: Tumors and Tumorlike Lesions of the Uterine Corpus and Cervix (Ed. Clement PB, Young RH). 1st Ed. Churchill Livingstone, New York, 1993:181-264.
10. Hakala A, Kacinski BM, Stanley ER, et al. Macrophage colony-stimulating factor 1, a clinically useful tumor marker in endometrial adenocarcinoma: comparison with CA125 and the aminoterminal propeptide of type III procollagen. Am J Obstet Gynecol 1995;173:112-119.
11. Davies JL, Rosenshein NB, Anunes CM, et al. A review of the risk factors for endometrial carcinoma. Obs Gyn Survey 1981; 36:107-116.
12. Ambros RA, Kurman RJ. Combined assessment of vascular and myometrial invasion as a model to predict prognosis in stage I endometrioid adenocarcinoma of the uterine corpus. Cancer 1992;69:1424-1431.
13. Zaino RJ, Silverberg SG, Norris HJ, et al. The prognostic value of nuclear versus architectural grading in endometrial adenocarcinoma. Int J Gynecol Pathol 1994; 13:29-36.
14. Valsacchi L, Mangili G, Frigiero L, et al. Reliability of preoperative evaluation of prognostic factors in endometrial carcinoma. Int J Gynecol Obstet 1997; 59:35-39.
15. Ambros RA, Vigna PA, Figge J, et al. Observations on tumor and metastatic suppressor gene status in endometrial carcinoma with particular emphasis on p53. Cancer 1994;73;1686-1692.
16. Benevolo M, Mariani L, Vocaturo G, et al. Independent prognostic value of peritoneal immunocytoagnosis in endometrial carcinoma. Am J Surg Pathol 2000; 24:241-247.
17. Fukuda K, Mori M, Uchiyama M, et al. Prognostic significance of progesterone receptor immunohistochemistry in endometrial carcinoma. Gynecol Oncol 1998; 69:220-225.
18. Pertschuk LP, Masood S, Simone J, et al. Estrogen receptor immunocytochemistry in endometrial carcinoma: a prognostic marker for survival. Gynecol Oncol 1996; 63:28-33.

19. Navari JR, Roland PY, Keh P, et al. Loss of estrogen receptor (ER) expression in endometrial tumors is not associated with de novo methylation of the 5' end of the ER gene. *Clin Cancer Res* 2000; 6:4026-4032.
20. Özşaran AA, Türker S, Dikmen Y, et al. p53 staining as a prognostic indicator in endometrial carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol* 1999;20:156-159.
21. Jika K, Sassano H, Ito K, et al. Immunohistochemical and in situ hybridization analysis of p53 in human endometrial carcinoma of uterus. *Anticancer Res* 1993; 13:305-310.
22. Lukes AS, Kohler MP, Pieper CF, et al. Multivariable analysis of DNA ploidy, p53 and HER-2/neu as prognostic factors in endometrial cancer. *Cancer* 1994; 73:2380-2385.
23. Wataba K, Saito T, Fukunaka K, et al. Over-expression of heat shock proteins in carcinogenic endometrium. *Int J Cancer* 2001 15; 91:448-456.
24. Nylandsted J, Rohde M, Brand K, et al. Selective depletion of heat shock protein 70 (HSP70) activates a tumor-specific death program that is independent of cases and bypasses Bel-2. *Cell Biology* 2000; 97:7871-7886.
25. Nanbu K, Konishi I, Mandai M, et al. Prognostic significance of heat shock proteins HSP70 and HSP90 in endometrial carcinomas. *Cancer Detect Prev* 1998; 22:549-455.
26. Geisler JP, Geisler HE, Tammela J, et al. A study of heat-shock protein 27 in endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 1999; 72:347-350.
27. Ciocca DR, Fuqua SA, Lock-Lim S, et al. Response of human breast cancer cells to heat shock and chemotherapeutic drugs. *Cancer Res* 1992;52; 3648-3654.
28. Erickson HP, Bourdon MA. Tenascin: an extracellular matrix protein prominent in specialized embryonic tissues and tumors. *Annu Rev Cell Biol* 1989; 5:71-92.
29. Koukoulis GK, Gould VE, Bhattacharyya A, et al. Tenascin in normal, reactive, hyperplastic and neoplastic tissue: Biologic and pathologic implications. *Hum Pathol* 1991; 22:636-643.
30. Koukoulis GK, Howedy AA, Korhonen M, et al. Distribution of tenascin, cellular fibronectins and integrins in the normal, hyperplastic and neoplastic breast. *J Submicro Cytol Pathol* 1993; 25:285-95.
31. Juhasz A, Bardos H, Repassy G, et al. Characteristic distribution patterns of tenascin in laryngeal and hypopharyngeal cancers. *Laryngoscope* 2000;110:84-92.
32. Jakkola T, Toivonen T, Virtanen I, et al. Tenascin-C expression in invasion border of early breast cancer: A predictor of local and distant recurrence. *Br J Cancer* 1998; 78:1507-1513.
33. Ramos DM, Chen B, Regezi J, et al. Tenascin-C matrix assembly in oral squamous carcinoma. *Int J Cancer* 1998; 75:680-687.
34. Goepel C, Bruchmann J, Schultka R, et al. Tenascin - a marker for the malignant potential of preinvasive breast cancers. *Gynecol Oncol* 2000; 79:372-378.
35. Xue Y, Li J, Lanjbouwiers M, et al. Expression of periglandular tenascin-C and basement membrane laminin in normal prostate, benign prostatic hyperplasia and prostate carcinoma. *Br J Urol* 1998; 81:844-851.
36. Kressner U, Lindmark G, Tomasini-Johansson, et al. Stromal tenascin distribution as a prognostic marker in colorectal cancer. *Br J of Cancer* 1997; 76:526-530.
37. Nordstrom B, Strang P, Bergstrom R, et al. A comparison of proliferation markers and their prognostic value for women with endometrial carcinoma: Ki-67, proliferating cell nuclear antigen, and flow cytometric S-phase fraction. *Cancer* 1996; 78:1942-1951.
38. Doi D, Araki T, Asano A. Immunohistochemical localization of tenascin, estrogen receptor and transforming growth factor-beta 1 in human endometrial carcinoma. *Gynecol Obstet Invest* 1996; 41:61-66.
39. Jolly C, Morimoto RI. Role of the heat shock response and molecular chaperones in oncogenesis and cell death. *J Natl Cancer Inst* 2000; 4,92:1564-1572.
40. Mestiri S, Bouaouina N, Ahmed SB, et al. Genetic variation in the tumor necrosis factor-alpha promoter region and in the stress protein hsp70-2: susceptibility and prognostic implications in breast carcinoma. *Cancer* 2001;91:672-678.
41. Ricamadis N, Katakaki A, Agnantis N, et al. Long-term prognostic significance of HSP-70, c-myc and HLA-DR expression in patients with malignant melanoma. *Eur J Surg Oncol* 2001;27:88-93.
42. Cardillo MR, Sale P, Di Silveo F. Heat shock protein-

- 90, IL-6 and IL-10 in bladder cancer. *Anticancer Res* 2000;20:4579-4583.
43. Park KC, Kim DS, Choi HO, et al. Overexpression of HSP70 prevents ultraviolet B-induced apoptosis of a human melanoma cell line. *Arch Dermatol Res* 2000; 292:482-487.
44. Tnieb K, Kohlbeck R, Lang S, et al. Heat shock protein 72 expression in chondrosarcoma correlates with differentiation. *J Cancer Res Clin Oncol* 2000; 126:667-670.
45. Iskaros BF, Koss LG. Tenascin expression in intraepithelial neoplasia and invasive carcinoma of the uterine cervix. *Arch Pathol Lab Med* 2000; 124:1282-1286.
46. Schenk S, Chuquet-Ehrsmann R, Battegay EJ. The Fibrinogen Globe of Tenascin-C Promotes Basic Fibroblast Growth Factor-induced Endothelial Cell Elongation. *Cell Biology* 1999; 10:2933-2943.
47. Iskaros BF, Hu X, Sparano JA, et al. Tenascin pattern of expression and established prognostic factors in invasive breast carcinoma. *J Surg Oncol* 1998; 68:107-112.
48. Kim CH, Bak KH, Kim YS, et al. Expression of tenascin-C in astrocytic tumors: its relevance to proliferation and angiogenesis. *Surg Neurol* 2000;54: 235-240.
49. Rosette JJ, Schaiken JA. Expression of periglandular tenascin-C and basement membrane laminin in normal prostate, benign prostatic hyperplasia and prostate carcinoma. *Br J Urol* 1998;81:844-851.
50. Xue Y, Smedts F, Latjnhouwers MA, et al. Tenascin-C expression in prostatic intraepithelial neoplasia (PIN): a marker of progression? *Anticancer Res* 1998; 18:2679-2684.
51. Kahn HJ, Fekete E, From L. Tenascin differentiates dermatofibroma from dermatofibrosarcoma protuberans: comparison with CD34 and factor XIIIa. *Hum Pathol* 2001; 32:50-56.