

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

ENDOMETRİAL KARSİNOMUN KARSİNOGENEZİNDE
EPİGENETİK MODİFİKASYONDA ROL ALAN 5-HMC VE
HDAC6 GENLERİNİN EKSPRESYONLARININ
DEĞERLENDİRİLMESİ

Uzmanlık Tezi

Dr. Kübra ÖZTÜRK TÜRKER

TRABZON- 2022

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

ENDOMETRİAL KARSİNOMUN KARSİNOGENEZİNDE
EPIGENETİK MODİFİKASYONDA ROL ALAN 5-HMC VE
HDAC6 GENLERİNİN EKSPRESYONLARININ
DEĞERLENDİRİLMESİ

Uzmanlık Tezi

Dr. Kübra ÖZTÜRK TÜRKER

Tez Danışmanı

Doç. Dr. İsmail SAYGIN

TRABZON- 2022

ÖNSÖZ

Asistanlık süreci ve tez hazırlama aşamalarında bana yol gösteren, yardımlarını esirgemeyen saygıdeğer danışman hocam Doç. Dr. İsmail SAYGIN'a,

Eğitim sürecinde bilgi, beceri ve deneyimlerini bizlerle paylaşan, üzerimizde çokça emekleri bulunan değerli hocalarım Prof. Dr. Kadriye YILDIZ, Prof. Dr. Ümit ÇOBANOĞLU, Prof. Dr. Şafak ERSÖZ, Prof. Dr. Sevdegül AYDIN MUNGAN, Doç Dr. Emel ÇAKIR, Doç. Dr. Mustafa Emre ERCİN, Dr. Öğr. Üyesi Zeynep SAĞNAK YILMAZ'a,

Tez yazım ve hazırlama sürecinde desteğini yardımını hep gösteren başta sevgili arkadaşım Uzm. Dr. Elif ÖZSAĞIR olmak üzere, aynı çalışma ortamını paylaştığım, birlikte çalışıp birlikte öğrendiğimiz tüm asistan arkadaşlarıma,

Patoloji laboratuvarında dört yıl boyunca birlikte çalıştığım tüm teknisyen, sekreter ve personellerimize,

Beni bugünlere getiren, tüm eğitim hayatım boyunca verdiği emek ve fedakarlıklarının karşılığını asla ödeyemeyeceğim, tez yazım sürecinde en büyük destekçim annem Ayşe ÖZTÜRK'e, uzakta da olsa varlığını yanımda hissettiren ablam Nimet DOĞAN'a ve tüm aileme,

Ömrüme neşe ve anlam katan en güzel hediyem oğlum Hazar Tarık'a ve eşim Tayfun TÜRKER'e teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Kübra ÖZTÜRK TÜRKER

ÖZET

ENDOMETRİAL KARSİNOMUN KARSİNOGENEZİNDE EPIGENETİK MODİFİKASYONDA ROL ALAN 5-HMC VE HDAC6 GENLERİNİN EKSPRESYONLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Amaç: Endometrial karsinomun karsinogenez aşamalarında epigenetik modifikasyonda rol alan 5-hmC ve HDAC6 genlerinin ekspresyonlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Literatürde 5-hmC ve HDAC6'nın endometrial kanser ve prekanseröz lezyonlardaki ekspresyonlarını araştıran çok az sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar ışığında; daha sonra yapılacak moleküler çalışmalar ile birlikte, çalışmamızın endometrial karsinomun epigenetik modifikasyonu ile ilgili yeni biyobelirteçlerin keşfine katkıda bulunması amaçlanmıştır.

Materyal ve yöntem: Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Ana Bilim Dalında 2010-2019 yılları arasında tanı alan vakalar proliferatif endometrium, atipisiz endometrial hiperplazi, atipili hiperplazi ve endometrial adenokarsinom (derece 1-2-3) olmak üzere her bir grupta n=20 olacak şekilde sınıflandırılmıştır. Arşiv taraması sonuçlarına göre hastane sisteminden vakaların yaş, doğum sayısı, menopoz durumu, sigara kullanımı, CA125 düzeyi, endometrium kalınlığı ve beden kitle indeksi verileri kaydedilmiş; endometrial adenokarsinom grubundaki vakalara ait myometrial invazyon ve lenfovasküler invazyon durumu da değerlendirmeye alınmıştır. Olgulara ait Hematoksilen & Eozin boyalı preparatlar tekrar değerlendirilmiş ve immünohistokimyasal inceleme için uygun bloklar seçilmiştir.

Bulgular: 5-hmC ekspresyonu benign durumlarda yüksekken, endometrial karsinom grubunda ekspresyon kaybı görülmüştür. 5-hmC ekspresyonu açısından gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0,001$). Endometrial adenokarsinom ve atipili hiperplazi ile proliferatif endometrium arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür. HDAC6 ekspresyonunun endometrial

adenokarsinom vakalarında diğer gruplara oranla belirgin olarak daha düşük olduğu görülmüştür. HDAC6 ekspresyonu açısından gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,001$). Endometrial adenokarsinom ile atipili hiperplazi, atipisiz hiperplazi ve proliferatif endometrium grupları arasında HDAC6 ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür. İyi, orta ve az diferansiye endometrial adenokarsinom grupları arasında 5-hmC ve HDAC6 ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Menopoz durumuna göre karşılaştırma yapıldığında ise premenopozal dönemdekilerin HDAC6 ve 5-hmC ortalaması, postmenopozal dönemdekilerin ortalamasından anlamlı olarak yüksek saptanmıştır. CA125 değeri, vücut kitle indeksi, rahim içi araç ve oral kontraseptif kullanımı gibi klinik parametrelerle moleküllerin ekspresyonları arasında da anlamlı fark saptanmamıştır.

Sonuç: Çalışmamızda epigenetik modifikasyonda yer alan 5-hmC ve HDAC6 genlerinin endometrium kanserini prekanseröz lezyonlardan ayırt etmede yararlı olabileceği görülmüştür. Ancak bu kapsamda daha yüksek sayılı hasta gruplarında daha detaylı klinik ve patolojik veriler içeren çalışmalar yapılması gerekmektedir. 5-hmC ortalamaları yüksek dereceli endometrioid kanserlerde düşük saptandığı için prognostik önemi olabileceği düşünülmüştür. Literatür incelemesinde çeşitli kanserlerde HDAC6 ekspresyonu artmış olmasına rağmen çalışmamızda endometrial kanser dokusunda ekspresyonun azalmış olduğu görülmüştür. Bu bulgu, literatürle uyumlu değildir.

Anahtar kelimeler: 5-hmC, HDAC6, Endometrium kanseri, atipili hiperplazi, atipisiz hiperplazi

SUMMARY

EVALUATION OF THE EXPRESSION OF 5-HmC AND HDAC6 GENES INVOLVED IN EPIGENETIC MODIFICATION IN THE CARCINOGENESIS OF ENDOMETRIAL CARCINOMA

Objective: The aim of this study was to evaluate the expression of 5-hmC and HDAC6 genes involved in epigenetic modification in the carcinogenesis stages of endometrial carcinoma. There are very few studies in the literature investigating the expression of 5-hmC and HDAC6 in endometrial cancer and precancerous lesions. In the light of the results obtained in this study; with future molecular studies, it is aimed that our study will contribute to the discovery of new biomarkers related to the epigenetic modification of endometrial carcinoma.

Material and Methods: Cases diagnosed between 2010-2019 in Karadeniz Technical University Faculty of Medicine, Department of Medical Pathology were classified as n=20 in each group as proliferative endometrium, endometrial hyperplasia without atypia, hyperplasia with atypia, and endometrial adenocarcinoma (grade 1-2-3). According to the results of the archive scanning, the age, gravida, menopausal status, smoking, CA125 level, endometrial thickness and body mass index data of the cases were recorded from the hospital system; myometrial invasion and lymphovascular invasion status of the cases in the endometrial adenocarcinoma group were also evaluated. Hematoxylin & Eosin stained preparations of the cases were reevaluated and appropriate blocks were selected for immunohistochemical examination.

Results: While expression of 5-hmC is high in benign conditions, loss of expression was observed in the endometrial carcinoma group. The difference between the groups in terms of 5-hmC expression was statistically significant ($p=0.001$). A statistically significant difference was observed between endometrial adenocarcinoma and hyperplasia with atypia and proliferative endometrium. HDAC6 expression was found to be significantly lower in endometrial adenocarcinoma cases compared to

other groups. The difference between groups in terms of HDAC6 expression was statistically significant ($p=0.000$). There was a statistically significant difference in HDAC6 expression between endometrial adenocarcinoma and hyperplasia with atypia, hyperplasia without atypia and proliferative endometrium groups. No statistically significant difference was found between the well, moderately and poorly differentiated endometrial adenocarcinoma groups in terms of 5-hmC and HDAC6 expression. When compared according to the menopausal status, the HDAC6 and 5-hmC averages of those in the premenopausal period were found to be significantly higher than the average of those in the postmenopausal period. There was no significant difference between the expressions of molecules and clinical parameters such as CA125 value, body mass index, intrauterine device and oral contraceptive use.

Conclusion: In our study, it was seen that 5-hmC and HDAC6 genes, which are involved in epigenetic modification, may be useful in differentiating endometrial cancer from precancerous lesions. However, in this context, studies with more detailed clinical and pathological data in higher numbered patient groups are required. Since 5-hmC averages were found to be low in high-grade endometrioid cancers, it was thought to have prognostic significance. Although HDAC6 expression was increased in various cancers in the literature review, it was observed that the expression was decreased in endometrial cancer tissue in our study. This finding is inconsistent with the literature.

Keywords: 5-hmC, HDAC6, Endometrial cancer, hyperplasia with atypia, hyperplasia without atypia

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	
ÖZET.....	ii
SUMMARY.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	vi
KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
TABLolar DİZİNİ.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
RESİMLER DİZİNİ.....	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Uterus.....	3
2.1.1. Uterus Embriyolojisi.....	3
2.1.2. Uterus Anatomisi.....	3
2.1.3. Uterus Histolojisi.....	4
2.1.4. Menstrüel Siklus.....	5
2.2. Endometrial Hiperplaziler.....	6
2.3. Endometrial Karsinom.....	10
2.3.1. Epidemiyoloji.....	10
2.3.2. Risk Faktörleri.....	11
2.3.3. Koruyucu Faktörler.....	12
2.3.4. Makroskopik Özellikler.....	13
2.3.5. Patogenez ve Klinikopatolojik Alt Tipler.....	13

2.3.6. Tip 1 ve Tip 2 Endometrial Karsinomlarda Görülen Moleküler Değişiklikler.....	14
2.3.7. Endometrial Karsinomların Genomik Sınıflaması.....	17
2.3.8. Klinik Özellikler.....	17
2.3.9. Tanı.....	18
2.3.10. Endometrial Karsinomların Morfolojik Tipleri.....	18
2.3.11. Endometrial Karsinomlarda Histolojik Derecelendirme.....	22
2.3.12. Endometrial Karsinomlarda Evreleme.....	23
2.3.13. Endometrium Kanseriinde Prognostik Faktörler.....	26
2.3.14. Tedavi.....	30
2.4. Karsinogenez ve İlişkili Genler.....	31
2.4.1. Karsinogenez.....	31
2.4.2. Protoonkogenler ve Onkogenler.....	32
2.4.3. Tümör Baskılayıcı Genler.....	32
2.4.4. DNA Onarım ve Apoptozis Genleri.....	33
2.5. Epigenetik.....	33
2.5.1. DNA Metilasyonu.....	35
2.5.2. DNA Metilasyonu ve Endometrial Kanseri.....	36
2.5.3. Histon Modifikasyonları.....	37
2.5.4. Histon Asetilasyonu.....	37
2.5.5. Histon Asetilasyonu ve Endometrial Kanseri.....	38
2.5.6. 5-hmC.....	39
2.5.7. HDAC6.....	39
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	40

3.1. Olgu Seçimi.....	40
3.2. İmmünohistokimyasal İnceleme.....	40
3.3. İmmünohistokimyasal Değerlendirme.....	41
3.4. İstatistiksel Değerlendirme.....	41
3.5. Finansal Destek ve Etik Kurul Kararı.....	42
4. BULGULAR.....	43
4.1. Demografik Veriler.....	43
4.2. Klinik Veriler.....	44
4.3. Patolojik Parametreler.....	46
4.4. Demografik ve Klinik Verilerin Gruplar Arası Karşılaştırılması.....	46
4.5. İmmünohistokimyasal Bulgular.....	47
4.5.1. İmmünohistokimyasal Yöntemle 5-hmC'nin Değerlendirilmesi.....	47
4.5.2. İmmünohistokimyasal Yöntemle HDAC6'nın Değerlendirilmesi.....	50
4.6. 5-hmC Ekspresyonunun Tanı Grupları ile İlişkisi.....	52
4.7. Tanılara Göre HDAC6 Ekspresyonu İlişkisi.....	53
4.8. Endometrial Adenokarsinom Histolojik Dereceleri ile 5-hmC Ekspresyonunun Karşılaştırılması.....	53
4.9. Endometrial Adenokarsinom Histolojik Dereceleri ile HDAC6 Ekspresyonunun Karşılaştırılması.....	54
4.10. Yaş Gruplarına Göre 5-hmC Ortalamalarının Karşılaştırılması.....	55
4.11. Yaş Gruplarına Göre HDAC6 Ortalamalarının Karşılaştırılması.....	56
4.12. Menopoz Durumuna Göre 5-hmC Ortalamalarının Karşılaştırılması.....	56
4.13. Menopoz Durumuna Göre HDAC6 Ortalamalarının Karşılaştırılması.....	57
4.14. CA125 Kategorilerine Göre 5-hmC Ortalamalarının Karşılaştırılması.....	57

4.15. CA125 Kategorilerine Göre HDAC6 Ortalamalarının Karşılaştırılması.....	57
4.16. VKİ Kategorilerine Göre 5-hmC Ortalamalarının Karşılaştırılması.....	57
4.17. VKİ Kategorilerine Göre HDAC6 Ortalamalarının Karşılaştırılması.....	58
4.18. RİA Kullanma Durumuna Göre 5-hmC Ortalamalarının Karşılaştırılması..	58
4.19. RİA Kullanma Durumuna Göre HDAC6 Ortalamalarının Karşılaştırılması.....	58
4.20. OKS Kullanma Durumuna Göre 5-hmC Ortalamalarının Karşılaştırılması.....	58
4.21. OKS Kullanma Durumuna Göre HDAC6 Ortalamalarının Karşılaştırılması.....	58
4.22. Myometrial İnvazyon Derinliğine Göre 5-hmC Ortalamalarının Karşılaştırılması.....	59
4.23. Myometrial İnvazyon Derinliğine Göre HDAC6 Ortalamalarının Karşılaştırılması.....	59
4.24. Lenfovasküler İnvazyon Varlığına Göre 5-hmC Ortalamalarının Karşılaştırılması.....	59
4.25. Lenfovasküler İnvazyon Varlığına Göre HDAC6 Ortalamalarının Karşılaştırılması.....	59
4.26. Korelasyon Analizleri.....	59
5. TARTIŞMA.....	61
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	74
7. KAYNAKÇA.....	76

KISALTMALAR DİZİNİ

AJCC: American Joint Committee on Cancer

AKT: Protein kinaz B

AMACR: Alfa metil açıl CoA rasemaz

AML: Akut Myeloid Lösemi

APC: Adenomatosis Poliposis Koli

ARID1A: AT-rich interactive domain-containing protein 1A

ARID5B: AT-Rich Interaction Domain 5B

Ark.: Arkadaşları

BRCA1: Breast Cancer 1 Mutation

C: Sitozin

CA125: Kanser Antijen 125

CC1: Cell conditioning solution

CpG: Sitozin fosfat Guanin

CTNNB1: Catenin B1

D&C: Dilatation and Curettage, Dilatasyon ve küretaj

DAB: Diaminobenzidin

DHEAS: Dehidroepiandrosteron sülfat

DNA: Deoksiribo nükleik asit

DNMT: DNA metil transferaz

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

EİN: Endometrial intraepitelyal neoplazi

EK: Endometrium kalınlığı

ER: Estrogene Receptor, Östrojen reseptörü

FDA: Food and Drug Administration

GOG: Gynecologic Oncology Group

H2A: Histon 2A

H2B: Histon 2B

H3: Histon 3

H4: Histon 4

HAT: Histon asetil transferaz

HDAC: Histon deasetilaz

HDAC6: Histon deasetilaz 6

HNF1 β : Hepatocyte nuclear factor 1beta

HPV: Human papillomavirus

HSP90: Heat shock protein 90, Isı şok protein 90

IGF1: İnsülin benzeri büyüme faktörü 1

KHDAK: Küçük hücreli dışı akciğer kanseri

KRAS: Kirsten Ras Sarcoma

LOH: Loss of heterozygosity

LVI: Lenfovasküler invazyon

MAPK: Mitogen-activated protein kinase

miR-206: MicroRNA 206

MLH1: MutL homolog 1

MMR: Mismatch repair

MSH2: MutS homolog 2

MSİ: Mikrosatellit instabilite

mTOR: Mammalian target of rapamycin

NaB: Sodyum bütirat

NAD⁺: Nikotinamid adenin dinükleotid

OKS: Oral kontraseptif

p14: Protein 14

p16: Protein 16

p53: Protein 53

PanNET: Pankreatik nöroendokrin tümör

PIK3CA: Fosfatidilinozitol 4,5-bifosfat 3-kinaz katalitik subünit alfa

PIK3R1: Fosfatidilinozitol 3-kinaz regülatuar subünit alfa

PKOS: Polikistik over sendromu

POLE: DNA polimeraz epsilon

PR: Progesterone receptor, Progesteron reseptör

pRB: Protein Retinoblastom

PTEN: Phosphatase and tensin homolog

RİA: Rahim içi araç

SIRT: Sirtuin 1

TAH+BSO: Total abdominal histerektomi+Bilateral salpingooferektomi

TCGA: The Cancer Genome Atlas

TET: Ten-eleven translocation

TGF- β : Transforming growth factor beta

TNM: Tumor node metastasis

TSA: Trikostatin A

TVUS: Transvajinal Ultrasonografi

UICC: Union for International Cancer Control

VKİ: Vücut kitle indeksi

5-mC: 5-metilsitozin

5-hmC: 5-hidroksimetilsitozin

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: EİN kriterleri.....	9
Tablo 2: Tip 1 ve tip 2 endometrial kanserlerin klinik ve patolojik olarak karşılaştırılması.....	15
Tablo 3: Tip 1 ve tip 2 karsinomlarda görülen majör genetik değişikliklerin karşılaştırılması.....	15
Tablo 4: FIGO 2009 endometrium kanseri cerrahi evrelemesi.....	24
Tablo 5: Endometrial karsinomun FIGO ve TNM evreleme sistemleri.....	25

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Endometrioid karsinom için bir progresyon modeli.....	16
Şekil 2: Endometrioid olmayan (tip 2) karsinomlar için bir progresyon modeli.....	16
Şekil 3: Epigenetik düzenleme.....	34
Şekil 4: Kromatin yeniden şekillenmesi.....	34
Şekil 5: Sitozin metilasyon siklusu.....	35
Şekil 6: 5-mC ve oksidasyon ürünü 5-hmC'nin kimyasal yapıları.....	36
Şekil 7: Tanılara göre 5-hmC H skoru değerleri.....	48
Şekil 8: Tanılara göre HDAC6 H skoru değerleri.....	51
Şekil 9: Endometrioid adenokarsinom histolojik derecelerine göre 5-hmC ortalamaları.....	54
Şekil 10: Endometrioid adenokarsinom histolojik derecelerine göre HDAC6 ortalamaları.....	54
Şekil 11: Yaş gruplarına göre 5-hmC ortalamaları.....	55
Şekil 12: Yaş gruplarına göre HDAC6 ortalamaları.....	56

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: Atipisiz endometrial hiperplazi, Hematoksilen & Eozin.....	7
Resim 2: Atipili endometrial hiperplazi/Endometrial intraepitelyal neoplazi, Hematoksilen & Eozin.....	9
Resim 3: Endometrial endometrioid adenokarsinom, Hematoksilen & Eozin.....	20
Resim 4: Endometrial seröz adenokarsinom, Hematoksilen & Eozin.....	21
Resim 5: 5-hmC ile +1 şiddetinde boyanma.....	49
Resim 6: 5-hmC ile +2 şiddetinde boyanma.....	49
Resim 7: 5-hmC ile +3 şiddetinde boyanma.....	50
Resim 8: HDAC6 ile +1 şiddetinde boyanma.....	51
Resim 9: HDAC6 ile +2 şiddetinde boyanma.....	52
Resim 10: HDAC6 ile +3 şiddetinde boyanma.....	52

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Endometrium kanseri uterin korpus malignitelerinin büyük çoğunluğunu oluşturur. Kadınlarda en sık tanı alan altıncı kanser ve en sık ikinci genital kanserdir. Sıklıkla postmenopozal dönemde görülür, ortalama yaş 63'tür ve sıklıkla vajinal kanama bulgusu ile beraber erken evrede saptanır (1).

Endometrium kanserinde multipl risk faktörleri tanımlanmış olup bunlar obezite, uzun süreli endojen veya ekzojen östrojene maruziyet [PKOS (Polikistik over sendromu), Tamoksifen tedavisi, anovulasyon, nulliparite], hipertansiyon ve diyabetes mellitustur. Endometrial kanserlerin %5 kadarı tip 2 Lynch sendromu ile ilişkilidir, bu sendromu olanların yaşam boyu %30-60 endometrial kanser geliştirme riski vardır.

Östrojene bağımlı endometrioid (Tip 1) ve östrojenden bağımsız endometrioid olmayan karsinomlara (Tip 2) karşılık gelen iki ana klinikopatolojik endometrial karsinom türü tanımlanmıştır. Tip 1 endometrial kanserler sıklıkla endometrial hiperplazi zemininde gelişir ve %80-90 kadarı endometrioid tiptedir. Düşük dereceli tümörler olup prognozları iyidir. Tip 2 endometrial kanserler atrofik endometrium zemininde gelişir. Seröz, berrak hücreli ve andiferansiye karsinomlar gibi nonendometrioid alt tipleri içerir. Genelde ileri evrede tanı alırlar, daha agresif karakterli ve kötü prognozludurlar.

Endometrial kanser sıklıkla Uluslararası Kadın Hastalıkları ve Doğum Federasyonu (FIGO) sistemine göre evrelenir. Tanıda en önemli prognostik faktörler şunlardır: evre, histolojik derece, invaziv hastalığın derinliği, lenfovasküler invazyon ve histolojik alt tip (2).

Epigenetik düzenlenme; DNA metilasyonu, histon modifikasyonunu ve kodlanmayan RNA'ların gen ekspresyonunu düzenlemedeki etkilerini içerir. Kanser hücrelerindeki birçok tümör baskılayıcı gen, promotör CpG adalarındaki anormal DNA metilasyonu ile inaktive edilir, bu da anormal DNA metilasyonunun gen mutasyonlarına benzer şekilde karsinogeneze neden olabileceğini gösterir. MMR gen metilasyonu özellikle önemlidir ve endometrial kanserli hastaların %40,4'ünde anormal MLH metilasyonu tespit edilmiştir (3). Her iki endometrial kanser tümör

tipinde tanımlanan genetik değişikliklerin tümü, histon aracılı epigenetikten büyük ölçüde etkilenir. Spesifik olarak, DNA hipermetilasyonu ve / veya histon deasetilasyon mekanizmaları, tümü endometrial kanser gelişimi ve ilerlemesinde merkezi olan hMLH1 / MSH2, PTEN ve progesteron reseptörü (PR) genlerinin susturulmasında doğrudan rol oynar (4). HDAC ve DNMT inhibitörlerinin hücre döngüsü ve apoptotik yolları düzenleyerek, E-cadherin'in ekspresyonunu artırarak ve bcl-2'nin ekspresyonunu azaltarak endometrial kanserde tümör büyümesini inhibe etmek için kombinasyon halinde kullanılabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur (5).

Çalışmamızda endometrial karsinomun karsinogenez sürecinde epigenetik modifikasyonunda yer alan 5-hmC ve HDAC6 genlerinin ekspresyon düzeylerini proliferatif endometrium, atipisiz endometrial hiperplazi, atipili endometrial hiperplazi ve endometrial karsinom olgularında klinik veriler ile birlikte karşılaştırmalı olarak belirlemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Uterus

2.1.1. Uterus Embriyolojisi

Dişi ve erkek embriyolarda iki çift genital kanal bulunur. Mezonefrik (Wolffian) kanaldan erkek üreme sistemi, paramezonefrik (Müllerian) kanaldan ise dişi üreme sistemi gelişir. Y kromozomunun varlığına bağlı olarak erkek ya da dişi yönde fenotipik gelişim görülür (6). Endometrium ve myometrium mezodermal orijinlidir. Sekizinci ve dokuzuncu postovulatuvar haftalarda, Müllerian duktusların füzyonuna sekonder olarak şekillenir (7). Gebeliğin 20. Haftasına kadar endometrium, kalın fibroblastik stromal bir tabaka ve tek sıralı silindirik epitelden oluşurken; 20. Haftadan sonra stromaya invajine olur. Doğumda uterus yaklaşık 4 cm uzunluktadır ve uterusun çoğu serviksten oluşur. Endometrium kalınlığı 0.5 mm'den azdır, yüzey epiteli ve bezler inaktif endometriuma benzer şekilde alçak kolumnar ya da küboidal epitelle döşelidir.

2.1.2. Uterus Anatomisi

Uterus, pelvis boşluğunda mesane ile rektum arasında bulunan fibromüsküler bir organdır. Yetişkin nullipar kadınlarda uterus, içi boş, armut biçimlidir, 40–80 gram ağırlığında ve en uzun eksen boyunca 7–8 cm boyutundadır. Serviks ve korpus bölümlerinden oluşur. Korpusta tuba uterinaların giriş yerlerinden geçen çizginin yukarısına fundus denir, fundus lateral kısımlarda tuba uterinaların intramural parçası olan kornuları içerir. Korpus ve serviksin bağlantı kısmına ise istmus adı verilir (8).

Kavum uteri, tuba uterinalar ile periton boşluğuna, internal os ile servikal kanala bağlanır. Servikal kanal ise eksternal os ile vajinaya açılır (9). Uterus, önde uterovezikal çıkma ile mesaneyle, arkada ise rektouterin çıkma (Douglas çıkma)

ile rektum ile komşudur.

Uterusu yerinde tutan 5 adet bağ bulunmaktadır:

Ligamentum latum uteri (Broad ligament): Uterusu pelvis yan duvarlarına bağlayarak pariteal periton ile devam eder.

Ligamentum rotundum (Teres uteri): Uterustan başlayıp inguinal kanal yoluyla labium majusa tutunur.

Ligamentum kardinale (Mackenrodt bağı): Serviks ve vajinanın üst kısmını pelvis yan duvarlarına bağlar.

Ligamentum uterosakrale: Serviksin supravajinal kısmından başlayıp sakral 2-3 vertebraların üzerini örten fasyada sonlanır.

Ligamentum pubosakrale: Uterusu alttan destekler (10).

Uterus, çift taraflı internal iliak arterlerin dalı olan uterin arterlerle beslenir. Uterin arterlerin dallarından arkuat arterler yüzeysel myometriumu beslerken, arkuat arterlerin dalları olan radial arterler derin myometriumu besler. Uterin venler, uterin arterler boyunca uzanarak internal iliak venlere dökülür. Uterin lenfatikler subserozal uterin pleksuslardan pelvik ve paraaortik lenf nodlarına direne olur. Uterusun innervasyonu, uterovajinal pleksustan olmaktadır. Uterustan kaynaklı ağrıyı ileten lifler T11-L2 segmentlerinden medulla spinalise girerler (7).

2.1.3. Uterus Histolojisi

Uterus korpusu histolojik olarak 3 tabakadan oluşur. Bu tabakalar içten dışa doğru endometrium, myometrium ve perimetriumdur.

Endometrium; glandlar ve stromadan oluşur. Derinde bazal tabaka, yüzeyde fonksiyonel tabaka yer alır. Bazal tabaka, uterus bezlerinin taban kısmını içerir ve her menstrüasyon sonrası proliferatif olarak fonksiyonel tabakayı yeniler. Zayıf proliferatif glandlar ve içi stromadan oluşur. Fonksiyonel tabaka; yüzeye yakın kompakt ve bazale yakan spongios tabakadan oluşur. Fonksiyonel tabaka her menstrüasyonda

dökülür ve bazal tabaka elemanlarınca yeniden üretilir. Stroma ise, stromal hücreler ve damarlardan oluşur. Myometrium; kan damarları, düz kas lifleri ve lenfatiklerin yer aldığı uterusun en kalın katmanıdır. Perimetrium; uterusu en dıştan saran, mezotel ve gevşek bağ dokusundan yapılmış peritonun visseral yaprağıdır. Yan taraflarda ligamentum latum'a karışır. Uterusun mesane ile komşu olan yüzünde bulunmaz (7).

2.1.4. Menstrüel Siklus

Menstrüel siklus overdeki değişikliklere bağlı olarak iki faza ayrılır: Folliküler faz ve luteal faz. Menstrüel siklus boyunca endometriumdaki değişiklikler proliferatif, sekretuar ve menstrüel faz olarak 3'e ayrılır ve bunlar endometrial siklusu oluşturur. Menstrüel siklus 28 gün sürer.

Proliferatif faz: Menstrüel fazın sonunda endometrium yaklaşık 1 mm kalınlıkta ince bir bağ dokudan oluşur. Östrojenin etkisiyle proliferatif faz başlar. Stratum bazalede bulunan epitelyal, stromal ve endotelyal hücreler hızlıca büyür. Epitel hücrelerinin proliferasyonu ile yeni glandlar oluşur, stromal hücreler proliferasyon olur ve kollajen sekrete eder, spiral arterler büyür ve sarmal yapı oluşturur. Proliferatif faz, ovülasyondan 1 gün sonrasına kadar devam eder, bu fazın sonunda endometrium kalınlığı 3 mm'e ulaşmıştır. Bezlerin lümenleri dar ve nispeten düzdür. Glandlarda mitoz sıklıkla görülür.

Sekretuar faz: Ovülasyondan 1 ya da 2 gün sonra, progesteronun etkisi ile endometrium fonksiyonel tabakasında değişiklikler başlar. Endometrium, ödematözdür ve yaklaşık 5-6 mm kalınlığa ulaşmıştır. Bezler büyür ve tırbüşon şeklini alır, lümenleri salgı ile doludur. Mitoz nadirdir (11). Sekretuar faz 3 aşamaya ayrılır: Erken sekretuar faz (16-18. gün), midsekretuar faz (19-23. gün), geç sekretuar faz (24-28. gün) erken sekretuar fazda endometriumda tübüler görünüm hakimdir ve subnükleer vakuoller izlenir. Midsekretuar fazda glandüler sekresyon oranı artar, sitoplazmik vakuoller supranükleer görünür ve gland lümenlerinde sekresyonlar görülmeye başlanır. Geç sekretuar fazda bezlerde sekretuar aktivite azalır, bezler serrasyon göstermeye başlar. Stromada spiral arter çevrelerinde predesidual

değişiklikler gözlenirken, glandlarda hiperplastik endometriuma benzer sıkı paketlenmiş görünüm izlenir (7).

Menstrüel faz: Menstrüasyon, 28. Günden sonra görülür, yaklaşık 4 gün sürer, glandüler ve stromal yıkımla karakterizedir. Endometrial bezlerde serrasyon ve yıkım izlenir (7).

2.2. Endometrial Hiperplaziler

Endometrial hiperplazi, endometrial glandüler ve stromal yapıların düzensiz proliferasyonu ile karakterize bir patolojik antitedir. Sıklıkla tip 1 endometrium kanserine progrese olabilen preneoplastik lezyonlardır (12). Karşılanmamış endojen ve ekzojen östrojen maruziyetine ya da anovulasyona bağlı olarak oluşur. Endometrial hiperplazilerin risk faktörleri arasında nulliparite, obezite, menopozal hormon tedavisi, diyabetes mellitus, tamoksifen kullanımı, sigara, PKOS yer almaktadır (13,14).

Hiperplazi tiplerinin hepsinde ortak özellik olarak gland/stroma oranında artış, düzensiz şekilli glandlar ve değişken gland boyutları görülür. Hiperplazi sıklıkla diffüz olup endometriumun büyük bir kısmını içerir ve polipoid büyüme gösterir. Özellikle atipili hiperplazide lokalize bir lezyon alanı da görülebilir (15).

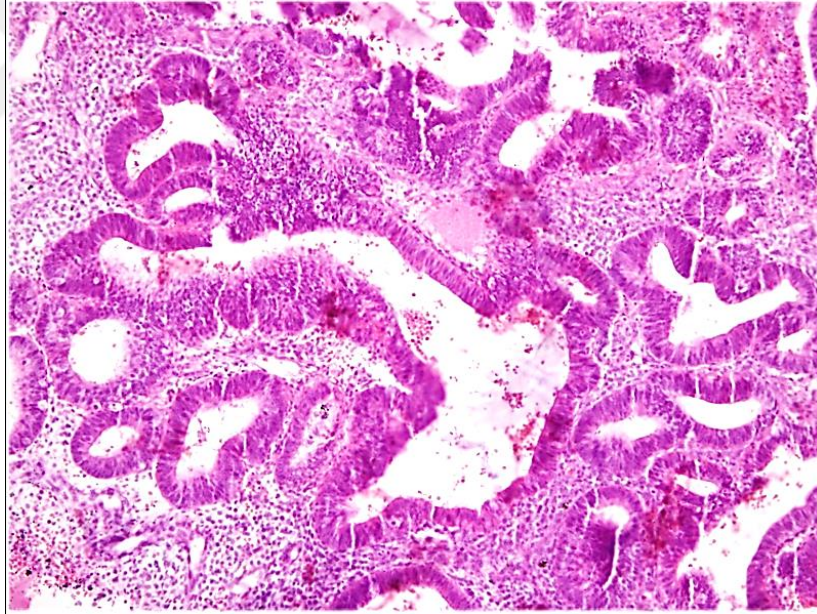
1994 DSÖ sınıflamasında primer olarak Kurman'ın 1985'teki kapsamlı çalışması baz alınmış olup endometrial hiperplaziler hem sitolojik atipi hem yapısal özelliklere göre 4 kategoriye ayrılmıştı: Basit atipisiz hiperplazi, basit atipili hiperplazi, kompleks atipisiz hiperplazi, kompleks atipili hiperplazi. 2014 yılında, Dünya Sağlık Örgütü endometrial hiperplazi sınıflamasını 2 kategoriye ayırarak güncelleştirir: Benign endometrial hiperplazi (atipisiz endometrial hiperplazi) ve atipili endometrial hiperplazi/endometrial intraepitelyal neoplazi (16).

Atipisiz endometrial hiperplazi: Benign endometrial hiperplazi, karşılanmamış östrojenin devam eden etkisi altında, düzensiz proliferatif endometrium zemininde gelişir (17). Sitolojik atipi olmaksızın, değişken boyut ve şekillerde genişlemiş kistik dilate gland proliferasyonu ile karakterize, gland/stroma oranında artış gösteren hiperplazi çeşididir. Mitotik aktivite değişkendir. Sıklıkla

perimenopozal dönemde, vajinal kanama ile prezente olur. Atipisiz hiperplazilerin %1-3'ü iyi diferansiye enometrioid adenokarsinoma ilerler (1,7).

Sitolojik olarak hücreler bazal membrana oryantasyonu korunmuş psödostratifiye çekirdekli, amfofilik sitoplazmalı kolumnar hücrelerdir. Basit hiperplazinin aksine kompleks hiperplazide daha sıkı kalabalık glandlar izlenir. Yapısal kompleksitede artış görülür. Stroma azalmış olup glandlar sırt sırta vermiştir. Gland/stroma oranı 2:1'den fazladır (15). (Resim 1)

Atipisiz endometrial hiperplazi için birinci basamak tedavi oral ya da intrauterin progesteron tedavisidir. Progesteron tedavisi sonucu regresyon oranları %69 ile %92 arasında bildirilmiştir. Medikal tedaviye rağmen progresyon gösteren ya da takipte hiperplazide relaps durumunda histerektomi tercih edilebilir (13).

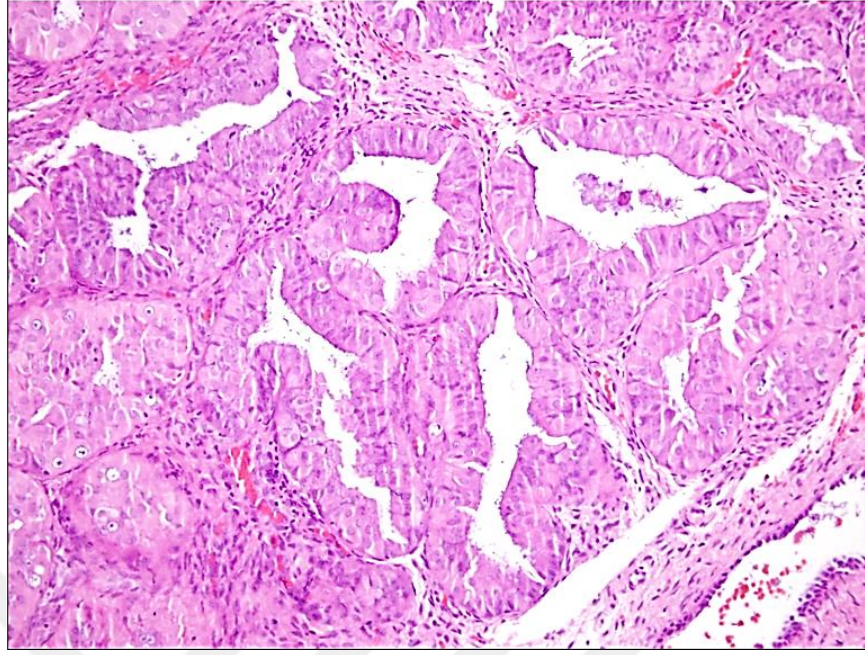


Resim 1: Atipisiz endometrial hiperplazi, Hematoksilen & Eozin, x200

Atipili endometrial hiperplazi/endometrial intraepitelyal neoplazi (EİN):

Endometrial prekanseröz lezyonların sınıflamasında sıklıkla kullanılan iki sınıflama vardır: DSÖ 94 sınıflaması ve 2000 yılında International Endometrial Collaborative Group tarafından geliştirilmiş moleküler genetik ve morfometri temelli EİN sınıflaması. 2014 revizyonu ile DSÖ sistemi EİN sistemini kabul ederek endometrial hiperplazileri yalnızca iki kategoriye ayırmıştır: Atipisiz endometrial hiperplazi ve atipili endometrial hiperplazi (18).

DSÖ sınıflaması lezyonları yapısal ve sitolojik olarak alt kategorilere ayırırken, EİN sistemi aksine moleküler genetiği, hücre biyolojisini ve morfometrik çalışmaları baz alır. EİN sisteminde lezyonlar 3 kategoride incelenmektedir: Benign hiperplazi, endometrial intraepitelyal neoplazi ve kanser. Bu sisteme göre EİN, gerçek endometrioid kanser öncülüdür. EİN sınıflamasının prognostik temeli D skoruna dayanır. D skoru glandüler hacim, yapısal kompleksite ve nükleer özelliklerden oluşan 3 morfometrik kriterin kombinasyonudur. Morfometrik D skor <1 ise yüksek/orta risk, >1 ise düşük risk olarak değerlendirilir. D skorunun prognostik değerinin DSÖ 94'e kıyasla daha yüksek olduğu bulunmuştur (19,20). EİN tanısı için PTEN mutasyonu ile birlikte monoklonalitenin gösterilmesi ve D skoru hesaplanarak bu skorun 1'in altında olması gerekmektedir. Rutin laboratuvar pratiğinde bu testlerin uygulanması mümkün olmadığından EİN tanısı için subjektif tanı kriterleri oluşturulmuştur (21). Bu kriterler tablo 1'de belirtilmiştir.



Resim 2: Atipili endometrial hiperplazi/Endometrial intraepitelyal neoplazi, Hematoksilen & Eozin, x200

Tablo 1: EİN kriterleri (21)

EİN kriterleri	Yorum
Yapısal	Gland/stroma oranı (stroma oranı <%55)
Sitolojik	Normal glandlardan farklı sitolojik özellikler
Boyut	Lezyonun maksimum lineer çapı >1 mm
Taklitçi lezyon ekartasyonu	Benign lezyonlar ya da dejeneratif süreçler
Kanser ekartasyonu	Solid alanlar, kribriform büyüme gibi kanser bulguları

Histopatolojik olarak hücrelerde çekirdek atipisi, stratifikasyon, polarite kaybı, çekirdek sitoplazma oranında artış görülür. Çekirdekler iri ve uzamış, düzensiz boyut ve şekilli olup kaba kromatinlidir. Düzensiz kalın nükleer membran ve belirgin çekirdekçik izlenir. Atipisiz hiperplazi ve proliferatif endometriumdaki oval çekirdeklere karşın, çekirdekler yuvarlak, berrak ve veziküle görünümündedir (7). (Resim 2)

Endometrial intraepitelyal neoplazilerde moleküler olarak tümör baskılayıcı genlerden PTEN kaybı, mikrosatellit instabilite, KRAS onkogen mutasyonu gösterilmiştir (22).

EİN'lerde kansere ilerleme riski yüksek olduğu için fertilite isteği yoksa ve hasta postmenopozal dönemde ise cerrahi tedavi önerilir. Fertilite isteği olan hastalarda ise progesteron kullanılır. Oral progesteron tedavisine göre Levonorgestrel içeren rahim içi araçların uterus üzerindeki etkinliği daha yüksektir (23).

2.3. Endometrial Karsinom

2.3.1. Epidemiyoloji

Kadınlarda en sık görülen malignite meme kanseridir (24). Endometrial kanser, sıklıkla postmenopozal yaş grubunda görülen en sık jinekolojik malignitedir. Dünya genelinde ise en sık altıncı malignitedir. Dünyada her yıl yaklaşık 320.000 yeni vaka görülür. Gelişmiş ülkelerde endometrium kanser insidansı %5,9 iken, az gelişmiş ülkelerde %4'tür. Buna rağmen az gelişmiş ülkelerde mortalite daha yüksektir. 75 yaşa kadar olan kümülatif endometrium kanser riski gelişmiş ülkelerde %1,6 iken, az gelişmiş ülkelerde %0,7'dir. Kuzey Amerika ve Avrupa'da en yüksek endometrium kanser insidansı görülür. Endometrium kanseri Avrupa'da kansere bağlı ölümlerde sekizinci sırada yer alırken, Kuzey Amerika'da altıncı sırada yer alır (25). Ülkemizde Türkiye Kanser İstatistikleri 2017 verilerine göre kadınlarda endometrium kanseri meme, tiroid, kolorektal ve akciğer kanserinden sonra beşinci sıklıkta görülmektedir (26).

Endometrium kanserlerinin %90'dan fazlası 50 yaşın üzerinde görülür, tanı esnasında ortalama yaş 63'tür. Endometrium kanserinde vakaların %80'i evre 1'de tanı almakta olup beş yıllık sağkalım oranları %95'in üzerindedir. Lokal yayılım gösteren vakalarda beş yıllık sağkalım %68 iken, uzak metastaz olanlarda %17'dir (27).

2.3.2. Risk Faktörleri

Karşılanmamış östrojene maruziyet: Endojen ya da ekzojen sebeplere bağlı östrojen artışı, özellikle tip 1 endometrium kanser riskini artırır. Endojen  strojen maruziyeti obezite, anovulatuar siklus ve östrojen salgılayan tümörler nedeniyle meydana gelir. Ekzojen  strojen maruziyeti ise tamoksifen kullanımı ve postmenopozal hormon replasman tedavisi sonucu gelişir.

Obezite: Obezite ve yüksek VK  (Vücut kitle indeksi)'nin endometrium kanserli kadınların yaklaşık % 50'sinde yüksek risk faktörü olduğu gösterilmiştir (28). Premenopozal kadınlarda östrojenin siklik ekspresyonu overler tarafından kontrol edilirken; postmenopozal dönemde özellikle yağ doku olmak üzere periferik dokularda östrojen sentezi gerçekleşir. Yağ dokudaki adipositler, preadipositler ve mezenkimal kök hücrelerdeki artmış aromataz enzimi sayesinde androjenlerin östrojene dönüşümü gerçekleşir. Östrojen artışı IGF1  zerinden MAPK ve AKT yolağını aktive ederek endometrial proliferasyonu başlatır (29).

Postmenopozal hormon replasman tedavisi: Postmenopozal semptomları hafifletmek amacıyla kullanılan hormon replasman tedavisinde tek östrojen kullanımında risk, östrojenin doz ve süresi arttıkça artar. 10 yıllık karşılanmamış östrojen endometrium kanser riskini 10 kat artırır. Tedavinin ilk iki yılında risk artışı barizdir, ilaç kesildikten sonra da birkaç yıl devam eder. Tedaviye östrojenle birlikte progesteron eklenmesiyle risk azaltılır (30).

Menarş-menopoz durumu: Östrojene maruziyet arttığından dolayı erken menarş, geç menopozun kanser riskini artırdığı gösterilmiştir (31).

Parite: Gebelikte plasental progesteron üretimi artar, progesteron endometrium kanserine karşı koruyucu olduğundan nulliparite endometrium kanseri açısından risk faktörüdür (28).

Tamoksifen kullanımı: Tamoksifen, meme kanseri tedavisinde kullanılan selektif östrojen reseptör modülatörüdür. Meme dokusunda antiöstrojenik etkiye sahipken, endometriumda zayıf östrojen agonistidir. Tamoksifen ilişkili değişiklikler endometrial hiperplazi, atipi ve maligniteyi kapsar. Tamoksifen ilişkili endometrium kanser riski, postmenopozal dönemde olup, VKİ'si yüksek ve öncesinde endometrial bir patolojiye sahip kadınlarda daha yüksek iken; premenopozal kadınlarda daha düşüktür (32).

Hereditör Non-polipozis Kolorektal Kanser (Lynch) sendromu: Lynch sendromu, DNA hata onarım genlerindeki mutasyon sonucu gelişen otozomal dominant ailesel kanser sendromudur. Tüm endometrial kanserlerin %2-3'ünde görülür. Bu hastalarda endometrium yanı sıra over ve kolon kanser riski de artmıştır (33).

Cowden sendromu: Cowden sendromu, tümör baskılayıcı PTEN genindeki germline mutasyon sonucu görülen otozomal dominant bir sendromdur. Meme, tiroid, böbrek, endometrium ve kolon kanseri riskinde artışa sebep olur. Cowden sendromlu hastaların yaklaşık %21-28'inde endometrium kanseri görülür (33).

Diyabetes mellitus ve hipertansiyon: Diyabetes mellitus ve hipertansiyon, artmış endometrium kanseri riski ile ilişkilidir.

2.3.3. Koruyucu Faktörler

Oral kontraseptif kullanımı: Oral kontraseptifler, progesteron içermelerinden ötürü endometrium kanser riskini düşürmektedir. Bu etki, ilacın kullanımı süresince görüldüğü gibi tedavi kesildikten 30 yıl sonrasına kadar sürmektedir (31).

Emzirme: Emzirme ovulasyonu baskılayıp östrojen seviyelerini düşürdüğü için endometrium kanser riskini azaltır.

Fiziksel aktivite: Fiziksel aktivite hormonal ve metabolik yolları düzenler, kilo kontrolüne yardımcı olur ve endometrium kanserine karşı koruyucudur (34).

Sigara: Sigara östrojen yıkımını artırarak ve metabolizmasını hızlandırarak endometrium kanser riskini düşürür (35).

2.3.4. Makroskopik Özellikler

Endometrial kanserler, ekzofitik ve/veya diffüz infiltratif tümörlerdir. Değişken oranlarda nekroz ve hemoraji görülebilir. Nekroz sıklıkla az diferansiye tümörlerde görülür. Neoplazm, fokal ya da diffüzdür, bazen ayrı bir polipoid kitle oluşturabilir. Myometrial invazyon uterus boyutlarında büyümeye sebep olur. Servikal tutulum vakaların yaklaşık % 20'sinde görülürken, alt uterin segment tutulumu sık görülen bir bulgudur (7).

2.3.5. Patogenez ve Klinikopatolojik Alt Tipler

Endometrial karsinomlar, Bokhman tarafından 1983'te morfolojik, etyolojik, klinik ve patogenetik özelliklerine göre ikiye ayrılmıştır:

Tip 1 endometrium kanseri: En sık görülen endometrial kanserlerdir ve endometrium kanserlerinin %80-85'ini oluşturur. Sıklıkla karşılanmamış östrojen stimülasyonu ile ilişkili olup endometrial hiperplazi zemininde gelişir. Premenopozal kadınlarda daha sık görülür. Histolojik olarak çoğunluğu endometrioid tiptedir. Tip 1 endometrial kanserler düşük dereceli tümörler olup prognozları iyidir, 5 yıllık sağkalım %85'ten fazladır (36).

Tip 2 endometrium kanseri: Tip 2 endometrium kanserleri, endometrial kanserlerin yaklaşık %10'unu oluşturur. Atrofik endometrium zemininde gelişir ve

nonendometrioid tümörler ile derece 3 endometrioid tümörleri içerir. Tip 2 tümörlerin hormon sensitiviteeleri düşüktür. İleri evrelerde tanı aldığı gibi, genelde tip 1 endometrial tümörlere göre daha agresif karakterli ve kötü prognozludur (25). Endometrium kanseri ilişkili ölümlerin en az %40'ından tip 2 tümörler sorumludur.

2.3.6. Tip 1 ve Tip 2 Endometrial Kanserlerde Görülen Moleküler Değişiklikler

Tip 1 endometrium kanserlerinde sık görülen mutasyonlar; PTEN, KRAS, mikrosatellit instabilite, PIK3CA ve CTNNB1 (β-katenin) genlerindeki mutasyonlardır. Bu mutasyonlar aynı zamanda atipili endometrial hiperplazide de görülmektedir. PTEN 10. kromozomda yerleşmiş olup, tip 1 endometrial kanserlerde görülen en sık gen defektidir. PTEN gen inaktivasyonuna bağlı AKT-MTOR yolu aktifleşir ve hücre çoğalması indüklenir (37). KRAS mutasyonu tip 1 endometrial karsinomların %10-30'unda tanımlanmış olmakla birlikte, MSI pozitif endometrial karsinomlarda MSI negatif olanlara göre KRAS mutasyonu sıklığı daha yüksek bulunmuştur. Mikrosatellit instabilite, tip 1 endometrial karsinomlarda %20-45 oranında görülürken tip 2 tümörlerde %0-11 oranında görülmektedir. Sporadik endometrial karsinomlarda MLH1 promoter hipermetilasyonu içeren epigenetik kökenli mikrosatellit instabilite daha sık izlenmektedir. PIK3CA aktivasyonu tip 1 endometrial karsinomların %26-36'sında raporlanmıştır. CTNNB1 mutasyonu ise endometrioid endometrial karsinomlarda %14-44 oranında görülmekte olup genelde MSI ve PTEN mutasyonundan bağımsız olarak saptanır (38). (Şekil 1)

Tip 2 endometrium kanserlerinde p53 mutasyonları, Her2/neu amplifikasyonu, p16 ve E-cadherin inaktivasyonu, kromozomal instabilite, heterozigosite kaybı, Siklin D1 ve Siklin E amplifikasyonu sık görülen genetik değişikliklerdir. P53, nonendometrioid endometrial karsinomlarda görülen en sık genetik mutasyondur. Hücre siklus modülatörü olan p53, DNA hasarı olduğunda siklin D1'i inhibe ederek hücre siklusunu durdurur ve böylece apoptozu sağlar. P16 geni de tümör baskılayıcı genidir ve inaktivasyonunda kontrolsüz hücre proliferasyonu görülür. Her2/neu ise onkogen bir genidir ve aktivasyonu sonucu tümör gelişimi görülür. E-cadherin hücre adezyon molekülüdür ve ekspresyonu azalınca hücreler arası bağlantı

azalır (38). (Şekil 2)

Tip 1 ve tip 2 endometrial kanserlerin klinik, patolojik açıdan karşılaştırılması Tablo 2’de, genetik açıdan karşılaştırılması Tablo 3’te özetlenmiştir.

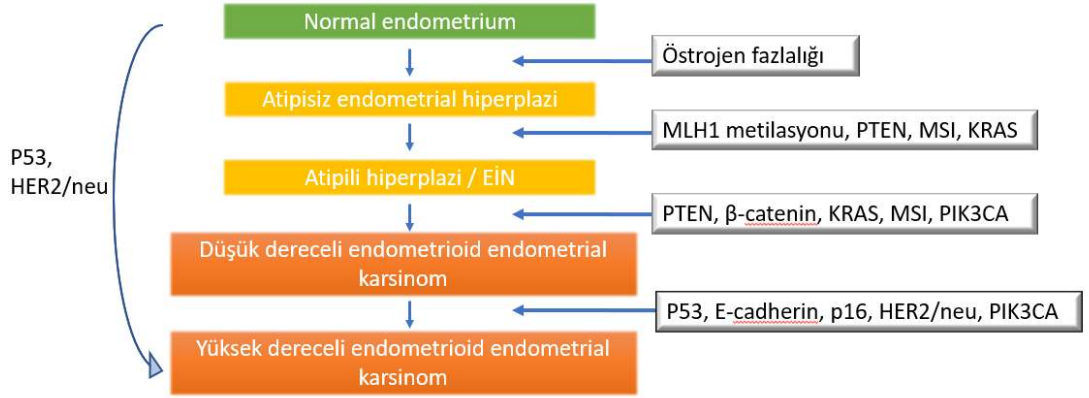
Tablo 2: Tip 1 ve tip 2 endometrial kanserlerin klinik ve patolojik olarak karşılaştırılması (38).

Özellikler	Tip 1	Tip 2
Oran	%80	%20
Menstrüel durum	Pre/perimenopozal	Postmenopozal
Endokrin/metabolik bozukluk	Mevcut	Yok
Östrojen ilişkisi	Var	Yok
Endometrial zemin	Hiperplazi	Atrofi
Histolojik tip	Endometrioid	Seröz, şeffaf hücreli
Tümör derecesi	Düşük	Yüksek
Myometrial invazyon	Yüzeyel	Derin
Prognoz	İyi	Kötü

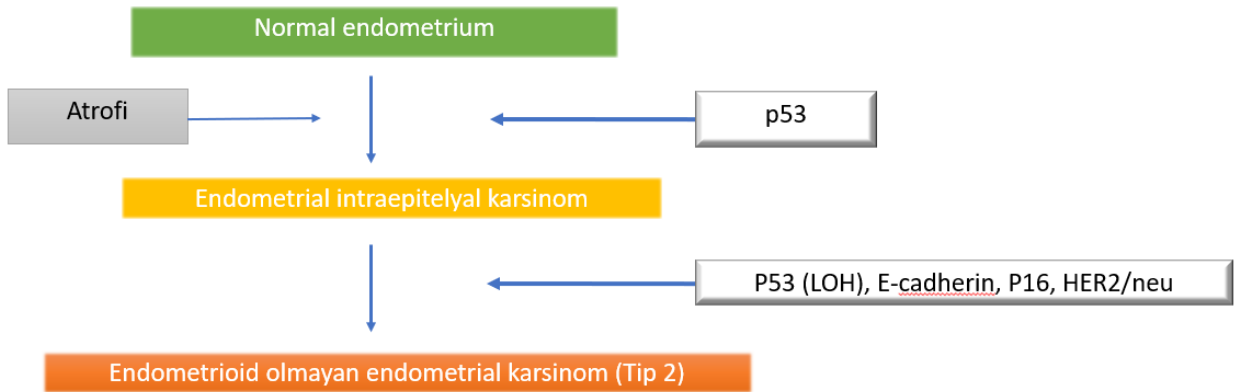
Tablo 3: Tip 1 ve tip 2 kanserlerde görülen majör genetik değişikliklerin karşılaştırılması (38).

Genetik değişiklik	Tip 1	Tip 2
PTEN inaktivasyonu	%83’e kadar	%11
PIK3CA mutasyonu	%26-36	%5
KRAS mutasyonu	%10-30	%0-10
β katenin mutasyonu	%14-44	%0-5
Mikrosatellit instabilite	%20-45	%0-11
p53 mutasyonu	%10-20	%90
Her2/neu amplifikasyonu	%10-30	%18-80

p16 inaktivasyonu	%10	%40-45
E-cadherin kaybı	%10-20	%60-90



Şekil 1: Endometrioid karsinom için bir progresyon modeli. Tümörün başlangıcı ve progresyonu, çeşitli moleküler değişikliklerin kazanılması ile gerçekleşir (38).



Şekil 2: Endometrioid olmayan (tip 2) karsinomlar için bir progresyon modeli. p53 mutasyonları, atrofik endometriumun seröz karsinomun intraepitelyal formuna dönüştürülmesinde kritik bir rol oynar (38).

2.3.7. Endometrial Karsinomların Genomik Sınıflaması

Kanser genom atlası [The Cancer Genome Atlas (TCGA)] çalışma grubu, 2013 yılında 373 endometrial karsinomun bulunduğu büyük ölçekli, kapsamlı ve entegre bir genomik analiz raporlamıştır. Analize göre farklı klinik, patolojik ve moleküler özelliklere sahip dört kategori tanımlanmıştır: POLE ultramutasyonlu (%7), MSI hipermutasyonlu (%28), kopya sayısı düşük/mikrosatellit stabil (%39), kopya sayısı yüksek/seröz benzeri (%26).

POLE ultramutasyonlu grupta POLE geninde somatik mutasyon izlenir ve bu grup düşük ve yüksek dereceli endometrioid tümörlerden oluşur. POLE ultramutasyonuna uğramış yüksek dereceli tümörlerde prognoz iyidir ve nüks oranı düşüktür. MSI hipermutasyonlu alt grup, POLE alt grubuna benzer olarak özellikle derece 1-3 endometrioid kanserleri içerir. MSI hipermutasyonlu alt grubunda sık görülen mutasyonlar ARID5B, PTEN, PIK3CA ve PIK3R1 mutasyonlarıdır. Kopya sayısı düşük grup aynı zamanda mikrosatellit stabil olarak adlandırılır ve düşük dereceli endometrioid tümörlerin yarısından fazlasını içerir. Hemen hemen tüm seröz karsinomlar (%97,7) ve mikst karsinomların çoğu (%75) ise kopya sayısı yüksek alt gruba aittir. Genel olarak kopya sayısı yüksek alt gruptaki tümörler, dört moleküler alt grup arasında en kötü prognozu sergiler. TCGA çalışması, endometrial kanserlerin kapsamlı bir moleküler analizini sağlarken, bu yaklaşımı rutin uygulamada kullanmanın pratik sınırlamaları vardır. Klinik olarak yararlı olması için, moleküler sınıflandırma sisteminde kullanılan metodolojilerin uygulanabilir, tekrarlanabilir ve uygun maliyetli olması gerekir (39).

2.3.8. Klinik Özellikler

Endometrial karsinom sıklıkla postmenopozal kadınlarda görülür. Endometrial karsinomların yalnızca %1-8'i 40 yaş altı kadınlarda görülmektedir. Hastalar en sık anormal uterin kanama ile hastaneye başvururlar. Klinik olarak ilk bulgu anormal vajinal kanama olup, nadiren asemptomatik görülür (40).

2.3.9. Tanı

Postmenopozal kanamalı hastalarda en iyi tanı stratejisi konusu hala tartışmalıdır. Geçmişte, D&C yöntemi temel yöntem iken birkaç yayında D&C'nin %10 kadar yanlış negatiflik oranına sahip olduğu gösterilmiştir. Minimal invaziv yöntemlerden endometrial biyopsi, vajinal ultrason görüntüleme ve histeroskopi kullanımı yaygınlaşmaktadır. Endometrial örneklemede Pipelle ya da Vabra kullanımı endometrial karsinom tanısında oldukça sensitiftir (%99,6 ve %97,1). Güncel bir çalışmada tanı yolundaki ilk adımın endometrial kalınlık ölçümü (sınır değer 3 veya 4 mm olmak üzere) olup ardından endometrial örnekleme yapılması önerilmektedir. Salin infüzyonlu sonografi fokal ve diffüz patolojileri ayırt etmede kullanılabilir. Postmenopozal kanamada tanı yolunda gerekirse son aşamada histeroskopi eşliğinde biyopsi kullanılabilir. Histeroskopik biyopsinin doğruluk oranı yüksektir ve klinik olarak kullanışlıdır (40).

2.3.10. Endometrial Karsinomların Morfolojik Tipleri

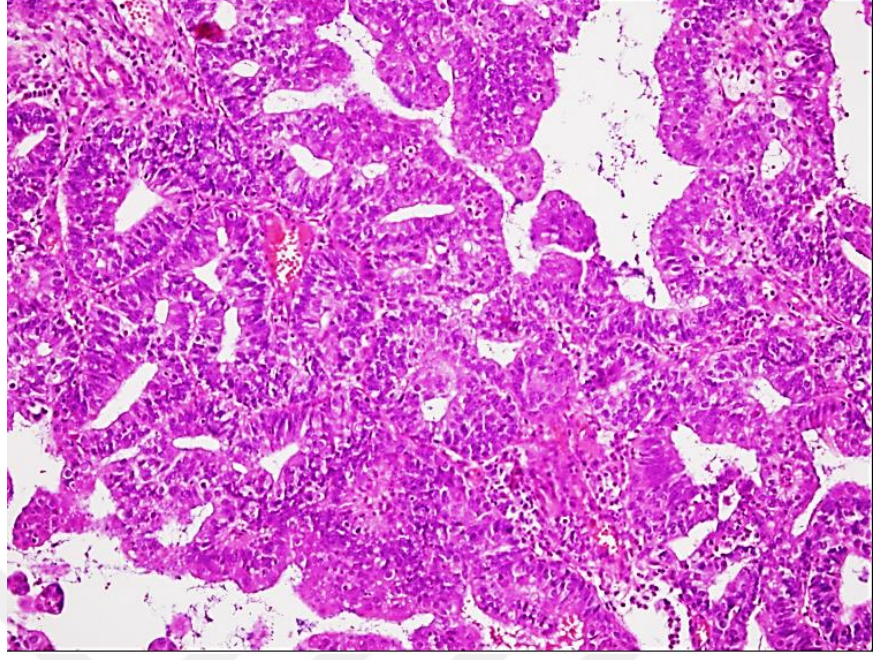
DSÖ 2020 sınıflamasına göre endometrial epitelyal tümörler şu şekilde sınıflandırılmıştır (1).

- Endometrioid adenokarsinom
- Seröz karsinom
- Şeffaf hücreli karsinom
- İndiferansiye ve dediferansiye karsinomlar
- Mikst karsinom
- Karsinosarkom
- Diğer endometrial karsinomlar

Endometrioid adenokarsinom

Endometrial malign epitelyal tümörlerin %70-80'ini oluşturmaktadır. Atipili endometrial hiperplazi/endometrial intraepitelyal neoplazi ile ortak moleküler değişiklikleri içerir. Karşılanmamış östrojene maruziyet, erken menarş, geç menopoz, nulliparite, obezite, tamoksifen kullanımı belirgin risk faktörleri arasında yer alır. Makroskopik olarak ekzofitik ve diffüz infiltratiftir, bazı vakalarda alt uterin segment tutulumu görülebilir. Histopatolojik olarak kolumnar psödostratifiye hücrelerden oluşan yapılanma izlenir. Neoplastik hücrelerin sitoplazması eozinofilik, granülerdir. Yüksek dereceli endometrioid tümörler hariç, çekirdekler hafif-orta derecede atipili ve belirsiz çekirdeklidir. Mitotik oran değişkendir ve skuamöz diferansiasyon görülebilir (Resim 3).

İmmünohistokimyasal olarak düşük dereceli endometrioid karsinomlarda ER, PR diffüz kuvvetli pozitif iken, p16 yamasal pozitifdir. Bu boyanma paterni, endoservikal adenokarsinomdan ayırmada faydalıdır. Yüksek dereceli endometrioid karsinomun seröz karsinomdan ayırımı ise zordur, yüksek dereceli endometrioid karsinom daha az solid olup daha az belirgin nükleer pleomorfizm içerir. ARID1A, PTEN ve MMR proteinlerinde ekspresyon kaybı yüksek dereceli endometrioid karsinomu destekler. Anormal p53 ekspresyonu düşük derecelilerin %2-5'inde görülürken, yüksek dereceli endometrioid karsinomların %20'sinde görülür (1).



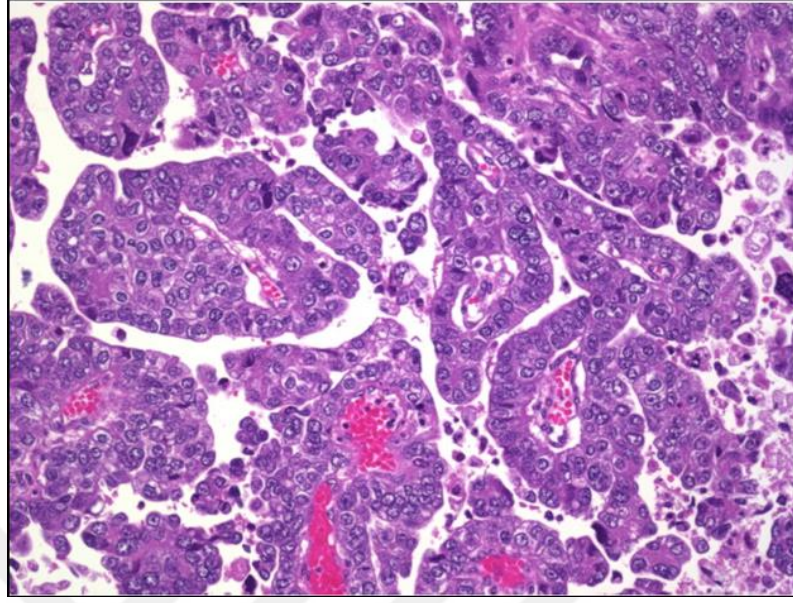
Resim 3: Endometrial endometrioid adenokarsinom, Hematoksilen & Eozin, x200

Seröz adenokarsinom

Uterin seröz karsinom, endometrial karsinomun agresif bir varyantıdır. Tüm endometrial karsinomların %10'dan azını oluşturur ve endometrial kansere bağlı ölümlerin %80'inden sorumludur. 5 yıllık sağkalım oranı erken ve geç evre seröz karsinomlarda sırasıyla %74 ve %33'tür. Genelde postmenopozal kadınlarda görülür ve atrofik endometrium zemininde gelişir.

Histopatolojik olarak ovaryan seröz karsinom gibi kompleks papiller ve glandüler yapılanma gösterir. Dens fibrotik papillalar ve yarı benzeri boşluklar yaygındır. Çok sayıda mitotik figür içeren iri, yuvarlak, çekirdek sitoplazma oranı artmış andiferansiye tümör hücrelerinden oluşur. Kabara çivisi (hobnail) benzeri, şeffaf ya da poligonal hücreler sıktır. Bazı vakalarda klasik psammom cisimleri izlenebilir. Belirgin myometrial invazyon ve yaygın lenfatik invazyon görülür (Resim 4).

Uterin seröz karsinom %60 oranında p53 mutasyonu içerir. İmmünohistokimyasal olarak yaygın kuvvetli p53 immünreaktivitesi gösterir. Yamasal p16 boyanması izlenir ve hormon reseptörleri negatiftir (41).



Resim 4: Endometrial seröz adenokarsinom, Hematoksilen & Eozin (42).

Şeffaf hücreli karsinom

Tüm endometrial karsinomların %10'dan azını oluşturan nadir bir tümördür. Klinik olarak hastalar postmenopozal kanama şikayeti ile başvururlar. Ortalama yaş 60'ın üzeridir. Şeffaf, eozinofilik sitoplazmalı, tübülokistik, papiller ya da solid yapılanma gösteren, poligonal/kabara çivisi görünümünde hücrelerden oluşur. Papillalar hyalinize stromalı, kısa ve dallanmış görünümündedir. Nükleer atipi belirgindir. Vakaların üçte ikisi dens eozinofilik ekstrasellüler globüller içerir. Zeminde atrofik endometrium ya da endometrial polip vardır. ER, PR negatiftir. p53 ekspresyonu seröz karsinoma kıyasla daha düşüktür. Ki-67 en az %25-30'dur. Tümör hücrelerinin çoğu HNF1 β , Napsin A ve AMACR pozitifdir. Vakaların %30-40'ında PTEN ve p53 mutasyonu, %20'sinde PIK3CA, yaklaşık %10-15 gibi az bir oranda KRAS mutasyonu ve mikrosatellit instabilite görülmüştür. 5 yıllık sağkalım %55-78 arasındadır (1).

İndiferansiye ve dediferansiye karsinomlar

İndiferansiye karsinom hiçbir hücrel diferansiasyon göstermeyen malign epitelyal tümördür. Dediferansiye karsinom ise indiferansiye karsinom ve bir diferansiye komponentten oluşur. İndiferansiye karsinom nadir görülür, endometrial kanserlerin %2'sini oluşturur. Büyük hücreli ve küçük hücreli karsinom olmak üzere iki başlıkta sınıflandırılır (1).

Mikst karsinom

Mikst karsinom iki ya da daha fazla endometrial karsinom tipini içerir. Bunlardan en az biri ya seröz ya da şeffaf hücreli karsinomdur. Minör komponentin tümörün en az %10'unu oluşturması gerekir. Mikst karsinomlar nadirdir, mikst endometrioid ve seröz karsinomlar endometrial karsinomların yaklaşık %10'unu oluşturur. Bu tümörlerin prognozunu yüksek dereceli olan komponent belirler. Seröz ya da şeffaf hücreli komponentin yüzdesi ne olursa olsun, bu tümörler yüksek dereceli karsinom olarak değerlendirilmelidir (1).

Karsinosarkom (Malign mikst mülleryan tümör)

Yüksek dereceli karsinomatöz ve sarkomatöz komponent içeren bifazik tümörlerdir. Klinik olarak vajinal kanama, uterin büyüme ve pelvik kitle görülür. Vakaların %45'i tanı anında evre 3 veya 4'tür. Karsinosarkomlar, tüm uterin malignensilerin %5'ini oluşturur. Karsinomatöz komponent en sık endometrioid ve seröz diferansiasyon gösterir. Sarkomatöz komponent ise rabdomyosarkom, kondrosarkom, osteosarkom gibi yüksek dereceli sarkomlar içerir. Prognoz kötüdür, 5 yıllık sağkalım evre 1 ve 2 tümörlerde %60, evre 3 ve 4 tümörlerde sırasıyla %25 ve %10'dur (1).

2.3.11. Endometrial Karsinomlarda Histolojik Derecelendirme

Derecelendirme yapısal ve çekirdek özelliklerine göre yapılır. Yapısal derecelendirme tümörün içerdiği solid alan oranına göre yapılır. Nükleer derecelendirme; çekirdek boyut ve şekline, kromatin dağılımına ve çekirdekçik

boyutuna göre belirlenir. FIGO'nun son revizyonu ve DSÖ sınıflamasına göre tümörlerin hem çekirdek atipisi hem yapısal atipi kullanılarak derecelendirilmesi önerilmektedir. Yapısal olarak derece 1 ve 2 tümörlerde, tümörün %50'sinden fazlasında aşikâr çekirdek atipisi varlığında (Derece 3 çekirdek) derece 1 basamak artırılır. Nükleer ve yapısal derece uyumsuzluğu endometrioid kanserlerde sık görülmez, böyle bir durum seröz karsinom şüphesini akla getirmelidir. Derece 1 ve 2 tümörler düşük dereceli, derece 3 tümörler ise yüksek dereceli olarak sınıflandırılır (7).

Yapısal Derecelendirme

Derece 1: Solid alanlar tümörün %5'ten azını oluşturur.

Derece 2: Solid alanlar tümörün %6-50'sini oluşturur.

Derece 3: Solid alanlar tümörün %50'den fazlasını oluşturur.

Nükleer Derecelendirme

Derece 1: Çekirdek oval-yuvarlak, kromatin dağılımı düzgün, çekirdekçik belirgin değildir.

Derece 2: Derece 1 ve derece 3 arası çekirdek özellikleri gösterir.

Derece 3: Çekirdek belirgin irileşmiş, pleomorfik görünümündedir. Düzensiz kaba kromatin ve belirgin eozinofilik çekirdekçik içerir.

2.3.12. Endometrial Karsinomlarda Evreleme

Endometrium kanseri evrelemesi cerrahi olarak yapılır ve Uluslararası Jinekoloji ve Obstetrik Federasyonu (FIGO) evrelemesi kullanılır. Endometrium kanserlerinde FIGO evrelemesi 1988'e kadar klinik olarak yapılmıştır. Evre 1 kanser, uterusu sınırlı kanser olarak tanımlanmıştır. 1984 yılında Jinekolojik Onkoloji Grubu (GOG) klinik evre 1 kanserlerde klinikopatolojik faktörleri ve nüks paternlerini incelemiştir. Bu çalışmanın sonuçları, klinik evre 1 endometrial kanserli hastaları daha

ileri düzeyde değerlendirecek yeni bir prospektif çalışmaya (GOG 33) sebep olmuştur. Cerrahi evrelemeye geçiş, kısmen Jinekolojik Onkoloji Grubu 33 (GOG 33)'ün sonuçlarına bağlıdır. Bu çalışma, klinik evre 1 endometrial kanserli 621 hastayı prospektif olarak değerlendirmiştir. Tüm hastalara histerektomi, bilateral salpingooferektomi, pelvik yıkama ve seçilmiş pelvik ve paraaortik lenf nodu diseksiyonu dahil olmak üzere standart kapsamlı bir evreleme prosedürü uygulanmıştır. Ekstrauterin tutulum ve lenf nodu metastazı riskini belirlemek için histoloji, derece, invazyon derinliği, lenfovasküler invazyon ve ekstrauterin tutulumu içeren patolojik faktörler incelenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, endometrial kanser için FIGO evrelemesinin klinikten cerrahi evrelemeye revizyonunu sağlamıştır. Endometrial kanserin cerrahi evrelemesi ilk olarak 2009'da bir kez daha güncellenmiştir (Tablo 4) (43).

Tablo 4: FIGO 2009 endometrium kanseri cerrahi evrelemesi (43)

Evre	Tanım
IA	Tümör uterusu sınırlı, myometrial invazyon %50'nin altında
IB	Tümör uterusu sınırlı, myometrial invazyon %50 ve üzerinde
II	Servikal stromal invazyon
IIIA	Serozal veya adneksiyal invazyon
IIIB	Vajinal veya parametrial tutulum
IIIC1	Pelvik lenf nodu tutulumu
IIIC2	Paraaortik lenf nodu tutulumu
IVA	Mesane veya barsak mukozasına tümöral invazyon
IVB	Uzak metastaz (abdominal metastaz dahil) veya inguinal lenf nodu tutulumu

Günümüzde yaygın olarak FIGO 2009 evreleme sistemi kullanılmaktadır.

Union for International Cancer Control (UICC) ve American Joint Committee on Cancer (AJCC) tarafından onaylanan endometrial kanser için TNM evreleme sistemi de FIGO evrelemesiyle paraleldir (Tablo 5) (44).

Tablo 5: Endometrial karsinomun FIGO ve TNM evreleme sistemleri (44)

Tümör yerleşimi	Yaygınlık	TNM evresi	FIGO evresi
Primer tümör değerlendirilemiyor	Uygulanabilir değil	Tx	Uygulanabilir değil
Primer tümör izlenmiyor	Uygulanabilir değil	T0	Uygulanabilir değil
Evre 1: Tümör uterusu sınırlı	Karsinoma in situ (Preinvaziv karsinom)	Tis	IA
	Myometrial invazyon < %50	T1a	IA
	Myometrial invazyon ≥ %50	T1b	IB
Evre 2: Tümör servikal stromaya invaze fakat uterusu sınırlı	Tümör uterusu ve servikal stromaya invaze	T2	II
Evre 3: Tümör uzak metastaz olmaksızın uterus dışına yayılmış	Serozal veya adneksiyal tutulum (Direkt uzanım veya metastaz)	T3a	IIIA
	Vajinal ve/veya parametrial tutulum (Direk uzanım veya metastaz)	T3b	IIIB

Evre 3: Lenf nodu metastazı	Pelvik lenf nodu tutulumu	N1	IIIC1
	Paraaortik lenf nodu tutulumu (Pelvik lenf nodu durumuna bakılmaksızın)	N2	IIIC2
Evre 4: Mesane ve/veya barsak mukoza tutulumu veya uzak organ tutulumu	Mesane mukozası ve/veya bağırsak mukozası tutulumu	T4	IVA
	Abdominal metastazı da içeren uzak organ tutulumu ve/veya inguinal lenf nodu tutulumu	M1	IVB

2.3.13. Endometrium Kanseriinde Prognostik Faktörler

Endometrial karsinomlarda Jinekolojik Onkoloji Grubu'nun çalışmalarına göre histopatolojik olarak belirlenmiş uterin ve ekstreuterin risk faktörleri tanımlanmıştır. Uterin faktörler; histolojik tip, histolojik derece, myometrial invazyon derinliği, lenfovasküler invazyon, servikal tutulum, atipili endometrial hiperplazi varlığı, DNA ploidi, onkogenler, tümör baskılayıcı genler ve hormon reseptör durumunu içerirken ekstreuterin faktörler ise pozitif peritoneal sitoloji, adneksiyal tutulum, pelvik ve paraaortik lenf nodu metastazı ve peritoneal metastazı içermektedir (45).

Yaş

Endometrial kanserli genç hastalar yaşlı hastalara göre daha iyi prognoza sahiptir. Genç hastalarda genellikle kronik anovülasyon, ovaryan disfonksiyon, infertilite, PKOS gibi östrojen-hormon bağımlı bozukluk öyküsü bulunur. Yaşlı hastalarda kötü prognoz, derece 3 veya agresif tipte tümörlerin yüksek sıklıkta görülmesiyle ilişkilidir. Yaş faktörünün bağımsız prognostik etkisi olduğu da bazı çalışmalarda bildirilmiştir (45).

Parite

Obezite, nulliparite ve geç menopoza klasik olarak endometrial karsinomla ilişkilidir. Nullipar, obez ve 52 yaş ve sonrasında menopoza giren kadınlarda endometrial kanser gelişme riski 5 kat artar (45).

Histolojik tip

Tip 1 endometrial kanserler iyi diferansiye tümörlerdir ve lokalize hastalıkla ilişkilidir. Bu hastalarda prognoz iyidir ve evre 1 vakalarda 5 yıllık sağkalım oranı %86'dır. Tip 2 endometrial kanserler ise daha agresif tümörlerdir, erken myometrial ve vasküler invazyon yapan yüksek dereceli tümörlerdir ve ileri evrede tanı alırlar. Bu nedenle mortalite oranları yüksektir. Skuamöz diferansiasyonlu adenokarsinom, bir endometrioid karsinom varyantıdır ve bu tümörlerde glandüler komponentin derecesi prognostik belirteçtir. Villoglandüler adenokarsinomlarda belirgin prognoz farkı görülmezken, müsinöz karsinomlar genelde düşük derecelidir ve iyi prognozludur (45).

Histolojik Derece

Histolojik derece, tedaviyle ilgili klinik kararlarda yer alan prognostik faktörlerden biridir. Derece 1 tümörlerde 5 yıllık sağkalım oranı %94, derece 2 tümörlerde %84, derece 3 tümörlerde %72 olarak raporlanmıştır. Boronow ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada evre 1, derece 1 hastaların 5 yıllık sağkalımı %81 iken, evre 1 derece 3 hastalarınki ise %50 olarak bulunmuştur (45).

Myometrial invazyon

Myometrial invazyon bağımsız bir prognostik faktördür. Derin myometrial

invazyon düşük sağkalım oranıyla ilişkilidir. GOG 33 çalışmasında myometrial invazyonsuz hastaların yalnızca %1’inde rekürens olduğu görülmüştür. Klinik evre I endometrioid karsinomlu 400’den fazla hastanın incelendiği bir çalışmada endometriuma sınırlı tümörlerde 5 yıllık sağkalım %94, myometriumun üçte birini invaze eden tümörlerde %91, myometriumun üçte ikisini invaze eden tümörlerde %84 ve myometriumun tamamını invaze edenlerde %59 olarak raporlanmıştır (45).

Vasküler invazyon

Lenfovasküler invazyon, hastalığın nüksü ve düşük sağkalım açısından önemli bir prognostik faktördür. Histolojik derece veya myometrial invazyon derinliğinden bağımsızdır. Ayrıca endometrial kanserli hastalarda pelvik lenf nodu metastazı için önemli bir prognostik faktördür. Tüm FIGO dereceleri ve myometrial invazyon derinlikleri içinde LVİ (Lenfovasküler invazyon)’suz hastalara oranla LVİ’lu hastalarda pelvik lenf nodu metastaz oranı yüksek bulunmuştur. 609 hastanın incelendiği bir çalışmada LVİ’suz hastalara oranla LVİ’lu hastalarda relaps oranı daha yüksek raporlanmıştır (45).

Alt uterin segment ve servikal tutulum

Alt uterin segment endometrial karsinomlarında, uterin korpus endometrial karsinomlarına göre ortalama yaş daha düşük, histolojik derece yüksek, myometrial invazyon derinliği ve olumsuz histolojik parametreler daha fazla saptanmıştır. Endoservikal epitelyal tutulum evre IIA, servikal stromal tutulum ise evre IIB olarak evrelenir. Her iki grupta da cerrahi tedavi ve adjuvan radyoterapi sonrası sağkalım benzerdir (45).

Atipili endometrial hiperplazi varlığı

Atipili hiperplazi varlığı düşük dereceli ve invazyon göstermeyen tümörlerle ilişkilidir. Yüksek dereceli tümörler atrofik endometrium zemininde gelişir ve prognozları kötüdür (45).

Adneksiyal tutulum, serozal invazyon

Evre IIIA endometrial kanserler, adneksiyal tutulum, uterin serozal tutulum ve

pozitif peritoneal sitoloji kriterlerinin bir veya birden fazlasını bulunduran heterojen bir alt gruptur. İzole adneksiyal tutulumu olan hastalarda 5 yıllık hastalıksız sağkalım oranı %71 ile %86 arasındayken; serozal tutulum kötü prognozla ilişkilidir. Ekstrauterin olarak tutulan bölge sayısının cerrahi olarak evrelenmiş hastalarda nüks oranı ile korele olduğu gösterilmiştir (45).

Hormon reseptör durumu

Steroid reseptörlerinin varlığı ve miktarı evre, histolojik derece ve sağkalımla korelasyon gösterir. Birçok çalışmaya göre hormon reseptör durumu, bağımsız bir prognostik faktördür. Östrojen ve progesteron reseptörlerinin bulunması daha iyi prognozla ilişkilidir (45).

DNA ploidi

DNA ploidi, bilinen prognostik faktörlerle önemli ölçüde ilişkilidir. Endometrial kanserlerin yaklaşık üçte biri anöploid DNA içerir. Diploid tümörler genelde sınırlı myometrial invazyonla ilişkilidir. DNA ploidi ise azalmış sağkalımla korelasyon gösterir. DNA ploedinin ekstrauterin hastalıkla da güçlü ilişkisi olduğu tespit edilmiştir. Evre 1 tümörlerde hastalıksız sağkalım, diploid olan tümörlerde daha yüksektir. DNA anöploidi, bağımsız moleküler biyolojik prognostik faktörlerin en önemlilerinden biridir (45).

Onkogenler ve tümör baskılayıcı genler

Her-2 onkogen aşırı ekspresyonu endometrial karsinomların %20-40'ında bulunur ve ileri evre, yüksek derece ve azalmış sağkalım gibi olumsuz prognostik faktörlerle ilişkilidir. Her-2 aşırı ekspresyonlu seröz tümörlerde genel sağkalımın azaldığı görülmüştür. p53 tümör baskılayıcı geninin aşırı ekspresyonu ise özellikle seröz karsinomlarda azalmış sağkalımla koreledir. p53'ün pozitif boyanması ileri evre, lenf nodu metastazı ve nonendometrioid histolojiyle bağlantılıdır. p53, nüksüz sağkalım, hastalıksız sağkalım ve metastatik hastalık için güçlü bir göstergedir. PTEN tümör baskılayıcı gen ekspresyonu ise olumlu prognoz göstergesidir (45).

Pozitif peritoneal sitoloji

Periton sitolojisi pozitifliği; myometrial invazyon derinliği, ekstrauterin

yayılım ve yüksek dereceli tümörler ile ilişkilidir. Pozitif periton sitolojisinin endometrium kanserinin adneksiyal, peritoneal veya lenf nodu pozitifliği olan olgularda prognozu kötü etkilediği bulunmuştur. Buna rağmen uterusu sınırlı evre 1 ya da evre 2 tümörlerde tek başına periton sıvısı pozitifliğinin sağkalımı ve tedaviyi etkilemediği gösterilmiştir. Bu nedenle periton sitolojisi pozitifliği, FIGO 2009 evrelemesinde evre 3 kategorisinden çıkarılmıştır.

Lenf nodu metastazı

FIGO ve Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Kanser enstitüsü verilerine göre evre 1 ve evre 2 hastalarda sağkalım %80 ile %91 arasında iken, nodal metastazlı olan hastalarda %44-%52'dir. Erken evre endometrium kanserinde lenf nodu metastazı en önemli prognostik faktördür (45).

Anjiogenez

Endometrial kanserlerde intratümöral mikrodamar yoğunluğunun ileri evre, artmış rekürens riski ve kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Benign endometriumdan atipili kompleks hiperplaziye ve invaziv karsinoma ilerleyen süreçte mikrodamar yoğunluğunda aşamalı bir artış olduğu bildirilmiştir (45).

2.3.14. Tedavi

Evre 1 endometrial kanserde standart cerrahi yaklaşım, lenfadenektomi olsun veya olmasın, TAH+BSO operasyonudur. Ancak fertilitenin korunması istenen evre 1 hastalara ve cerrahi için uygun olmayan hastalara sadece hormonal tedavi verilebilir. Evre 2 kanserlerde cerrahi yaklaşım, paraaortik lenfadenektomi olsun veya olmasın, radikal histerektomi ve bilateral salpingooferektomi ile pelvik lenf nodu diseksiyonunu içerir. Evre 2'de adjuvan tedaviyi ve cerrahi evrelemeyi belirleme açısından lenfadenektomi önerilir.

Adjuvan tedavinin şeklini belirlerken; tümör derecesi, FIGO evresi, myometrial invazyon derinliği ve LVI durumu incelenir. LVI görülmeyen,

myometriumun yarısından azına invaze, düşük dereceli ve FIGO evre 1 hastalara adjuvan tedavi önerilmez. Derece 2 veya 3 endometrioid karsinomlar ile seröz karsinom, berrak hücreli karsinom, nöroendokrin karsinom, karsinosarkomlarda adjuvan tedavi uygulanır (27,40).

2.4. Karsinogenez ve İlişkili Genler

2.4.1. Karsinogenez

Kanser, hücre büyüme ve çoğalmasının kontrolünde meydana gelen bozukluklar sonucu oluşurlar. Kanserleşme süreci, hücresel, genetik ve epigenetik düzeylerdeki değişiklikler ve anormal hücre bölünmesi ile tanımlanır. Kanserle ilişkili genler 3 ana sınıfa ayrılmaktadır: Tümör baskılayıcı genler, onkogenler, apoptozu düzenleyen genler. Ek olarak DNA hasar onarımını düzenleyen dördüncü bir gen türü de bulunmaktadır. Hanahan ve Weinberg , 2000 yılında yayınladıkları derlemede tüm kanserlerin hücresel düzeyde 8 temel özelliği taşıdığını öne sürmüşler, 2003 yılında İnsan Genom Projesi'nin tamamlanmasını takiben genetik alanındaki hızlı ilerleme sonucu ortaya çıkarılan bilgilerden yararlanarak 2011 yılında bu 8 temel özelliğe 2 belirteç daha eklemişlerdir (46).

1-Büyüme sinyallerinde kendi kendine yeterlilik

2-Büyümeyi baskılayıcıların kaybı/duyarsızlık

3-Hücre ölümüne direnç

4-Sınırsız replikasyon yeteneği

5-Anjiogenez ve anjiogenezin sürdürülmesi

6-İnvazyon ve metastaz yeteneği

7-Enerji metabolizmasının yeniden düzenlenmesi

8-Tümör çevresi inflamasyon/tümör mikroçevresi

9-İmmün yanıttan kaçış

10-Genetik instabilite ve mutasyon

2.4.2. Protoonkogenler ve Onkogenler

Protoonkogenler; hücre proliferasyonu, reseptör aktivasyonu, sinyal iletimi ve DNA replikasyonunun aktive olmasını sağlayan birçok proteinin sentezinden sorumlu genlerdir. Nokta mutasyonu, insersiyon, translokasyon veya gen amplifikasyonu ile protoonkogenler aktive olur. Protoonkogenler aktive oldukça onkogen protein fazla miktarda sentezlenir. Hücresel onkoproteinlerin ortak özelliği, büyüme yollarına dahil olmaları ve karsinogenez sürecinde aktivitelerinin artmasıdır (47).

2.4.3. Tümör Baskılayıcı Genler

Tümör baskılayıcı genler; DNA hasar onarımında, hücre bölünmesinin inhibisyonunda, apoptozun indüklenmesinde ve metastazın baskılanmasında rol oynayan önemli gen türleridir. Bu nedenle, bu genlerin işlev kaybı kanserin başlamasına ve ilerlemesine neden olmaktadır. Yapılan çalışmalarda, hücre proliferasyonunu kontrol etmek için tümör baskılayıcı genin bir kopyasının yeterli olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle tümör gelişimi için tümör baskılayıcı genin her iki allelinin de kalıcı olarak inaktive edilmesi veya kaybedilmesi gerekir. Tümör baskılayıcı genler 5 türe ayrılır:

1-Hücre döngüsünün belirli bir aşamasına ilerlemeyi kontrol eden hücre içi proteinleri kodlayan genler (pRB ve p16)

2-Hücre proliferasyonunu inhibe eden hormonları veya büyüme sinyal reseptörlerini kodlayan genler (TGF- β ve APC)

3-DNA hasarı ve kromozomal defektlere yanıt olarak hücre döngüsünün durmasını tetikleyen kontrol noktası proteinlerini kodlayan genler (BRCA1, p16, p14)

4-Apoptozu indükleyen proteinleri kodlayan genler (p53)

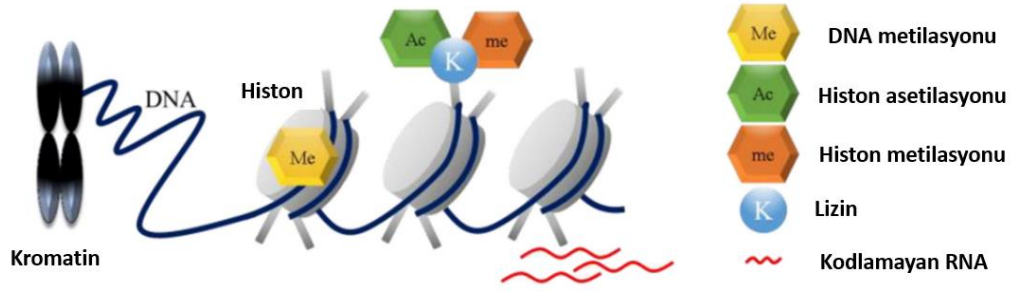
5-DNA hasar onarımında rol oynayan proteinleri kodlayan genler (p53, MSH2) (48).

2.4.4. DNA Onarım ve Apoptozis Genleri

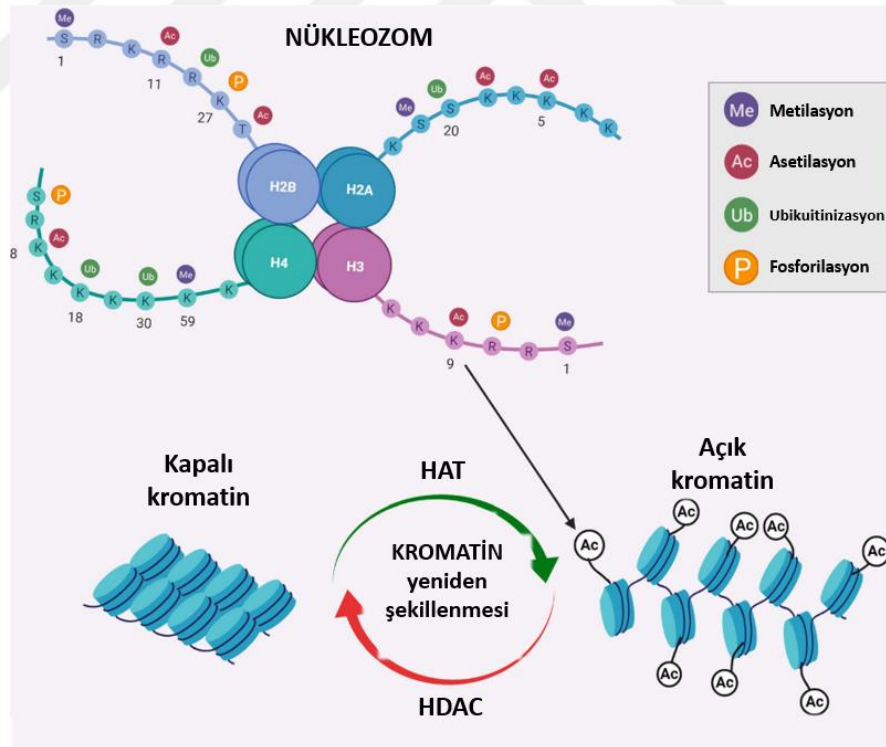
Endojen ve ekzojen etkenlerle oluşan DNA hasarı, direkt ve indirekt DNA onarım mekanizmalarıyla onarılmaktadır. Bu onarım gerçekleşmezse neoplastik transformasyon süreci başlamaktadır. Apoptoz ise fonksiyonu sona ermiş hücrelerin programlanmış hücre ölümü ile yok edilmesidir. Apoptoz sürecinde bax ve fas yolları etkindir ve bu yolların her ikisinin de son noktasında kaspazlar aktive olur. DNA onarım genleri ve apoptozu düzenleyen genlerde mutasyon olması kanser oluşumuna yol açar (48).

2.5. Epigenetik

Epigenetik, DNA dizisindeki değişiklikleri içermeyen gen fonksiyonundaki kalıtsal değişikliklerin incelenmesidir. Epigenetik düzenleme, DNA metilasyonunu, histon modifikasyonunu ve kodlanmayan RNA'ların gen ekspresyonunu düzenlemedeki etkilerini içerir, geri dönüşümlüdür (Şekil 3). Kromatinde, DNA ve histon proteinleri, fonksiyonel yinelenen birimler olan nükleozomları oluşturur. Bir histon oktameri iki çekirdek histondan (H2A, H2B, H3 ve H4) oluşur ve 147 baz çift DNA ile kaplanır (Şekil 4) (49).



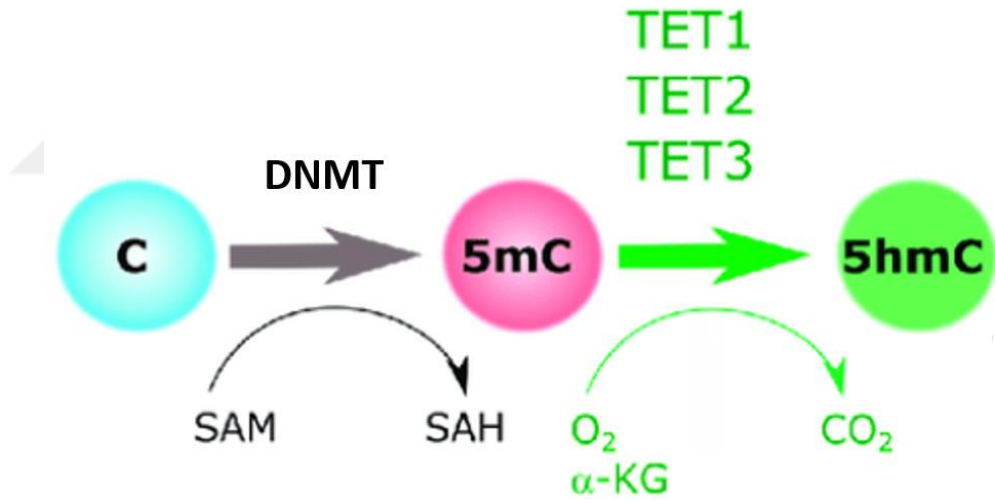
Şekil 3: Epigenetik düzenlenme. DNA metilasyonunu, histon modifikasyonunu ve kodlanmayan RNA'ların gen ekspresyonunu düzenlemedeki etkilerini içerir. Kromatinde, DNA ve histon proteinleri, fonksiyonel yinelenen birimler olan nükleozomları oluşturur (49).



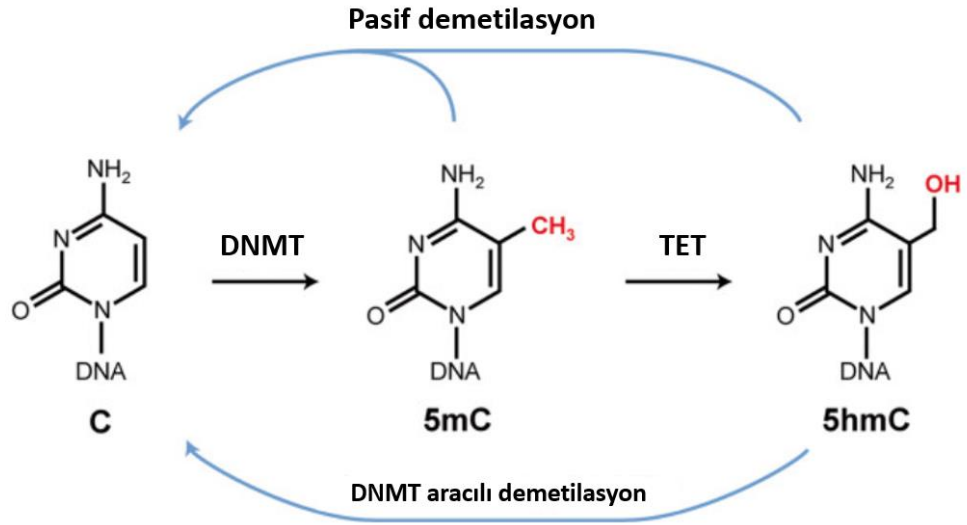
Şekil 4: Kromatin yeniden şekillenmesi. Nükleozom adı verilen kromatinin temel yapısı, H2A, H2B, H3 ve H4 olmak üzere 4 histon proteininden oluşan iki kümeden oluşur (50).

2.5.1. DNA Metilasyonu

İnsanlarda, üzerinde en çok çalışılan epigenetik modifikasyon sitozin metilasyonudur. DNA metilasyonu neredeyse sadece CpG dinükleotitleri bağlamında gerçekleşir. İnsan genomunda, CpG adalarının yaklaşık %70'i promotörlerde bulunur ve bu bölgelerin metilasyonu transkripsiyonel baskıya yol açar. Promotörlerde CpG adalarının metilasyonu kanserde önemli bir rol oynar. DNA metilasyon işlemi, 5 metil sitozin (5-mC) oluşturmak üzere metil gruplarını S-adenosil-L-metiyoninden (SAM) sitozin (C) kalıntılarına aktaran DNA metiltransferaz ailesinin enzimleri tarafından katalize edilir (Şekil 5, Şekil 6). DNMT ailesi beş üyeden oluşur: DNMT1, DNMT2, DNMT3A, DNMT3B ve DNMT3L (51).



Şekil 5: Sitozin metilasyon siklusu (52).



Şekil 6: 5-mC ve oksidasyon ürünü 5-hmC'nin kimyasal yapıları. Modifiye sitozin bazlarının pasif (replikasyona bağlı) ve aktif (replikasyondan bağımsız) DNA demetilasyonunun çeşitli yollarına potansiyel katılımı belirtilmiştir (53).

2.5.2. DNA Metilasyonu ve Endometrial Kanser

DNA metilasyonu endometrial kanserde yaygın olarak çalışılan bir epigenetik değişikliktir. Atipik endometrial hiperplazide tümör baskılayıcı genlerin hipermetilasyonunun meydana geldiği bildirilmiştir. Endometrial kanserde anormal DNA metilasyonu sadece erken aşamada değil, aynı zamanda prekanseröz aşamada da gerçekleşir. Sonuç olarak, endometrium kanserinde hücre büyümesi, proliferasyonu ve apoptozun tümü, gen ekspresyonunu düzenleyen DNA metilasyonunu içerir.

Tip 1 endometrium kanserinde DNMT1 ve DNMT3B ekspresyonu artmışken, tip 2 endometrium kanserinde ekspresyonları azalmıştır. Bu nedenle, MLH1 ve PTEN gibi genlerin promotörlerinin hipermetilasyonu tip 1 endometrial kanserde daha sık görülürken, tip 2 endometrial kanserde global hipometilasyon ve genomik instabilite indüklenmiştir.

Tip 1 endometrial kanserin aksine, tip 2 endometrial kanserde promotör hipermetilasyonu ile ilgili çok az bilgi vardır. Progesteron, endometrial

karsinogenezde tümör baskılayıcı olarak rol oynar ve hiperplazi ve atipik hiperplazide hormonal tedavide kullanılır. Progesteron reseptörünün ekspresyonu, tip 2’de tip 1’e göre daha düşüktür. İleri evre endometrial kanser hastalarında PR ekspresyonunda kayıp gösterilmiştir ve bu kötü prognozla ilişkilidir (49).

2.5.3. Histon Modifikasyonları

Yaklaşık 2 metre uzunluğundaki DNA, histon adı verilen proteinlerin yardımıyla bir çekirdeğin içinde paketlenir ve kromatin adı verilen bir DNA-protein kompleksi oluşturur. Kromatinin temel birimi nükleozom olarak adlandırılır. Bu yapı, dört çekirdek histon proteininin iki setinden oluşur (H2A, H2B, H3 ve H4). Histon H1, bir kromozom oluşturmak için nükleozomları birbirine bağlar. Bu yapı, in vivo olarak birçok enzimatik modifikasyondan geçer ve bu da çeşitli genetik değişikliklere yol açar (50).

Histon modifikasyonları histon kuyruklarında yer alan lizin ve arjinin kalıntılarında meydana gelir. Histon kuyrukları kovalent posttranskripsiyonel modifikasyonların hedefleridir. Bu modifikasyonlar esas olarak asetilasyon, metilasyon, fosforilasyon, ubikitinasyon ve sumoilasyonu içerir. Promotörlerdeki histon modifikasyonları gen ekspresyonunu düzenlemek için önemlidir. Anormal histon modifikasyonlarının karsinogenez ile ilişkili olduğu ve kanserde erken bir aşamada ortaya çıktığı düşünülmektedir (49).

2.5.4. Histon Asetilasyonu

Histon asetilasyonu, DNA metilasyonunun yanı sıra epigenetiğin iyi bilinen mekanizmasıdır. Histon asetilasyonu, histon kuyruklarındaki lizin kalıntılarına bir asetil grubunun eklenmesiyle oluşur. Histon asetiltransferazlar (HAT) asetil grupları eklerken, histon deasetilazlar (HDAC) asetil gruplarını çıkarır. Bu değişiklikler geri dönüşümlüdür ve genellikle transkripsiyonel düzenlemede yer alır (49).

İnsanlarda şimdiye kadar yaklaşık 30 HAT tespit edilmiştir. HAT'lar öncelikle subsellüler lokalizasyona göre tip A ve tip B olmak üzere 2 sınıfa ayrılır. Tip A çekirdekte lokalizedir, tip B ise sitoplazmada bulunur. Tip A HAT'lar kromatinde transkripsiyonla ilişkili histon asetilasyonunda işlev görürken, Tip B HAT'lar yeni sentezlenen histonları asetile eder ve nükleozomun yapısını etkiler. HDAC'lar asetil gruplarını hem histon hem de histon olmayan proteinlerin lizin kalıntılarından uzaklaştıran posttranskripsiyonel modülatörlerdir. İnsanlarda 18 adet HDAC tanımlanmış ve 4 gruba ayrılmıştır: Sınıf I (HDAC1,2,3 ve 8), sınıf II (HDAC 4,5,6,7,9 ve 10), sınıf III (SIRT 1,2,3,4,5,6 ve 7) ve sınıf IV (HDAC11). Sınıf, I, II ve IV HDAC'lar çinko bağımlı enzimlerdir ve benzer fonksiyonel mekanizmalara sahipken, sınıf III HDAC'lar NAD⁺ bağımlıdır. HDAC deregülasyonu genellikle kanser ve tümörgenezle ilişkilidir (50).

2.5.5. Histon Asetilasyonu ve Endometrial Kanser

Endometrial kanserde HAT'lar ile ilgili az sayıda çalışma varken, HDAC'lar ile ilgili daha çok veri bulunmaktadır. Endometrial kanserde HDAC'lar normal endometriuma kıyasla aşırı eksprese edilir. HDAC1, 2 ve 3 ekspresyon seviyeleri endometrial kanserde normal endometriumdakine göre daha yüksektir ve bunlar kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir.

HDAC'ların çoğu endometrium kanserinde aşırı eksprese edilmesine rağmen, SIRT6 ekspresyon seviyeleri daha düşüktür ve survivini baskılayarak apoptozu indükler. SIRT6'ya benzer şekilde, SIRT1, 2, 4 ve 5'in ekspresyon seviyeleri endometrial kanserde düşüktür, SIRT7 ise aşırı eksprese edilir. Yakın zamanda yapılan bir çalışma, SIRT1 ekspresyonunun endometrioid karsinomda (tip 1) berrak hücreli karsinomdan (tip 2) daha yüksek olduğunu göstermiştir. Endometrial kanserli hastalarda yüksek SIRT1 ekspresyonu, düşük SIRT1 ekspresyonu olan hastalara göre daha iyi genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalım ile ilişkilidir. Bu, SIRT1'in bir tümör baskılayıcı gen olabileceğini göstermiştir (49).

2.5.6. 5-hmC

Modifiye edilmiş bir nükleotid olan 5-hmC, fare beyni ve embriyonik kök hücrelerde bolca bulunmaktadır. 5-hmC, hidroksile edilmiş ve metillenmiş bir sitozin formudur ve ilk olarak 1952'de bakteriyofajlarda görülmüştür. Memelilerde TET protein aracılı bir reaksiyon ile üretilir. 5-hmC'nin epigenetikteki kesin işlevi henüz belli olmamakla birlikte, 5-hmC'nin Purkinje hücrelerinde metillenmiş sitozinin kabaca %40'ını oluşturduğu ve ayrıca spesifik olarak CpG bölgelerinde lokalize olduğu gösterilmiştir (54).

2.5.7. HDAC6

HDAC6, sınıf II HDAC grubuna aittir ve memeli hücrelerindeki ana sitoplazmik deasetilazdır. HDAC6, iki deasetilaz alanı ve bir C-terminal çinko parmağı barındırdığı için diğer tüm HDAC'lardan farklıdır. Tübülin, ısı şok protein (Hsp)90 ve kortaktini deasetile edebilir. Mikrotübül aracılı bir sitoplazmik enzim olan HDAC6, hücre göçü, hücre yayılması, immün sinaps oluşumu, viral enfeksiyon, yanlış katlanmış proteinlerin parçalanması ve stres granülü oluşumu gibi birçok önemli biyolojik süreci ortak proteinlerle kompleksler yoluyla düzenler. HDAC6'nın kansere bağlı birçok sinyal yolunun önemli bir düzenleyicisi olduğuna ve böylece HDAC6'yı kanser tedavisi için uygun bir hedef haline getirdiğine dair kanıtlar artmaktadır. HDAC6'nın anormal ekspresyonu çeşitli kanser hücrelerinde ve fare tümör modellerinde bildirilmiştir (55).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Olgu Seçimi

Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2010-2019 yılları arasında tanı alan proliferatif endometrium, atipisiz hiperplazi, atipili hiperplazi ve endometrial endometrioid tip adenokarsinom (derece 1-2-3) olmak üzere her bir grupta n=20 olacak şekilde toplam 80 olgu çalışmaya dahil edilmiştir.

Arşiv taraması sonuçlarına göre hastane sisteminden vakaların yaş, doğum sayısı, menopoz durumu, sigara kullanımı, CA125 düzeyi, endometrium kalınlığı ve beden kitle indeksi verileri kaydedilmiştir. Endometrial adenokarsinom grubundaki vakalara ait myometrial invazyon ve lenfovasküler invazyon durumu raporlar incelenerek tespit edilmiştir. Endometrium kanseri taramasında güvenlik sınırı Transvajinal ultrasonografi (TVUS) ile ölçülen endometrium kalınlığı için genel olarak 5 mm kabul edildiğinden, gruplarımızda sınır değeri 5 mm alınarak oluşturulmuştur. Olgulara ait Hematoksilen & Eozin boyalı preparatlar tekrar değerlendirilmiş ve immünohistokimyasal inceleme için uygun bloklar seçilmiştir.

3.2. İmmünohistokimyasal İnceleme

Olgulara ait seçilmiş parafin bloklardan 4 mikrometre kalınlığındaki kesitler, polilizin ile kaplanmış lama alınıp deparafinize edildi. Kromojen olarak DAB ultraview detection kit (Ventana Medical Systems, Inc.) kullanılarak Ventana BenchMark ULTRA otomatik boyama cihazında (Ventana Medical Systems, Inc.) immünohistokimyasal boyama gerçekleştirildi. 5-hmC antikoru (Abcam, rabbit monoclonal) 1/100 dilüsyon ve HDAC6 antikoru (Abcam, rabbit monoclonal) 1/100 dilüsyon ile dilüe edilerek kullanıldı. Boyama için deparafinize edilen kesitler, antijeniteyi ortaya çıkarmak için otomatize sistemde önce 95 derecede 8 dakika ısıtma uygulanıp, ardından 64 dakika CC1 solüsyonunda bekletildi. Boyama, antikor ile 36

dakika inkübasyon süresinden sonra Hematoksilen ile zemin boyaması yapılarak tamamlandı.

Boyalı lamalar su bazlı medium (DAKO) ile kapatıldı.

3.3. İmmünohistokimyasal Değerlendirme

İmmünohistokimyasal antikorlarla boyalı kesitler, ışık mikroskopunda (Nikon Eclipse E200) değerlendirildi. 5-hmC için beyin dokusu, HDAC6 için papiller karsinom dokusu pozitif kontrol olarak alındı. 5-hmC ve HDAC6 antikorlu hücresel boyanma lokalizasyonuna ve boyanma yüzdesine göre değerlendirildi. Boyanma skoru 0-3 arasında skorlandı. 4 adet 40'lık büyük büyütme alanındaki boyanma yüzdesi ve boyanma yoğunluğu H skoru kullanılarak değerlendirildi. H skorunun hesaplanması için $H \text{ skor} = \sum (P_i \times i)$ denklemi kullanan MS Excel macro dosyası oluşturuldu. P_i boyanan hücrelerin yüzdesini gösteren katsayı ve i ise boyanma yoğunluğu (3+ (Güçlü), 2+ (Orta), 1+ (Zayıf), 0 (Boyanma yok)) ifade etmektedir.

3.4. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analiz için IBM SPSS Statistics 26.0 kullanıldı. Gruplar arasında karşılaştırma için normal dağılım gösteren gruplarda parametrik One-Way ANOVA testi, normal dağılım göstermeyen gruplarda parametrik olmayan Mann-Whitney U Testi ve Bonferoni düzeltmeli Kruskal-Wallis Testi kullanıldı. 5-hmC ve HDAC6 değerlendirilirken H skoru kullanıldı. P değeri 0,05 ve altı istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.5. Finansal Destek ve Etik Kurul Kararı

Proje (Proje no: TTU-2019-8463) Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Destek fonu tarafından desteklenmiştir. Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu onayı alınmıştır. (19.07.2019- Protokol no: 2019/202)



4. BULGULAR

Çalışmaya

- 20 adet proliferatif endometrium
- 20 adet atipisiz hiperplazi
- 20 adet atipili hiperplazi
- 20 adet endometrial endometrioid adenokarsinom (8 adet Derece 1, 6 adet Derece 2, 6 adet Derece 3)

dahil edilmiştir.

Gruplar 1:proliferatif endometrium, 2:atipisiz hiperplazi, 3:atipili hiperplazi, 4:endometrioid adenokarsinom olarak numaralandırılmıştır.

4.1. Demografik Veriler

Yaş

Vakaların yaşı 34 ile 83 arasında değişmekte olup ortalama 50,4'tür.

- Proliferatif endometriumlarda yaş aralığı 36-50, ortalama ve ortanca 45'tir.
- Atipisiz hiperplazilerde yaş aralığı 34-62, ortalama ve ortanca 48'dir.
- Atipili hiperplazilerde yaş aralığı 37-70, ortalama 49, ortanca 50'dir.
- Endometrial kanserlerde yaş aralığı 43-83, ortalama 60, ortanca 59'dur.

Yaş grupları

Yaş grupları kendi arasında <40 yaş, 40-49 yaş, 50-59 yaş ve ≥ 60 yaş olmak üzere 4 grupta sınıflandırılmıştır. 80 hastanın 6'sı <40 yaş, 35'i 40-49 yaş, 27'si 50-59 yaş ve 12'si ≥ 60 yaş grubuna aittir.

4.2. Klinik Veriler

Doğum sayısı

Doğum sayısı minimum 0, maksimum 9 olup; ortalama 3,2'dir.

Menopoz durumu

Gruplar premenopozal ve postmenopozal olarak gruplandırıldığında 80 hastanın 59'u premenopozal, 21'i ise postmenopozal dönemdedir.

- Proliferatif endometriumların tamamı premenopozal,
- Atipisiz hiperplazilerin 2'si postmenopozal 18'i premenopozal,
- Atipili hiperplazilerin 4'ü postmenopozal, 16'sı premenopozal,
- Endometrial kanserlerin 15'i postmenopozal, 5'i premenopozal dönemdedir.

Sigara kullanımı

80 hastanın 5'i sigara kullanmakta, 75'i sigara kullanmamaktadır. Sigara kullananların 2'ser tanesi proliferatif endometrium ve atipili hiperplazi grubunda iken, 1 tanesi ise atipisiz hiperplazi grubundadır.

Serum CA125 değeri

CA125 değeri tüm gruplarda minimum 2,8 , maksimum 1368 U/mL 'dir.

- Proliferatif endometriumda 2,8-12,5 U/MI arasında değişmekte olup, ortalama 14,6 ve ortanca 12,5'tir.
- Atipisiz hiperplazide 9,7-45,7 U/mL arasında değişmekte olup, ortalama 18,4 ve ortanca 15,5'tir.
- Atipili hiperplazide 4,8-1368 U/mL arasında değişmekte olup ortalama 98 ve ortanca 14,6'dır.
- Endometrial karsinomlarda 4,3-155 U/mL arasında değişmekte olup ortalama 23,5 ve ortanca ise 13'tür.

Serum CA125 kategorileri

Vakalar serum CA125 eşik değeri olan 35 U/mL'ye göre gruplandırıldığında tüm vakaların 71'inde değeri 0-35 arasında iken, 9'unda da ≥ 35 'tir.

Proliferatif endometriumlarda ve atipisiz hiperplazilerde 1'er adet, atipili hiperplazilerde 3 ve endometrial kanserlerde 4 adet ≥ 35 U/mL olan serum CA125 değeri bulunmaktadır.

VKİ (Vücut kitle indeksi)

VKİ değeri 22-38 arasında değişmektedir.

- Proliferatif endometriumda ortalama VKİ 26,3
- Atipisiz hiperplazilerde 28,8
- Atipili hiperplazilerde 29
- Endometrial kanserlilerde 31,8'dir.

VKİ kategori

VKİ değeri 20-24,9 aralığında olan 7 hasta, 25-29,9 aralığında 38 hasta, 30-34,9 aralığında 30 hasta ve 35-44,9 arasında 5 hasta bulunmaktadır.

Endometrium kalınlığı (EK)

Tüm gruplarda EK değeri 3,9-25 mm arasında değişmekte olup ortalama 12,9 mm, ortanca ise 14'tür.

- Proliferatif endometriumlarda EK değeri 3,9-18 mm arasında olup, ortalama 9,6 mm'dir.
- Atipisiz hiperplazilerde EK değeri 4-25 mm arasında değişmekte, ortalama 11,6 mm'dir.
- Atipili hiperplazilerde EK değeri 4-25 mm arasında değişmekte, ortalama 13,4 mm'dir.
- Endometrial kanserlerde EK değeri 11-25 mm arasında değişmekte, ortalama 17,3 mm'dir.

RİA kullanım durumu

Tüm gruplarda RİA kullanan hasta sayısı 4 (3'ü proliferatif endometrium, 1'i atipili hiperplazili), kullanmayan hasta sayısı 76'dır.

OKS (Oral kontraseptif) kullanımı

Tüm gruplarda OKS kullanan hasta sayısı 3 (2'si proliferatif endometrium, 1'i atipisiz hiperplazi), kullanmayan hasta sayısı 77'dir.

4.3. Patolojik Parametreler

Myometrial invazyon derinliği

Endometrial karsinom vakalarında myometrial invazyon derinliği 9 hastada $<1/2$ iken, 10 hastada $\geq 1/2$ 'dir. Vakalardan 1 tanesi küretaj materyali olduğundan myometrial invazyon değerlendirme dışı bırakılmıştır.

Lenfovasküler invazyon

Endometrial karsinom vakalarının 4 tanesinde lenfovasküler invazyon mevcuttur, 15 tanesinde mevcut değildir. Vakalardan 1 tanesi küretaj materyali olduğundan lenfovasküler invazyon değerlendirilememiştir.

4.4. Demografik ve Klinik Verilerin Gruplar Arası Karşılaştırılması

✚ Gruplar arası yaş ortalamaları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttur ($p<0,001$). Endometrial adenokarsinom ile diğer gruplar arasında anlamlı fark olduğu görülmüştür. Endometrial karsinomu olanların yaş ortalamaları anlamlı şekilde yüksek saptanmıştır.

✚ Gruplar arası VKİ değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülmüştür ($p<0,001$). Proliferatif endometrium ile diğer üç grup

arasında ve endometrial adenokarsinom ile diğer üç grup arasında anlamlı fark bulunmuştur. Proliferatif endometrium olanların VKİ ortalaması anlamlı bir şekilde düşük iken, endometrial adenokarsinom olanların VKİ ortalaması anlamlı bir şekilde yüksektir.

✚ Gruplar arası EK değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülmüştür ($p=0,001$). Proliferatif endometrium ile endometrial adenokarsinom arasında ($p<0,001$) ve atipisiz hiperplaziyle endometrial adenokarsinom arasında ($p=0,017$) anlamlı fark saptanmıştır. Endometrial adenokarsinom vakalarının EK değeri yüksek saptanmıştır.

✚ Gruplar arası menopoz durumu karşılaştırıldığında endometrial adenokarsinomların %75'i postmenopozal dönemde olup, diğer grupların %10'u postmenopozal dönemdedir. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,001$).

✚ Gruplar arası doğum sayıları ve CA125 değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

4.5. İmmünohistokimyasal Bulgular

4.5.1. İmmünohistokimyasal Yöntemle 5-hmC'nin Değerlendirilmesi

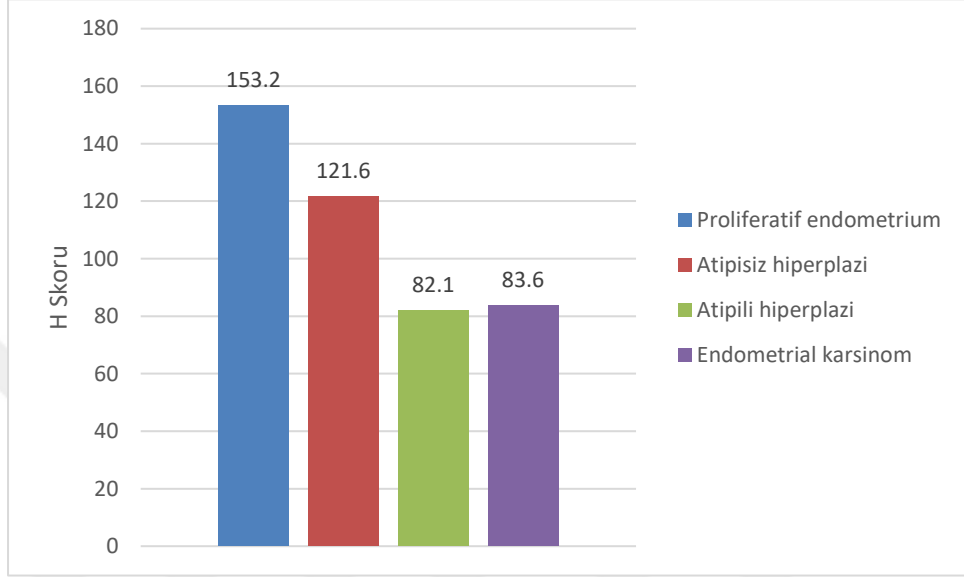
5-hmC ile boyanmanın hücresel lokalizasyonu belirlenip, boyanma yaygınlığı ve boyanma şiddetine göre H skoru hesaplanmıştır.

5-hmC ekspresyonu proliferatif endometriumda yüksektir. Atipili hiperplazi ve endometrioid karsinomlarda ekspresyon kaybı görülmektedir.

- Proliferatif endometrium: Minimum 26, maksimum 275,6 olup; ortalama 153,2, ortanca değer ise 173,2'dir.
- Atipisiz hiperplazi: Minimum 27, maksimum 224,6 olup; ortalama 121,6, ortanca değer 118,82'dir.
- Atipili hiperplazi: Minimum 2, maksimum 195 olup; ortalama 82,1, ortanca değer 91,6'dır.
- Endometrioid karsinom: Minimum 5, maksimum 210 olup; ortalama

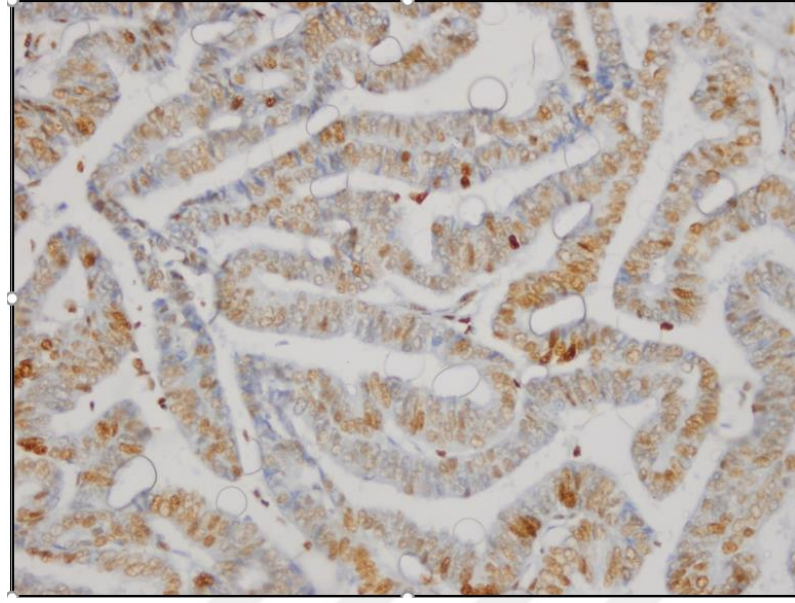
83,6, ortanca değer 66,4'tür.

Şekil 7'de 5-hmC'nin gruplar arasındaki ortalama boyanma değerleri diyagram ile gösterilmiştir.

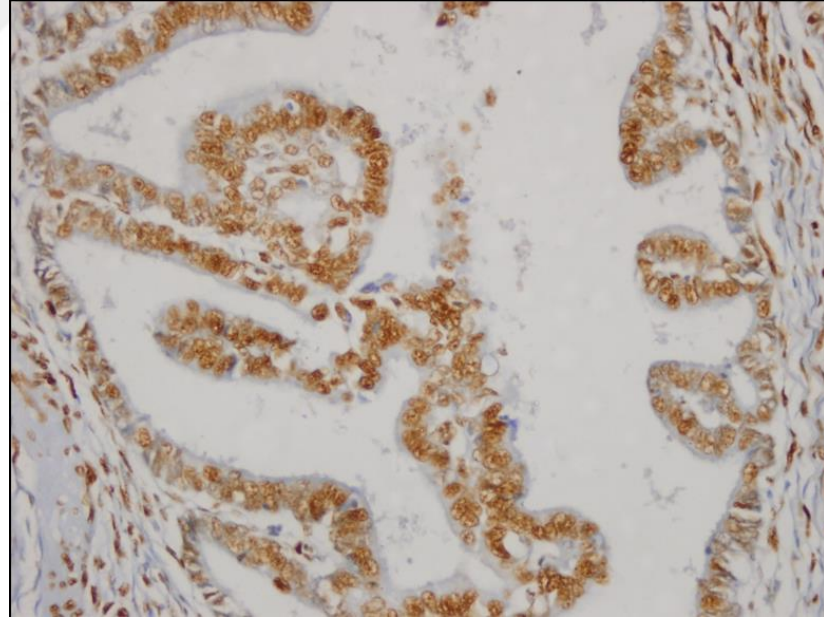


Şekil 7: Tanılara göre 5-hmC H skoru değerleri

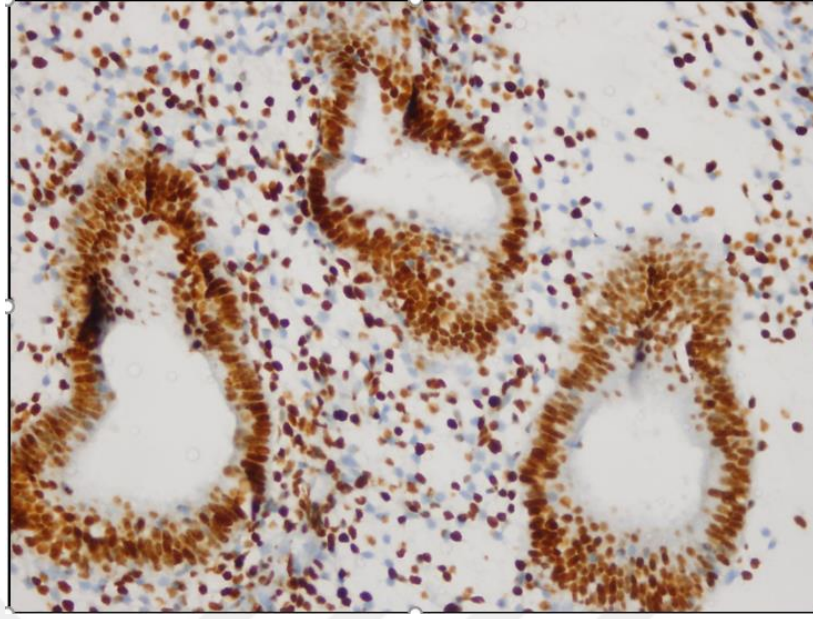
Resim 5,6 ve 7'de sırasıyla 5-hmC ile +1, +2 ve +3 boyanma görölmektedir. +1 boyanma endometrioid karsinom, +2 boyanma atipisiz hiperplazi, +3 boyanma ise proliferatif endometrium tanılı olgularda gösterilmiştir.



Resim 5: 5-hmC ile +1 şiddetinde boyanma, x400



Resim 6: 5-hmC ile +2 şiddetinde boyanma, x400



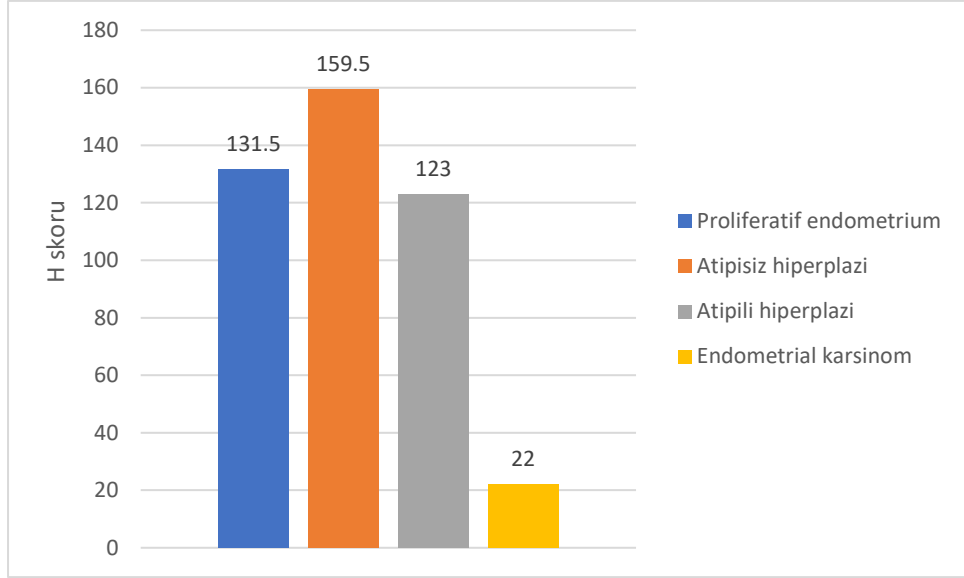
Resim 7: 5-hmC ile +3 şiddetinde boyanma, x400

4.5.2. İmmünohistokimyasal Yöntemle HDAC6'nın Değerlendirilmesi

HDAC6 ile boyanmanın hücresel lokalizasyonu belirlenip, boyanma yaygınlığı ve boyanma şiddetine göre H skoru hesaplanmıştır.

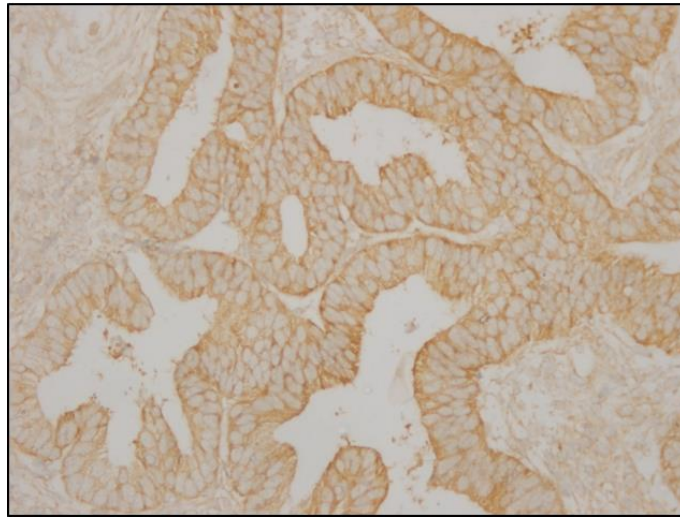
- Proliferatif endometrium: Minimum 31,3 maksimum 300 olup; ortalama 134,7 ortanca değer 131,5'tir.
- Atipisiz hiperplazi: Minimum 5, maksimum 204 olup; ortalama 145,4, ortanca değer 159,5'tir.
- Atipili hiperplazi: Minimum 12, maksimum 151 olup; ortalama 112, ortanca değer 123'tür.
- Endometrioid karsinom: Minimum 0, maksimum 123; ortalama 37,7 ortanca değer 22'dir.

HDAC6 ekspresyonunun endometrioid adenokarsinom vakalarında belirgin olarak düşük olduğu görülmüştür. Şekil 8'de gruplar arasındaki ortalama boyanma değerleri gösterilmiştir.

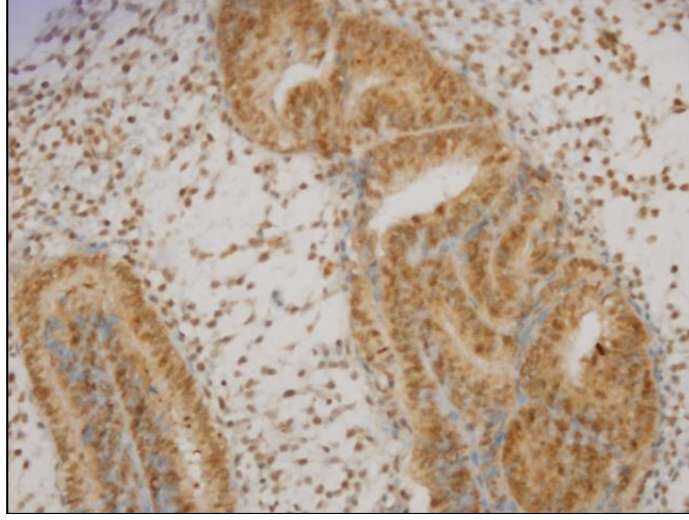


Şekil 8: Tanılara göre HDAC6 H skoru değerleri

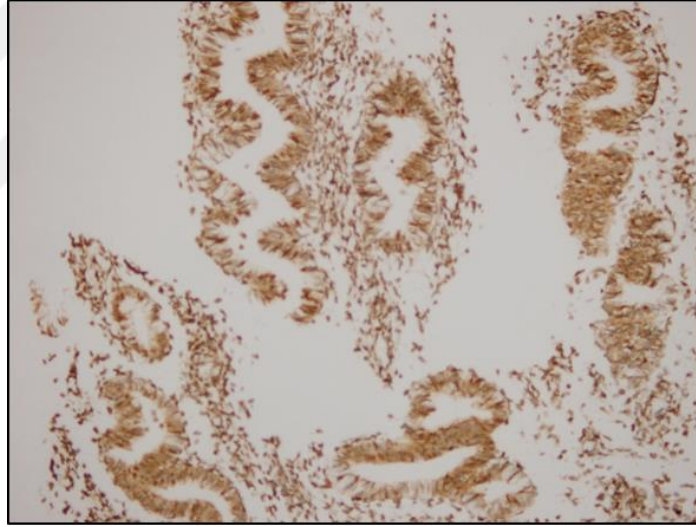
Resim 8, 9 ve 10'da immünohistokimyasal yöntem ile HDAC6'nın endometrioid karsinom, atipisiz hiperplazi ve proliferatif endometrium tanılı olgularda sırasıyla +1, +2 ve +3 boyanma paternleri gösterilmiştir.



Resim 8: HDAC6 ile +1 şiddetinde boyanma, x400



Resim 9: HDAC6 ile +2 şiddetinde boyanma, x400



Resim 10: HDAC6 ile +3 şiddetinde boyanma, x200

4.6. 5-hmC Ekspresyonunun Tanı Grupları ile İlişkisi

5-hmC ekspresyonu ile bütün gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttur ($p=0,001$).

Buna göre; proliferatif endometrium ile atipili hiperplazi arasında ($p=0,002$) ve

proliferatif endometrium ile endometrioid karsinom arasında ($p=0,003$) istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür.

Proliferatif endometriumla atipisiz hiperplazi ($p=0,355$), atipisiz hiperplaziyle atipili hiperplazi ($p=0,174$), atipisiz hiperplaziyle endometrioid adenokarsinom ($p=0,202$) ve atipili hiperplaziyle endometrial adenokarsinom arasında ($p=1,000$) anlamlı fark saptanmamıştır.

4.7. HDAC6 Ekspresyonunun Tanı Grupları ile İlişkisi

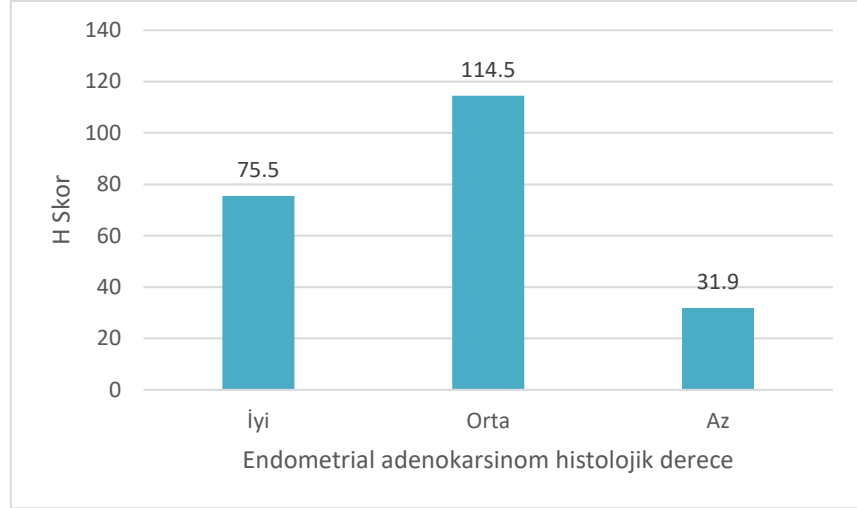
HDAC6 ekspresyonu ile tanı grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p<0,001$).

Endometrioid adenokarsinom ile atipili hiperplazi ($p=0,002$), endometrioid adenokarsinom ile atipisiz hiperplazi ($p<0,001$) ve endometrial adenokarsinom ile proliferatif endometrium arasında ($p<0,001$) istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür.

Proliferatif endometrium ile atipili hiperplazi arasında ($p=1,000$), proliferatif endometrium ile atipisiz hiperplazi ($p=1,000$) ve atipili hiperplaziyle atipisiz hiperplazi arasında ($p=0,180$) istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

4.8. Endometrial Adenokarsinom Histolojik Dereceleri ile 5-hmC Ekspresyonunun Karşılaştırılması

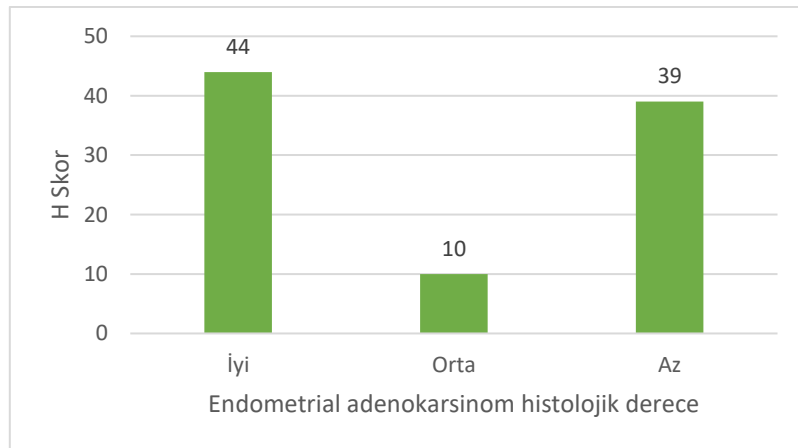
Şekil 9'da endometrioid adenokarsinom histolojik derecelerine göre 5-hmC ortalamaları diyagram ile gösterilmiştir.



Şekil 9: Endometrioid adenokarsinom histolojik derecelerine göre 5-hmC ortalamaları

Endometrioid adenokarsinomun dereceleri ile 5-hmC ekspresyonu arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p=0,338$).

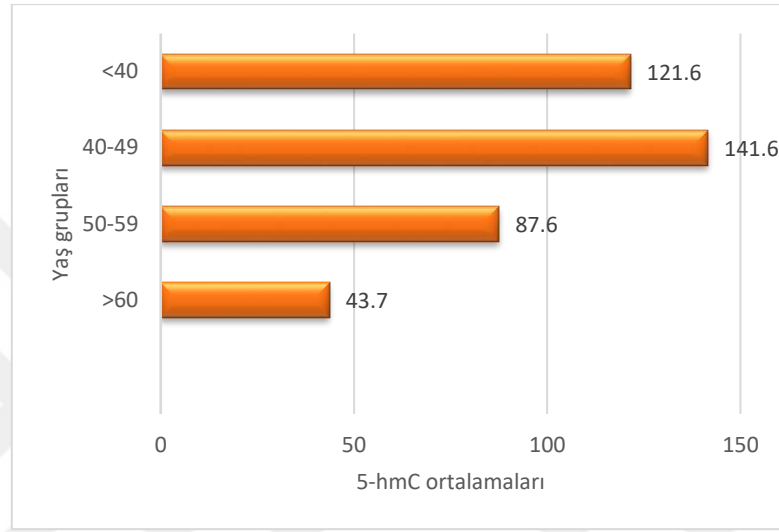
4.9. Endometrial Adenokarsinom Histolojik Dereceleri ile HDAC6 Ekspresyonunun Karşılaştırılması



Şekil 10: Endometrioid adenokarsinom histolojik derecelerine göre HDAC6 ortalamaları

Endometrioid adenokarsinomun dereceleri ile HDAC6 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p=0,383$).

4.10. Yaş Gruplarına Göre 5-hmC Ortalamalarının Karşılaştırılması

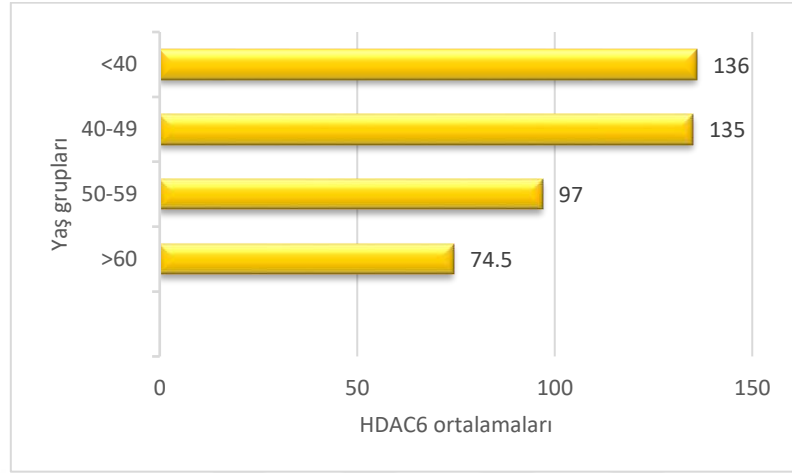


Şekil 11: Yaş gruplarına göre 5-hmC ortalamaları

Tüm yaş grupları ile 5-hmC ekspresyonu açısından anlamlı fark görülmüştür ($p=0,005$).

60 yaş üzerindeki olguların 5-hmC ekspresyon ortalamaları ile 40-49 yaş arasındaki olguların ekspresyon ortalamaları arasında anlamlı fark görülmüştür ($p=0,015$). 50-59 yaş arasındaki olguların ortalamaları ile 40-49 yaş arasındaki olguların ortalamaları arasında anlamlı fark görülmüştür ($p=0,04$).

4.11. Yaş Gruplarına Göre HDAC6 Ortalamalarının Karşılaştırılması



Şekil 12: Yaş gruplarına göre HDAC6 ortalamaları

Tüm yaş grupları arasında HDAC6 ekspresyonu açısından anlamlı fark görülmüştür ($p=0,006$).

60 yaş üzerindeki olguların HDAC6 ekspresyon ortalaması ile 40 yaş altındaki olguların ortalamaları arasında anlamlı fark görülmüştür ($p=0,05$).

4.12. Menopoz Durumuna Göre 5-hmC Ortalamalarının Karşılaştırılması

Tüm gruplarda premenopozal dönemdeki hastaların 5-hmC ortalaması 144,3 iken postmenopozal dönemdekilerin ortalaması ise 61,2'dir.

Her iki grubun 5-hmC ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür ($p<0,001$). Premenopozal dönemdekilerin 5-hmC ortalaması, postmenopozal dönemdekilerin ortalamasından yüksektir.

4.13. Menopoz Durumuna Göre HDAC6 Ortalamalarının Karşılaştırılması

Tüm gruplarda premenopozal dönemdeki hastaların HDAC6 ortalaması 128 iken postmenopozal dönemdekilerin ortalaması ise 63,3'tür.

Her iki grubun HDAC6 ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür ($p<0,001$). Premenopozal dönemdekilerin HDAC6 ortalaması, postmenopozal dönemdekilerin ortalamasından anlamlı olarak yüksektir.

4.14. CA125 Kategorilerine Göre 5-hmC Ortalamalarının Karşılaştırılması

CA125 değeri <35 olanların 5-hmC ortalamaları 121,8 iken CA125 değeri 35 ve üzeri olanların ortalaması 188'dir. Her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,127$).

4.15. CA125 Kategorilerine Göre HDAC6 Ortalamalarının Karşılaştırılması

CA125 değeri <35 olanların HDAC6 ortalamaları 123 iken CA125 değeri 35 ve üzeri olanların ortalaması 109'dur. Her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,873$).

4.16. VKİ Kategorilerine Göre 5-hmC Ortalamalarının Karşılaştırılması

Tüm kategoriler arasında 5-hmC ortalamaları açısından istatistiksel olarak

anlamli fark saptanmamıştır (p=0,194).

4.17. VKİ Kategorilerine Göre HDAC6 Ortalamalarının Karşılaştırılması

Tüm kategoriler arasında HDAC6 ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamli fark saptanmamıştır (p=0,135).

4.18. RİA Kullanma Durumuna Göre 5-hmC Ortalamalarının Karşılaştırılması

RİA kullananlar ile kullanmayanlar arasında 5-hmC ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamli fark saptanmamıştır (p=0,819).

4.19. RİA Kullanma Durumuna Göre HDAC6 Ortalamalarının Karşılaştırılması

RİA kullananlar ile kullanmayanlar arasında HDAC6 ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamli fark saptanmamıştır (p=0,783).

4.20. OKS Kullanma Durumuna Göre 5-hmC Ortalamalarının Karşılaştırılması

OKS kullananlar ile kullanmayanlar arasında 5-hmC ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamli fark saptanmıştır (p=0,04). OKS kullananların 5-hmC ortalamaları kullanmayanlara göre anlamli olarak yüksek bulunmuştur.

4.21. OKS Kullanma Durumuna Göre HDAC6 Ortalamalarının Karşılaştırılması

OKS kullananlar ile kullanmayanlar arasında HDAC6 ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamli fark saptanmamıştır (p=0,65).

4.22. Myometrial İnvazyon Derinliğine Göre 5-hmC Ortalamalarının Karşılaştırılması

Endometrial adenokarsinom vakaları içinde myometrial invazyon derinliği $<1/2$ olanlar ile $\geq 1/2$ olanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p=0,05$).

Myometrial invazyon derinliği $<1/2$ olanlarda 5-hmC ortalaması 95, $\geq 1/2$ olanlarda ise 34,5'tir.

4.23. Myometrial İnvazyon Derinliğine Göre HDAC6 ortalamalarının karşılaştırılması

Endometrial adenokarsinom vakaları içinde myometrial invazyon derinliği $<1/2$ olanlar ile $\geq 1/2$ olanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,591$).

4.24. Lenfovasküler İnvazyon Varlığına Göre 5-hmC Ortalamalarının Karşılaştırılması

Lenfovasküler invazyonu olan vakalar ile olmayan vakalar arasında 5-hmC ortalaması açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,11$).

4.25. Lenfovasküler İnvazyon Varlığına Göre HDAC6 Ortalamalarının Karşılaştırılması

Lenfovasküler invazyonu olan vakalar ile olmayan vakalar arasında HDAC6 ortalaması açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,58$).

4.26. Korelasyon Analizleri

CA125 değeri ile; 5-hmC, HDAC6, endometrium kalınlığı, yaş, doğum sayısı, VKİ değerleri arasında korelasyon olup olmadığı incelenmiştir.

➤ CA125 değeri ile 5-hmC değeri arasında anlamlı korelasyon izlenmiş olup bu korelasyon düşük düzeydedir ($p=0,03$) (Korelasyon katsayısı=0,24). İki değişkenden biri artarken diğeri de artmaktadır.

➤ CA125 değeri ile HDAC6, VKİ, yaş, endometrium kalınlığı ve doğum sayısı arasında anlamlı korelasyon saptanmamıştır (p değeri sırasıyla 0,273, 0,547, 0,32, 0,711 ve 0,441).

Endometrium kalınlığı ile; 5-hmC, HDAC6, CA125, yaş, doğum sayısı, VKİ değerleri arasında korelasyon olup olmadığı incelenmiştir.

➤ Endometrium kalınlığı ile HDAC6 değerleri arasında anlamlı korelasyon izlenmiştir ($p=0,05$) (Korelasyon katsayısı= - 0,31). İki değişken arasında ters ilişki mevcut olup EK değeri artarken HDAC6 boyanması azalmaktadır.

➤ Endometrium kalınlığı ile yaş arasında anlamlı korelasyon izlenmiş olup korelasyon düşük düzeydedir ($p=0,018$) (Korelasyon katsayısı=0,26).

➤ Endometrium kalınlığı ile VKİ değeri arasında anlamlı korelasyon izlenmiş olup korelasyon düşük düzeydedir ($p=0,022$) (Korelasyon katsayısı=0,25).

➤ Endometrium kalınlığı ile CA125 değeri, 5-hmC değeri ve doğum sayısı arasında anlamlı korelasyon saptanmamıştır (p değeri sırasıyla 0,711, 0,251 ve 0,909)

5. TARTIŞMA

Endometrial karsinom gelişmiş ülkelerde en sık görülen jinekolojik malignitedir ve kadınlar arasında en sık görülen dördüncü malignitedir. Tanıdaki ortalanca yaş 63'tür ve kadınların %75'i postmenopozal dönemde tanı almaktadır. Geriye kalan %25'i premenopozal dönemde, %5-10'u 40 yaşın altında teşhis edilmektedir (56). Çalışmamızda proliferatif endometriumlarda yaş ortalaması 45 iken, endometrial kanserli hastaların yaş ortalaması 60'tır. Bu gruptaki hastaların 15'i postmenopozal, 5'i premenopozal dönemdedir. Endometrial karsinoma doğru yaş ortalamaları artmıştır. Yaş endometrium kanseri için bilinen en önemli risk faktörüdür. Lachance ve ark.'larının endometrial kanserli hastalarda yaşın klinik/patolojik özellikler, cerrahi morbidite ve sonuç üzerine etkilerini gösterdiği çalışmasında genç ve yaşlı popülasyonlar arasında histopatoloji açısından farklılıklar olduğu bulunmuştur. Yaşlı kadınların genç kadınlara göre berrak hücreli ve papiller seröz histolojiye sahip olma olasılıkları daha yüksek saptanmıştır (56).

Hag-Yahia ve ark.'nın İsrail'de endometrial kanserli kadınlarda yaşlılığın sonuçla ilişkisini değerlendirdiği kohort çalışmasında 80 yaşın üzerindeki kadınlarda 5 yıl içinde daha yüksek risk ve ölüm oranları ile daha düşük sağkalım oranları görülmüştür. İleri yaş, yüksek oranda komorbiditeyle orantılı bulunmuştur (57).

Endometrium kanseri risk faktörleri arasında nulliparite, geç menopoz yaşı (50 yaşından sonra), diabetes mellitus, hipertansiyon, obezite, VKİ, erken menarş, etnik köken ve ailede endometrial kanser öyküsü sayılabilir. Hamilelik, hormon seviyelerinde ve dengede büyük değişikliklere neden olur. Bu nedenle, gebelikte kadınların östrojen düzeylerinin azalması nedeniyle nullipar kadınlara kıyasla endometrial kanser gelişme riski daha düşüktür. Artan doğum sayısı endometrial kanser gelişimi üzerinde koruyucu bir etkiye sahiptir (58). Çalışmamızda tüm hastaların doğum sayısı ortalamaları 3,2'dir. Gruplar arasında doğum sayısı açısından anlamlı fark bulunmamıştır. Bu durumun, gruplardaki hasta sayısının azlığından kaynaklı olabileceği düşünülmüştür. Multipar kadınlarda endometrial kanser insidansında nullipar kadınlara göre azalma olduğuna dair çalışmalar mevcuttur (59,60).

Obezite, endometrial kanser için bilinen bir risk faktörüdür ve obez kadınlar 2-5 kat daha yüksek endometrial kanser insidansına sahiptir. Secord ve ark.'nın yaptığı bir meta analizde obez endometrial kanser hastalarında tüm nedenlere bağlı ölüm riskinin açık bir şekilde arttığı gösterilmiştir; tüm nedenlere bağlı mortalite oranları, artan VKİ ile anlamlı olarak artmış ve ölüm riski en yüksek olan kadınlar, sınıf III obeziteden muzdarip olanlar veya sırasıyla VKİ ≥ 40 veya ≥ 50 olarak tanımlanan morbid veya süpermorbid obez hastalardır (61). Bizim çalışmamızda proliferatif endometriumlarda VKİ ortalaması 26,3 iken; endometrial kanser olgularında 31,8'dir. Gruplar arası VKİ değerleri karşılaştırıldığında endometrial adenokarsinom ile diğer üç grup arasında anlamlı fark bulunmuştur.

Sigara içimi, erken yaşta menopoz ve düşük VKİ gibi endojen östrojen konsantrasyonları ile ilişkili olduğu bilinen faktörler ile ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle, sigara içmenin antiöstrojenik etkiler uygulayarak veya endojen östrojen seviyelerini değiştirerek daha düşük endometrial kanser riski ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür. Birçok vaka kontrol çalışması, sigara içimi ile endometrial kanser riski arasında zayıf ve orta derecede ters ilişki olduğunu göstermiştir. Postmenopozal kadınlarda tütün içimi ile endometrial kanser riskinin azaldığını ve premenopozal kadınlarda artmış risk olduğunu saptayan çalışmalar mevcuttur (62). Bizim çalışmamızda vaka sayısı az olduğundan dolayı sigaranın gruplar arası karşılaştırılması ve moleküllerin ekspresyonlarıyla karşılaştırılması yapılmamıştır.

Uzun süreli oral kontraseptif kullanımı ile kanser arasındaki ilişki birçok çalışmada araştırılmıştır. Çalışmalar çok heterojen olmasına rağmen, OKS kullanan kadınlarda hiç kullanmayanlara kıyasla endometrial kanser insidansında önemli bir azalma gözlenmiştir. Endometrial kanser riskinin devamlı OKS kullanan kadınlarda hiç kullanmayanlara göre önemli ölçüde daha düşük olduğu belirtilmiştir. Endometrial kanser riskinin azalmasının, OKS'lerin daha uzun süre kullanılmasıyla artmış olduğu sonucuna varılmıştır. Sonuç olarak, şimdiye kadar OKS kullanan kadınlarda endometrial kanser riski anlamlı derecede düşüktür. Bu etki, OKS alımını kestikten sonra en az 30 yıl devam etmekte ve daha uzun bir OKS kullanım süresi ile artmaktadır. OKS'lerde kullanılan sentetik progesteronların doğrudan anti-östrojenik

etkilerine ek olarak, OKS kullanımı endometrial kanser için bilinen risk faktörlerinin östrojenik etkilerini de azaltabilir (63). Çalışmamızda OKS kullananların 5-hmC ortalamaları kullanmayanlara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Literatürde endometrioid kanserlerde OKS kullanımıyla 5-hmC ekspresyonunun ilişkisini araştıran çalışmaya rastlanmamıştır.

Sood ve ark., 210 kadından oluşan retrospektif bir makale yayınlamış ve CA125 seviyesinin U/ml'nin üzerinde olmasının ekstrauterin hastalığı kuvvetle öngördüğünü ve endometrial kanserli hastalarda hastalıktan ölümün en güçlü belirleyicisi olduğunu saptamışlardır. Son çalışmalar, endometrial karsinomda 20 U/ml'lik bir CA 125 eşik değeri seviyesinin, over kanserinde kullanılan geleneksel 35 U/ml seviyesinden daha uygun olabileceğini öne sürmüştür. 20 U/ml eşik değeri seviyesi, endometrial kanserli kadınlar üzerindeki klinik verilerden elde edilmiştir ve bu seviyenin hastalığın varlığını öngörmeye daha hassas olabileceği saptanmıştır. Dr. Dotters çalışmasında, endometrial karsinomda, epitelyal over kanserinde yaygın olarak kullanıldığı gibi, 35 U / ml'nin aksine, ≥ 20 U / ml'lik bir eşik CA 125 seviyesinin, öngörü duyarlılığını arttırdığını gözlemlemiştir. Bununla birlikte, yüksek CA 125 seviyelerinin lenfadenektomi ihtiyacını öngören bir veya daha fazla faktörün varlığı ile korele olduğu belirlenmiştir. Tüm hasta grubu değerlendirildiğinde, tek başına >20 U/ml'lik bir CA 125 seviyesi, hastaların %70'inde lenfadenektomi ihtiyacını doğru bir şekilde öngörmüştür (64). Birçok çalışma endometrial kanserli hastalarda serum CA125 konsantrasyonlarının derin myometrial invazyon, ekstrauterin yayılım, pozitif periton sitolojisi, lenf nodu metastazı, nüks, ileri evre ve sağkalımın azalması ile ilişkili olduğunu doğrulamıştır (65). Çalışmamızda gruplar arası CA125 düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmamış olup, gruplardaki hasta sayısı azlığı nedeniyle net ve anlamlı değerlendirme yapılması mümkün olmamıştır.

TVUS endometrial patolojiyi değerlendirmek ve erken endometrial kanseri teşhis etmek için yararlıdır. Spesifik semptomları olmayan hastalarda bu durumların erken saptanması olumlu hasta sonuçlarına neden olabilir. Birçok çalışma, endometrial kanser için ilk tarama yöntemi olarak TVUS'un kullanımını doğrulamıştır. Vajinal kanaması olan postmenopozal kadınlar için ≥ 5 mm endometrial kalınlık eşik değeri olarak görülür. Kanamasız postmenopozal kadınlarda normal ile malign patolojiyi ayıran EK eşiği konusunda kesin bir fikir birliği yoktur (66,67). Smith-Bindman ve

ark. postmenopozal kadınların incelendiği bir kohort çalışmada endometrial kalınlığı (EK) ≥ 11 mm olan asemptomatik kadınların endometrial kanser riskinin; kanamalı ve EK ≥ 5 mm olan kadınlar ile benzer olduğu sonucuna varmıştır. Bu durum asemptomatik postmenopozal ve ≥ 11 mm EK olan kadınlarda endometrial örnekleme önerilmesi gerektiğini düşündürmüştür (68). Çalışmamızda endometrial kansere doğru EK değeri yüksek olup bu durum literatür ile uyumludur.

Kromatin yapısında değişiklik ve transkripsiyonel aktivite ile sonuçlanan epigenetik modifikasyon, gen ekspresyonunu kontrol eder ve bu nedenle adet döngüsü boyunca meydana gelen endometriumdaki fonksiyonel değişiklikleri kontrol edebilir (69). Epigenetik mekanizmalar, hem normal hem de patolojik koşullarda endometrial gen ekspresyonunu düzenlemeye etki eder ve trofoblast göçü ve invazyonuna katılır. Epigenetik mekanizmaların, özellikle DNA metilasyonunun, implantasyon ve gebelikte rol oynayan genleri düzenlediği bilinmesine rağmen, embriyo implantasyonu bağlamında epigenetik mekanizmaların rolü keşfedilmemiş bir alan olmaya devam etmektedir. Yapılan çalışmalar DNMT1 düzeyinin adet döngüsü boyunca değişmediğini göstermektedir. Buna karşılık, DNMT3A erken ve geç sekresyon fazlarında anlamlı derecede değişken ekspresyon göstermiş ve DNMT3B transkripsiyonu proliferatif faza kıyasla erken, orta ve geç sekresyon fazlarında anlamlı derecede daha az bulunmuştur. Bununla birlikte, adet döngüsü boyunca üç DNMT'den herhangi biri için protein ekspresyonunda anlamlı bir değişiklik olmamıştır (70–72). Çalışmalarda hem derece 1 hem de derece 3 endometrial karsinomların normal endometrial dokuya göre anlamlı derecede daha yüksek DNMT3B eksprese ettiği saptanmıştır. Endometrioid karsinomların aksine, seröz kanserler daha düşük DNMT1 ve DNMT3B ekspresyonu göstermiş, sırasıyla DNMT1 ve DNMT3B mRNA seviyelerinde 4 ve 2 kat azalma gözlenmiştir (73,74).

DNA'da sitozinin 5. pozisyonunda metilasyonu ile oluşan 5-mC çeşitli biyolojik ve patolojik süreçlerde önemli roller oynayan önemli bir epigenetik belirteç olarak ortaya çıkmıştır. 5-mC, ten-eleven translokasyon (TET) ailesi proteinleri ile 5-hmC'ye dönüştürülebilir (75). Nispeten sabit 5-mC seviyesine kıyasla, 5-hmC farklı hücre ve doku tipleri arasında daha fazla değişkenlik gösterir.(76) Beyin, diğer organlara göre 5-hmc'nin çok daha yüksek bir kısmına sahiptir. Kudo ve ark., kolon, karaciğer, beyin, böbrek, iskelet kası ve akciğer dahil olmak üzere normal doku ve

tümörlerde 5-hmC immün boyaması çalışmış ve tümörlerde normal dokulara kıyasla 5-hmC neredeyse hiç boyanmamıştır. Bu da, 5-hmC kaybının tümörlü dokularda yaygın olduğunu düşündürmüştür (77). 5-hmC seviyesi kanserlerde tümör diferansiasyonu ve DSÖ derecesiyle ilişkilidir, 5-hmC azalması kanser hücrelerinin tümör baskılanmasından ve apopitozdan kaçmasına yardımcı olur. 5-hmC'nin DNMT1'i bloke ederek DNA metilasyonunu önlediği gösterilmiştir (75).

5-mC, kanserlerin başlaması, ilerlemesi, histolojik derecesi veya kötü prognozu ile korele olup olmadığını incelemek için araştırılmıştır. Bununla birlikte, 5-hmC'nin insan kanserindeki biyolojik önemi hala zor anlaşılmaktadır. 5-mC'yi 5-hmC'ye dönüştürebilen TET proteinlerinin keşfi, bu epigenetik araştırma alanına büyük bir atılım sağlayabilir.

Liu ve ark., normal endometrium, premalign endometrial lezyonlar ve endometrial kanserin ayırıcı tanısında TET1, 5-mC ve 5-hmC'nin immünohistokimyasal değerlendirmesinin biyobelirteç olarak yararlılığını değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada TET1 ve 5-hmC ekspresyonunun normal ve premalign endometrial lezyonlarda daha yüksek olduğu ve endometrial karsinomlarda azaldığı bulunmuştur. Ayrıca, 5-mC ifadesi ters eğilim göstermiş, endometrial karsinom örneklerinde normal ve premalign endometrial lezyonlara göre daha yüksek 5-mC ekspresyonu gözlenmiştir. Bu bulgu, TET1, 5-hmC ve 5-mC'nin premalign endometrial lezyonların endometrial karsinoma ilerlemesinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Endometrial karsinomlarda TET1, 5-hmC ve 5-mC ekspresyon profillerinin tümör FIGO evresi, tümör histolojik tipi ve nükleer derece dahil olmak üzere çeşitli faktörlerle korele olduğu bulunmuştur. Ayrıca, çeşitli kanserleri baskıladığı bilinen TET1'in, malign ve premalign endometrial lezyonların ayırıcı tanısında yararlı bir biyobelirteç olabileceğini ve endometrial kanserli hastalar için önemli bir prognostik faktör gibi görüldüğü belirtilmiştir (78). İbrahim ve ark., proliferatif endometrium ve endometrioid tip endometrial adenokarsinomları içeren 60 vakalık bir çalışmada immünohistokimyasal olarak 5-hmC ekspresyonunu değerlendirmiştir. Endometrioid tip endometrial adenokarsinom vakalarında proliferatif endometrium vakalarına kıyasla 5-hmC kaybı anlamlı olarak fazla saptanmıştır (79). Bizim çalışmamızda da proliferatif endometriumdan endometrial kansere doğru 5-hmC ekspresyonu anlamlı olarak azalmış olup bu bulgu literatür ile

uyumludur. Histolojik derece, lenfovasküler invazyon, myometrial invazyon derinliği gibi histolojik parametreler arasında 5-hmC ekspresyonu açısından anlamlı fark görülmemiştir.

Navarro ve ark., çalışmalarında insan leiomyomunda 5-hmC ve TET proteinlerinin rolünü karakterize etmişler; şimdiye kadar incelenen tüm malign tümörlerin aksine, leiomyom DNA'sının normal myometrial dokuya göre daha yüksek 5-hmC seviyeleri içerdiğini ve bunun leiomyomda normal myometrial dokuya kıyasla daha yüksek TET1 ve TET3 seviyelerine bağlı olduğunu keşfetmişlerdir. Bu bulgularla tutarlı olarak, uterin malign bir tümör olan leiomyosarkomlarda, normal myometrial dokuya kıyasla TET1 ve TET3 protein seviyelerinin yanı sıra 5-hmC seviyelerinin anlamlı derecede düşük olduğunu göstermişlerdir (80).

DNA metilasyonu sürecinde rol oynayan TET, 5-mC ve 5-hmC molekülleri birçok farklı tümör tipinde değerlendirilmiştir. Zhang ve ark.'nın 130 epitelyal ovaryan kanser ve 40 normal over dokusunda 5-mC, 5-hmC ve TET2'yi immünohistokimyasal olarak değerlendirdiği çalışmalarında kanserli dokuda normal over dokusuna kıyasla 5-hmC ve TET2 ekspresyonunda anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür. Buna karşılık, ovaryan kanserde normal over dokularına kıyasla 5-mC ekspresyonunda anlamlı bir artış izlenmiştir. 5-hmC, 5-mC ve TET2 ekspresyonu patolojik evre, tümör derecelendirmesi, lenf nodu metastazı ve vasküler tromboz ile korele bulunmuştur. Ayrıca, azalmış 5-hmC seviyesi, epitelyal ovaryan kanser hastalarının kötü prognozunu öngörmüştür. 5-hmC ekspresyonu, kanser hastalarının genel sağkalımı için bağımsız bir prognostik faktördür (81). Bizim çalışmamızda tümör histolojik derecesi ile 5-hmC düzeyi arasında anlamlı ilişki saptanmamış olup bunun vaka sayısı azlığından kaynaklı olabileceği düşünülmüştür.

Servikal skuamöz hücreli karsinom ve normal serviks dokusunun 5-hmC, 5-mC ve TET2'nin immünohistokimyasal olarak karşılaştırıldığı çalışmalar da mevcuttur. Kanserli grupta 5-hmC ve TET2 ekspresyonu normal serviks dokusuna oranla azalmış olup, 5-mC ekspresyonu ise artmıştır (82). Liao ve ark. ise, küratif rezeksiyon uygulanan 208 küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) hastasında tümör ve komşu normal akciğer dokusunda 5-hmC düzeyini immünohistokimyasal ve dot-blot analizi ile karşılaştırmıştır. Kanserli dokuda 5-hmC düzeyi önemli ölçüde

düşük çıkmıştır. KHDAK hastalarında 5-hmC ile klinikopatolojik özellikler arasındaki ilişkiyi ve 5-hmC düzeyinin prognostik önemini de araştırmışlardır. Çalışmada 5-hmC düzeyi ile lenf nodu metastazı, histolojik tip ve tümör boyutu arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. 5-hmC düzeyi düşük olan hastaların 5 yıllık genel sağkalım oranının azaldığı gösterilmiştir. Bu çalışmada, hastaların genel sağkalımında 5-hmC düzeyinin bağımsız prognostik faktör olarak tanımlandığı belirtilmektedir (83). Bizim çalışmamızda endometrial kanserli hastaların yalnızca bir kısmında lenf nodu diseksiyonu yapıldığından dolayı lenf nodu metastazı durumunu karşılaştıramadık.

5-hmC düzeyini immünohistokimyasal veya doku mikroarray yöntemi ile melanositik lezyonlarda karşılaştıran birçok çalışma mevcuttur (84–87). Bu çalışmalardan biri Rodic ve ark.'nın yaptığı nevüs, primer melanom ve metastatik melanomu içeren 171 adet melanositik lezyonu içeren kohort çalışmasıdır ve bu çalışmada nevüslerin tamamı 5-hmC ile boyanırken melanomların yalnızca bir kısmı boyanmıştır. Primer ve metastatik melanom olguları karşılaştırıldığında 5-hmC immünohistokimyasal boyama skoru arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir (85). Benign nevüs, displastik nevüs, atipik Spitz nevüs, borderline tümör ve melanom vakalarının değerlendirildiği başka bir çalışmada ise; benign dermal nevüslerden yüksek dereceli displastik nevüslere, borderline melanositik neoplazmlardan melanoma progresif 5-hmC kaybı gözlenmiştir (86). Benign melanositik nevüs, primer kutanöz melanom, melanomun lenf nodu metastazı ve viseral metastaz dokularında 5-hmC'nin incelendiği bir çalışmada da, primer melanomlarda ve metastatik melanomlarda nevüslere kıyasla anlamlı 5-hmC kaybı izlenmiştir. Melanomlarda benign nevüslere kıyasla anlamlı 5-hmC kaybı ve viseral metastazlara kıyasla nodal metastazlarda da kayıp tespit edilmiştir (87).

Özofagus skuamöz hücreli karsinomu ve normal özofagus epitelindeki ekspresyonun karşılaştırıldığı bir çalışmada 5-hmC ekspresyonu tümörlü dokuda daha düşük bulunmuştur (88). Papiller tiroid karsinomu ve nodüler guatri kapsayan bir diğer çalışmada da aynı şekilde 5-hmC düzeyi kanserli dokuda düşük bulunurken, 5-mC düzeyi farklılık göstermemiştir (89).

Hastaların yaklaşık %6'sında TET2 mutasyonu bulunan renal hücreli karsinom ile normal böbrek dokusunun karşılaştırılmasında 5-mC düzeyinde kayıp yokken 5-hmC düzeyinde anlamlı kayıp izlenmiştir. 5-hmC düzeyi daha yüksek olan hastaların, 5-hmC düzeyi daha düşük olan hastalardan anlamlı olarak daha uzun genel sağkalıma sahip olduğunu ortaya koymuşlardır (90).

Orr ve ark., 225 hastalık bir seride beyin tümörlerinde, düşük dereceli tümörlerde 5-hmC düzeylerini yüksek ve glioblastomda düşük tespit etmiş, düşük 5-hmC seviyeleri ile glioblastomda sağkalımın azalması arasında anlamlı bir ilişki tespit etmiştir (91).

Malign mezotelyoma ve benign mezotelyal proliferasyonların karşılaştırıldığı başka bir çalışmada 5-hmC kaybı malign dokularda benign dokulara oranla fazla saptanmıştır (92). Sharma ve ark., 60 adet pankreatik nöroendokrin tümörü içeren kohort çalışmalarında agresif biyolojik davranışa sahip PanNET'lerde 5-hmC ekspresyon kaybı görülmüş; bu kayıp uzak metastazların varlığı, yüksek Ki-67 proliferasyon indeksi ve daha yüksek bir T evresine karşılık gelen artan tümör büyüklüğü ile anlamlı şekilde ilişkili bulunmuştur (93).

5-hmC eksikliğinin endometrial hiperplazi veya EİN gibi endometrial neoplazi spektrumundaki rolünü ve endometrioid tip endometrial adenokarsinomlu hastalarda tümör davranışı, tedaviye yanıt ve hasta sağkalımı ile ilişkisini daha da karakterize etmek için daha büyük bir hasta kohortu ile ek çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Histon asetilasyonu ve deasetilasyonunda anahtar rol oynayan HDAC6 molekülünün ekspresyonu normal kalp, karaciğer, böbrek, testis, beyin ve pankreasta gözlenmiştir. HDAC6, onkogenik hücre transformasyonu, kanser hücresi göçü ve invazyonu gibi çeşitli yollarla karsinogenez ve gelişim sürecine katılabilir. Bazı çalışmalar mesane kanseri, malign melanom ve akciğer kanserinde HDAC6'nın aşırı ekspresyonunu bildirmiştir (94,95).

HDAC6 hem sitoplazmik hem de nükleer fonksiyonlar için önemlidir. Diğer deasetilazların aksine; HDAC6, histon olmayan proteinler için benzersiz substrat özgüllüğüne sahiptir. HDAC6'nın bu kadar çeşitli işlevleri, çok çeşitli hastalıkların tedavisi için potansiyel bir terapötik hedefe sahip olduğunu göstermektedir.

HDAC6'ya olan bu terapötik ilgi, HDAC6'nın çeşitli kanserlerde, nörodejeneratif hastalıklarda ve inflamatuvar bozukluklarda aşırı eksprese edilebileceği veya deregüle edilebileceği gözleminden kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte, kapsamlı çalışmalara rağmen, çok az sayıda HDAC6 seçici inhibitörü tanımlanmıştır ve kesin yapısal belirleyiciler tanımlanmamıştır.

HDAC6'nın histon ve histon olmayan substratlarla (α -tubulin, HSP90 ve kortaktin gibi) etkileşimi; gen transkripsiyonunda, DNA hasar onarımında ve hücre göçünde rol oynar. HDAC6'nın ekspresyon seviyesi değişikliği veya aktivite artışı, onkojenik hücre transformasyonuna ve tümör hücresi proliferasyonuna, invazyona, metastaza ve mitozaya yol açabilir. Tüm bu sonuçlar, HDAC6 inhibitörlerinin klinik olarak uygulanması için teorik temeli sağlar (94).

Zheng ve ark., endometrial kanserli hastalarda yaptıkları çalışmalarında endometrium kanser örneklerinde HDAC6 ekspresyonunu araştırmış ve bu molekülün hücre proliferasyon ve migrasyonunu artırdığını göstermişlerdir. Ayrıca, miR-206'nın (MikroRNA-206) HDAC6'ya doğrudan bağlanabileceğini ve HDAC6 ekspresyonunu PTEN / AKT / MTOR yolu ile azaltarak endometrium kanserinin ilerlemesini önlediğini tespit etmişlerdir. HDAC6'nın ekspresyonu kanser dokusunda normal dokuya oranla anlamlı derecede yüksek saptanmıştır. Ayrıca, HDAC6'nın esas olarak sitoplazmada eksprese edildiğini ve tümör derecesinin artmasıyla boyama yoğunluğunun arttığı gösterilmiştir. miR-206'nın azalması ve HDAC6'nın artması endometrial kanserde tanımlanmış ve bunun kötü prognozu öngördüğü sonucuna varılmıştır (96). Bizim çalışmamızda ise HDAC6 ekspresyonu endometrial kanser vakalarında belirgin olarak düşük saptanmıştır.

Meme kanserli 135 kadın hastada HDAC6 mRNA ekspresyon düzeyinin PCR ile analiz edildiği ve aynı zamanda immünohistokimyasal olarak incelendiği bir çalışmada HDAC6 ekspresyonu ile çeşitli klinikopatolojik faktörler arasında ilişki aranmıştır. HDAC6 mRNA, 2 cm'den küçük tümörlü, histolojik derecesi düşük meme kanser vakalarında, östrojen reseptörü ve progesteron reseptörü pozitif tümörlerde anlamlı derecede yüksek seviyelerde eksprese edilmiştir. Buna karşılık, HDAC6 mRNA ekspresyonu ile yaş, menopoz durumu ve aksiller lenf nodu tutulumu gibi diğer klinikopatolojik faktörler arasında ilişki bulunmamıştır. Yüksek düzeyde

HDAC6 mRNA ve proteini eksprese eden hastalar, hastaliksız sađkalım ađısından dűşűk dűzeyde HDAC6 mRNA ve proteini eksprese eden hastalara gűre daha iyi prognoza sahiptir. Postmenopozal hastalarda HDAC6 protein ekspresyonu daha yűksek olmasına rađmen, protein ekspresyonu ile diđer klinikopatolojik faktűrler arasında iliřki yoktur (95). Bizim alıřmamızda HDAC6 ile kanser histolojik dereceleri arasında anlamlı iliřki saptanmamıř olup; bu durumun vaka sayısı yetersizliđi ile ilgili olduđu dűřűnűlműřtir. Tűm gruplardaki hastalarda premenopozal dűnemdeki hastaların HDAC6 ekspresyon dűzeyi postmenopozal dűnemdeki hastalara gűre anlamlı yűksek saptanmıřtır. Aynı zamanda yař arttıkça HDAC6 ekspresyonu ise anlamlı dűřűk saptanmıřtır.

HDAC6'nın jinekolojik malignitelerde onkolojik rolű detaylı olarak incelenmiřtir. Ahlam ve ark., 3573 over tűműrűnde HDAC6 gen ekspresyonu ile sađkalım arasındaki korelasyonun incelendiđi meta analizde, yűksek HDAC6 gen ekspresyonunun azalmıř űlűm riski ile iliřkili olduđunu gűstermiřtir. Dűřűk HDAC6 ekspresyonunun over kanserinde daha kűtű sađkalım ile iliřkili olduđu, HDAC6'nın farmakolojik inhibisyonunun ise yűksek dereceli serűz over kanser hűcrelerinin bűyűmesini yavařlattıđı gűrűlműřtir (97). Yűksek HDAC6 ekspresyonunun, ARID1A kaybı içeren ovaryan řeffaf hűcreli karsinom hastalarında kűtű prognoz ile iliřkili olduđunu gűsteren çalıřmalar da mevcuttur. Bu tip kanserlerde ARID1A kaybı durumunda HDAC6 umut verici bir terapűtik hedef olarak kullanılabilir (98).

HDAC6'nın HPV pozitif serviks kanserindeki rolűnű ve ilgili molekűlleri arařtıran bir çalıřmada, HPV'nin serviks kanserinde HDAC6 ekspresyonunu artırdıđı saptanmıřtır. HDAC6 ekspresyonunun azalması, HPV pozitif skuaműz hűcreli karsinom hűcrelerinin proliferasyonunu, gűűnű, invazyonu ve apoptozu direncini baskılar; tűműr bűyűmesinin inhibe eder (99).

Oral skuaműz hűcreli karsinom ve normal oral keratinositlerde HDAC6 ekspresyonunu karřılařtıran bařka bir çalıřmada ise, kanserli dokuda HDAC6 ekspresyonunun arttıđı gűrűlműřtir. Ayrıca HDAC6 ekspresyon seviyeleri, primer oral skuaműz hűcreli kanserde erken evre ve ileri evre tűműrler arasında farklı olup; ileri evrelerde HDAC6 ekspresyonu yűksek saptanmıřtır (100). Çalıřmamızda yeterli klinik takip ve veri bulunmamasından űtűrű hastalık klinik evreleriyle ilgili karřılařtırma yapılamamıřtır.

Cerrahi rezeksiyon yapılmış primer özofagus skuamöz hücreli karsinomu ve metastatik lenf nodlarını içeren 209 hastada yapılan çalışmada HDAC6 ekspresyonu metastatik lenf nodunda primer tümörden anlamlı olarak düşük bulunmuş, primer tümörde HDAC6 ekspresyon seviyeleri prognostik olarak anlamlı bulunmamıştır (101). Çalışmamızda vaka azlığından ötürü lenf nodu durumu ile karşılaştırma yapılamamıştır.

Kanno ve ark., 70 primer hepatosellüler karsinom hastasında hepatosellüler karsinom invazyon ve metastaz aktivitelerinde HDAC6'nın önemini araştırmışlardır. Vakaların %20'sinde normal hepatositlere oranla kanserli dokuda HDAC6 ekspresyonunu daha yüksek bulmuşlardır. Artmış ekspresyon; ileri klinik evre, tümör sayısı, vasküler invazyon ve intrahepatik metastaz ile anlamlı korelasyon göstermiştir (102).

HDAC inhibitörleri (HDACİ) kanser hücresi proliferasyonunu inhibe eder, apoptozu uyarır ve hücre döngüsünün durmasını indükler. Trikostatin A (TSA) ve sodyum bütirat (NaB) gibi HDAC inhibitörleri, in vitro ve in vivo kanser hücresi büyümesini inhibe edebilir, onkogene dönüştürülmüş hücre morfolojisini geri döndürebilir, apoptozu indükleyebilir ve hücre farklılaşmasını artırabilir. Bununla birlikte, HDACİ'lerinin endometrial kanserdeki etkisi tam olarak incelenmemiştir. Terao ve ark.'nın yakın tarihli bir çalışması sodyum bütiratın p53 gen durumundan bağımsız olarak, insan endometrial ve over kanseri hücreleri üzerinde önemli bir büyüme baskılayıcı etkiye sahip olduğunu göstermiştir (103). HDAC inhibisyonunun hematolojik malignitelerde özellikle lenfoma, kronik lenfoblastik lösemi ve AML'de önemli terapötik etkilere sahip olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (104).

HDAC inhibisyonu, histon asetilasyonunu artırır ve kromatin yapısını daha açık bir konformasyonda tutar, bu da transkripsiyonel olarak susturulmuş yolların reaktivasyonuna veya anormal şekilde eksprese edilen genlerin baskılanmasına neden olur. Trikostatin A ve Valproik asit (VPA) p21 ekspresyonunu indükleyerek hücre döngüsünü durdurur. TSA, güçlü, spesifik ve geri dönüşümlü bir HDACİ'dir, ancak oldukça zayıf bir biyoyararlanıma sahiptir. VPA ise güçlü bir HDACİ'dir. H3 ve H4 histonlarının hiperasetilasyonu ile hem sınıf I hem de sınıf II HDACİ'leri (HDAC6 ve HDAC10 hariç) inhibe eder. VPA'nın çeşitli kanserlerde güçlü in vitro ve in vivo antiproliferatif etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (105). HDACİ'lerin endometrial

kanser hücrelerinde bir tümör baskılayıcı gen olarak işlev gören E-cadherin ekspresyonunu artırarak da antiproliferatif aktivite sergilediğini gösteren çalışmalar mevcuttur (106).

HDAC inhibitörlerinin iki ana mekanizması vardır: Hücre döngüsü durması, hücre büyümesi inhibisyonu ve apoptoz gibi hücresel fonksiyonları kontrol etmek ve gen transkripsiyonunu düzenleyerek tümör baskılayıcı genlerin ekspresyonunu teşvik etmek. Bugüne kadar romidepsin ve vorinostat gibi antikanser ilaçlar olan bazı HDAC inhibitörleri FDA tarafından diğer maligniteler için onaylanmıştır. HDAC inhibitörlerinin faz I /II'deki klinik çalışmalarının çoğu hematolojik maligniteleri ve diğer kanserler içindir. Endometrial kanser için, HDAC inhibitörlerinden Entinostat ve medroksiprogesteron asetat tedavisinin bir kombinasyonunun etkisini değerlendiren ve faz I'de olan yalnızca bir klinik çalışma vardır. Bir HDAC inhibitörü olan Romidepsin, p53-p21 yolunu aktive ederek endometrial kanser hücrelerinde apoptozu indükler. Entinostat p21 ve p27 ekspresyonunu artırır ve apoptozu destekler. Trichostatin A (TSA) ve apisidin hem hücre büyümesini bastırır hem de endometrial kanser hücrelerinde p21 ekspresyonunu ve apoptozu indükler. Bazı çalışmalar jinekolojik kanserlerde HDAC inhibitörleri ve karboplatin, dosetaksel, gemsitabin, sisplatin, etoposid, doksorubisin ve paklitaksel gibi diğer antikanser ajanların kombinasyonunu araştırmıştır. TSA ve paklitaksel ile kombinasyon tedavisinin endometrial kanserde hücre büyümesini inhibe ettiğini saptamışlardır. HDAC inhibitörlerinin ayrıca endometrial kanser hücrelerinde progesteron reseptörlerinin ekspresyonunu geri kazandırdığı bildirilmiştir. Ayrıca, HDAC inhibitörlerinin endometrial kanser hücrelerinde onkojen myc'yi baskıladığı kanıtlanmıştır. Vorinostat da endometrial kanserde etkilidir. İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF) sisteminin endometrial kanserin karsinogenezi ile ilişkili olduğu ve vorinostatın IGF sinyallerini baskılayarak apoptozu indüklediği bulunmuştur (103,107,108).

DNMT inhibitörleri DNA demetilasyonunu indükler. HDAC inhibitörleri ise histon asetilasyonuna neden olarak susturulmuş genlerin reaktivasyonuna ve kanser hücrelerinde fonksiyonel ve morfolojik değişikliklere neden olur. Kadherin (CDH) 1 promotörünün DNMT inhibitör aracılı demetilasyonu, endometrial kanser

hücrelerinde E-kadherinin regülasyon artışı ile sonuçlanır. Bu kombinasyonun sinerjik bir etkisi vardır ve endometrial kanser için yeni bir tedavi olması muhtemeldir (3).

Epigenetik alanındaki son gelişmeler, genetik açıdan endometrial kanserin patogenezi hakkında değerli bilgiler sağlamıştır. Yeni anlayışlar, endometrial kanserlerin önlenmesi, teşhisi, risk değerlendirmesi ve tedavisinde büyük potansiyele sahiptir. Endometrial kanserde, özellikle tip 2 endometrial kanserde DNA metilasyonunun düzenlenmesi ve işlevi ile ilgili temel sorular cevaplanmaya devam etmektedir. Epigenetik düzenleyici ilaçlar kullanan in vitro çalışmalar umut verici sonuçlar gösterse de, epigenetik modülatörlerin hiçbiri endometrial kanser için klinik çalışmalara girmemiştir ve bu sınırlı sayıdaki araştırmaların daha da geliştirilmesi gerekmektedir. Epigenetik temelli prognostik ve önleyici tedbirler halen başlangıç aşamasındadır. Bununla birlikte epigenetik alanındaki son gelişmeler; daha fazla çalışmanın, endometrial kanserli kadınların tanı ve tedavisini iyileştirmek için yeni stratejiler ve teknolojiler getireceğini göstermektedir (109).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- 5-hmC ortalamaları proliferatif endometrium grubunda 153,2, atipisiz hiperplazide 121,6, atipili hiperplazide 82,1 ve endometrioid karsinomda 83,6 olup; endometrioid karsinomda belirgin ekspresyon kaybı görülmüştür.
- 5-hmC kaybının tümöral dokularda yaygın olduğu sonucuna varılmıştır.
- 5-hmC ekspresyonu açısından proliferatif endometrium ile atipili hiperplazi grupları arasındaki fark ($p=0,002$) ve proliferatif endometrium ile endometrioid adenokarsinom grupları arasındaki fark ($p=0,003$) istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.
- 5-hmC ekspresyonu az diferansiye adenokarsinomlarda, iyi ve orta diferansiye adenokarsinomlara oranla düşük saptandığından dolayı; 5-hmC'nin birçok kanserde olduğu gibi endometrium kanserinde de prognostik önemi olan bir molekül olabileceği düşünülmüştür.
- Endometrioid adenokarsinomun histolojik dereceleriyle 5-hmC ekspresyonu arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p=0,338$). Endometrioid adenokarsinomun histolojik dereceleriyle HDAC6 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p=0,383$).
- Tüm gruplarda premenopozal dönemdeki hastaların 5-hmC ve HDAC6 ortalamaları, postmenopozal dönemdeki hastalardan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bu bağlamda, kandaki ve dokudaki östrojen seviyesiyle 5-hmC ve HDAC6'nın ilişkili olabileceği ve bu konuda daha kapsamlı çalışmalar yapılabileceği sonucuna varılmıştır.
- HDAC6 ortalamaları proliferatif endometrium grubunda 131,5, atipisiz hiperplazilerde 159,5, atipili hiperplazilerde 123 ve endometrioid karsinomlarda 22 olup; endometrioid karsinomlarda belirgin ekspresyon kaybı saptanmıştır.
- Literatür incelemesinde çeşitli kanserlerde HDAC6 ekspresyonunun artmış olmasına rağmen çalışmamızda endometrial kanser dokusunda ekspresyonun azalmış olduğu görülmüştür. Bu bulgu, literatürle uyumlu değildir.
- HDAC6 ekspresyonu açısından endometrioid adenokarsinom ile atipili hiperplazi arasındaki fark ($p=0,002$), endometrioid adenokarsinom ile atipisiz

hiperplazi arasındaki fark ($p \leq 0,001$) ve endometrioid adenokarsinom ile proliferatif endometrium arasındaki fark ($p \leq 0,001$) istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

- Çalışmamızda epigenetik modifikasyonda yer alan 5-hmC ve HDAC6 genlerinin endometrium kanserini prekanseröz lezyonlardan ayırt etmede yararlı olabileceği sonucuna varılmıştır. Ancak bu kapsamda daha yüksek sayılı hasta gruplarında daha detaylı klinik ve patolojik veriler içeren çalışmalar yapılması gerekmektedir.
- HDAC inhibitörlerinin endometrium kanserinde kullanımı ve diğer antikanser ilaçlarla kombinasyonu endometrium kanserinde umut vericidir. Bu süreci aydınlatan ve hedefe yönelik, daha yüksek vaka sayılı klinik ve patolojik çalışmalar gerekmektedir.
- Epigenetik alanındaki son gelişmeler, genetik açıdan endometrial kanserin patogenezi hakkında değerli bilgiler sağlamıştır. Yeni anlayışlar, endometrial kanserlerin önlenmesi, teşhisi, risk değerlendirmesi ve tedavisinde büyük potansiyele sahiptir.

7. KAYNAKÇA

1. Board TWC of TE. WHO Classification of Tumours, Female Genital Tumours. 5th ed. 2020.
2. Colombo N, Creutzberg C, Amant F, Bosse T, González-Martín A, Ledermann J, et al. ESMO-ESGO-ESTRO Consensus Conference on Endometrial Cancer: Diagnosis, Treatment and Follow-up. *Int J Gynecol Cancer*. 2016 Jan;26(1):2–30.
3. Yanokura M, Banno K, Kobayashi Y, Nomura H, Hayashi S, Tominaga E, et al. Recent findings on epigenetic gene abnormalities involved in uterine cancer. *Mol Clin Oncol*. 2017 Nov;7(5):733–7.
4. Garmpis N, Damaskos C, Garmpi A, Spartalis E, Kalampokas E, Kalampokas T, et al. Targeting histone deacetylases in endometrial cancer: A paradigm-shifting therapeutic strategy? *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2018;22(4):950–60.
5. Yi T-Z, Li J, Han X, Guo J, Qu Q, Guo L, et al. DNMT Inhibitors and HDAC Inhibitors Regulate E-Cadherin and Bcl-2 Expression in Endometrial Carcinoma in vitro and in vivo. *Chemotherapy*. 2012;58(1):19–29.
6. Tokmak A, Sarıkaya E. Mülleryan Kanal Anomalileri. *Jinekoloji-Obstetrik ve Neonatoloji Tıp Derg*. 2015;12(2):83–8.
7. Robert J. Kurman, Lora Hedrick Ellenson BMR, editor. Blaustein’s Pathology of the Female Genital Tract. In: Blaustein’s Pathology of the Female Genital Tract. 7th ed. 2019. p. 375–439.
8. John R. Goldblum; Jesse K. McKenney; Laura W. Lamps; Jeffrey L. Myers. Rosai and Ackerman’s Surgical Pathology. In: 11. Philadelphia; 2018. p. 1294–355.
9. Ellis H. Anatomy of the uterus. *Anaesth Intensive Care Med*. 2011 Mar;12(3):99–101.
10. Morton DA, Peterson KD, Albertine KH M DA. Gray’s dissection guide for

human anatomy. Philadelphia: Churchill Livingstone/Elsevier,; 2007.

11. Wojciech Pawlina. Histology A Text and Atlas with Correlated Cell and Molecular Biology. In: 7th ed. 2016. p. 1003.
12. Jeong JY, Hwang SO, Lee B, Kim K, Kim YB, Park SH, et al. Risk factors of progression to endometrial cancer in women with endometrial hyperplasia: A retrospective cohort study. Raimondo D, editor. PLoS One. 2020 Dec 1;15(12):e0243064.
13. Hui LS, Chin SHM, Goh C, Hui LX, Mathur M, Kuei TLY, et al. Non-atypical endometrial hyperplasia: risk factors for occult endometrial atypia and malignancy in patients managed with hysterectomy. Obstet Gynecol Sci. 2021;1–9.
14. Lacey J V., Chia VM. Endometrial hyperplasia and the risk of progression to carcinoma. Maturitas. 2009;63(1):39–44.
15. Mazur MT. Endometrial hyperplasia/adenocarcinoma. A conventional approach. Ann Diagn Pathol. 2005 Jun;9(3):174–81.
16. Wilson PC, Buza N, Hui P. Progression of endometrial hyperplasia: A revisit under the 2014 WHO classifications. Int J Clin Exp Pathol. 2016;9(2):1617–25.
17. Mutter GL, Zaino RJ, Baak JPA, Bentley RC, Robboy SJ. Benign Endometrial Hyperplasia Sequence and Endometrial Intraepithelial Neoplasia. Int J Gynecol Pathol. 2007 Apr;26(2):103–14.
18. Travaglini A, Raffone A, Saccone G, Mascolo M, Guida M, Mollo A, et al. Congruence between 1994 WHO classification of endometrial hyperplasia and endometrial intraepithelial neoplasia system. Am J Clin Pathol. 2020;153(1):40–8.
19. Baak JPA, Mutter GL. EIN and WHO94. J Clin Pathol. 2005;58(1):1–6.
20. Baak J, Mutter G, Robboy S, Diest P, Uytendaele A, Ørbo A, et al. In endometrial hyperplasias, the molecular-genetics and morphometry-based EIN classification more accurately predicts cancer-progression than the WHO94.

- Bone. 2005;23(1):1–7.
21. Wheeler DT. Endometrial intraepithelial neoplasia. *Adv Anat Pathol*. 2005;11(4):221.
 22. Nicolas M. Monte, Kaitlyn A. Webster, Donna Neuberg, Gregory R. Dressler and GLM. Joint loss of PAX2 and PTEN expression in endometrial precancers and cancer. *Bone*. 2010;70(15):6225–32.
 23. Raffone A, Travaglini A, Saccone G, Mollo A, De Placido G, Insabato L, et al. Should progesterone and estrogen receptors be assessed for predicting the response to conservative treatment of endometrial hyperplasia and cancer? A systematic review and meta-analysis. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2019;98(8):976–87.
 24. Miller KD, Goding Sauer A, Ortiz AP, Fedewa SA, Pinheiro PS, Tortolero-Luna G, et al. Cancer Statistics for Hispanics/Latinos, 2018. *CA Cancer J Clin*. 2018;68(6):425–45.
 25. Amant F, Mirza MR, Koskas M, Creutzberg CL. Cancer of the corpus uteri. *Int J Gynecol Obstet*. 2018;143:37–50.
 26. https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/istatistik/Turkiye_Kanser_Istatistikleri_2017.pdf. 2017.
 27. Colombo N, Creutzberg C, Amant F, Bosse T, González-Martín A, Ledermann J, et al. ESMO-ESGO-ESTRO Consensus Conference on Endometrial Cancer: Diagnosis, Treatment and Follow-up. *Int J Gynecol Cancer*. 2016;26(1):2–30.
 28. Amant F, Moerman P, Neven P, Timmerman D, Van Limbergen E, Vergote I. Endometrial cancer. *Lancet*. 2005;366(9484):491–505.
 29. Onstad MA, Schmandt RE, Lu KH. Addressing the role of obesity in endometrial cancer risk, prevention, and treatment. *J Clin Oncol*. 2016;34(35):4225–30.
 30. Barrett-Connor E. Hormone replacement therapy. *bmj*. 1998;317:457–61.
 31. Constantine GD, Kessler G, Graham S, Goldstein SR. Increased incidence of

- endometrial cancer following the women's health initiative: An assessment of risk factors. *J Women's Heal.* 2019;28(2):237–43.
32. Emons G, Mustea A, Tempfer C. Tamoxifen and endometrial cancer: A janus-headed drug. *Cancers (Basel).* 2020;12(9):1–11.
 33. Dörk T, Hillemanns P, Tempfer C, Breu J, Fleisch MC. Genetic susceptibility to endometrial cancer: Risk factors and clinical management. *Cancers (Basel).* 2020;12(9):1–23.
 34. Keum N, Ju W, Lee DH, Ding EL, Hsieh CC, Goodman JE, et al. Leisure-time physical activity and endometrial cancer risk: Dose-response meta-analysis of epidemiological studies. *Int J Cancer.* 2014;135(3):682–94.
 35. Viswanathan AN, Feskanich D, De Vivo I, Hunter DJ, Barbieri RL, Rosner B, et al. Smoking and the risk of endometrial cancer: Results from the nurses' health study. *Int J Cancer.* 2005;114(6):996–1001.
 36. Huvila J, Pors J, Thompson EF, Gilks CB. Endometrial carcinoma: molecular subtypes, precursors and the role of pathology in early diagnosis. *J Pathol.* 2021;253(4):355–65.
 37. Raffone A, Travaglini A, Saccone G, Campanino MR, Mollo A, De Placido G, et al. Loss of PTEN expression as diagnostic marker of endometrial precancer: A systematic review and meta-analysis. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2019;98(3):275–86.
 38. Samarntchai N, Hall K, Yeh I-T. Molecular Profiling of Endometrial Malignancies. *Obstet Gynecol Int.* 2010;2010:1–16.
 39. Richards et al. Molecular Classification and Emerging Targeted Therapy in Endometrial Cancer. *Physiol Behav.* 2018;176(5):139–48.
 40. Colombo N, Preti E, Landoni F, Carinelli S, Colombo A, Marini C, et al. Endometrial cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2013;24(SUPPL.6):33–8.
 41. Zhang L, Kwan SY, Wong KK, Soliman PT, Lu KH, Mok SC. Pathogenesis

- and Clinical Management of Uterine Serous Carcinoma. *Cancers (Basel)*. 2020;12(3):686.
42. Webpathology.com: A Collection of Surgical Pathology Images [Internet]. [cited 2022 Jan 6]. Available from: <https://www.webpathology.com/image.asp?case=569&n=22>
 43. Rungruang B, Olawaiye AB. Comprehensive surgical staging for endometrial cancer. *Rev Obstet Gynecol*. 2012;5(1):28–34.
 44. Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Carcinoma and Carcinosarcoma of the Endometrium. 2020 [cited 2022 Feb 2]; Available from: www.cap.org/cancerprotocols.
 45. Uharček P. Prognostic factors in endometrial carcinoma. *J Obstet Gynaecol Res*. 2008;34(5):776–83.
 46. Hanahan D, Weinberg RA. The Hallmarks of Cancer. *Cell*. 2000;100:57–70.
 47. Pazarbaşı A, Kasap M. Kanser Genetiği. *Arşiv Kaynak Tarama Derg*. 2003;12(4):328–40.
 48. Wang L-H, Wu C-F, Rajasekaran N, Shin YK. Loss of Tumor Suppressor Gene Function in Human Cancer: An Overview. *Cell Physiol Biochem*. 2018;51(6):2647–93.
 49. Inoue F, Sone K, Toyohara Y, Takahashi Y, Kukita A, Hara A, et al. Targeting Epigenetic Regulators for Endometrial Cancer Therapy: Its Molecular Biology and Potential Clinical Applications. *Int J Mol Sci*. 2021;22(5):2305.
 50. Gujral P, Mahajan V, Lissaman AC, Ponnampalam AP. Histone acetylation and the role of histone deacetylases in normal cyclic endometrium. *Reprod Biol Endocrinol*. 2020;18(1):84.
 51. Portela A, Esteller M. Epigenetic modifications and human disease. *Nat Biotechnol*. 2010;28(10):1057–68.
 52. ResearchGate [Internet]. [cited 2022 Jan 6]. Available from: <https://www.researchgate.net/figure/Cytosine-methylation-cycle-Cytosine->

DNA-methylation-5mC-groups-introduced-by-
DNA_fig1_322804676/download

53. Pfeifer GP, Kadam S, Jin S-G. 5-hydroxymethylcytosine and its potential roles in development and cancer. *Epigenetics Chromatin*. 2013;6(1):10.
54. Li W, Liu M. Distribution of 5-Hydroxymethylcytosine in Different Human Tissues. *J Nucleic Acids*. 2011;2011:1–5.
55. Li Y, Shin D, Kwon SH. Histone deacetylase 6 plays a role as a distinct regulator of diverse cellular processes. *FEBS J*. 2012;280(3):775–93.
56. Lachance JA, Everett EN, Greer B, Mandel L, Swisher E, Tamimi H, et al. The effect of age on clinical/pathologic features, surgical morbidity, and outcome in patients with endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2006;101(3):470–5.
57. Hag-Yahia N, Gerner O, Eitan R, Raban O, Vaknin Z, Levy T, et al. Age is an independent predictor of outcome in endometrial cancer patients: An Israeli Gynecology Oncology Group cohort study. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2021;100(3):444–52.
58. Chen Q, Tong M, Guo F, Lau S, Zhao M. Parity Correlates with the Timing of Developing Endometrial Cancer, But Not Subtype of Endometrial Cancer. *J Cancer*. 2015;6(11):1087–92.
59. Raglan O, Kalliala I, Markozannes G, Cividini S, Gunter MJ, Nautiyal J, et al. Risk factors for endometrial cancer: An umbrella review of the literature. *Int J Cancer*. 2019;145(7):1719–30.
60. Wu Q-J, Li Y-Y, Tu C, Zhu J, Qian K-Q, Feng T-B, et al. Parity and endometrial cancer risk: a meta-analysis of epidemiological studies. *Sci Rep*. 2015;5(1):14243.
61. Secord AA, Hasselblad V, Von Gruenigen VE, Gehrig PA, Modesitt SC, Bae-Jump V, et al. Body mass index and mortality in endometrial cancer: A systematic review and meta-analysis. *Gynecol Oncol*. 2016;140(1):184–90.
62. Al-Zoughool M, Dossus L, Kaaks R, Clavel-Chapelon F, Tjønneland A, Olsen

- A, et al. Risk of endometrial cancer in relationship to cigarette smoking: Results from the EPIC study. *Int J Cancer*. 2007;121(12):2741–7.
63. Ignatov A, Ortmann O. Endocrine Risk Factors of Endometrial Cancer: Polycystic Ovary Syndrome, Oral Contraceptives, Infertility, Tamoxifen. *Cancers (Basel)*. 2020;12(7):1766.
 64. Dotters DJ. Preoperative CA 125 in endometrial cancer: Is it useful? *Am J Obstet Gynecol*. 2000;182(6):1328–34.
 65. Jiang T, Huang L, Zhang S. Preoperative serum CA125: a useful marker for surgical management of endometrial cancer. *BMC Cancer*. 2015;15(1):396.
 66. Park YR, Lee SW, Kim Y, Bae IY, Kim H-K, Choe J, et al. Endometrial thickness cut-off value by transvaginal ultrasonography for screening of endometrial pathology in premenopausal and postmenopausal women. *Obstet Gynecol Sci*. 2019;62(6):445.
 67. Chandavarkar U, Kuperman JM, Muderspach LI, Oppel N, Felix JC, Roman L. Endometrial echo complex thickness in postmenopausal endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2013;131(1):109–12.
 68. Alcázar JL, Bonilla L, Marucco J, Padilla AI, Chacón E, Manzour N, et al. Risk of endometrial cancer and endometrial hyperplasia with atypia in asymptomatic postmenopausal women with endometrial thickness ≥ 11 mm: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Ultrasound*. 2018;46(9):565–70.
 69. Munro SK, Farquhar CM, Mitchell MD, Ponnampalam AP. Epigenetic regulation of endometrium during the menstrual cycle. *Mol Hum Reprod*. 2010;16(5):297–310.
 70. Vincent ZL, Farquhar CM, Mitchell MD, Ponnampalam AP. Expression and regulation of DNA methyltransferases in human endometrium. *Fertil Steril*. 2011;95(4):1522–5.
 71. Ghabreau L, Roux J, Niveleau A, Fontanière B, Mahe C, Mokni M, et al. Correlation between the DNA global methylation status and progesterone receptor expression in normal endometrium, endometrioid adenocarcinoma and

- precursors. *Virchows Arch.* 2004;445(2):129–34.
72. Zelenko Z, Aghajanova L, Irwin JC, Giudice LC. Nuclear Receptor, Coregulator Signaling, and Chromatin Remodeling Pathways Suggest Involvement of the Epigenome in the Steroid Hormone Response of Endometrium and Abnormalities in Endometriosis. *Reprod Sci.* 2012;19(2):152–62.
 73. Jin F, Dowdy SC, Xiong Y, Eberhardt NL, Podratz KC, Jiang S-W. Up-regulation of DNA methyltransferase 3B expression in endometrial cancers. *Gynecol Oncol.* 2005;96(2):531–8.
 74. Xiong Y, Dowdy SC, Xue A, Shujuan J, Eberhardt NL, Podratz KC, et al. Opposite alterations of DNA methyltransferase gene expression in endometrioid and serous endometrial cancers. *Gynecol Oncol.* 2005;96(3):601–9.
 75. Ye C, Li L. 5-hydroxymethylcytosine. *Cancer Biol Ther.* 2014;15(1):10–5.
 76. Gao F, Das SK. Epigenetic regulations through DNA methylation and hydroxymethylation: clues for early pregnancy in decidualization. *Biomol Concepts.* 2014;5(2):95–107.
 77. Kudo Y, Tateishi K, Yamamoto K, Yamamoto S, Asaoka Y, Ijichi H, et al. Loss of 5-hydroxymethylcytosine is accompanied with malignant cellular transformation. *Cancer Sci.* 2012;103(4):670–6.
 78. Liu N-T, Perng C-L, Chou Y-C, Ko P-S, Lin Y-J, Lin Y-C, et al. Loss of ten-eleven translocation 1 (TET1) expression as a diagnostic and prognostic biomarker of endometrial carcinoma. Branco M, editor. *PLoS One.* 2021;16(11):e0259330.
 79. Ibrahim H, Dresser K, Cornejo KM, Ibrahim H, Dresser K, Cornejo KM. Loss of 5-hydroxymethylcytosine (5-hmC) expression in endometrioid type endometrial carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2019;40(5):846–8.
 80. Navarro A, Yin P, Ono M, Monsivais D, Moravek MB, Coon JSV, et al. 5-Hydroxymethylcytosine Promotes Proliferation of Human Uterine Leiomyoma:

- A Biological Link to a New Epigenetic Modification in Benign Tumors. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(11):E2437–45.
81. Zhang L, Li P, Wang T, Zhang X. Prognostic values of 5-hmC, 5-mC and TET2 in epithelial ovarian cancer. *Arch Gynecol Obstet.* 2015;292(4):891–7.
 82. Zhang L-Y, Han C-S, Li P-L, Zhang X-C. 5-Hydroxymethylcytosine expression is associated with poor survival in cervical squamous cell carcinoma. *Jpn J Clin Oncol.* 2016;46(5):427–34.
 83. Liao Y, Gu J, Wu Y, Long X, Ge D, Xu J, et al. Low level of 5-Hydroxymethylcytosine predicts poor prognosis in non-small cell lung cancer. *Oncol Lett.* 2016;11(6):3753–60.
 84. Lee JJ, Granter SR, Laga AC, Saavedra AP, Zhan Q, Guo W, et al. 5-Hydroxymethylcytosine expression in metastatic melanoma versus nodal nevus in sentinel lymph node biopsies. *Mod Pathol.* 2015;28(2):218–29.
 85. Rodić N, Zampella J, Sharma R, Burns KH, Taube JM. Diagnostic utility of 5-hydroxymethylcytosine immunohistochemistry in melanocytic proliferations. *J Cutan Pathol.* 2015;42(11):807–14.
 86. Larson AR, Dresser KA, Zhan Q, Lezcano C, Woda BA, Yosufi B, et al. Loss of 5-hydroxymethylcytosine correlates with increasing morphologic dysplasia in melanocytic tumors. *Mod Pathol.* 2014;27(7):936–44.
 87. Lian CG, Xu Y, Ceol C, Wu F, Larson A, Dresser K, et al. Loss of 5-Hydroxymethylcytosine Is an Epigenetic Hallmark of Melanoma. *Cell.* 2012;150(6):1135–46.
 88. Shi X, Yu Y, Luo M, Zhang Z, Shi S, Feng X, et al. Loss of 5-Hydroxymethylcytosine Is an Independent Unfavorable Prognostic Factor for Esophageal Squamous Cell Carcinoma. Suzuki H, editor. *PLoS One.* 2016;11(4):e0153100.
 89. Tong M, Gao S, Qi W, Shi C, Qiu M, Yang F, et al. 5-Hydroxymethylcytosine as a potential epigenetic biomarker in papillary thyroid carcinoma. *Oncol Lett.* 2019;18(3):2304–9.

90. Munari E, Chaux A, Vaghasia AM, Taheri D, Karram S, Bezerra SM, et al. Global 5-Hydroxymethylcytosine Levels Are Profoundly Reduced in Multiple Genitourinary Malignancies. Culig Z, editor. PLoS One. 2016;11(1):e0146302.
91. Orr BA, Haffner MC, Nelson WG, Yegnasubramanian S, Eberhart CG. Decreased 5-Hydroxymethylcytosine Is Associated with Neural Progenitor Phenotype in Normal Brain and Shorter Survival in Malignant Glioma. Christensen BC, editor. PLoS One. 2012;7(7):e41036.
92. Chapel DB, Husain AN, Krausz T. Immunohistochemical evaluation of nuclear 5-hydroxymethylcytosine (5-hmC) accurately distinguishes malignant pleural mesothelioma from benign mesothelial proliferations. Mod Pathol. 2019;32(3):376–86.
93. Sharma AE, Olivas A, Parilla M, Yassan L, Wang H, Zhang SS, et al. Epigenetic Dysregulation of 5-hydroxymethylcytosine in Well-Differentiated Pancreatic Neuroendocrine Tumors. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2021;Publish Ah(00):1–5.
94. Li T, Zhang C, Hassan S, Liu X, Song F, Chen K, et al. Histone deacetylase 6 in cancer. J Hematol Oncol. 2018;11(1):111.
95. Zhang Z, Yamashita H, Toyama T, Sugiura H, Omoto Y, Ando Y, et al. HDAC6 Expression Is Correlated with Better Survival in Breast Cancer. Clin Cancer Res. 2004;10(20):6962–8.
96. Zheng Y, Yang X, Wang C, Zhang S, Wang Z, Li M, et al. HDAC6, modulated by miR-206, promotes endometrial cancer progression through the PTEN/AKT/mTOR pathway. Sci Rep. 2020;10(1):3576.
97. Ali A, Zhang F, Maguire A, Byrne T, Weiner-Gorzel K, Bridgett S, et al. HDAC6 Degradation Inhibits the Growth of High-Grade Serous Ovarian Cancer Cells. Cancers (Basel). 2020;12(12):3734.
98. Yano M, Katoh T, Miyazawa M, Miyazawa M, Ogane N, Miwa M, et al. Clinicopathological correlation of ARID1A status with HDAC6 and its related factors in ovarian clear cell carcinoma. Sci Rep. 2019;9(1):2397.

99. Shao Y, Zhu F, Zhu S, Bai L. HDAC6 suppresses microRNA-199a transcription and augments HPV-positive cervical cancer progression through Wnt5a upregulation. *Int J Biochem Cell Biol.* 2021;136(February):106000.
100. Sakuma T, Uzawa K, Onda T, Shiiba M, Yokoe H, Shibahara T, et al. Aberrant expression of histone deacetylase 6 in oral squamous cell carcinoma. *Int J Oncol.* 2006;29(1):117–24.
101. Xie X, Luo K, Li Y, Ling Y, Zhang S, Xie X, et al. Histone deacetylase 6 expression in metastatic lymph nodes is a valuable prognostic marker for resected node-positive esophageal squamous cell cancer. *Cancer Manag Res.* 2018;Volume 10:5451–60.
102. Kanno K, Kanno S, Nitta H, Uesugi N, Sugai T, Masuda T, et al. Overexpression of histone deacetylase 6 contributes to accelerated migration and invasion activity of hepatocellular carcinoma cells. *Oncol Rep.* 2012;28(3):867–73.
103. Takai N, Desmond JC, Kumagai T, Gui D, Said JW, Whittaker S, et al. Histone Deacetylase Inhibitors Have a Profound Antigrowth Activity in Endometrial Cancer Cells. *Clin Cancer Res.* 2004;10(3):1141–9.
104. Bradbury CA, Khanim FL, Hayden R, Bunce CM, White DA, Drayson MT, et al. Histone deacetylases in acute myeloid leukaemia show a distinctive pattern of expression that changes selectively in response to deacetylase inhibitors. *Leukemia.* 2005;19(10):1751–9.
105. Wu Y, Guo S-W. Histone deacetylase inhibitors trichostatin A and valproic acid induce cell cycle arrest and p21 expression in immortalized human endometrial stromal cells. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2008;137(2):198–203.
106. Takai N, Narahara H. Preclinical Studies of Chemotherapy Using Histone Deacetylase Inhibitors in Endometrial Cancer. *Obstet Gynecol Int.* 2010;2010:1–8.
107. De U, Son J, Sachan R, Park Y, Kang D, Yoon K, et al. A New Synthetic Histone Deacetylase Inhibitor, MHY2256, Induces Apoptosis and Autophagy

Cell Death in Endometrial Cancer Cells via p53 Acetylation. *Int J Mol Sci.* 2018;19(9):2743.

108. Sarfstein R, Bruchim I, Fishman A, Werner H. The Mechanism of Action of the Histone Deacetylase Inhibitor Vorinostat Involves Interaction with the Insulin-Like Growth Factor Signaling Pathway. Ouchi T, editor. *PLoS One.* 2011;6(9):e24468.
109. Zhou X, Dowdy S, Podratz K, Jiang S. Epigenetic considerations for endometrial cancer prevention, diagnosis and treatment. *Gynecol Oncol.* 2007;107(1):143–53.

