

MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

ENDOMETRİUM KANSERLERİNDE

PTEN, p53 VE MİKROSATELLİT İNSTABİLİTESİNİN

HASTALIĞIN PROGNOZU ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

UZMANLIK TEZİ

DR. MUTLU ÖĞÜT

Tez Danışmanı

PROF. DR. TEVFİK GÜVENAL

Manisa, 2021

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR	II
TABLolar ÇİZELGESİ.....	III
ŞEKİLLER ÇİZELGESİ	IV
ÖNSÖZ	V
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER.....	3
1.Endometrium Kanseri	3
2 Endometrium Kanserin Sınıflandırılması	3
Ultramutated Grup (POLE)	4
MSI Hipermutated	4
Copy-Number Low	5
Copy-Number High Seröz Benzeri	5
2.1 Tip 1 Endometrium Kanserinde Genetik Değişiklikler	7
2.2 Tip 2 Endometrium Kanserinde Genetik Değişiklikler	10
3. Endometrium Kanserinin Prognostik Faktörleri.....	11
4. Endometrium Kanseri Tedavisi	13
GEREÇ VE YÖNTEM	15
BULGULAR.....	18
TARTIŞMA.....	32
SONUÇLAR	36
ÖZET	37
ABSTRACT	39
KAYNAKLAR	42

KISALTMALAR

PTEN:Protein tirozin fosfotaz ve tensin analođu

MSI: Mikrosatellite İnstabilite

LVSI: Lenfo-vasküler alan invazyonu

TCGA:Kanser Genom Atlas Projesi

GOG: Jinekoloji Onkololoji Derneđi



TABLÖLAR ÇİZELGESİ

Tablo1: Mutasyonların endometrium kanserlerinde dağılımı.....	6
Tablo2: Endometrium Kanserinde İmmünohistokimyasal Belirteçler Prognostik Risk Sınıflandırılması	12
Tablo3: Endometrium kanseri olgularının klinik ve demografik özellikleri.....	19
Tablo4: Hastaların İmmünohistokimyasal Boyanma Özellikleri	20
Tablo5: Olguların p53 ile Boyanma Özellikleri.....	23
Tablo6: Olguların PTEN ile Boyanma Özellikleri	25
Tablo7: Olguların MSI kayıp Özellikleri	26
Tablo8: Olguların Sağ Kalım ve Nüks Sonuçları	28

ŞEKİLLER ÇİZELGESİ

Şekil1: PTEN etki mekanizması	8
Şekil2: A;p53 ile boyana hücre; B;MLH1 kaybı olan hücre; C;MSH6 kaybı olan hücre; D;PTEN ile boyanan hücre	21
Şekil3: P53'ün sağ kalım grafisi, p değeri; 0,738	30
Şekil4: MSI'nın sağ kalım grafisi, p değeri;0,224	30
Şekil5: PTEN'in sağ kalım grafisi p değeri;0,803	31



ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasının hazırlanmasında büyük katkıları olan ve uzmanlık eğitimim süresince engin bilgilerini ve tecrübelerini benimle paylaşan, sabır ve hoşgörü ile emeklerini esirgemeyen tez danışmanım, değerli hocam Prof. Dr. Tefvik GÜVENAL' a teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim süresince engin bilgi, beceri ve tecrübelerini benimle paylaşan, sabır ve hoşgörü ile emeklerin esirgemeyen, birlikte çalışmaktan her zaman gurur ve onur duyduğum Anabilim Dalı Başkan'ı Prof. Dr. Semra ORUÇ KOLTAN ve değerli hocalarım Prof. Dr. Naci Kemal KUŞÇU, Prof. Dr. Yıldız UYAR, Doç. Dr. Aslı GÖKER, Doç. Dr. Burcu ARTUNÇ ÜLKÜMEN ve Doç. Dr. Pınar Solmaz HASEMİR ve bu yıl vefat eden Prof. Dr. Faik Mümtaz KOYUNCU' ya şükranlarımı sunarım.

Bu tez çalışmasının hazırlanmasında büyük katkıları olan Öğr. Üy. Dr. Ayça TAN' a teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim boyunca her konuda yardım ve destekleriyle yanımda olan birlikte çalışmaktan gurur duyduğum, iyi-kötü günleri beraber geçirdiğimiz tüm değerli asistan arkadaşlarıma, klinik hemşirelerimize, sekreterlerimize ve personel arkadaşlarımıza teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde büyük fedakarlıkları ve katkıları olan, sevgilerini ve desteklerini hep yanımda hissettiğim sevgili annem ve babam Hatice Dilek AYDINLI ve Harun AYDINLI 'ya, sevgili kardeşlerim Sinem AYDINLI ve Nur AYDINLI' ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımda olduğu andan itibaren bana desteğini esirgemeyen, sevgisiyle her zaman yanımda olan çok sevgili eşim Deniz ÖĞÜT' e ve hayatımıza girdiği andan itibaren anlam katan sevgili küçük kızım Asya ÖĞÜT' e çok teşekkür ederim.

GİRİŞ

Uterus kaynaklı kanserler kadınlardaki kanserler arasında altıncı sırada bulunmakta ve 2020 verilerinde göre dünyada 417,000 yeni olgu ve 97,000 ölüm bildirilmiştir. Uterus kanserlerinin büyük kısmını ise endometrium kanseri oluşturmaktadır. Kadınlardaki yaşam süresinin uzaması ve obezite gibi nedenlerle endometrium kanseri günümüzde gelişmiş ülkelere ve ülkemizde de en sık görülen genital kanser olmuştur.

Endometrium kanserleri, endometrioid adenokarsinom ve seröz papiller, şeffaf hücreli endometrioid dışı kanserler olarak histopatolojik olarak sınıflandırılmaktadır. Endometrium kanserlerinin yönetimi histolojik tipler yanında, myometrial invazyon, grade, lenfovasküler yatak tutulumu, servikal tutulum, lenf nodu tutulumu gibi klinik ve histopatolojik faktörler temelinde yapılmaktadır. Ancak 2013 yılında insan genom projesi ile birlikte endometrium kanserlerinde mutant genler belirlenmesi ile moleküler ve genetik mutasyonlara sınıflandırma yapılmıştır. Bu sınıflandırma ile tümörün özelliklerini daha doğru belirlenmesi ve hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Endometrium kanserlerinde en sık saptanan mutasyonlara göre dört grup altında sınıflandırılmıştır; (i) POLE ultra-mutant, (ii) MSI hipermutated, (iii) copy-number low ve (iv) copy-number high olarak. Bu moleküler değişiklikler ile histolojik tipler arasında ilişki kurulmuştur. POLE ultra mutant grup endometrioid tip histolojiye sahip iken PTEN, PIK3CA, PIK3R, FBXW, ARID1A, KRAS ve ARID5B mutasyonları görülmektedir. MSI hipermutant grupta da endometrioid histoloji var ve saptanan mutasyonlar ise görülme oranları değişmekle birlikte PTEN, RPL22, KRAS, PIK3CA, PIK3R1 ve ARID1A'dır. Üçüncü grup olan Copy-number low grubunda endometrioid histoloji olup bulunan mutasyonlar ise PTEN, CTNNB1, PIK3CA, PIK3R1 ve ARID1A. Copy-number high grubunda ise histoloji seröz tip olup en çok TP53 mutasyonu ve daha az oranlarda PPP2R1A, PIK3CA mutasyonları vardır.

Endometrium kanserinde genetik ve moleküler değişikliklerin önem kazanması nedeni ile biz de bu çalışma ile kendi hasta grubumuzda bazı PTEN, p53 ve mikrosatellit instabilite gibi bazı immünohistokimyasal belirteçlerin hastalığın prognozunda etkisi saptamayı amaçladık.



GENEL BİLGİLER

1. Endometrium Kanseri

Uterus kanseri, 2020 yılında dünyada 417.000 yeni vaka ve 97.000 ölüm ile kadınlarda en sık teşhis edilen altıncı kanserdir (1). Uterus kanserlerin çoğunu endometrium kanserinden oluşturmaktadır. Endometrium kanseri insidansı gelişmiş ülkelerde en sık görülen jinekolojik kanserdir (2). Bu artışın olası nedenleri obezite, yaşam süresinin uzaması gibi faktörlerdir (3).

2. Endometrium Kanserin Sınıflandırılması

Endometrium kanseri, Bokhman' ın ilk olarak epidemiyolojik çalışmalara dayanarak iki klinikopatolojik sınıflandırmaya dayanan endometrium kanser tipleri tanımlanmıştır (4). Tip 1 endometrium kanseri, karşılanmayan östrojen bağlı ortaya çıkan endometrial hiperplazi ile ilişkili ve düşük dereceli endometrioid kanserler iken ve östrojen bağımsız endometrial atrofi kaynaklı ve yüksek dereceli seröz kansere karşılık gelen Tip 2' dir (5).

Günümüzde endometrium kanserinin yönetimi, histopatolojik değerlendirmelere ve buna dayanılarak yapılan sınıflandırmalara göre yapılmaktadır. Bu sınıflama, endometrioid ya da non-endometrioid olarak histolojik tiplere, grade, myometrial invazyon, lenfo-vasküler yatak tutulumu (LVSI; lymphovascular space invasion), servikal tutulum ve lenf nodu tutulumu gibi faktörlere göre yapılmaktadır. Histopatolojik değerlendirmelerin bir kısmı sübjektif olabilmekte ve laboratuvarlar arasında farklılıklar görülebilmektedir. Preoperatif endometrial değerlendirmeler ile postoperatif histerektomi materyallerinin incelenmesi sonucu farklılıklar da ortaya çıkmaktadır (6,7). Bu nedenle, mevcut histolojik sınıflandırmanın hastaları etkili bir şekilde optimal tedavi alt gruplarına dönüştürecek kadar doğru veya kesin olmadığı görülmektedir. Prognostik faktörlerin değerlendirilmesindeki sorunlar tedavide yetersizliklere bazen de yetersiz tedavilere veya izlemlere yol açabilir. Endometrium kanserlerinde, prognozu daha iyi belirlememize ve tedavimizi doğru yönetmemizi sağlayacak daha objektif ve laboratuvarlar arasında fikir birliği oluşturabilecek belirteçlere gereksinim olduğu açıktır. Bu belirteçler, tedavilerin bireyselleştirilmesine ve nesnel,

güvenilir ve tutarlı bir şekilde değerlendirmeye olanak sağladığı gibi geliştirilebilecek hedefe yönelik tedavilerde de yardımcı olacaktır (8).

2013 yılında Kanser Genom Atlası (TCGA) projesi planlanarak endometrium kanserinde tam genom dizilimi, ekzon dizilimi, MSI tahlilleri ve kopya numarası analizinin bir kombinasyonu kullanılarak çeşitli yaygın kanserlerin incelenmesinde yer alan bir proje yapılmıştır (9). Endometrium kanseri üzerine yapılan çalışma, düşük dereceli endometrioid, yüksek dereceli endometrioid ve seröz kanserleri dahil olmak üzere 373 endometrium kanseri kapsamlı, çok platformlu analizinden oluşmaktadır. Bu çalışmada 186 endometrioid, 42 seröz ve 4 karışık histoloji endometrium kanseri değerlendirilmiştir. Bu çalışma ile tümörün moleküler biyolojisini anlamak ve yeni tedavilere olanak sağlayabilmek amaçlanmıştır. (10)

Somatik mutasyon oranları, kopya numarası değişiklik sıklığı ve MSI durumu dahil olmak üzere genomik verilerin entegre analizine dayanarak, endometrium kanseri geniş ölçüde 4 ayrı moleküler alt gruba sınıflandırılabilmiştir: ultramutated grup (POLE), MSI hipermutated, copy-number low, copy-number high seröz benzeri şeklinde sınıflandırılmıştır (10).

Ultramutated Grup (POLE)

Ultramutated tümörler, POLE' nin ekzonükleaz etki alanındaki somatik mutasyonlara ve polimeraz holoenzim'in katalitik ve düzeltme alt birliğini kodlayan olağanüstü yüksek bir mutasyon oranı ile karakterizedir. Bu enzim DNA replikasyonu sırasında önde gelen iplikçik sentezini katalize eder ve hücre döngüsünün ilerlemesini, kromatin remodelingini ve DNA onarımını düzenler. Genel olarak, düşük dereceli endometrioid tipi %6,4'ü ve yüksek dereceli endometrioid endometrium kanserinin %17,4'ü ancak TCGA çalışmasındaki karışık histoloji veya seröz tümörlerin hiçbirisi ultramutated değildir. Nüks olmaksın sağ kalım ultramutated alt gruptaki hastalarda diğer moleküler alt gruplara göre daha yaygındır (10,11).

MSI Hipermutated

Bu grup mikrosatellit dengesiz tümörlerden oluşmaktadır. MSI fenotipleri ile tutarlı olarak, hipermutated/mikrosatellit kararsız alt grubu sık sık MLH1 promotör metilasyonu ve azaltılmış MLH1 gen ekspresyonu gösterir. TCGA tümör kohortunda

düşük dereceli endometrioid tipin 28,6'sı, yüksek dereceli endometrioid ise %54,3'ü bu gruba aittir. Bu gözlem, MSI pozitifliğinin yüksek dereceli endometrioid endometrium kanserlerinde düşük dereceli uçtan önemli ölçüde daha yüksek bir frekansta meydana geldiği önceki raporlarla tutarlıdır. MSI tipi endometrium kanser histolojik olarak lenfovasküler tutulumu karakterizedir (10,11).

Copy-Number Low

TCGA tarafından tanımlanan düşük/mikrosatellit stabil alt grubu kopya numarası düşük dereceli endometrioid kanserlerin %60'ını, yüksek dereceli endometrioid kanserlerin %8,7'sini, seröz kanserlerin %2,3'ünü ve karma histoloji kanserlerin %25'ini oluşturmaktadır. Bu moleküler alt grup içinde önemli ölçüde mutasyona uğramış birkaç gen fark edilmiştir. Bunlar arasında PTEN, PIK3CA, CTNNB1, ARID1A, PIK31, KRAS, FGFR2 yer almaktadır. Hemen hemen hepsi (%92) bu alt gruptaki tümörlerin PI3K yolu somatik olarak değiştirilmiş, RTK/RAS/catenin yolu ise yüksek frekansta (%83) değiştirilmiştir (10,11).

Copy-Number High Seröz Benzeri

TCGA çalışmasında düşük dereceli endometrioid kanserlerin %5'i, yüksek dereceli endometrioid kanserlerin %19,6'sı, seröz kanserlerin %97,7'si ve mikst histoloji kanserlerin %75'i yüksek tümör alt grubunda yer almaktadır. TCGA çalışmasındaki hemen hemen tüm seröz kanserlerin kopya sayısının yüksek olduğu kabul edilir, seröz kanserlerin genellikle aneuploid ve kromozomal olarak dengesiz olması önceki raporlarla tutarlıdır. TCGA çalışmasında 60 kopya sayısı yüksek (seröz benzeri) tümörler arasında önemli ölçüde mutasyona uğramış birkaç gen tanımlanmıştır. Bunlar arasında CSMD3, TP53, PIK3CA, PTEN, PIK3R1 ve PPP2RIAm, FBXW7 ve CHD4 yer almaktadır (10,11).

2013 yılında Genom Atlas projesinde endometrium kanseri ile ilgili 25 gende mutasyon bakılmış olup en sık görülenler mutasyonları dağılımı Tablo 1' de gösterilmiştir.

Son yıllarda, çeşitli kanserlerde karşılaşılan genetik anormallikler hakkında kesin ve spesifik bilgiler sağlayan kanserin moleküler temelini anlamamız da önemli ilerlemeler kaydedildi. Bu, karsinogenez sürecinin daha iyi anlaşılmasına ve bu

kanserlerin daha doğru ve anlamlı alt sınıflandırılması için anahtar moleküler değişikliklerin tanınmasına yol açmıştır. (12,13)

Morfolojik ve klinik özelliklerinin yanı sıra tip 1 ve tip 2 endometrium kanserleri genetik değişikliklerle göre de ayırt edilir. Endometrioid ve nonendometrioid kanserler bağımsız gen kümelerini içeren mutasyonlarla ilişkilidir. Endometrioid kanserlerinde en sık görülen genetik değişiklik, endometrioid kanserlerin %83'ünün de ve atipik endometrial hiperplazi vakalarının %55'inde PTEN mutasyonu görülmektedir. Daha önceki birkaç rapor, PTEN mutasyonlarının tip 1 tümörün kanser sürecinin başlarında ortaya çıktığını ve fosfatidylinositol-3-OH kinaz (PI3K)/AKT yolu, KRAS, ARID1A ve β -catenin' deki diğer mutasyonlarla sık sık bir arada bulunduğunu ve DNA uyuşmazlığı onarımındaki (MMR) kusurları izlenmektedir. Nonendometrioid endometrium kanserlerin de sık sık HER2 ve TP53'te anöploidi ve mutasyonlar görülmektedir (14,15)

Tablo 1: Mutasyonların endometrium kanserlerinde dağılımı

GEN	Endometrioid grade 1 (%)	Endometrioid grade 2 (%)	Endometrioid grade 3(%)	Seröz (%)
PTEN	72	72	59	0
PIK3CA	38	54	53	29
TP53	14	20	44	87
ARID1A	38	48	39	2
CTNNB1	57	32	31	2
PIK3R1	27	26	19	7
KRAS	19	20	24	2
CHD4	27	12	20	11
PPP2RIA	11	4	5	29
FBXW7	0	6	10	16
MTOR	5	9	14	4
POLE	11	6	8	2

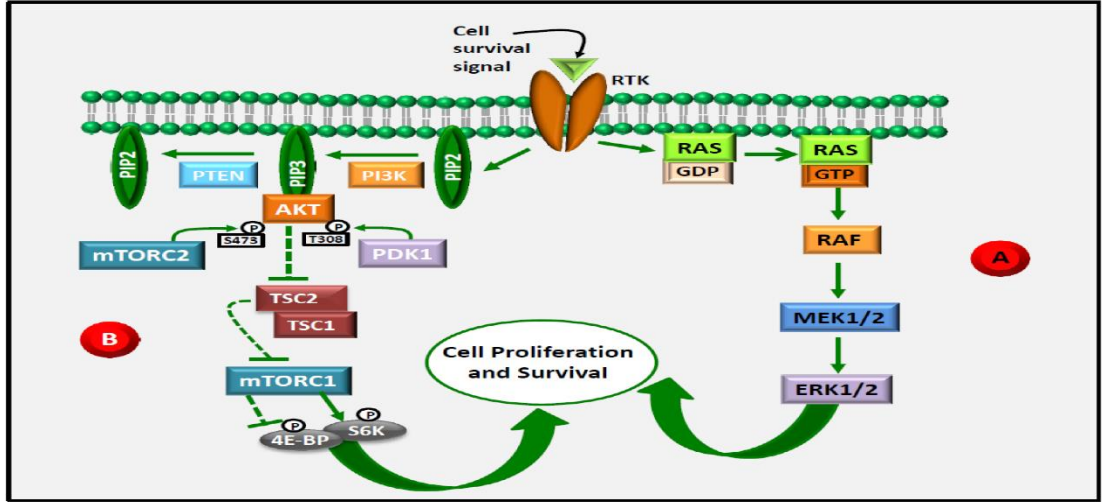
2.1 Tip 1 Endometrium Kanseriinde Genetik Değişiklikler

Tip 1 endometrium kanseri oluşumunda yer alan olağan hücreyel yollar; PI3K reseptör tirozin kinazları, G protein bağlantılı reseptörler ve bazı onkogenler (örneğin, RAS) ile aktive edilir. PI3K/AKT sinyal iletim yolağı hücre büyümesi, proliferasyonu, metabolizması, motilitesi, sağ kalımı ve apoptozunu içeren normal hücreyel süreçlerin anahtar düzenlemektir. PI3K/AKT yolağının anormal aktivasyonu, insanlardaki pek çok kanserde tümör hücrelerinin sağ kalımını ve proliferasyonunu desteklemektedir (16).

2.1.1 PTEN' İn Tip 1 Endometrium Kanseri Etki Mekanizması

PTEN kromozom 10q23'te bulunur ve inaktivasyonu en sık her iki aleldeki mutasyonlardan kaynaklanır ve bu da tam fonksiyon kaybına neden olur. PTEN protein inaktivasyonunun diğer değişiklikleri arasında heterozigot kaybı veya promotör hipermetilasyonu bulunur ve mutasyonlar en sık meydana gelir. (15)

Aktif PI3K fosforilatörler PIP_2 ve PIP_3 e dönüştürür. PIP_3 AKT bağlar ve onları plazma membranına alır. Bu süreç olumsuz PIP_3 'ü PIP_2 'ye geri dönüştüren tümör baskılayıcı PTEN tarafından düzenlenir. Aktive edilmiş AKT, aşağı akış sinyalinin bir kaskatını başlatır bu da; hücreyel büyümeyi, metabolizmayı, çoğalmayı teşvik eden olaylar, sağ kalım, göç, anjiyogenez, invazyon ve metastazı düzenlemektedir. AKT'nin aşağı akış efektörü mTOR kompleksi 1'dir (mTORC1); aşağı akış hedefleri protein sentezini kontrol eder. RAS aktivasyonu, benzer hücreyel büyüme ve ilerleme ile RAF, MEK ve ERK içeren mitojenle aktive protein kinaz yollarının aktivasyonu ile sonuçlanmaktadır. (Şekil 1)



Şekil 1. PTEN etki mekanizması

PTEN' in lipid fosfataz aktivitesi G1/S kontrol noktasında hücre döngüsü durmasına neden olur. PTEN' in protein fosfataz aktivitesi, invazyon, hücre yayılımı ve göçünün inhibisyonunda ve büyüme faktörü uyarılmış mitozla aktive protein kinaz sinyalinin inhibisyonunda rol oynamaktadır. Bu nedenle, kayıp veya değiştirilmiş PTEN ekspresyonu anormal hücre büyümesi ve apoptosizden kaçış ile sonuçlanmaktadır. PTEN kaybı ayrıca prekanseröz lezyonlarda varlığı ile kanıtlandığı gibi endometrium kanserinin öncü lezyonlarında erken bir olaydır ve muhtemelen bilinen hormonal risk faktörlerine yanıt olarak başlatılır. PTEN mutasyonu atipili ve atipisiz endometrial hiperplazide de olduğu gösterilmiştir (17,18).

AKT' ye bağımlı mekanizmaları içeren proapoptotik mekanizmaların yukarı doğrulasyonu PTEN aracılığıyla rol oynamakta; antiapoptotik yolda PTEN, fosforidylinositol 3-kinaz (PI3KCA) fosforilasyonlu AKT seviyelerini kontrol etmek için Bcl-2 aracılığıyla olmaktadır. PTEN mutasyonu PI3KCA aktivasyonunu artırır ve AKT'nin fosforilasyonu ile sonuçlanır. PI3KCA mutasyonu endometrioid endometrium kanserlerin %36'sında görülür ve en sık PTEN mutasyonunu taşıyan tümörlerde görülmektedir (18,19)

2.1.2 Mikrosatellite İnstabilite' nin Tip 1 Endometrium Kanserindeki Etki Mekanizması

Mikrosatellite tekrarlanan DNA dizileridir. Bu diziler, 1 ila 6 baz çifti uzunluğunda yinelenen birimlerden yapılmaktadır. Bu mikrosatellitlerin uzunluğu kişiden kişiye oldukça değişken olmasına ve bireysel DNA "parmak izine" katkıda bulunsa da her bireyin belirli bir uzunlukta mikrosatellitleri vardır. İnsanlarda en yaygın mikrosatellit, hem kodlama hem de kodlama olmayan bölgelerde genom boyunca on binlerce kez meydana gelen C ve A nükleotidlerinin dinükleotid tekrarlarıdır (20,21)

DNA mismatch repair (MMR) tanımak ve onarmak için bir sistemken mikrosatellitler de hatalı ekleme veya silme, DNA replikasyonu ve rekombinasyon sırasında ortaya çıkmaktadır. İnsanlarda, 7 DNA MMR proteini (MLH1, MLH3, MSH2, MSH3, MSH6, PMS1 ve PMS2) DNA uyuşmazlıklarının onarımını başlatmak için sıralı adımlarla koordineli bir şekilde çalışmaktadır. Anormal çalışan MMR' ye sahip hücreler DNA replikasyon sırasında oluşan hataları düzeltemez ve sonuç olarak hataları biriktirir. Bu, bazı insan kanserlerine karışan mikrosatellit instabilitesi (MSI) ile sonuçlanan yeni mikrosatellit parçalarının oluşturulmasına neden olmaktadır (21,22)

MLH1 inaktivasyonu endometrium da en yaygın mekanizmadır ve genellikle gen promotöründe CpG adalarının hipermetilasyonu ile gerçekleştirilir. Genel olarak endometrium kanserinde nispeten nadir olmasına rağmen, MSH6'nın kalıtsal veya somatik olarak edinilmiş mutasyonları genellikle MSI endometrium kanserinde görülür. MMR eksiklikleri kalıtsal bir kanser sendromundan (örneğin Lynch sendromu), edinilmiş / somatik mutasyonlardan veya epigenetik olaylardan, örneğin uyumsuz DNA onarımında yer alan genlerden birinin metilasyonundan, en yaygın olarak MLH1'den kaynaklanmaktadır (23). MSI ayrıca endometrium karsinogenezinde erken bir olayı temsil etmektedir ve prekanseröz lezyonlarda gösterilmiştir (24) MMR fonksiyonu endometrium kanserli hastaların %20 ila %30'unda kaybedilir. Lynch sendromu bu vakaların yaklaşık %25'ini oluşturur ve çoğunluğu MLH1 promotörünün hipermetilasyonu veya MMR genlerinin somatik mutasyonlarını içermektedir. İlginçtir ki, daha yüksek mutasyon oranları (%60 ila %80) PTEN geninde MSI'lı tümörlerde tanımlanmıştır (25). MSI ayrıca endometrium kanserinde erken bir olayı temsil eder ve prekanseröz lezyonlarda gösterilmiştir ve muhtemelen duyarlı tekrar elementleri içeren genleri hedef almıştır.

PTEN inaktivasyonu ve MSI arasındaki ilişki tip 1 endometriyal kanser öncüsü lezyonlarda belgelenmiştir, bu da PTEN'in eksik DNA onarım bağlamında mutasyonlar için bir hedef olabileceğini düşündürmektedir. Bu aynı zamanda bu mutasyonların endometrium karsinogenezde erken rol oynadığını daha fazla destekleme sağlamaktadır (26).

2.2 Tip 2 Endometrium Kanseri Genetik Değişiklikler

Tip 2 seröz kanserinde en sık görülen genetik değişiklik, tümör baskılayıcı gen olan p53'tür. Tip 2 endometrium kanserinde görülen diğer en sık değişiklikler ise p16 inaktivasyonu ve HER2/neu'nun aşırı ifadesidir. Seröz karsinomların ve bazı berrak hücreli kanserlerin %45'inde P16 inaktivasyonu bulunmaktadır (27,28). p16 tümör baskılayıcı geni (CDK2A) kromozom 9p21 üzerinde bulunur ve bir hücre döngüsü düzenleyici protein için kodlar. Böylece p16 inaktivasyonu kontrolsüz hücre büyümesine yol açar. Seröz kanserlerinde sırasıyla %45 ve %70'inde HER2/neu aşırı ekspresyonu ve gen amplifikasyonu bulunmuştur. HER2/neu, hücre sinyalizasyonunda yer alan transmembran reseptör tirozin kinazını kodlayan bir onkogendir. Seröz ve berrak hücreli kanserlerin sırasıyla %62 ve %87'sinde negatif ve azalmış E-cadherin ekspresyonu meydana geldi. E-cadherin ekspresyonunun azalması hücre-hücre uyum kuvvetlerinin kaybı ile ilişkilidir ve tümör hücre hareketliliği ve metastaz potansiyelden önce olduğu gösterilmiştir (29).

2.2.1 P53'ün Tip 2 Endometrium Kanseri Etki Mekanizması

P53 geni kromozom 17 üzerinde bulunur ve hasarlı DNA ile hücrelerin replikasyonunu önlemektedir. Hücre bölünmesinde normal olarak görev alan TP53 molekülünün görevi DNA hasarlı bölge tamiri için hücre bölünmesini G1 fazında durdurmaktır. DNA onarımı, apoptozis yollarına aracı olan ve DNA hasar sinyal yollarına görev alan moleküllere öncülük eden moleküllerden biride ATM'dir. ATM bu işlevi TP 53 ü aktive ederek yapmaktadır. TP 53 CDK inhibitörü olan p21 transkripsiyonunu artırarak hücre genom hasarına yanıt verir (30,31) ve DNA tamir mekanizması devreye girmektedir. Hasar onarılır ve hücre bölünmeye devam eder. Tamir başarılı olmazsa p53 geni Bax proteinini (bcl-2 grubu proteinlerden, proapoptotik)

aktive ederek mitokondri aracılığı ile hücreyi apoptoza yönlendirerek hasarlı hücrenin ortadan kaldırılmasını sağlar (32).

P53'teki mutasyonlar seröz kanserinde yaklaşık %90'ında bulunur. Bu mutasyonun nedeni için kesin mekanizması hala belirsizdir. Germline p53 mutasyonları ve kansere aşırı predispozisyonla karakterli Li-Fraumeni ailelerinde uterus seröz kanser olmaması, uterus seröz kanser patogeneğinde p53 mutasyonu dışında başka genetik değişikliklerin de sorumlu olduğunu gösterilmiştir. Endometrial intra-epitelial karsinom (EIC), seröz kanseri eşdeğer hücrelerden oluşmakla birlikte stromal invazyon göstermez; p53 mutasyonları yaklaşık %75 orandadır, bu nedenle EIC seröz kanserin bir basamağı olarak belirlenmiştir (33).

p53 değişiklikleri seröz tipe göre berrak hücre tipi endometrium kanserinde nispeten küçük bir rol oynamaktadır.

3. Endometrium Kanserinin Prognostik Faktörleri

Günümüzde endometrium kanserinde prognostik faktörler myometrial invazyon, lenf nodu tutulumu, hastalığın evresi, histolojik tip ve derecesi, yaş, lenfovasküler alan tutulumu, adjuvan tedavi tipi ve batın sitolojidir. Hastalığın evresi ise en önemli prognostik faktördür. Lenfovasküler alan invazyonu, uterus kanserinin tüm histolojik tiplerinde nüks ve ölüm için bağımsız bir risk faktörüdür (34,35,36,37). Jinekolojik onkoloji grubunun (GOG) çalışmasında, lenfovasküler alan invazyonu olmasının rölatif ölüm riskinde 1,5 kat artışa neden olduğu gösterilmiştir (38).

Endometrium kanserinde risk gruplarının belirlenmesi grade, myometrial invazyon, LVSI gibi histopatolojik faktörlere göre belirlenmekte ve yönetim bu faktörlere göre yönlendirilmektedir. Ancak son zamanlarda moleküler analizlerin devreye girmesi nedeniyle risk gruplarının belirlenmesinde bu analizler de kullanılmaya başlanmıştır. ESMO-ESGO-ERD 2020 de yayımladığı raporda endometrium kanserinin moleküler sınıflamasını dahil etmiş ve buna göre risk gruplarını tanımlamıştır (Tablo 2). Bu sınıflamada p53, MSH6 ve PMS2 ve bir moleküler test (POLE'nin ekzoniklaz etki alanının mutasyon analizi) kullanarak tanı algoritması uygulamıştır (39,40). Bu moleküler sınıflandırmayı uygulamak için tüm bu tanı testlerin yapılması gerekir. Tüm endometrium kanseri vakaların yaklaşık %5' inde pozitif testlerin bir kombinasyonu ortaya çıkabileceğinden, taşıyıcı işaret testlerinden birini yapmak yetersiz kalabilmektedir (41,42). Ek olarak, endometrium kanserinin sadece POLE' nin

patojenik varyantları genin eksonucleaz etki alanında tanımlandığında POLE mutasyona uğramış (POLEmut) olarak sınıflandırılması da önerilmiştir (43,44).

Tablo 2. Endometrium Kanseriinde İmmünohistokimyasal Belirteçler Prognostik Risk Sınıflandırılması

Risk grubu	Moleküler sınıflandırma bilinmeyen	Moleküler sınıflandırma Bilinen
Düşük	Evre IA endometrioid, düşük dereceli ve LVSI negatif veya fokal tutulum	Evre I-II POLE mut endometrium kanseri, rezidü hastalık yok Evre IA MMRd/NSMP endometrioid kanseri, düşük dereceli ve LVSI negatif veya fokal tutulum
Orta	Evre IB endometrioid, düşük dereceli ve LVSI negatif veya fokal tutulum Evre IA endometrioid, yüksek dereceli ve LVSI negatif veya fokal tutulum Myometriyal invazyon olmadan evre IA endometrioid olmayan (seröz, berrak hücreli, farklılaşmamış kanser, karsinosarkom, mikst)	Evre IB MMRd/NSMP endometrioid kanser düşük dereceli ve LVSI negatif veya fokal tutulum Evre IA MMRd/NSMP endometrioid kanser ve yüksek dereceli ve LVSI negatif veya fokal tutulum Myometriyal invazyon olmadan evre IA p53abn ve/veya endometrioid olmayan (seröz, berrak hücreli, farklılaşmamış kanser, karsinosarkom, mikst)
Yüksek-orta	Aşama I endometrioid, invazyon derecesi ve derinliğine bakılmaksızın LVSI tutulumu olması Aşama IB endometrioid, yüksek dereceli, LVSI tutulumundan bağımsız Evre II	Evre I MMRd/NSMP endometrioid kanseri, invazyon derece ve derinliğine bakılmaksızın LVSI tutulumu Evre IB MMRd/NSMP endometrioid kanseri yüksek dereceli, LVSI tutulumundan bağımsız Evre II MMRd/NSMP endometrioid kanseri
Yüksek	Rezidü hastalık olmayan Evre III-IVA Evre I-IVA endometrioid olmayan (seröz, berrak hücreli, farklılaşmamış kanser, karsinosarkom, mikst) myometriyal invazyon ile ve rezidü hastalık olmadan	Evre III-IVA MMRd/NSMP endometrioid kanser ve rezidü hastalık yok Evre I-IVA p53abn myometriyal invazyonlu endometriyal kanser, artık hastalık yok Evre I-IVA NSMP/MMRd seröz, farklılaşmamış kanser, miyometriyal invazyonlu karsinosarkom, rezidü hastalık olmadan

LVSI, lenfovasküler alan invazyonu; MMRd, uyumsuz onarım eksikliği; NSMP, spesifik olmayan moleküler profil; p53abn, p53 anormal; POLEmut, polimeraz mutasyona uğramış

4. Endometrium Kanseri Tedavisi

Endometrium kanserinin primer tedavisi cerrahidir ve fertilite koruyucu yaklaşım dışında cerrahi ise histerektomi şeklindedir. Cerrahi hem tedavinin parçasıdır hem de evrelemenin tam olarak yapılmasına olanak sağlar. Düşük riskli (endometrioid adenoca, grade 1, 2, LVSI negatif, <50 myometrial invazyon) olguları dışında ise pelvik ve para-aortik lenf nodu örneklemesi cerrahi evrelemenin en önemli komponentidir.

Endometrium kanserinde adjuvan tedavi önerileri prognostik risk faktörlerine bağlıdır. Evre I-II POLEmut endometrium kanserinde yapılan çalışmalarda nüks oranlarının düşük olduğu saptanmıştır (45,46). Evre I-II POLEmut endometrium kanseri için, birden fazla randomize çalışmadan elde edilen verilere dayanarak adjuvan tedavi önerilmez (47,48).

Adjuvan brakiterapi, büyük randomize çalışmalarda, özellikle PORTEC-2 çalışması ve İsveç çalışmasında gösterildiği gibi, orta riskli popülasyonda adjuvan EBRT (External Beam Radiation Therapy)' den sonra vajinal nüksün görülme oranları düşüktür (49,50). PORTEC- 2 çalışması ESMO-ESGO-ESTRO konsensüs konferansı ile karşılaştırıldığında yüksek-ara risk tanımı değişmiştir. Mevcut prognostik risk grubu sınıflandırmasında (bkz. Tablo 2), evre IA endometrioid endometrium kanserinin sadece önemli LVSI varsa dahil edilmiştir (51,52). Bu yüksek-orta riskli grup ayrıca önemli LVSI' li evre IB düşük dereceli endometrioid ve LVSI' den bağımsız olarak evre IB yüksek dereceli endometrioid endometrium kanseri ve evre II endometrioid endometrium kanserini içermektedir. Bu yeni sınıflandırılmış grupta (negatif düşümlerde bile) daha yüksek nüks riski göz önüne alınarak, vajinal nüksleri azaltmak için adjuvan brakiterapi önerilebilir (53). Önemli LVSI ve/veya evre II durumunda EBRT pelvik ve para-aort nodal nüks riskini azalttığı gösterildiği için adjuvan tedavi olarak düşünülebilir (53). Yüksek- orta risk grubunda ise yapılan randomize çalışmalarda tek başına adjuvan kemoterapi ve EBRT arasında sağ kalım ve nüks arasında anlamlı fark olmadığı gösterilmiştir (54,55). NSGO/EORTC çalışması ve PORTEC-3 çalışmasında ise adjuvan tedavide kemoterapi ve radyoterapinin, tek başına radyoterapi tedavisiyle kıyaslandığında kombine tedavinin sağ kalım ve nüks daha az olduğu gösterilmiştir (56,57). GoG-249 (yüksek riskli faktörlere sahip evre I ve II endometrium kanseri veya seröz veya berrak hücre histolojisi için),

PORTEC-3 denemesi ve eski GOG-99 denemesi göz önüne alındığında adjuvan EBRT, önemli LVSI veya evre II durumunda önerilmektedir (56,57,58,59,60). ESMO-ESGO-ESTRO konsensüs konferansında yüksek riskli olarak belirlenen bazı kanserlerin artık bu ESGO-ESTRO-ESP kılavuzlarında yüksek riskli alt gruba dahil edilmemiştir (51,52). Yüksek riskli kanserleri rezidüel hastalıksız evre III–IVA veya evre I–IVA p53abn veya myometriyal invazyon ile rezidüel hastalığı olmayan endometrioid olmayan kanserlerdir. PORTEC-3 deneme dokularının moleküler analizi, MMRd kanserler için kemoterapinin fayda sağlamadığını öne sürülmüştür (57,61). Yüksek riskli grupta eşzamanlı adjuvan kemoterapi ve radyoterapi ya da alternatif olarak sırayla kemoterapi ve radyoterapi ile EBRT önerilmiştir (62). İleri hastalık Evre III ve IV endometrium kanseri (karsinosarkom dahil), maksimal sitoreduksiyon ancak kabul edilebilir morbidite ile makroskopik tam rezeksiyonu yapılacaksa düşünülmelidir (63,64).

GEREÇ VE YÖNTEM

Ocak 2016- Aralık 2019 yılları arası Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı onkoloji polikliniğinde endometrium kanseri tanısı alan olgular taranmıştır. Bu tarihler arasında endometrium kanseri nedeniyle ameliyat edilen toplam 55 hasta olduğu saptanmıştır. Bu olguların dosyalarının incelenmesi için Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi Başhekimliğinden gerekli izinler alınmıştır. Bu hastaların üçünün tanısı karsinosarkom olması üzerine çalışmaya dahil edilmemiştir.

Çalışmaya dahil edilen hastalardan patoloji preparatlarına patoloji laboratuvarından ulaşılmıştır. İki hastanın patoloji preparatları incelendiğinde immünohistokimyasal boyama için uygun olmadığı tespit edilmiş olup, çalışma için uygun olan 50 hasta belirlenmiştir.

Hastaların dosyalarından yaşları, kiloları, gebelik sayısı, menopozal durumu ve ek hastalıkları olup olmadığı ile bilgiler alındı ve kaydedildi. Daha sonra son patoloji raporlarından grade, myometrial invazyon, lenfovasküler yatak tutulumu, servikal tutulum, lenf nodu tutulum ve evresi kaydedildi. Bu hastaların patoloji preparatları çalışmamızın amacına uygun bir şekilde immünohistokimyasal inceleme için Dr. A. T tarafından değerlendirildi.

Değerlendirmeye alınan olguların PTEN, MSI ve p53 immünohistokimyasal analizleri yapılmıştır. Patoloji preparatlardan her hasta için yeterli tümör içeren lam belirlendi. Her olguya ait formalinle fikse parafin bloklardan pozitif yüklü elektrostatik lamlara 4 mikronluk kesitler alınarak 58°C'lik etüvde 4 saat bekletildi. Etüvden çıkarılan lamlara, otomatik boyama cihazının çalışması için gerekli barkodlar yapıştırıldı. Kesitler tam otomatik immunohistokimyasal boyama cihazına (Benchmark Ultra automated IHC/ISH slide staining system, Ventana Medical Systems) yerleştirildi.

İmmunohistokimyasal boyama için cihaz ile uyumlu Ultraview Universal DAB Detection Kit ve EZ prep, Reaction Buffer Concentrate solüsyonları, Endogenous Biotin Blocking Kit, Hematoksilen ve Blue Reagent kullanıldı. İmmunohistokimyasal boyama için konsantre poliklonal PTEN (A2B1) (Santa Cruz Biotechnology, ürün kodu: 5C-7974), p53 (D07) (Ventana, ürün kodu: 05278775001), MLH1 (M1) (Ventana, ürün kodu: 08033668001), MSH2 (G219-1129) (Ventana, ürün kodu:

08033388001), MSH6 (SP93) (Ventana, ürün kodu: 08033676001) ve PMS2 (A16-4) (Ventana, ürün kodu: 08033692001), antikoları kullanıldı.

PTEN için Phosphate Buffered Antibody Diluent (ScyTek) kullanılarak 1:100'lük dilüsyon ile CC1 (EDTA) (90 dakika), inkübasyon (116 dakika), Hematoksilen (8 dakika), Blue reagent (4 dakika) uygulandı. p53 için CC1 (EDTA) (60 dakika), inkübasyon (64 dakika), Hematoksilen (8 dakika), Blue reagent (4 dakika); MLH1 için CC1 (EDTA) (76 dakika), inkübasyon (60 dakika), Hematoksilen (4 dakika), Blue reagent (4 dakika); MSH2 için CC1 (EDTA) (60 dakika), inkübasyon (32 dakika), Hematoksilen (8 dakika), Blue reagent (4 dakika); MSH6 için CC1 (EDTA) (60 dakika), inkübasyon (16 dakika), Hematoksilen (4 dakika), Blue reagent (4 dakika); PMS2 için CC1 (EDTA) (60 dakika), inkübasyon (96 dakika), Hematoksilen (8 dakika), Blue reagent (4 dakika) olarak uygulandı.

Tüm değerlendirmeler standart ışık mikroskobunda yapılmıştır. PTEN (sitoplazmik boyanma) ve p53 (nükleer boyanma) için tümör hücrelerindeki boyanma yüzdesi skorlanmıştır.

PTEN için stoplazmik boyanma ve p53 için nükleer boyanma olması pozitif boyanma olarak kabul edilmiştir. Hücrelerde boyanma olmaması veya <%5 hücrede boyanma olması durumunda skor 0 (negatif), %5-25 hücrede boyanma olması durumunda skor 1 (zayıf), %25-75 hücrede boyanma olması durumunda skor 2 (orta) ve > %75 hücrede boyanma olması durumunda skor 3 (güçlü) olarak kabul edilmiştir. PTEN ve p53 için pozitif kontrol grupları olarak sırasıyla akciğer kanseri ve meme kanseri kullanılmıştır.

Mikrosatellit markerler olan MLH1, MSH2, MSH6 ve PMS2 için tümör hücrelerin de nükleer boyanma olup olmaması değerlendirilmiştir. Markerlardan biriyle hiç boyanma olmaması kayıp olarak kabul edilmiştir. Dört markerden hiçbirinde kayıp yoksa mikrosatellit stabil, birinde kayıp varsa düşük mikrosatellit instabil ve iki ve daha fazlasında kayıp varsa yüksek mikrosatellit instabil olarak kabul edilmiştir. Mikrosatellit markerların tümü için preparattaki tümör dışı hücreler pozitif kontrol olarak kabul edilmiştir.

Çalışmaya alınan ve değerlendirmesi tamamlanan hastaların iletişim bilgilerine ulaşılarak telefon açılıp son durumları hakkında bilgi edinilmiştir.

p53, PTEN ve mikrosatellit instabilitesi markerları (MSH2 MLH1 MSH6 ve PMS2) ve ilgili immünohistokimyasal boyamaların yüzdeleri hesaplanmıştır. PTEN, p53 ve MSI' nin myometrial invazyon, servikal, lenf nodu tutulumu, lenfovasküler alana invazyonu; hastalığın evresi, grade ve histolojik tip, nüks ve sağkalım ilişkisi araştırılmıştır. İstatistiksel hesaplamalar için Statistical Package for the Social Sciences (SPSS versiyon 21) programı kullanılarak ile Ki Kare ve sağ kalım için Kaplan Mayer analizleri yapılmıştır. Ki Kare testinde $p < 0,05$ olması anlamlı kabul edilmiştir.



BULGULAR

Çalışmaya alınan olguların yaş ortalaması 63,2 olup (40-81 yaş), ortalama kilo 88,4 kg (62-120, gebelik sayısı ortalama 3,8 (0-13) idi ve 2 hasta nullipardı. Hastaların hepsi postmenopozal dönemde olup premenopozal dönem hasta bulunmamaktadır. Hastaların 17'sinin (%34) ek hastalığı bulunmazken, 17 hastada (%34) hipertansiyon, 9 hastada (%18) tip 2 diyabet ve 7 hasta ise hem tip 2 diyabet hem de hipertansiyon bulunmaktadır (Tablo 2). Olguların 35'i evre 1 (%70), 3'ü evre 2 (%6) ve 12'si evre 3 (%24) olduğu tespit edilmiştir. Histolojik tiplere göre değerlendirildiğinde hastaların 43'ünün (%86) endometrioid tip olduğu, 3 hastanın seröz (%6) ve 4 hastanın mikst (%8) tip olduğu tespit edilmiştir. Endometrioid tip olan hastaların gradeleri ise; grade 1 olan 15 hasta (%30) iken grade 2 olan 23(%46) hasta ve grade 3 olan 10(%20) hasta bulunmaktadır (Tablo 3).

Histopatolojik değerlendirmede olguların 27 hastada (%54) myometrial invazyon, 13 hastada (%26) servikal tutulum olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızdaki 10 hastada (%20) ise pelvik lenf nodu ya da pelvik- paraaortik lenf nodu tutulumu olduğu tespit edilmiştir bunlardan 6 hastada pelvik lenf nodu, 1 hasta paraaortik lenf nodu ve 3 hasta hem pelvik hem de paraaortik lenf nodu tutulumu mevcuttur. Batın sitolojisinde ise 2 hastanın (%4) malign özelliktedir ve 12 hastada (%24) ise lenfovasküler tutulum olduğu görülmüştür.

Adjuvan tedaviler değerlendirildiğinde 31 hastaya (%62) olguya adjuvan tedavi verilmiştir. Bunların 20 hastaya radyoterapi, 12 hastaya (%60) external, 8 hastaya (%40) brakiterapi almıştır. Bu olguların 11 hastaya (%22) kemoterapi ve radyoterapi uygulanmıştır.

Olguların ortalama izlem süreleri 17.1 ay (1-43 ay) dır. Olguların 8'inde nüks görülmüştür (%16). Nüks bölgeleri incelendiğinde ise 1 hasta pelviste olduğu 7 hastanın pelvis dışında olduğu görülmüştür. Olguların 44'ün yaşadığı, 6'sının öldüğü saptanmıştır.

Tablo 3. Endometrium kanseri olgularının klinik ve demografik özellikleri

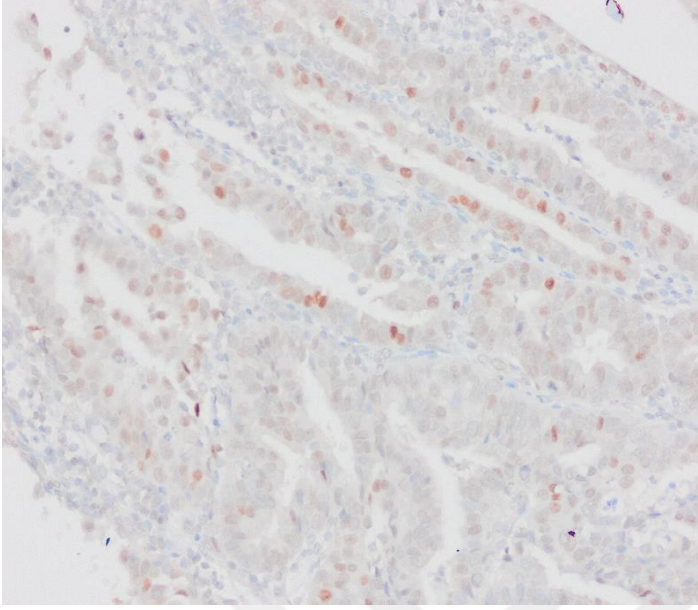
Parametreler	Sayı (min-max) (%)
Yaş (ort.)	63,2 (40-81)
Kilo (ort.)	88,4 (62-120)
Gebelik sayısı (ort.)	3,8 (0-13)
Menopoz	
Evet	50(100)
Hayır	0 (0)
Ek hastalık	
HT	17(34)
DM	9(18)
HT ve DM	7(14)
Histolojik tip	
Endometrioid	43 (86)
Seröz	10 (6)
Mikst	4 (8)
Evre	
Evre 1	35(70)
Evre1A	12(24)
Evre 1B	23(46)
Evre 2	10(20)
Evre 3	12 (24)
Evre 4	0(0)
Grade	
Grade 1	15 (30)
Grade 2	23 (46)
Grade 3	10 (20)

HT: hipertansiyon, DM: Diabetes mellitus

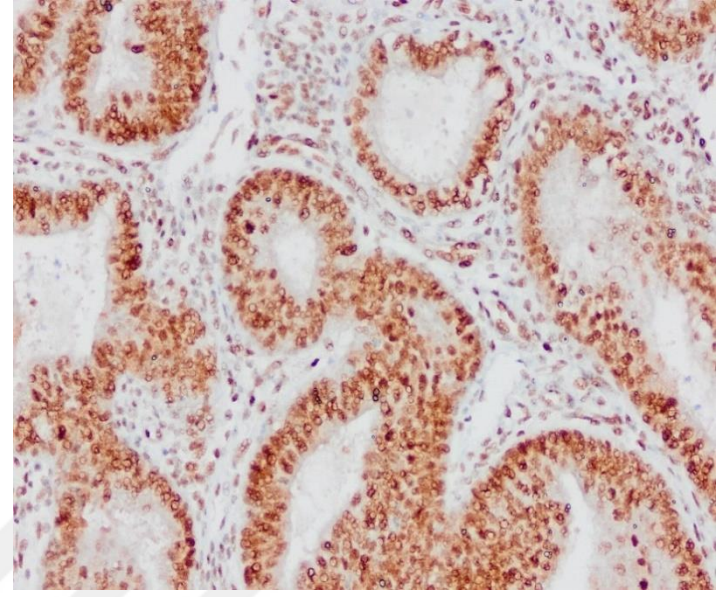
Çalışmamızda hastaların %54'ünün p53 ve %28'in, PTEN ile boyandığı, %30'unun ise MSI kayıp olduğu saptanmıştır. PTEN ile boyanan hastaların %2'sinin güçlü boyanma, %8'sinin orta ve %18'sinin zayıf boyandığını; p53 ile boyanan hastaların ise %8'i güçlü, %10'nun orta ve %36'sının zayıf boyandığı görülmüştür. MSI kayıplarına bakıldığında ise %28'sinin MLH1PMS2 ve %2'sinin ise MSH2MSH6 kaybı olduğu görülmüştür (Tablo 4).

Tablo 4. Hastaların İmmünohistokimyasal Boyanma Özellikleri

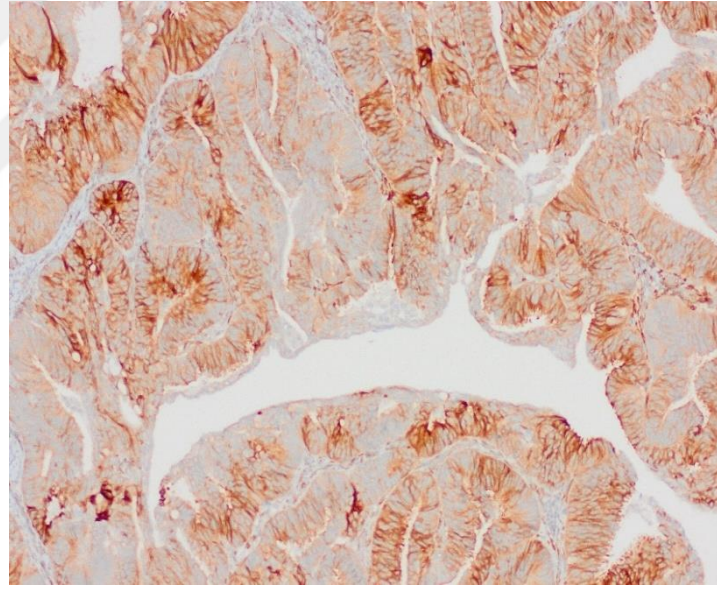
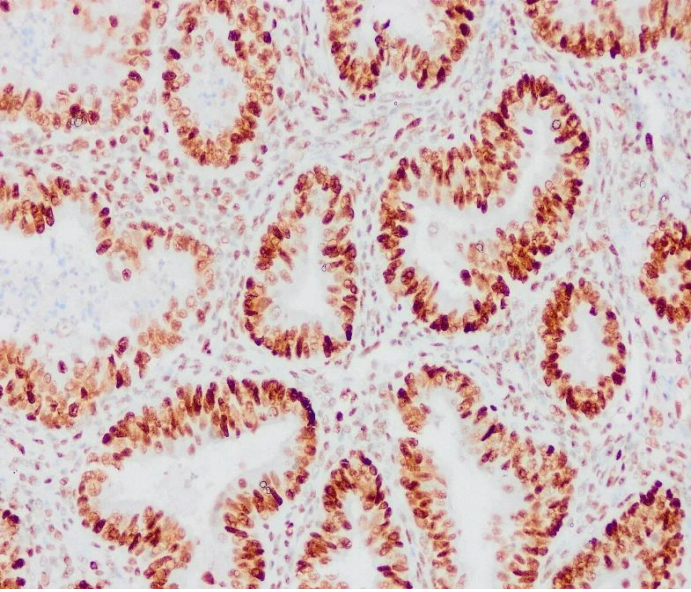
Belirteç	Pozitif (sayı, %)	Negatif (sayı, %)	Toplam
P53	27(54)	23(46)	50
Güçlü	4(8)	0 (0)	4
Orta	5(10)	0 (0)	5
Zayıf	18(36)	0 (0)	18
PTEN	14(28)	36(72)	50
Güçlü	1(2)	0 (0)	1
Orta	4(8)	0 (0)	4
Zayıf	9(18)	0 (0)	9
MSI	15(30)	35(70)	50
MLH1PMS2	14(28)	0 (0)	14
MSH2MSH6	1(2)	0 (0)	1



A



B



Şekil 2. A; p53 ile boyana hücre; B; MLH1 kaybı olan hücre; C; MSH6 kaybı olan hücre; D; PTEN ile boyanan hücre

p53 ile boyanan olgular incelendiğinde endometrioid tipin 24(%48)'ün, mikst tipin 2(%4)' sinin ve seröz tipin 1(%2)'in boyandığı saptanmıştır. p53 ile boyanan endometrioid tiplerin gradelerine bakıldığında ise 8(%16)'sinin grade 1, 10(%20)'unun grade 2 ve (%16)'sinin grade 3 olduğu görülmüştür. Hasta evrelerin p53 boyanma özelliğine bakıldığında evre 1'in 18(%36)'in, evre 2'in 1(%2)'in ve evre

3'ün 8(%16)'sinin boyandığı görülmüştür. Myometrial invazyon olan hastaların 15(%30)' in, servikal tutulum olanların 7 (%14)' sinin, lenf nodu tutulumu olanların 6(%12)' sinin, benign batın sitolojilerin ise 25 (%50)' in ve malign batın sitolojisi 2 (%100) ve lenfovasküler tutulumunun 8 (%16)' in p53 ile boyandığı görülmüştür. Hastaların cerrahiden sonraki tedavileri bakıldığında takip olanların 8(%16)' sinin, radyoterapi alanların 12(%24)'sinin ve hem radyoterapi hem de kemoterapi alanların ise 7(%14)' sinin p53 ile boyandığı saptanmıştır (Tablo 5)



Tablo 5. Olguların p53 ile Boyanma Özellikleri

Prognostik Faktörler	Pozitif (sayı, %)				Negatif (sayı, %)	p Değeri
	Güçlü	Orta	Zayıf	Toplam		
Histolojik tip						
Endometrioid	3(6)	5(10)	16(32)	24(48)	19(38)	0,585
Mikst tip	-	-	2(4)	2(4)	2(4)	
Seröz	1(2)	-	-	1(2)	2(4)	
Grade						
Grade 1	1(2)	2(4)	5(10)	8(16)	7(14)	0,288
Grade 2	3(6)	1(2)	6(12)	10(20)	13(26)	
Grade 3	-	2(4)	6(12)	8(16)	2(4)	
Evre						
Evre1	2(4)	4(8)	12(24)	18(36)	17(34)	0,501
Evre 2	-	-	1(2)	1(2)	2(4)	
Evre 3	2(4)	1(2)	5(10)	8(16)	4(8)	
Evre 4	-	-	-	-	-	
Myometrial İnvazyonu						
<%50	1(2)	3(6)	8(16)	12(24)	11(22)	1,00
>%50	3(6)	2(4)	10(20)	15(30)	12(24)	
Servikal Tutulum						
Var	1(2)	2(4)	4(8)	7(14)	6(12)	1,00
Yok	3(6)	3(6)	14(28)	20(40)	17(34)	
Lenf nodu tutulumu						
Var	2(4)	1(2)	3(6)	6(12)	4(8)	0,736
Yok	2(4)	4(8)	15(30)	21(42)	19(38)	
LVSI						
Var	2(4)	1(2)	5(10)	8(16)	4(8)	0,345
Yok	2(4)	3(6)	13(26)	18(36)	19(38)	
Batın Sitolojisi						
Benign	2(4)	5(10)	18(36)	25(50)	23(46)	0,493
Malign	2(4)	-	-	2(4)	-	
Tedavi						
Takip	-	3(6)	5(10)	8(16)	11(22)	0,409
RT	2(4)	1(2)	9(18)	12(24)	8(16)	
RT+KT	2(4)	1(2)	4(8)	7(14)	4(8)	

RT; radyoterapi, KT; kemoterapi, LVSI; lenfovasküler alan invazyonu

PTEN ile boyanan olgular incelendiğinde endometrioid tipin 14(%28)'ün boyandığı ve mikst ve seröz tiplerin PTEN ile boyanmadığı görülmüştür. PTEN ile boyanan endometrioid tiplerin gradelerine bakıldığında ise 6(%12)'sinin grade 1, 6(%12)' sinin grade 2 ve 2(%4)'ünün grade 3 olduğu görülmüştür. Hasta evrelerin PTEN boyanma özelliğine bakıldığında evre 1'in 14(%28)'ünün boyandığı, evre 2 ve evre 3 ün PTEN ile boyanmadığı görülmüştür. Myometrial invazyon olan hastaların 5(%10)' in, benign batın sitolojilerin ise 14 (%28)' ünün ve lenfovasküler tutulumunun 3(%6)' ün PTEN ile boyandığı görülmüştür. PTEN ile servikal tutulum olan, lenf nodu tutulumu olan ve malign batın sitolojisi olan hastaların boyanmadığı görülmüştür Hastaların cerrahiden sonraki tedavileri bakıldığında takip olanların 8(%16)' sinin, radyoterapi alanların 6(%12)'sinin PTEN ile boyanırken radyoterapi ve kemo-terapi alan hastaların PTEN ile boyanmadığı görülmüştür. (Tablo 6)

Tablo 6. Olguların PTEN ile Boyanma Özellikleri

Prognostik Faktörler	Pozitif (sayı, %)				Negatif (sayı, %)	p Değeri
	Güçlü	Orta	Zayıf	Toplam		
Histolojik tip						
Endometrioid	1(2)	4(8)	9(18)	15(30)	29(58)	0,367
Mikst tip	-	-	-	-	4(8)	
Seröz	-	-	-	-	3(6)	
Grade						
Grade 1	1(2)	1(4)	4(8)	6(12)	9(18)	0,560
Grade 2	-	2(4)	4(8)	6(12)	17(34)	
Grade 3	-	1(2)	1(2)	2(4)	8(16)	
Evre						
Evre1	1(2)	4(8)	9(18)	15(30)	21(42)	0,016
Evre 2	-	-	-	-	3(6)	
Evre 3	-	-	-	-	12(24)	
Evre 4	-	-	-	-	-	
Myometrial İnvazyonu						
<%50	1(2)	3(6)	5(10)	9(18)	14(28)	0,126
>%50	-	1(2)	4(8)	5(10)	22(44)	
Servikal Tutulum						
Var	-	-	-	-	13(26)	0,010
Yok	1(2)	4(8)	9(18)	14(28)	23(46)	
Lenf nodu tutulumu						
Var	-	-	-	-	10(20)	0,045
Yok	1(2)	4(8)	9(18)	14(28)	26(52)	
LVSI						
Var	-	1(2)	2(4)	3(6)	9(18)	1,00
Yok	1(2)	3(6)	7(14)	11(22)	27(54)	
Batın Sitolojisi						
Benign	1(2)	4(8)	9(18)	14(28)	34(68)	1,00
Malign	-	-	-	-	2(4)	
Tedavi						
Takip	1(2)	3(6)	4(8)	8(16)	11(22)	0,045
RT	-	1(2)	5(10)	6(12)	14(28)	
RT+KT	-	-	-	-	11(22)	

RT; radyoterapi, KT; kemoterapi, LVSI; lenfovasküler alan invazyonu

Mikrosatellit instabilitesi (MSI) kaybı olan hastalar incelendiğinde endometrioid tipin 13(%26)'ün ve mikst tipin 2(%4)'sinde kayıp varken seröz tipte kayıp olmadığı görülmüştür. MSI kaybı olan endometrioid tiplerin gradelerine bakıldığında ise 7(%14)'sinin grade 1, 4(%8)'ün grade 2 ve 3(%6)'ünün grade 3 olduğu görülmüştür. Hasta evrelerin MSI kaybı olan bakıldığında evre 1' in 8(%16)' i, evre 2'in 3(%6)' ü ve evre 3'ün 4(%8)'ünün MSI kaybı olduğu görülmüştür. Myometrial invazyon olan hastaların 10(%20)' un, servikal tutulumu olanlarda 6(%12)' sının, lenf nodu tutulumu olanların 3(%6)' ünün, benign batin sitolojilerin ise 15 (%30)' inin ve lenfovasküler tutulumunun 4(%8)' ün MSI kaybı olduğu görülmüştür. Malign batin sitolojisi olan hastaların MSI kaybı olmadığı görülmüştür. Hastaların cerrahiden sonraki tedavileri bakıldığında takip olanların 3(%6)' ünün, radyoterapi alanların 9(%18)' unun ve radyoterapi ve kemoterapi alan hastaların 3(%6)' ünün MSI kaybı olduğu görülmüştür. (Tablo 7)

Tablo 7. Olguların MSI kayıp Özellikleri

Prognostik Faktörler	Kayıp Var (sayı, yüzde %)			Kayıp yok (sayı, yüzde %)	p De- ğeri
	MLH1PMS2	MSH2MSH6	Toplam		
Histolojik tip					
Endometrioid	12(24)	1(2)	13(26)	30(60)	0,304
Mikst tip	2(4)	-	2(4)	2(4)	
Seröz	-	-	-	3(6)	
Grade					
Grade 1			7(14)	8(16)	0,208
Grade 2	7(14)	-	4(8)	19(38)	
Grade 3	4(8)	-	3(6)	7(14)	
	2(4)	1(2)			
Evre					
Evre1	8(16)	-	8(16)	27(54)	0,019
Evre 2	3(6)	-	3(6)	-	
Evre 3	3(6)	1(2)	4(8)	8(16)	
Evre 4	-	-	-	-	
Myometrial İnvazyonu					
<%50	5(10)	-	5(10)	18(36)	0,315
>%50	9(18)	1(2)	10(20)	17(34)	
Servikal Tutulum					
Var	5(6)	1(2)	6(12)	7(14)	0,770
Yok	9(18)	-	9(18)	28(56)	
Lenf nodu tutulumu					
Var	2(4)	1(2)	3(6)	7(14)	1,00
Yok	12(24)	-	12(24)	28(56)	
LVSI					
Var	3(6)	1(2)	4(8)	8(12)	1,00
Yok	11(22)	-	11(22)	27(54)	
Batın Sitolojisi					
Benign	14(28)	1(2)	15(30)	33(66)	1,00
Malign	-	-	-	2(4)	
Tedavi					
Takip	3(6)	-	3(6)	16(32)	0,229
RT	9(18)	-	9(18)	11(22)	
RT+KT	2(4)	1(2)	3(6)	8(16)	

RT; radyoterapi, KT; kemoterapi, LVSI; lenfovasküler alan invazyonu

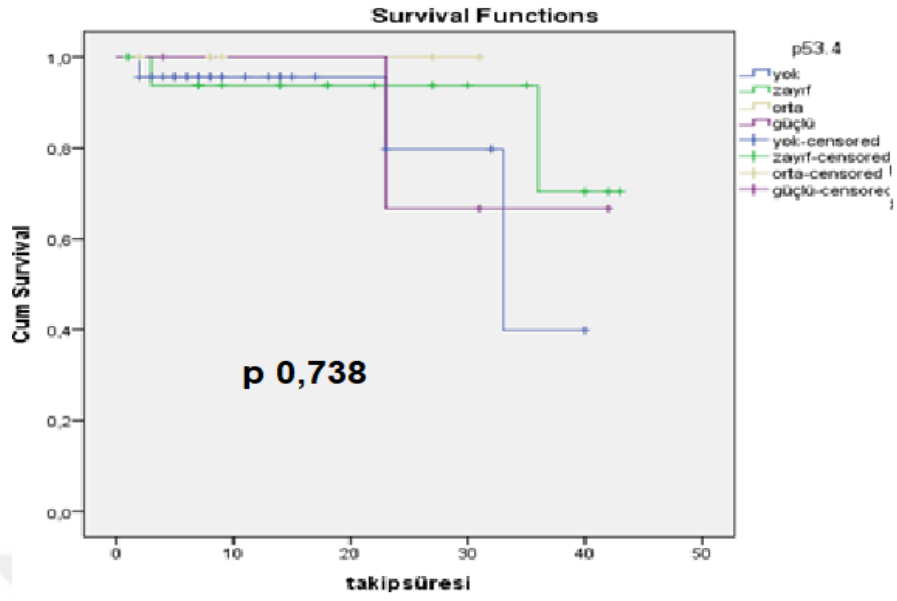
Çalışmamızda ki 50 hastanın 8' inde nüks olduğu saptanmıştır. Nüks olan hastaların çalışmamızdaki p53 (0,261), PTEN (0,414) ve MSI (1,00) ile anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Çalışmamızda 50 hastanın 6'sının öldüğü ve 44'ünün yaşadığı, ortalama 37,215 ay takip edildiği tespit edildi. Sağ kalım ile p53 (p 0,758), PTEN (p 0,803) ve MSI (p 0,244) ile sağ kalım arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Çalışmamızda sağ kalım ile hastaların evresi (p 0,047), lenfovasküler alan invazyonu (p 0,053) ve servikal alan invazyonu (p 0,005) ile anlamlı ilişki saptanmıştır (Tablo 8)

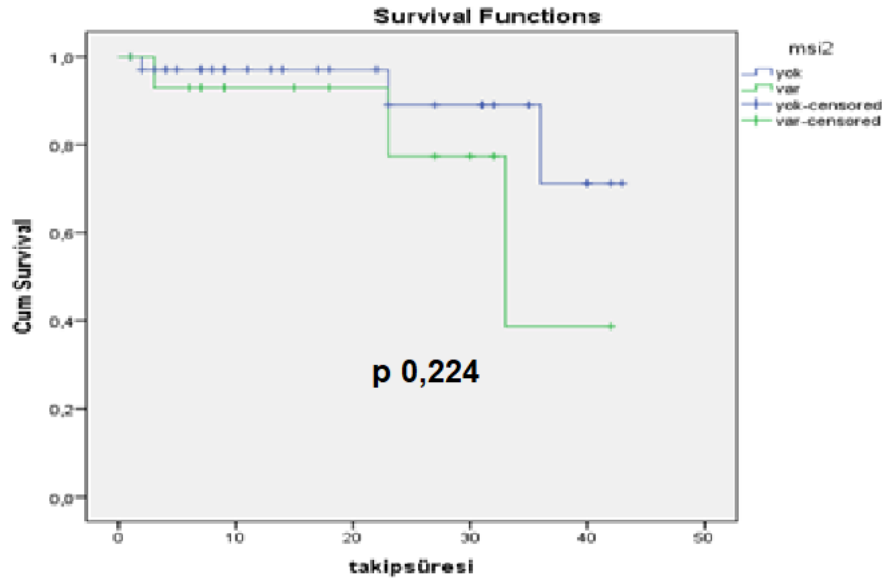


Tablo 8. Olguların Sağ Kalım ve Nüks Sonuçları

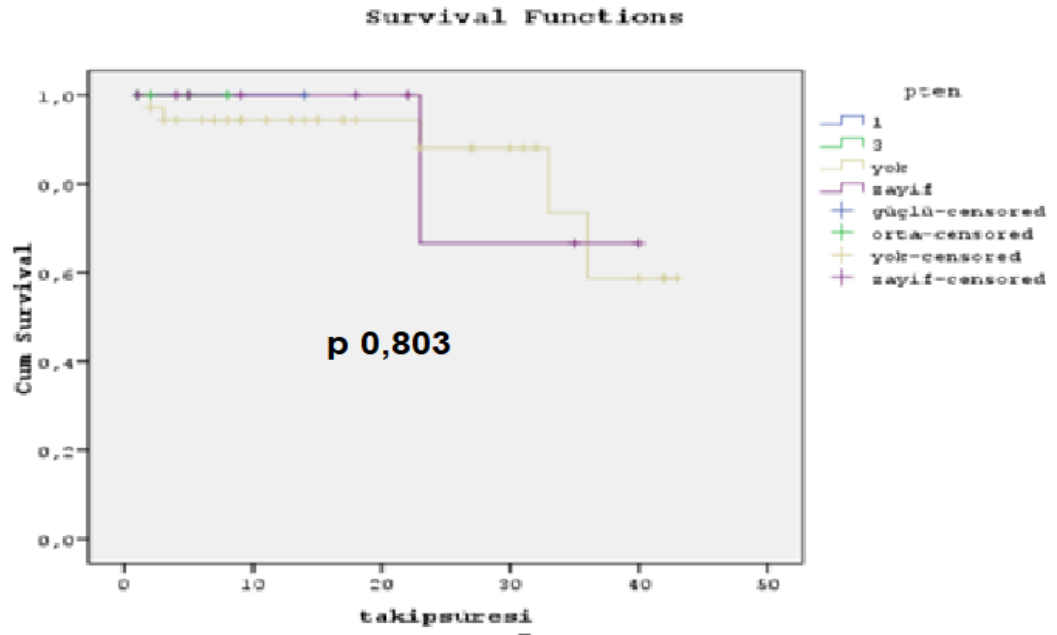
İmmünohisto- kimyasal belirteçler	Nüks (sayı)		p Değeri	Sağ kalım (sayı)		
	Var	Yok		Yaşıyor	Exitus	p Değeri
p53						
Negatif	2	21		20	3	
Pozitif	6	21		24	3	
Güçlü	2	2		3	1	
Orta	1	4	0,261	5	-	0,738
Zayıf	3	15		16	2	
PTEN						
Negatif	7	29		31	5	
Pozitif	1	13		13	1	
Güçlü	-	1		1	-	
Orta	-	4	0,414	4	-	0,803
Zayıf	1	8		8	1	
MSI						
Kayıp Yok	6	29		32	3	
Kayıp Var	2	13		12	3	
MLH1PMS2	2	12		11	3	
MSH2MSH6	-	1	0,880	1	-	0,224



Şekil 3: p53'ün sağ kalım grafisi



Şekil 4: MSI' nın sağ kalım grafisi



Şekil 5: PTEN' nin sağ kalım grafisi

TARTIŞMA

Günümüzde endometrium kanseri en sık görülen genital kanserdir. Dünyada her yıl yaklaşık 380.000 yeni endometrium kanser vakası ortaya çıkmakta ve yılda yaklaşık 89.000 ölüm görülmektedir (65). Primer tedavisi cerrahi olup, hem cerrahinin şekillendirilmesinde hem de adjuvan tedavi seçinde bazı histopatolojik ve klinik prognostik faktörler kullanılmaktadır. Bu prognostik faktörler; histolojik tip, tümör grade, miyometriyal invazyon derinliği (MI), lenfovasküler invazyonu (LVSİ) ve servikal tutulum gibi faktörlerdir ve tümör rekürrensi ve sağkalım ile ilişkisi bulunmaktadır (66,67,68,69,70,71). Günümüzde bu prognostik faktörlere göre adjuvan tedavi kararları verilmekte, ancak bu faktörler tümör biyolojisini ve davranışını belirlemede, prognozu doğru tayin etmede yetersiz kalabilmekte ya da bunları değerlendiren laboratuvarlar arasında uyumsuzluklar olabilmektedir. Dolayısıyla endometrium kanserinin histopatolojik sınıflandırmasının yanında, tümörü biyolojisini daha iyi tanımaya ve moleküler ve genetik değişiklikleri analiz ederek prognozunu belirlemek ve doğru tedavileri, hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesine olanak sağlamak mümkün olabilir. Son yıllarda bu konuda yoğunluğu giderek artan çalışmalar yapılmaya başlanmıştır.

Moleküler tabanlı sınıflandırmaya yönelik bu yaklaşımının düşük, orta ve yüksek riskli endometrium kanserinde prognostik olarak bilgilendirici olduğu gösterilmiştir. Moleküler sınıflandırma hem Tip 1 (endometrioid) ve Tip 2 (non-endometrioid) tümörler için de geçerli olduğunu gösterilmiştir. Ancak günümüzde düşük riskli endometrioid kanserler için moleküler sınıflandırmanın gerekli olmayacağı, daha ziyade yüksek riskli olgularda (grade 3 endometrioid ve non-endometrioid tipler) bilgilendireceği ve tedaviyi yönlendirebileceği belirtilmektedir. Örneğin yüksek riskli endometrium kanserinde moleküler sınıflandırmada POLE mutasyonu olan olgular iyi prognoza sahip iken p53 mutasyonuna olan olgular ise kötü prognoza sahiptir (72,73). TP53 mutasyonunun göstergesi p53abn'ın immünohistokimyasal boyanmadır fakat ayırıcı tanı için yeterli değildir. Ayrıca, yüksek kopya sayısı tümörlerinin küçük bir kısmı TP53 mutasyonları gösterilmemiştir. Henüz moleküler sınıflandırma da bazı kısıtlamalar ya da tespit etme veya yorumlama zorlukları da bulunmaktadır. Bu nedenle moleküler sınıflamada geçerli olduğu gösterilen faktörlerle beraber

geleneksel histopatolojik faktörleri birlikte değerlendiren entegre bir analiz ideal görünmektedir.

Biz de bu çalışmada immünohistokimyasal belirteçlerden p53, PTEN ve mikrosatellit instabilitesi (MSI)' nin endometrium kanserindeki histopatolojik prognostik faktörler ve sağ kalım ile ilişkisini incelemeyi amaçladık. Litatürde endometrium kanserinde immünohistokimyasal belirteç olan p53 ile boyanma kötü bir prognostik faktör olduğu ileri evre, artmış myometrial invazyon, pozitif lenf nodu tutulumu ve uzak metastazlarla ilişkili olduğu belirtilmiştir (74,75). Stavropoulos ve ark. endometrium kanseri olan 99 kadında p53 tümör baskılayıcı proteinlerin ekspresyonunun retrospektif immünohistokimyasal analizini yapmıştır. Sonucunda ise p53'ün histolojik tip, grade ve fallop ve / veya over metastazı ile anlamlı olarak ilişki saptanmıştır (76). Bizim çalışmamızda ise p53'ün prognostik faktörler ile arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Fakat kötü prognostik faktörlerle p53 boyanma yüzdelerine bakıldığında PTEN ve MSI' ye göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Stavropoulos ve ark.' ın çalışması ile çalışmamız kıyaslandığında bizim çalışmamızdaki hastaların %70' in evre 1 iken; diğer çalışmalarda ise hastaların çoğunlukla ileri evre olduğu görülmektedir. Dolayısıyla p53 gibi immünohistokimyasal belirteçlerin ileri evre ya da yüksek riskli endometrium kanserlerinde anlamlı olabileceğini gösterebilir.

Endometrium kanserlerinde, özellikle tip 1'de, PTEN mutasyonlarının vakaların % 25-83'lerinde ortaya çıktığı ve bununla birlikte, PTEN mutasyonlarının endometrial hiperplazide de meydana geldiği bilinmektedir (77,78,79,80) PTEN ekspresyon kaybının endometrioid histoloji ile ilişkili olduğu ve lenfovasküler alan invazyonu olan hastalarda ise PTEN ile boyanmadığı gösterilmiştir (81). Yükselen ve ark. PTEN mutasyonlarının düşük dereceli ve düşük evre endometrium kanserleriyle ilişkili olduğunu belirtilirken (79); Stavropoulos ve ark. yaptığı çalışmada ise PTEN ekspresyonu miyometriyal invazyon ve klinik evre ile ilişkili olduğu saptanmıştır (76). Bizim çalışmamızda da PTEN ile düşük evre ile anlamlı ilişki olduğu görülmüştür. Diğer çalışmalara bakıldığında ise PTEN ile standart prognostik faktörler arasında korelasyon olmadığını belirtmiştir (82,83,84). Bizim çalışmamızda prognostik faktörler olan servikal alanı tutulumu ve lenf nodu tutulumu olmadığı ve bu da düşük evre endometrium kanseri ile PTEN arasında anlamlı ilişki olabileceğini göstermektedir.

Bu da PTEN' in endometrium kanserinde iyi prognoz göstergesi olabileceğini düşündürmektedir.

Mikrosatellite instabilite (MSI) Lynch sendromlu kadınlarda gelişen kanserler, genom boyunca multiple mikrosatellite tekrar dizilerindeki mutasyonlar ile karakterizedir. Lynch sendromlu kadınlarda ikinci sıklıkta görülen kanser endometrium kanseridir. Sporadik endometrium kanserlerinin %20'sinde de mikrosatellite instabilitesi mevcuttur (82,83). Endometrium kanserinde görülen en sık izole MLH kaybıdır. Hashmi ve ark., endometrium kanseri olan ve Lynch sendromu olan 126 hasta ile yapılmıştır. Bu çalışmada hastaların ailesel kanserler öyküsü olan hastalarda MSH2/MSH6 kaybının olduğu gösterilmişken ileri evre endometrioid kanserlerinde MSI kaybının yaygın olduğu gösterilmiştir (85). Bu çalışmada ailesel kanserleri ile ilişki gösterilmiştir fakat bizim çalışmamızda endometrium kanseri ile Lynch sendromu arasındaki ilişki incelenememiştir. Mikrosatellit instabilitesi' nin endometrium kanserinin prognozu üzerindeki etkisi tartışmalıdır. Bazı çalışmalar mikrosatellit instabilitenin olumlu bir prognoz ile ilişkili olduğunu bildirirken (86,87) diğer çalışmalarda kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (88,89). Bizim çalışmamızda ise endometrium kanserin evresi ile anlamlı ilişki olduğu bulunmuştur.

2013 yılında yapılan Genom Atlas Projesine göre endometrium kanseri i) POLE ultra-mutant, (ii) MSI hipermutated, (iii) copy-number low ve (iv) copy-number high sınıflandırılmıştır. Bu yeni sınıflandırma ile hastalığın nüks ve sağ kalım ile ilişkisi inceleyen literatür de çalışmalar bulunmaktadır. Özellikle endometrioid tip endometrium kanserinin grup 1(POLE ultra-mutant) ve grup 2 (MSI hipermutated) grupta yer alan hastalar ile grup 3(copy-number low) ve grup 4(copy-number high) grupta yer alan hastaların nüks ve sağ kalımları kıyaslandığında grup 1 ve grup 2' nin sağ kalımın daha yüksek ve nüksün daha az olduğu saptanmıştır. Stello ve ark., yaptığı çalışmanın sonucunda bu yeni sınıflandırma ile nüks ve sağ kalım arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (90). Bizim çalışmamızda ise p53 ve PTEN ve MSI ile nüks ve sağ kalım arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Ancak nüks olan hastaların 6'sının, exitus olan hastaların 3'ün p53 ile boyandığı saptanmıştır. Nüks olan ve exitus olan hastaların sadece 1'inin PTEN ile boyandığı bunda zayıf özellikte olduğu görülmüştür. Nüks olan hastaların 2'sinin ve exitus olan hastaların 3'ünün MSI kayıp olduğunu saptanmıştır. Ancak bu çalışmamızın bazı sınırlamaları bulunmaktadır;

bunlar hasta sayısının az olması ve hastaların çoğunun erken evre ya da düşük riskli hasta grupta olması izlem sürelerinin uzun olmaması olarak belirtilebilir. Moleküler analizlerin yaygınlaşması ve çok sayıda hasta üzerinde bunların test edilmesi, prognoz ve sağ kalım üzerinde etkilerinin net olarak ortaya konabilmesi için gelecekte çok sayıda hasta üzerinde ve uzun izlem süreleri olan çalışmalara gereksinim bulunmaktadır.



SONUÇLAR

Çalışmamızda elde edilen sonuçlarımız; PTEN ve MSI' nin endometrium kanserinde iyi prognoz ilişkili olduğu görülmüştür. Endometrium kanserinin günümüzdeki iyi prognoz kriterleri düşük evre, lenf nodu metastazı, servikal tutulum olmaması ve myometrial invazyonun %50 az olmasıdır. Bizim çalışmamızda PTEN ve MSI' nin evre 1 olduğu ve iki immünohistokimyasal belirteçlere anlamlı ilişki olduğu saptanmıştır. Ayrıca PTEN ile pozitif olan hastaların lenf nodu tutulumu ve servikal tutulum olmadığı ve PTEN' in bu iki prognostik faktörler ile anlamlı ilişki saptanmıştır.

p53 ile bakılan prognostik faktörler ile arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Fakat kötü prognoz kriterleri olan lenf nodu tutulumu, malign batın sitolojisi, myometrial invazyon ve ileri evre olan hastalarda çalışmamızdaki immünohistokimyasal belirteçler arasında kıyaslama yapıldığında p53' ün boyanma oranların daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Çalışmamızda sağ kalım ve nüks arasında p53, PTEN ve MSI ile anlamlı ilişki bulunmamıştır. Ancak nüks olan ve exitus olan hastaların p53 immünohistokimyasal belirteçle boyanma yüzdelerin diğer belirteçlerde daha yüksek olduğu saptanmıştır.

ÖZET

Endometrium kanserlerinde PTEN, p53 ve mikrosatellit instabilitesi' in hastalığın prognozu üzerindeki etkisinin incelenmesi.

AMAÇ: Endometrium kanserinin yönetiminde son zamanlarda histopatolojik faktörlere moleküler analizler eklenerek prognoz hakkında daha doğru bilgiler edinilmeye başlanmıştır. 2013'te Genom Atlas Projesinde endometrium kanser 4 alt grupta toplanmıştır. Bunlar i) POLE ultra-mutant, (ii) MSI hipermutated, (iii) copy-number low ve (iv) copy-number high olarak sınıflandırılmıştır. Biz de bu çalışmada tümör dokusunda PTEN, p53 ve mikrosatellit instabilitesi' inin endometrium kanserindeki bilinen prognostik faktörler ve sağ kalım arasındaki ilişkiyi inceledik.

GEREÇ VE YÖNTEM: Ocak 2016- Aralık 2019 yılları arasında Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı onkoloji polikliniğindeki endometrium kanseri olgularının retrospektif dosya taraması yapılarak çalışma için 50 hasta belirlenmiştir. Bu hastalara ait formalinle fikse parafin bloklardan pozitif yüklü elektrostatik lamlara 4 mikronluk kesitler alınarak 58°C'lik etüvde 4 saat bekletilmiştir. Her olguya ait lam barkodları hazırlanan kesitlere yapıştırılarak tam otomatik immunohistokimyasal boyama cihazına (Benchmark Ultra automated IHC/ISH slide staining system, Ventana Medical Systems) yerleştirilmiştir. İmmünohistokimyasal boyama için cihaz ile uyumlu Ultraview Universal DAB Detection Kit ve EZ prep, Reaction Buffer Concentrate solüsyonları, Endogenous Biotin Blocking Kit, Hematoksilen ve Blue Reagent kullanılmıştır. Tüm bloklara PTEN, p53 ve mikrosatellit instabilite markerları (MLH1, MSH2, MSH6 ve PMS2) ve ilgili immünohistokimyasal boyaları uygulanmıştır. Tüm değerlendirmeler standart ışık mikroskopunda yapılmıştır. PTEN (sitoplazmik boyanma) ve p53 (nükleer boyanma) için tümör hücrelerindeki boyanma yüzdesi skorlanmıştır. Mikrosatellit markerlar olan MLH1, MSH2, MSH6 ve PMS2 için tümör hücrelerinde nükleer boyanma olup olmaması değerlendirilmiştir. Markerlardan biriyle hiç boyanma olmaması kayıp olarak kabul edilmiştir. Dört markerden hiçbirinde kayıp yoksa mikrosatellit stabil, birinde kayıp varsa düşük mikrosatellit instabil ve iki ve daha fazlasında kayıp varsa yüksek mikrosatellit instabil olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR: Çalışmamızda histolojik tiplere göre değerlendirildiğinde 43 (%86) hastanın endometrioid tip, 3 (%6) hastanın seröz ve 4 (%8) hastanın mikst tip olduğu tespit edilmiştir. Endometrioid tip olan hastaların arasında ise; grade 1 olan 15 (%30) hasta iken grade 2 olan 23(%46) hasta ve grade 3 olan 10 (%20) hasta bulunmaktadır. Histopatolojik değerlendirmede olguların 27 (%54) hastada myometrial invazyon, 13(%26) hastada servikal tutulum olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızdaki 10 (%20) hastada ise pelvik lenf nodu ya da pelvik-paraaortik lenf nodu tutulumu olduğu tespit edilmiştir. Bu hastalar arasından 6 hastada pelvik lenf nodu, 1 hasta paraaortik lenf nodu ve 3 hasta hem pelvik hem de paraaortik lenf nodu tutulumu mevcuttur. 2 (4%) hastanın batın sitolojisi ise malign özelliktedir ve 12 (%24) hastada ise lenfovasküler tutulum olduğu görülmüştür. Adjuvan tedaviler değerlendirildiğinde 31 (%62) hastada, olguya adjuvan tedavi verilmiştir. Bu hastalar arasında 20 hasta radyoterapi, 12 (%60) hasta external, 8 (%40) hasta brakiterapi almıştır. Bu olguların arasında 11 (%22) hastaya kemoterapi ve radyoterapi uygulanmıştır. Çalışmamızda hastaların %54'ünün p53 ve %28'in PTEN ile boyandığı, %30'unun ise MSI kayıp olduğu saptanmıştır. PTEN ile boyanan hastaların %2'sinin güçlü boyanma, %8'sinin orta ve %18'sinin zayıf boyandığını; p53 ile boyanan hastaların ise %8'i güçlü, %10'nun orta ve %36'sının zayıf boyandığı görülmüştür. MSI kayıplarına bakıldığında ise %28'sinin MLH1PMS2 ve %2'sinin ise kaybı olduğu görülmüştür

SONUÇ: Endometrium kanserinde immunohistokimyasal değerlendirme sonucu PTEN ile hastalığın evresi, lenf nodu ve servikal alan tutulumu arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. MSI ile hastalığın evresi arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. P53'ün prognostik faktörler ile anlamlı ilişki saptanmamıştır. Ancak kötü prognostik belirteçlerinde diğer çalışılan immünohistokimyasal belirteçlere göre daha yüksek oranda olduğu görülmüştür. Çalışmamız da hastalığın nüks ve sağ kalım arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Anahtar sözcükler: Endometrium Kanseri, p53, PTEN, Mikrosatellit İnstabilitesi

ABSTRACT

Investigation of the effect of PTEN, p53 and microsatellite instability in endometrial cancers on the prognosis of the disease.

AIM: Endometrial cancer is the most commonly diagnosed cancer in the female genital system. Adjuvant treatments are applied after surgical treatment in the recurrence and survival of endometrial cancer. Adjuvant treatments are now determined based on certain prognostic factors. However, the most important marker in determining these prognostic factors is the subgroup of the endometrial cancer. Determining the subgroups may vary according to the pathologist examining them. Hence, this subjectivity in the subgroup identification process changes the adjuvant therapy after surgery. For this reason, the Genome Atlas Project was carried out in 2013 and it was aimed that there were genetic changes in many cancers and that the subgroup was made according to this classification. In this project, endometrium cancer has been divided into four subgroups. These subgroups can be listed as i) POLE ultra-mutant, (ii) MSI hypermutated, (iii) copy-number low ve (iv) copy-number high. Based on this classification, the investigation of new prognostic factors has been directed. Therefore, in our study, it was planned to investigate the effects of PTEN, p53 and microsatellite instability on the prognosis of endometrial cancer.

MATERIAL AND METHOD: 50 patients were selected for the study by retrospective file scanning of endometrial cancer cases in the oncology polyclinic of Celal Bayar University Hafs Sultan Hospital, Department of Obstetrics and Gynecology between January 2016 and December 2019. Then, slides containing sufficient tumor from the hysterectomy preparations of the patients included in the study were determined. 4 micron sections of each case were taken from formalin-fixed paraffin blocks onto positively charged electrostatic slides and kept in an oven at 58°C for 4 hours. Slide barcodes of each case were affixed to the prepared sections and placed in a fully automated immunohistochemical staining device (Benchmark Ultra automated IHC / ISH slide staining system, Ventana Medical Systems). Ultraview Universal DAB

Detection Kit and EZ prep, Reaction Buffer Concentrate solutions, Endogenous Biotin Blocking Kit, Hematoxylin and Blue Reagent were used for immunohistochemical staining. PTEN, p53 and microsatellite markers (MLH1, MSH2, MSH6 and PMS2) and related immunohistochemical stains were applied to all blocks. All evaluations were made under a standard light microscope. Percent staining in tumor cells was scored for PTEN (cytoplasmic staining) and p53 (nuclear staining). The presence or absence of nuclear staining in tumor cells was evaluated for microsatellite markers MLH1, MSH2, MSH6 and PMS2. No staining with one of the markers was considered lost. If none of the four markers are missing, microsatellite is considered as stable. If one of the four markers is missing, microsatellite is acknowledged as low microsatellite is unstable, and if two or more are missing the microsatellite is acknowledged as high microsatellite is considered unstable.

RESULTS: In our findings, it was determined that 43 (86%) of the patients were of the endometrioid type, 3 (6%) patients were of serous and 4 (8%) patients were of the mixed type according to histological types. Among the patients with endometrioid type, there were 15 (30%) patients with grade 1, 23 (46%) patients with grade 2, and 10 (20%) patients with grade 3. Histopathological evaluation revealed 27 (54%) patients with myometrial invasion and 13 (26%) patients with cervical involvement. In the study, 10 (20%) patients diagnosed with pelvic lymph node or pelvic-paraaortic lymph node involvement. Among these patients, 6 patients had pelvic lymph node involvement, 1 patient had paraaortic lymph node involvement, and 3 patients had both pelvic and paraaortic lymph node involvement. The abdominal cytology of 2 (4%) patients was malignant, and lymphovascular involvement was observed in 12 (24%) patients. When adjuvant treatments were evaluated, adjuvant treatment was given to 31 (62%) patients. Of these patients, 20 patients received radiotherapy, 12 (60%) patients received external, 8 (40%) patients received brachytherapy. Of these cases, 11 (22%) patients received chemotherapy and radiotherapy. In our study, 54% of patients were stained with p53 and 28% with PTEN, 30% of patients new MSI loss. 2% of the patients stained with PTEN had strong, 8% had moderate and 18% had weak staining. It was observed

that 8% of the patients stained with p53 had a strong, 10% moderate, and 36% weak staining. When MSI losses were analyzed it was found that 28% of patients had MLH1PMS2 and 2% had MSH2MSH6 loss.

CONCLUSION: In immunohistochemical study of endometrium cancer, a significant relationship was found between PTEN and disease stage, lymph node and cervical area involvement. A significant relationship was found between MSI and disease stage. No significant relationship was found between P53 and prognostic factors. However, it was found to be higher in poor prognostic markers compared to other studied immunohistochemical markers. In our study, no significant relationship was found between disease recurrence and survival.

Keywords: Endometrium Cancer, p53, PTEN, Microsatellite Instability

KAYNAKLAR

1. Hyuna Sung , Jacques Ferlay , Rebecca L Siegel , Mathieu Laversanne , Isabelle Soerjomataram , Ahmedin Jemal , Freddie Bray Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries, 2021 May;71(3):209-249.
2. T Evans , O Sany, P Pearmain, R Ganesan, A Blann, S Sundar Differential trends in the rising incidence of endometrial cancer by type: data from a UK population-based registry from 1994 to 2006, 2011 Apr 26;104(9):1505-10.doi: 10.1038/bjc.2011.68.
3. Freddie Bray , Isabel Dos Santos Silva, Henrik Moller, Elisabete Weiderpass Endometrial cancer incidence trends in Europe: underlying determinants and prospects for prevention ,2005 May;14(5):1132-42
4. Bokhman JV (1983) Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. Gynecol Oncol 15(1):10–17.
5. Lax SF, Pizer ES, Ronnett BM, Kurman RJ (1998) Comparison of estrogen and progesterone receptor, Ki-67, and p53 immunoreactivity in uterine endometrioid carcinoma and endometrioid carcinoma with squamous, mucinous, secretory, and ciliated cell differentiation. Hum Pathol 29(9):924–931.
6. Clarke BA, Gilks CB. Endometrial carcinoma: controversies in histopathological assessment of grade and tumour cell type. J Clin Pathol. 2010;63:410–415.
7. Helpman L, Kupets R, Covens A, et al. Assessment of endometrial sampling as a predictor of final surgical pathology in endometrial cancer. Br J Cancer. 2014;110:609–615.
8. Mohammed Akhtar , Samir Al Hyassat, Orwa Elaiwy, Sameera Rashid, Ajayeb D M H Al-Nabet Classification of Endometrial Carcinoma: New Perspectives Beyond Morphology 2019 Nov;26(6):421-427
9. National Cancer Institute. The Cancer Genome Atlas Program. Available at: www.cancer.gov/about-nci/organization/ccg/research/structural-genomics/tcga. Accessed April 27, 2019.
10. Kandoth C, Schultz N, Cherniack AD, et al. The Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic charac

11. Smith M, McCartney AJ. Occult, high-risk endometrial cancer. *Gynecol Oncol.* 1985; 22: 154-61.
12. Greaves M, Maley CC. Clonal evolution in cancer. *Nature.* 2012;481:306–313.
13. Setiawan VW, Hannah P, Yang HP, et al. Type I and II endometrial cancers: have they different risk factors? *J Clin Oncol.* 2013;31:2607–2620
14. Matias-Guiu X, Prat J. Molecular pathology of endometrial carcinoma. *Histopathology.* 2013;62:111–123
15. . Samarathai N, Hall K, Yeh IT. Molecular profiling of endometrial malignancies. *Obstet Gynecol Int.* 2010;2010:162363
16. Davide Ruggero , Nahum Sonenberg The Akt of translational control 2005 Nov 14;24(50):7426-34. doi:10.1038/sj.onc.1209098.
17. Jerde TJ. Phosphatase and tensin homologue: novel regulation by developmental signaling. *J Signal Transduct.* 2015;2015: 282567.
18. Hayes MP, Wang H, Espinal-Witter R, et al. PIK3CA and PTEN mutations in uterine endometrioid carcinoma and complex atypical hyperplasia. *Clin Cancer Res.* 2006;12: 5932–5935
19. Gbelcová H, Bakeš P, Priščáková P, et al. PTEN sequence analysis in endometrial hyperplasia and endometrial carcinoma in Slovak women. *Anal Cell Pat-hol (Amst).* 2015;2015: 746856
20. Ellegren H. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. *Nat Rev Genet.* 2004;5:435–445
21. Vieira ML, Santini L, Diniz AL, et al. Microsatellite markers: what they mean and why they are so useful? *Genet Mol Biol.* 2016;39:312–328.
22. . Richman S. Deficient mismatch repair: read all about it (Review). *Int J Oncol.* 2015;47:1189–1202.
23. van Lier MG, Wagner A, van Leerdam ME, et al. A review on the molecular diagnostics of Lynch syndrome: a central role for the pathology laboratory. *J Cell Mol Med.* 2009;14:181–197.
24. Wang Y, Yu M, Yang JX, et al. Genomic comparison of endometrioid endometrial carcinoma and its precancerous lesions in Chinese patients by high-depth next generation sequencing. *Front Oncol.* 2019;9:123.

25. Djordjevic B, Barkoh BA, Luthra R, et al. Relationship between PTEN, DNA mismatch repair, and tumor histotype in endometrial carcinoma: retained positive expression of PTEN preferentially identifies sporadic non-endometrioid carcinomas. *Mod Pathol*. 2013;26:1401–1412.
26. Bilbao C, Rodriguez G, Ramirez R, et al. The relationship between microsatellite instability and PTEN gene mutations in endometrial cancer. *Int J Cancer*. 2006;119:563–570
27. Hussein YR, Soslow RA. Molecular insights into the classification of high-grade endometrial carcinoma. *Pathology*. 2018; 50:151–161.
28. Liu FS. Molecular carcinogenesis of endometrial cancer. *Taiwanese J Obstet Gynecol*. 2007;46:26–32.
29. Niessen CM, Gottardi CJ. Molecular components of the adherens junction. *Biochim Biophys Acta*. 2008;1778:562–571.
30. Sherr C, McCormick F., 2002. The Rb and p53 pathways in cancer. *Cancer Cell*, 2, 103-12
31. Cabadak H., 2008. Hücre siklusü ve kanser. *Malatya ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 9(3), 51-61
32. Muller PA., Vousden KH., 2014. Mutant p53 in cancer: new functions and therapeutic opportunities, *Cancer Cell*, 25(3), 304-17
33. Wenxin Zheng , Li Xiang, Oluwole Fadare, Beihua Kong A proposed model for endometrial serous carcinogenesis 2011 Jan;35(1):e1-e14.doi: 10.1097/PAS.0b013e318202772e.
34. Yoh Watanabe , Takao Satou, Hidekatsu Nakai, Tomomaro Etoh, Kensaku Dote, Nahoko Fujinami, Hiroshi Hoshiai Evaluation of parametrial spread in endometrial carcinoma, 2010 Nov;116(5):1027-34
35. Lori E Weinberg , Charles A Kunos, Kristine M Zanolli Lymphovascular space invasion (LVSI) is an isolated poor prognostic factor for recurrence and survival among women with intermediate- to high-risk early-stage endometrioid endometrial cancer, 2013 Oct;23(8):1438-45.
36. R J Zaino , R J Kurman, K L Diana, C P Morrow Pathologic models to predict outcome for women with endometrial adenocarcinoma: the importance of the

- distinction between surgical stage and clinical stage--a Gynecologic Oncology Group study, 1996 Mar 15;77(6):1115-21.
37. Aalders J, Abeler V, Kolstad P. Recurrent adenocarcinoma of the endometrium: A clinical and histopathological study of 379 patients. *Gynecol Oncol.* 1984;17:85–103
 38. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *Int J Cancer* 2019;15:1941–53
 39. Kandoth C, Schultz N, et al, Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature* 2013;497:67–73.
 40. Stelloo E, Nout RA, Osse EM, et al. Improved risk assessment by integrating molecular and clinicopathological factors in early-stage endometrial cancer—combined analysis of the PORTEC cohorts. *Clin Cancer Res* 2016;22:4215–24.
 41. León-Castillo A, Gilvazquez E, Nout R, et al. Clinicopathological and molecular characterisation of ‘multiple-classifier’ endometrial carcinomas. *J Pathol* 2020;250:312–22.
 42. Vermij L, Smit V, Nout R, et al. Incorporation of molecular characteristics into endometrial cancer management. *Histopathology* 2020;76:52–63.
 43. Church DN, Stelloo E, Nout RA, et al. Prognostic significance of POLE proofreading mutations in endometrial cancer. *J Natl Cancer Inst* 2015;107.
 44. León-Castillo A, Britton H, McConechy MK, et al. Interpretation of somatic POLE mutations in endometrial carcinoma. *J Pathol* 2020;250:323–35
 45. Stelloo E, Nout RA, Osse EM, et al. Improved risk assessment by integrating molecular and clinicopathological factors in early-stage endometrial cancer—combined analysis of the PORTEC cohorts. *Clin Cancer Res* 2016;22:4215–24.
 46. Church DN, Stelloo E, Nout RA, et al. Prognostic significance of POLE proofreading mutations in endometrial cancer. *J Natl Cancer Inst* 2015;107.
 47. Keys HM, Roberts JA, Brunetto VL, et al. A phase III trial of surgery with or without adjunctive external pelvic radiation therapy in intermediate risk endometrial

- adenocarcinoma: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol* 2004;92:744–51.
48. Blake P, Swart AM, et al, ASTEC/EN.5 Study Group. Adjuvant external beam radiotherapy in the treatment of endometrial cancer (MRC ASTEC and NCIC CTG EN.5 randomised trials): pooled trial results, systematic review, and meta-analysis. *Lancet* 2009;373:137–46.
 49. Barney BM, Petersen IA, Mariani A, et al. The role of vaginal brachytherapy in the treatment of surgical stage I papillary serous or clear cell endometrial cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2013;85:109–15
 50. Sorbe B, Horvath G, Andersson H, et al. External pelvic and vaginal irradiation versus vaginal irradiation alone as postoperative therapy in medium-risk endometrial carcinoma—a prospective randomized study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2012;82:1249–55.
 51. Colombo N, Creutzberg C, Amant F, et al. ESMO-ESGO-ESTRO consensus conference on endometrial cancer: diagnosis, treatment and follow-up. *Int J Gynecol Cancer* 2016;26:2–30.
 52. Colombo N, Creutzberg C, Amant F, et al. ESMO-ESGO-ESTRO consensus conference on endometrial cancer: diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2016;27:16–41.
 53. Randall ME, Filiaci V, McMeekin DS, et al. Phase III trial: adjuvant pelvic radiation therapy versus vaginal brachytherapy plus paclitaxel/carboplatin in high-intermediate and high-risk early-stage endometrial cancer. *JCO* 2019;37:1810–8
 54. Maggi R, Lissoni A, Spina F, et al. Adjuvant chemotherapy vs radiotherapy in high-risk endometrial carcinoma: results of a randomised trial. *Br J Cancer* 2006;95:266–71.
 55. Susumu N, Sagae S, Udagawa Y, et al. Randomized phase III trial of pelvic radiotherapy versus cisplatin-based combined chemotherapy in patients with intermediate- and high-risk endometrial cancer: a Japanese Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol* 2008;108:226–33.

56. Hogberg T, Signorelli M, de Oliveira CF, et al. Sequential adjuvant chemotherapy and radiotherapy in endometrial cancer—Results from two randomised studies. *Eur J Cancer* 2010;46:2422–31.
57. De Boer SM, Powell ME, Mileskin L, et al. Adjuvant chemoradiotherapy versus radiotherapy alone for women with high-risk endometrial cancer (PORTEC-3): final results of an international, open-label, multicentre, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2018;19:295–309.
58. Keys HM, Roberts JA, Brunetto VL, et al. A phase III trial of surgery with or without adjunctive external pelvic radiation therapy in intermediate risk endometrial adenocarcinoma: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol* 2004;92:744–51.
59. Randall ME, Filiaci V, McMeekin DS, et al. Phase III trial: adjuvant pelvic radiation therapy versus vaginal brachytherapy plus paclitaxel/carboplatin in high-intermediate and high-risk early-stage endometrial cancer. *JCO* 2019;37:1810–8
60. Randall M, Filiaci V, McMeekin D, et al. A phase 3 trial of pelvic radiation therapy versus vaginal cuff brachytherapy followed by paclitaxel/carboplatin chemotherapy in patients with high-risk, early-stage endometrial cancer: a Gynecology Oncology Group study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2017;99:1313.
61. León-Castillo A, de Boer SM, Powell ME, et al. Molecular classification of the PORTEC-3 trial for high-risk endometrial cancer: impact on prognosis and benefit from adjuvant therapy. *JCO* 2020;38:3388–97.
62. Xavier Matias-Guiu, Nicole Coin, et al. ESGO/ESTRO/ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma 10.1136/ijgc-2020-002230. Epub 2020 Dec 18
63. Barlin JN, Puri I, Bristow RE. Cytoreductive surgery for advanced or recurrent endometrial cancer: a meta-analysis. *Gynecol Oncol* 2010;118:14–18.
64. Vitale SG, Valenti G, Gulino FA, et al. Surgical treatment of high stage endometrial cancer: current perspectives. *Updates Surg* 2016;68:149–54.
65. Wilson TO, Podratz KC, Gaffey TA, Malkasian GD Jr, O'Brien PC, Naessens JM. Evaluation of unfavorable histologic subtypes in endometrial adenocarcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 1990;162:418–23.

66. Zaino RJ, Kurman RJ, Diana KL, Morrow CP. Pathologic models to predict outcome for women with endometrial adenocarcinoma: the importance of the distinction between surgical stage and clinical stage—a gynecologic oncology group study. *Cancer* 1996;77:1115–21.
67. Mariani A, Webb MJ, Keeney GL, Aletti G, Podratz KC. Predictors of lymphatic failure in endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 2002;84:437–42.
68. Fanning J, Evans MC, Peters AJ, Samuel M, Harmon ER, Bates JS. Endometrial adenocarcinoma histologic subtypes: clinical and pathologic profile. *Gynecol Oncol* 1989;32:288–91.
69. Lurain JR, Mariani A, Dowdy SC. Uterine cancer. In: Berek JS, editor. *Berek & Novak's Gynecology*, 15th edn. Lippincott: Williams & Wilkins, Philadelphia, 2012; 1250–303.
70. Takeshima N, Hirai Y, Yano K, Tanaka N, Yamauchi K, Hasumi K. Ovarian metastasis in endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 1998;70: 183–7.
71. Mariani A, Webb MJ, Keeney GL, Aletti G, Podratz KC. Assessment of prognostic factors in stage IIIA endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 2002;86: 38–44.
72. McAlpine J, Leon-Castillo A, Bosse T. The rise of a novel classification system for endometrial carcinoma; integration of molecular subclasses. *J Pathol* 2018;244:538–49.
73. Köbel M, Nelson GS. Letter in response to: McAlpine J, LeonCastillo a, Bosse T. the rise of a novel classification system for endometrial carcinoma; integration of molecular subclasses. *J Pathol* 2018; 244: 538-549. *J Pathol* 2018;245:249–50
74. Osmanağaoğlu MA, Kadioğlu S, Osmanağaoğlu S, Bozkaya H, Reis A and Tekelioğlu Y: The relationship between mutant p53 gene, DNA contents and conventional clinicopathological prognostic variables in cases with endometrial carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol* 26: 64-70, 2005
75. Aggelis Stavropoulos , Michail Varras , Andreas C Lazaris.Scully MM, Palacios-Helgeson LK, Wah LS and Jackson TA: Expression of p53 and PTEN in human primary endometrial carcinomas: Clinicopathological and immunohistochemical analysis and study of their concomitant expression Rapid estrogen signaling

- negatively regulates PTEN activity through phosphorylation in endometrial cancer cells. *Horm Cancer* 5: 218-231, 2014.
76. Konopka B, Paszko Z, Janiec-Jankowska A and Goluda M: Assessment of the quality and frequency of mutations occurrence in PTEN gene in endometrial carcinomas and hyperplasias. *Cancer Lett* 178: 43-51, 2002.
 77. Risinger JI, Hayes K, Maxwell GL, Carney ME, Dodge RK, Barrett JC and Berc-huck A: PTEN Mutation in endometrial cancers is associated with favorable clinical and pathologic characteristics. *Clin Cancer Res* 4: 3005-3010, 1998.
 78. Mutter GL, Lin MC, Fitzgerald JT, Kum JB, Baak JP, Lees JA, Weng LP and Eng C: Altered PTEN expression as a diagnostic marker for the earliest endo-metrial precancers. *J Natl Cancer Inst* 92: 924-930, 2000
 79. Akiyama-Abe A, Minaguchi T, Nakamura Y, Michikami H, Shikama A, Nakao S, Sakurai M, Ochi H, Onuki M, Matsumoto K, et al: Loss of PTEN expression is an independent predictor of favourable survival in endometrial carcinomas. *Br J Cancer* 109: 1703-1710, 2013.
 80. Akiyama-Abe A, Minaguchi T, Nakamura Y, Michikami H, Shikama A, Nakao S, Sakurai M, Ochi H, Onuki M, Matsumoto K, et al. Loss of PTEN expression is an independent predictor of favourable survival in endometrial carcinomas. *Br J Cancer*. 2013;109:1703–1710. doi: 10.1038/bjc.2013.455.
 81. Erkanli S, Kayaselcuk F, Kuscu E, Bagis T, Bolat F, Haberal A, Demirhan B. Expression of survivin, PTEN and p27 in normal, hyperplastic, and carcinoma-tous endometrium. *Int J Gynecol Cancer*. 2006;16:1412–1418. doi: 10.1136/ijgc-00009577-200605000-00071
 82. Tashiro H, Blazes MS, Wu R, Cho KR, Bose S, Wang SI, Li J, Parsons R, El-lenson LH. Mutations in PTEN are frequent in endometrial carcinoma but rare in other common gynecological malignancies. *Cancer Res*. 1997;57:3935–3940
 83. Bussaglia E, del Rio E, Matias-Guiu X, Prat J. PTEN mutations in endometrial carcinomas: A molecular and clinicopathologic analysis of 38 cases. *Hum Pat-hol*. 2000;31:312–317. doi: 10.1016/S0046-8177(00)80244-0.
 84. Minaguchi T, Yoshikawa H, Oda K, Ishino T, Yasugi T, Onda T, Nakagawa S, Matsumoto K, Kawana K, Taketani Y. PTEN mutation located only outside

- exons 5, 6, and 7 is an independent predictor of favorable survival in endometrial carcinomas. Clin Cancer Res. 2001;7:2636–2642.
85. Atif Ali Hashmi , Ghazala Mudassir , et al. Microsatellite Instability in Endometrial Carcinoma by immunohistochemistry, Association with Clinical and Histopathologic Parameters 10.31557/APJCP.2019.20.9.2601.
 86. León-Castillo A, Gilvazquez E, Nout R, et al. Clinicopathological and molecular characterisation of ‘multiple-classifier’ endometrial carcinomas. J Pathol 2020;250:312–22.
 87. Vermij L, Smit V, Nout R, et al. Incorporation of molecular characteristics into endometrial cancer management. Histopathology 2020;76:52–63.
 88. Church DN, Stelloo E, Nout RA, et al. Prognostic significance of POLE proofreading mutations in endometrial cancer. J Natl Cancer Inst 2015;107.
 89. León-Castillo A, Britton H, McConechy MK, et al. Interpretation of somatic POLE mutations in endometrial carcinoma. J Pathol 2020;250:323–35
 90. David N Church , Ellen Stelloo , et al, Prognostic significance of POLE proofreading mutations in endometrial cancer doi: 10.1093/jnci/dju402. Print 2015 Jan