



T.C. AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**NORMAL ENDOMETRİYUM, ATİPİSİZ ENDOMETRİYAL
HİPERPLAZİ, ENDOMETRİOİD İNTRAEPİTELYAL
NEOPLAZİ VE ENDOMETRİOİD ENDOMETRİYAL
KARSİNOMLARDA İNTRAEPİTELYAL LENFOSİTLERİN
DEĞERLENDİRİLMESİ VE KARAKTERİZASYONU**

UZMANLIK TEZİ

DR. AYŞEN YAVUZ

Antalya, 2025



T.C. AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**NORMAL ENDOMETRİYUM, ATİPİSİZ ENDOMETRİYAL
HİPERPLAZİ, ENDOMETRİÖİD İNTRAEPİTELYAL
NEOPLAZİ VE ENDOMETRİÖİD ENDOMETRİYAL
KARSİNOMLARDA İNTRAEPİTELYAL LENFOSİTLERİN
DEĞERLENDİRİLMESİ VE KARAKTERİZASYONU**

UZMANLIK TEZİ

DR. AYŞEN YAVUZ

Tez Danışmanı: PROF.DR. GÜLGÜN ERDOĞAN

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel

Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından

TSA-2024-6498 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir

“Kaynak gösterilerek tezimden yararlanılabilir.”

Antalya, 2025

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bana yol gösteren ve yanımda olup yardımcı olan sevgili tez danışmanı hocam **Prof. Dr. Gülgün Erdoğan'a**,

İmmünoloji konusunda bizi destekleyen projemize yön veren **Prof. Dr. Selen Doğan 'a**,
projemizin planlanmasında yardımlarını esirgemeyen **Prof. Dr. Hadice Elif Peştereli'ye**,

Eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini aktaran, yoğun çalışma temposu içerisinde bilimsel faaliyetlerimizi destekleyen **tüm öğretim üyesi hocalarıma**,

Bugüne kadar birlikte çalıştığım **tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma**,

Asistanlık sürecim boyunca çalışmaktan keyif aldığım Akdeniz Üniversitesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı ekibindeki **teknisyen, sekreter ve yardımcı sağlık personellerimize**,

Tez sürecinde birlikte çalıştığım, tez sürecinin teknik açıdan doğru şekilde ilerlemesi için çaba sarf eden teknisyenlerimiz **Özlem Öztürk, Hülya Yıldırım ve Murat Billor'a**,

Eğitimim ve tez sürecim boyunca desteğini, neşesini ve motivasyonunu esirgemeyen; her daim yanımda veya bir telefon uzağımda olan arkadaşlarıma ve kıdemlilerime : **Ahmet Boduroğlu, Mennan Yiğitcan Çelik; Nazlıcan Erkarıslan, Hazel Serinken, Özge Özeren; Mine Gökçe Doğan, Alara Karaman, Bahar Bülbül; Ezgi Şahin, Merih Çiğdem Ölmez, Usar Yıldız'a**,

Eğitim hayatım boyunca tüm kongre süreçlerimde posterlerimin düzenlenmesi ve basımı konusunda yardımını esirgemeyen **dayım İbrahim Taşar'a**,

Her zaman destek olan **kuzenim Engin Kırmacı'ya ve İsmail Kemikli'ye**,

Ve her zaman yanımda olan, bana güvenen, hiçbir zaman desteğini esirgemeyen **annem Hicran Yavuz'a, babam Arif Yavuz'a ve kedim Hasan'a** sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>SAYFA NO</u>
Simgeler ve Kısaltmalar Dizin	vii
Şekiller Dizin	x
Tablolar Dizin	xii
Grafik Dizin	xiv
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1 Endometriyum Histolojisi	3
2.2 Endometriyal Epitelyal Tümörler ve Öncül	
Lezyonlar	6
2.2.1 Atipisiz Endometriyal Hiperplazi	6
2.2.2 Atipik Endometriyal Hiperplazi/ Endometrioid	
İntraepitelyal Neoplazi	7
2.2.3 Endometriyal Karsinomlar	9
2.2.3.1 Endometrioid Endometriyal Karsinom	10
2.2.3.2 Seröz Karsinom	15
2.2.3.3 Berrak Hücreli (Clear Cell) Karsinom	16
2.2.3.4 Andiferansiye ve Dediferansiye	
Karsinomlar	16
2.2.3.5 Mikst Karsinom	17

2.2.3.6 Diğer Endometrial Karsinomlar	17
2.2.3.7 Karsinosarkom	18
2.3 Bağışıklık Sistemi	18
2.3.1 Mukozal Bağışıklık sistemi	19
2.3.1.1 Gama Delta ($\gamma\delta$) T Hücreleri	20
2.3.1.2 Gama Delta ($\gamma\delta$) T Hücreleri ve Kanser İmmünoterapisi	22
3.GEREÇ VE YÖNTEM	23
3.1 Etik Kurul ve Veri Kullanım İzni	23
3.2 Olgü Seçimi	23
3.3 İmmünohistokimyasal Boyanma	24
3.4 İmmünohistokimyasal Değerlendirme	29
3.5 İstatistiksel Değerlendirme ve Veri Analizi	33
4.BULGULAR	35
4.1. Tüm Vakalarda Analiz Sonuçları	36
4.2. Tanı Gruplarına göre Analiz Sonuçları	38
4.3. Endometrial Karsinom Vakalarına ait Analiz Sonuçları	47
4.4. Tümör Durumuna göre Analiz Sonuçları	51

5.TARTIŞMA	58
5.1 CD3, CD8 ve CD4 Hücreleri ile Literatür Karşılaştırması	60
5.2 $\gamma\delta$ T Hücrelerinin Önemi	62
5.3 IFN- γ ve LVI İlişkisi	63
5.4 KIAİ-1 ve KIAİ-2'nin Yorumu	64
5.5 Çalışmanın Kısıtlılıkları	65
6.SONUÇLAR	66
7.ÖZET	67
8.ABSTRACT	68
9.KAYNAKÇA	69

Simgeler ve Kısaltmalar Dizini

AEH: Atipisiz Endometriyal Hiperplazi

ATRX: Alfa-talasemi/zihinsel gerilik sendromu ile ilişkili X-bağı kromatin düzenleyici gen (ATRX).

AUC: “Eğri Altındaki Alan” (ROC alan ölçütü).

BCOR: BCL6 Co-Repressor geni; transkripsiyonel baskılayıcı.

CD3: Cluster of Differentiation 3

CD4: Cluster of Differentiation 4

CD8: Cluster of Differentiation 8

CN-L/H : Düşük / yüksek kopya sayısı değişiklikleri

CTNNB1: β -katenin (CTNNB1) geni.

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

EEK: Endometrioid Endometriyal Karsinom

EIN: Atipik Endometriyal Hiperplazi / Endometrioid İntraepitelyal Neoplazi

ER: Östrojen reseptörü

ER/PR: Östrojen/progesteron reseptör durumu

FIGO: Uluslararası Jinekoloji ve Obstetrik Federasyonu evreleme sistemi

İEL : İntraepitelyal lenfosit

İHK : İmmünohistokimya

IFN- γ : İnterferon gamma

İTD: İnternal Tandem Duplication (İç Tandem Duplikasyon)

KİAİ: Kompozit İmmün Aktivasyon İndeksi

KİAİ-I: İntraepitelyal CD8 / IFN- γ toplam skoru

KİAİ-II: İntraepitelyal TCR γ/δ / IFN- γ toplam skoru

KRAS: Kirsten rat sarkoma viral onkogeni homologu

Lynch Sendromu: Mismatch onarım (MMR) genlerinde kalıtsal mutasyonlara bağlı, mikrosatellit instabilitesi ile seyreden kalıtsal non-polipozis kolorektal kanser (HNPCC) sendromu

LVİ : Lenfovasküler invazyon

MMR: Uyumsuzluk (mismatch) onarım sistemi

MSI: Mikrosatellit instabilitesi; DNA onarım kusurlarına bağlı genetik değişiklik

PAX2: Paired box protein 2 geni

PCOS: Polikistik Over Sendromu

PD-L1: Programmed death-ligand 1

PGR: Progesteron reseptörü

PLAG1: Pleomorphic Adenoma Gene 1

POLE: Polymerase ϵ (Epsilon)

POLEmut: POLE mutasyonlu moleküler alt tip

PTEN: Fosfataz-Tensin Homolog

RNA: Ribonükleik asit

ROC: Receiver Operating Characteristic (Alıcı İşletim Karakteristiği) eğrisi

SMA (α -SMA): Düz kas aktini (α -smooth muscle actin)

TCGA: The Cancer Genome Atlas

TCR γ/δ : T Cell Receptor γ/δ

TIL: Tümör-infiltrate edici lenfosit

TP53: p53 tümör baskılayıcı proteinini kodlayan gen

TSC: Tüberoza Skleroz Kompleksi

US: Ultrasonografi



Şekiller Dizini

	<u>SAYFA NO</u>
Şekil 2.1.1: Proliferatif endometriyum	4
Şekil 2.1.2: Erken sekresyon fazında endometriyum	4
Şekil 2.1.3: Geç sekresyon fazında endometriyum	5
Şekil 2.1.4: Menstrual faz endometriyumu	5
Şekil 2.2.1: Atipisiz endometriyal hiperplazi	6
Şekil 2.2.2.1: Endometrial Atipik Hiperplazi / Endometrioid İntraepitelyal Neoplazi	8
Şekil 2.2.2.2: Endometrial Atipik Hiperplazi / Endometrioid İntraepitelyal Neoplazi (Sekretuar Değişiklikler ile)	9
Şekil 2.2.3.1.1 Düşük Dereceli Endometrioid Endometriyal Karsinom	12
Şekil 2.2.3.1.2 Yüksek Dereceli Endometrioid Endometriyal Karsinom	13
Şekil 2.2.3.2 Seröz Karsinom	15
Şekil 2.2.3.3 Berrak Hücreli Karsinom	16
Şekil 2.3.1 Kadın Üreme Sisteminde Dokuya Yerleşik Lenfosit Popülasyonu	19
Şekil 2.3.1.1 $\gamma\delta$ T hücrelerinin sınıflandırılması	20
Şekil 3.3.1 CD3 kontrol dokusu	26
Şekil 3.3.2 CD4 için pozitif kontrol olarak kullanılan tonsil dokusu	27
Şekil 3.3.3 Pozitif kontroller	28
Şekil 3.3.4 TCR γ/δ için pozitif kontrol	29

Şekil 3.4.1 CD3 ve CD8 immünohistokimyasal boyamaları	30
Şekil 3.4.2 CD4 immünohistokimyasal boyamaları	31
Şekil 3.4.3 TCR γ/δ immünohistokimyasal boyamaları	31
Şekil 3.4.4 IFN-γ immünohistokimyasal boyamaları	32



Tablolar Dizini

	<u>SAYFA NO</u>
Tablo 2.2.3.1 Endometriyum Kanserlerinin Histopatolojik Sınıflandırması	9
Tablo 2.2.3.2 Endometriyum Karsinomlarının Moleküler Grupları	10
Tablo 2.2.3.1.1 Endometrioid Endometriyal Karsinom Derecelendirmesi	12
Tablo 2.2.3.1.2 2023 FIGO Endometrium Kanseri Evrelemesi	14
Tablo 4.1 Tanı Grupları	35
Tablo 4.2 Endometriyum Karsinomu Hastalarında Miyometrium İnvazyonu	35
Tablo 4.3 Endometriyum Karsinomu Hastalarında Tümör Boyutu	36
Tablo 4.4 Endometriyum Karsinomu Hastalarında Evresine ait Bilgiler	36
Tablo 4.4.1 Tüm Vakalarda TCR γ/δ Antikoru İlişkin Değerlendirmeler	37
Tablo 4.1.2 Tüm Vakalarda IFN- γ Antikoru İlişkin Değerlendirmeler	37
Tablo 4.1.3 Tüm Vakalarda CD3, CD4 ve CD8 Bilgileri Antikorlarına İlişkin Değerlendirmeler	38
Tablo 4.2.1 Tanı Gruplarına Göre Tanı Anındaki Yaş	39
Tablo 4.2.2 Tanı Gruplarına Göre TCR γ/δ , TCR γ/δ Stroma, CD3, CD4 ve CD8 Bilgileri (1000 Epitel Hücre Başına Düşen Adet)	39
Tablo 4.2.3. Tanı Gruplarına Göre Ek Hastalık Bilgileri	42
Tablo 4.2.4 Tanı Gruplarına Göre Tedavi Bilgileri	42
Tablo 4.2.5 Tanı Gruplarına Göre TCR γ/δ , CD3, CD4 ve CD8 Hücre Yoğunluğu	43
Tablo 4.2.6 Tanı Gruplarına Göre IFN- γ Bilgileri	44

Tablo 4.2.7 Tanı Gruplarına Göre Oranlar	45
Tablo 4.2.8 Yaş ile Bazı Parametreler Arasındaki Korelasyon Analizi	47
Tablo 4.3.1 Endometriyal Karsinom Hastalarında Miyometrium İnvazyonu Varlığına Göre Bazı Parametreler	48
Tablo 4.3.2 Endometriyal Karsinom Hastalarında Lenfovasküler İnvazyonu Varlığına Göre Bazı Parametreler	49
Tablo 4.3.3 Endometriyal Karsinom Hastalarında Tümör Boyutu ile Bazı Parametreler Arasındaki Korelasyon Analizi	50
Tablo 4.3.4. Derin İnvazyon için ROC Analizi Sonuçları	51
Tablo 4.3.5 Lenfovasküler İnvazyonu için ROC Analizi Sonuçları	51
Tablo 4.4.1 Tümör Durumuna Göre TCR γ/δ, Stroma, CD3, CD4 ve CD8 Bilgileri (1000 Epitel Hücresi Başına Düşen Adet)	52
Tablo 4.4.2 Tümör Durumuna Göre TCR γ/δ, CD3, CD4 ve CD8 Hücre Yoğunluğu	54
Tablo 4.4.3 Tümör Durumuna Göre IFN-γ Bilgileri	55
Tablo 4.4.4 Tümör Durumuna Göre Oranlar	56

Grafik Dizini

	<u>SAYFA NO</u>
Grafik 4.2.1 Tanı Gruplarına Göre Tanı Anındaki Yaş	40
Grafik 4.2.2 Tanı Gruplarına Göre TCR γ/δ , CD3 ve CD8 Bilgileri	40
Grafik 4.2.3 Tanı Gruplarına Göre Kompozit İmmün Aktivasyon İndeksi Değerleri	46
Grafik 4.3.1 Endometriyal Karsinom Hastalarında Lenfovasküler İnvazyonu Varlığına Göre İHK Toplam Skoru	47
Grafik 4.4.1 Tümör Durumuna Göre TCR γ/δ , CD3 ve CD8	52
Grafik 4.4.2 Tümör Durumuna Göre TCR γ/δ /CD3, Kompozit İmmün Aktivasyon İndeksi-I ve Kompozit İmmün Aktivasyon İndeksi-II	56

1. GİRİŞ

Mukozal bağışıklık sistemi, vücudun patojenlere karşı ilk bariyerini oluşturur aynı zamanda mikrobiyota ve konak arasındaki simbiyotik ilişkiyi sürdürmekten sorumludur(1,2). Gama delta ($\gamma\delta$) T hücreleri, deri, solunum sistemi, gastrointestinal ve genital sistem gibi mukozal ve epitelyal bölgelerde yoğun bir şekilde bulunur ve dokuda yerleşik bağışıklık hücreleri olarak tanımlanır(3) .

$\gamma\delta$ T hücreleri doğumdan itibaren kadın genital sisteminde bulunur ve mikrobiyal enfeksiyonlara karşı erken savunma hattı olarak görev yapar. $\gamma\delta$ T hücrelerinin ürettiği başlıca sitokin İnterferon gamma (IFN- γ)'dır ve bu sitokin antiviral, antibakteriyel ve anti-tümör bağışıklıkta önemli bir rol oynar (4).

$\gamma\delta$ T hücre temelli çok sayıda immünoterapi çalışması devam etmektedir ve kanser tedavisindeki potansiyeli hala aktif olarak araştırılmaktadır. Gelecekte kanser immünoterapisinde önemli bir rol oynaması beklenmektedir (5–7).

Endometriyal kanser dünyada kadınlarda en sık tanı konulan altıncı kanser, kadın genital sistem kanserleri arasında ise en sık tanı konulan ikinci kanserdir (8). Endometrioid endometriyal karsinom (EEK), genellikle postmenopozal kadınları etkiler ve ortalama hasta yaşı 63'tür.

Endometriyal İntraepitelyal Neoplazi (EİN) tanısı alan kadınların 1/4-1/3'ü klinik takiplerinin ilk yılında ya da takiben yapılan histerektomiler sonrasında endometriyum kanseri tanısı almaktadır(9). Endometrioid endometriyal karsinomların prekürsör lezyonu olduğu bilinmektedir.

Farklı araştırmacılar endometriyal kanser tanılı vakalarda gen ekspresyon verilerini kullanarak yaptıkları çalışmalarda, $\gamma\delta$ T hücrelerinin prognostik önemi olduğu sonucuna ulaşmışlardır (10,11). Yine Zhou ve arkadaşlarının yaptığı gen ekspresyonu verilerinin kullandığı çalışmada ilginç bir şekilde, endometriyal kanser hastaları arasında yüksek miktarda $\gamma\delta$ T hücrelerine sahip olan hastalar tedaviye düşük yanıt verirken, düşük miktarda $\gamma\delta$ T hücrelerine sahip olan hastaların daha uzun yaşam süresine sahip olduğu görülmüştür(12). Bu

Çalışmalarda endometrial kanserde bağışıklık sisteminin önemli bir rol oynadığını ve bu bağlamda đ T hücrelerinin potansiyel olarak önemli bir rol oynayabileceğini ancak, bu hipotezi doğrulamak için daha fazla deneysel çalışma ve klinik verilere ihtiyaç olduğu kanısına varmışlardır. Bu konuda akım-sitometrisi kullanılarak yapılmış çalışma da bulunmaktadır(13) . Ancak literatür araştırması yaptığımızda EİN tanılı ve EEK tanılı hastaların histolojik kesitlerinde đ T hücrelerin yerleşimine ve dağılımına ait yapılmış çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu alışmada Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakóltesi Hastanesi’nde tanı almış 11 malignite dışı küretaj materyaline, 11 atipisiz endometriyal hiperplazi (AEH), 9 EİN tanısı alan, ve 44 EEK tanısı alan histerektomi-küretaj materyaline ait bloklardan alınan kesitlere, immünohistokimyasal olarak TCR/đ, IFN-, CD3, CD4 ve CD8 spesifik antikor boyamaları uygulanıp boyanma dağılımları ve yaygınlıkları değerlendirilmiştir. Daha sonra hastaların histopatolojik özellikleri karşılaştırılmıştır.

Seçilen preparatların immünohistokimyasal analizlerinin yapılması, istatistiksel verilerin elde edilmesi ve sonuçların yorumlanması ile çalışma sonlandırılmıştır.

Dolayısıyla, bu araştırma, literatürdeki söz konusu eksikliği doldurmayı ve đ T hücrelerinin endometriyal karsinogenez sürecindeki önemini ortaya koymayı amaçlamıştır.

2.GENEL BİLGİLER

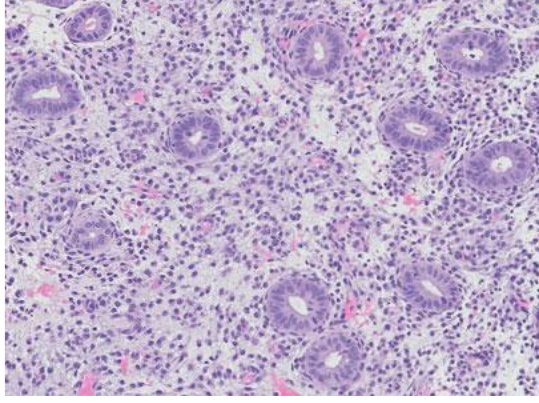
2.1 Endometriyum Histolojisi

Endometriyum, uterusun korpusunun iç yüzeyini döşer. Aşağıda uterin isthmustan başlayıp yukarıda Fallop tüplerinin interstisyel segmentlerinin başladığı uterin köşelere kadar uzanır. Ovariyen hormonlara karşı duyarlılığı, değişkenliği ve rejeneratif kapasitesi ile karakterize edilir. Üreme yılları boyunca, ovulatuvar döngünün tekrar eden hormonal değişikliklerine yanıt olarak düzenli döngüsel değişiklikler geçirir.

Endometriyum, hücrel ve vasküler bir stroma içinde yerleşmiş basit, tübüler bezlerden oluşur. İki bileşeni vardır: hormonal uyarılara normal koşullarda yanıt vermeyen bazal tabaka ya da basalis ve normal ovulatuvar döngünün hormonal değişikliklerine yanıt veren, daha yüzeysel olan ve üreme yılları boyunca düzenli olarak dökülüp yenilenen fonksiyonel tabaka, yani functionalis. Fonksiyonel tabaka ile bazal tabaka arasında belirgin bir ayrım çizgisi yoktur. Bazal endometriyum ile miyometriyum arasındaki geçiş de benzer şekilde düzensiz ve tam olarak tanımlanmamıştır.

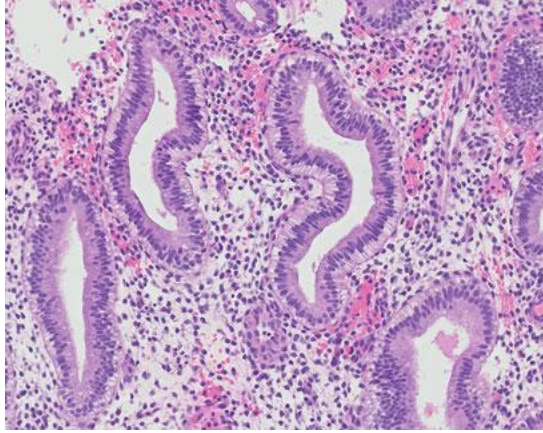
Fonksiyonel tabakanın derinliği, menstrual döngü boyunca değişiklik gösterir; geç proliferatif veya orta sekretuar fazda maksimuma ulaşır ve postmenstrual fazda en düşük seviyede olur. Menarş öncesi ve postmenopozal dönemde ise bulunmaz.(14)

Proliferatif fazda, 3. veya 4. günden itibaren endometriyum kalınlaşmaya başlar ve 5. ile 14. günler arasında glandüler, stromal ve vasküler büyüme ile yaklaşık 4-5 mm'lik bir kalınlığa ulaşır. Bu dönemde glandlar basit tübüler yapıda, düzenli aralıklarla yerleşmiştir ve mitotik aktivite belirgindir (Şekil 2.1.1 Blaustein'dan(15)).

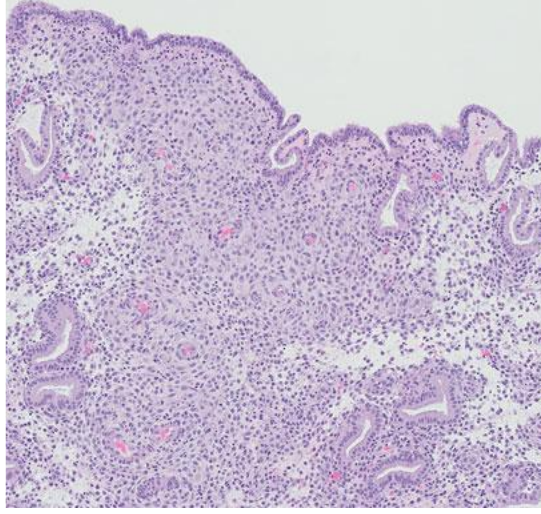


Şekil 2.1.1 Proliferatif endometriyum. Geniş aralıklı tübüler bezler, düşük kolumnar hücreler ve mitotik aktivite sergilemektedir.

Ovulasyon sonrası başlayan sekretuar fazda, progesteron etkisiyle bezlerin sekresyonları ve stromal olgunlaşma görülür. Sekretuar faz, erken, orta ve geç olmak üzere üç evreye ayrılır. Erken sekretuar fazda, glandüler epitelde subnükleer vakuoller oluşur ve bu durum ovulasyonun ilk morfolojik belirtisidir (**Şekil 2.1.2** Blaustein'dan(15)). Orta sekretuar fazda bezlerin sekresyonları artar, stromal ödem maksimuma ulaşır ve spiral arterler belirginleşir. Geç sekretuar fazda ise bezlerin sekresyon aktivitesi azalır, stromal hücrelerde predesidual değişiklikler gözlenir ve endometriyum daha kıvrımlı bir yapı alır (**Şekil 2.1.3** Blaustein'dan(15)). Stromada granüler lenfositlerin infiltrasyonu görülse de bu durum inflamasyon olarak değerlendirilmemelidir.

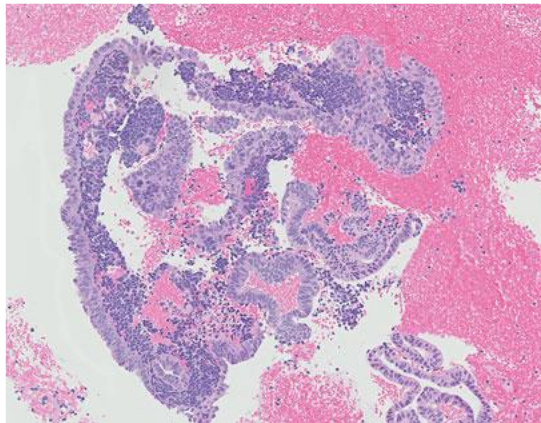


Şekil 2.1.2 Erken sekresyon fazında endometriyum. Tübüler bezler, subnükleer vakuoller içermektedir



Şekil 2.1.3 Geç sekresyon fazında endometriyum. Spiral arterler çevresinde ve yüzey epitelyumunun altında predesidual değişiklikler gözlenmektedir.

Menstrual fazda, bezler ve stroma parçalanarak menstruasyon gerçekleşir. Stromal hücreler yoğunlaşır ve mikroskop altında "mavi top" olarak adlandırılan kümelenmiş bir görünüm alır (**Şekil 2.1.4** Blaustein'dan(15)). Bu süreçte nekrotik doku, nötrofil infiltrasyonu, interstisyel kanama ve fibrin birikimi meydana gelir. Menstrual döngüde, fonksiyonel tabaka dökülürken bazal tabaka, bir sonraki döngüde yeni bir fonksiyonel tabakanın oluşumunu sağlar. Fonksiyonel tabaka hormonlara en duyarlı bölge olup döngü boyunca sürekli değişiklik gösterirken, bazal tabaka hormonal değişikliklere karşı daha dirençlidir ve morfolojisi sabit kalır.(15)



Şekil 2.1.4 Menstrual faz endometriyumu. Stromal hücreler "mavi toplar" şeklinde kümelenir.

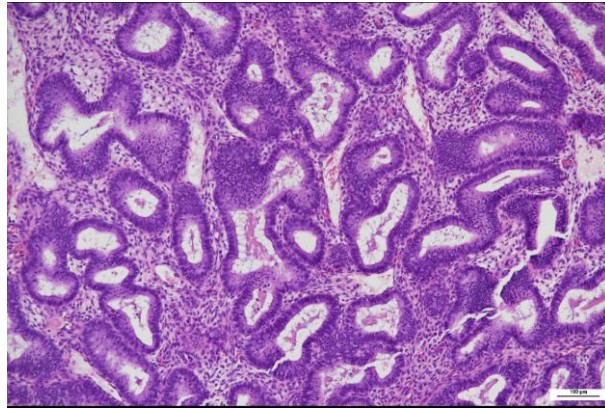
2.2 Endometriyal Epitelyal Tümörler ve Öncül Lezyonlar

2.2.1 Atipisiz Endometriyal Hiperplazi

Atipisiz endometriyal hiperplazi, endometrial bezlerin düzensiz boyut ve şekillerde proliferasyonu ile karakterizedir ve belirgin sitolojik atipi içermez. Bu durum genellikle perimenopoz döneminde anormal ve düzensiz vajinal kanama şikayetleriyle teşhis edilir. Ultrasonografide endometriumda artmış kalınlık gözlemlenir. Risk faktörleri arasında perimenopoz, obezite, polikistik over sendromu (PCOS) ve diyabet bulunmaktadır. Uzun süreli östrojen maruziyeti, özellikle progesteron ile dengelenmediğinde, önemli bir neden olarak kabul edilir.

Patogenez açısından, bu durum progesteron veya progestatif ajanlarla dengelenmeyen uzun süreli östrojen maruziyetine bağlı olarak tüm endometrial alanda gelişir. Makroskopik olarak, endometrium geç proliferatif fazda görülen homojen, ten rengi bir görünümünden, kalınlaşmış, polipoid, süngerimsi veya kistik bir yapıya kadar değişiklik gösterebilir.

Histopatolojik incelemede, tübüler bezler, dallanan veya kistik olarak genişlemiş bezlerle karışık halde bulunur. Genellikle düzensiz bir şekilde dağılmıştır (**Şekil 2.2.1 DSÖ'den(16)**). Bu durum, artmış bez-stroma oranıyla birlikte değişken gland yoğunluğu yaratır. Epitel yapısı basit olmasına rağmen, çekirdeklerin farklı seviyelerde yerleşimi psödostratifiye bir görünüm verebilir. Yüksek östrojen seviyeleri mitozu artırırken çekirdeklerin yuvarlaklaşmasına neden olur; azalan östrojen seviyeleri ise mitotik olarak sakin, yuvarlak ya da uzamış çekirdeklerle sonuçlanır.



Şekil 2.2.1 Atipisiz endometriyal hiperplazi. Endometriyal bezler dallanmış ve genişlemiştir. Bezler arasındaki stroma hafifçe azalmıştır..

Tanı için esas kriterler arasında artmış endometrial bez-stroma oranı, tübüler, dallanmış veya kistik genişlemeler gösteren bezlerin proliferatif endometriuma benzer görünümü ve çekirdek özelliklerinin tüm dokuda uniform dağılımı yer alır.

Uzun süre östrojene maruz kalan kadınlarda endometrial karsinom riski 3–4 kat artar; bu risk, maruziyetin on yıl sürmesi halinde 10 kata kadar yükselir. Atipisiz endometriyal hiperplazisi olan kadınların %1–3’ünde iyi diferansiye endometrial karsinoma progresyon gözlenir.(16)

2.2.2 Atipik Endometriyal Hiperplazi/ Endometrioid

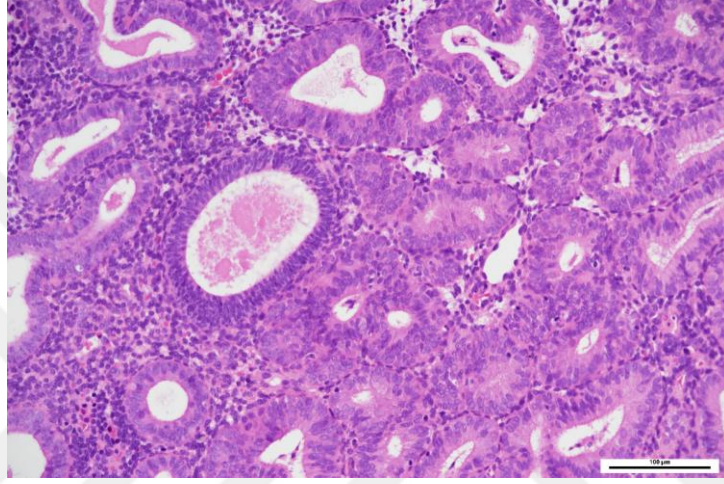
İntraepitelyal Neoplazi

Atipik Endometriyal Hiperplazi / Endometrioid İntraepitelyal Neoplazi (EAH/EIN), epitel sitolojisinde değişiklik ve stroma ile karşılaştırıldığında artmış endometriyal bez sayısının belirli bir morfolojik bölgede aynı anda görülmesi ile karakterizedir. Bu bölge, çevresindeki endometriumdan veya normal bezlerden farklıdır. Ortalama hasta yaşı 50–55’tir ve en yaygın görülen semptom postmenopozal veya perimenopozal kanamadır.

Genetik yatkınlık, Cowden sendromu ve Lynch sendromu gibi endometrioid endometriyal karsinom riskini artıran kalıtsal sendromlarla paralellik gösterir. Hiperöstrojenizm bu durumun önemli bir risk faktörüdür. EAH/EIN, lokalize bir lezyon olarak başlayan ve tüm endometriyal bölgeyi kaplayacak şekilde genişleyebilen mutasyona uğramış bezlerin klonal bir genişlemesi sonucu ortaya çıkar. Aynı zamanda, mikrosatellit instabilitesi (Lynch sendromu dahil), PAX2 inaktivasyonu ve PTEN, KRAS ve CTNNB1 mutasyonu gibi endometrioid endometriyal karsinomda görülen genetik değişiklikleri içerir.

Makroskopik olarak, lezyonlar sıklıkla belirgin bir özellik göstermez; ancak bazı durumlarda polip benzeri fokal bir kalınlaşma veya difüz kalınlaşmış bir endometrium şeklinde görülebilir. Bu durum, genellikle atipi olmayan hiperplazi, endometriyal polip veya karsinom tarafından maskelenebilir. Histopatolojik olarak,

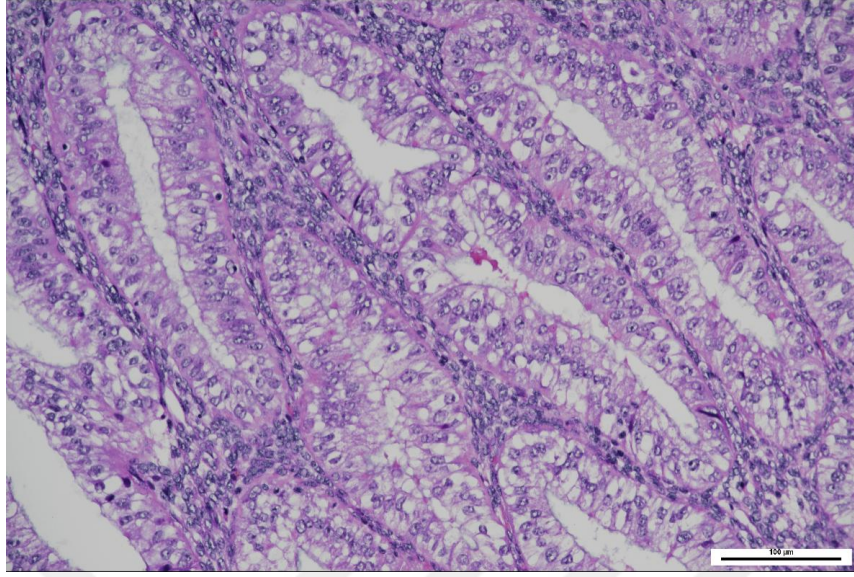
EAH/EIN, yoğun kümeler halinde bulunan ve çevresindeki dokudan farklı sitolojik özelliklere sahip tübüler veya dallanan bezlerden oluşur (Şekil 2.2.2.1 DSÖ'den(16)). Bu bölgede bezler stromadan daha yoğundur ve stromal hacmin azalmasına yol açar. Sitoplazmik değişiklikler (çeşitli metaplazi tipleri), nükleer atipi ile birlikte görülebilir (Şekil 2.2.2.2 DSÖ'den(16)). PTEN, PAX2 veya MSI için immünreaktivitenin kaybı tanıda yardımcı olabilir.



Şekil 2.2.2.1 Endometrial Atipik Hiperplazi / Endometrioid İntraepitelyal Neoplazi

Yoğun bezlerin nükleer ve sitoplazmik özellikleri, merkezde yer alan hapsolmuş atipik olmayan bezden farklılık gösterir. Hücresel atipi, glandüler epiteldeki polarite kaybı ile karakterizedir. Çekirdekler düzensiz şekilde dağılmış, büyümüş ve genellikle vezikülerdir ya da belirgin nükleoller gösterebilir.

EAH/EIN biyopsisi yapılan kadınların dörtte biri ila üçte biri, histerektomi sonrası veya ilk yıl içindeki takipte kanser tanısı alabilir. Uzun dönem risk artışı, eski 4 sınıflı hiperplazi çalışmalarında 14 kat artıştan, 2 sınıflı endometrioid intraepitelyal neoplazi çalışmalarında 45 kat artışa kadar değişiklik göstermektedir. Derece 1 endometrioid karsinom veya EAH/EIN'in hormonal ajanlarla konservatif tedavisi histoloji ile izlenebilir, ancak bu henüz standart bir klinik uygulama değildir.(16)



Şekil 2.2.2.2 Endometrial Atipik Hiperplazi / Endometrioid İntraepitelyal Neoplazi (Sekretuar Değişiklikler ile) Atipik bezler, yaygın sitoplazmik berraklık ve büyümüş, düzensiz dağılmış çekirdekler ile karakterizedir; bu çekirdekler sıklıkla belirgin nükleoller gösterir.

2.2.3 Endometriyal Karsinomlar

Endometriyal karsinom günümüzde morfoloji temelinde sınıflanmaktadır. (**Tablo 2.2.3.1**). Bokhman'a göre (17), iki geniş patogenetik tip tanımlanmıştır. Tip I tümörler, düşük dereceli, östrojene bağlı, genellikle klinik olarak indolan (yavaş seyirli) endometrioid karsinomlardır. Tip II tümörler, östrojene bağlı olmayan, klinik olarak agresif seröz ve berrak hücreli karsinomları içeren non-endometrioid karsinomlardır. Tip I ve Tip II sınıflandırması eğitimsel ve epidemiyolojik amaçlar için ilgi çekici olsa da, klinik, patolojik ve moleküler düzeylerde tümör sınıflandırması açısından çok faydalı değildir.

Tablo 2.2.3.1 Endometriyum Kanserlerinin Histopatolojik Sınıflandırması

Endometriyum kanserlerinin histopatolojik sınıflandırması (WHO 2020'ye göre)
Endometrioid endometriyal karsinom
Seröz karsinom
Berrak hücreli karsinom
Andiferansiye ve dediferansiye karsinomlar
Mikst karsinom
Diğer endometrial karsinomlar

Kanser Genom Atlası (TCGA) tarafından yapılan genomik karakterizasyon çalışması(18) , endometriyal karsinomları dört gruba ayırmıştır: (**Tablo 2.2.3.2**).

Tablo 2.2.3.2 Endometriyum Karsinomlarının Moleküler Grupları

Grup	Moleküler Özellik	Prognoz
Grup 1	POLE mutasyonları taşır .	iyi prognoz
Grup 2:	Mikrosatellit instabilitesi (MSI) gösterir.	orta dereceli prognoz
Grup 3	Düşük kopya numarası değişiklikleri taşır.	orta dereceli prognoz
Grup 4	Yüksek kopya numarası değişiklikleri ve TP53 mutasyonları içerir.	kötü prognoz

Çeşitli araştırma grupları, TCGA yaklaşımını klinik pratiğe entegre etmek için sınırlı bir panel içeren immünohistokimya ve POLE mutasyon analizi kullanmayı denemiştir(19). Bu yöntem, özellikle Grade 3 endometrioid karsinomda prognozun belirlenmesi için yararlı olmuştur(20) ve diğer endometriyal karsinom türlerinde de potansiyel olarak faydalı olabilir. Mikroskobik özelliklerin moleküler karakterizasyon ile entegrasyonu, bu teknikleri uygulayabilecek kaynaklara sahip bölgelerde, hastaların prognozunun öngörülmesi için en iyi yaklaşımdır.

Yeni WHO sınıflandırması, mezonefrik benzeri adenokarsinom ve gastrik tip müsinöz karsinom gibi yeni tümör türlerini içermektedir. Endometriyal müsinöz karsinom, artık ayrı bir tümör tipi olarak değil, endometrioid karsinomun bir paterni olarak değerlendirilmektedir.

2.2.3.1 Endometrioid Endometriyal Karsinomlar

Endometrioid karsinom; bez oluşturmayan (solid), bez oluşturan (glandüler) ve papiller mimarinin değişen oranlarda birlikte görülebildiği, tümör hücrelerinin endometrioid farklılaşma gösterdiği malign epitelyal bir neoplazidir.

Vakaların büyük bölümü postmenopozal dönemde izlenir (vakaların %90'ı 50 yaş üstü). En sık başvuru nedeni anormal/postmenopozal kanamadır. İleri evre olgularda over karsinomuna benzer şekilde pelvik/abdominal semptomlar gelişebilir.

Endometrial kanser, korpus uteri malignitelerinin büyük çoğunluğunu oluşturur ve kadınlarda en sık görülen altıncı kanserdir. 2018'de dünya çapında ~382.000 yeni korpus uteri kanseri olgusu bildirilmiştir. Endometrial kanser insidansı İnsani Gelişme Endeksi çok yüksek olan ülkelerde (örneğin Batı Avrupa, Kuzey Amerika, Japonya gibi gelişmiş ülkelerde) daha sık görülmektedir. Birçok ülkede insidans son yıllarda artış göstermektedir. Yüksek gelirli ülkelerde 5 yıllık sağkalım ~%80 civarındadır; dünya genelinde yıllık kansere bağlı ölümler ~90.000'dir.

Uzamış, karşılanmamış östrojen maruziyeti önemli bir risk etmenidir. Aynı zamanda EİN ile ortak moleküler değişiklikler paylaşır. Erken menarş, geç menopoz, nulliparite, obezite, tamoksifen kullanımı, PCOS, östrojen üreten over tümörleri gibi durumlar toplam östrojen düzeyini artırarak riski yükseltir. Lynch ve Cowden sendromları ile ilişki mevcuttur.

Tümör kitleleri makroskopik olarak ekzofitik ya da diffüz infiltratif şekilde izlenilebilir; değişen derecelerde nekroz ve hemoraji görülebilir.

Histopatolojisinde tipik olarak (villo)glandüler mimari; psödostratifiye nükleuslu kolumnar hücreler dikkati çeker. Lüminal yüzey genellikle düzgündür; sitoplazma sıklıkla eozinofilik-granülerdir. Nükleer atipi hafif-orta olmakla birlikte yüksek derecelilerde belirginleşir. Mitotik aktivite değişkendir.

Skumöz farklılaşma sık görülür (%10–25): morül, eozinofilik solid adalar ve/veya keratinizasyon.

İyi diferansiye EEK ile EİN ayrımı stromal invazyon varlığına dayanır: aradaki stromanın kaybı (konfluent/kribriform/“labirentimsi” mimari), desmoplastik stromal reaksiyon veya kompleks (çoğunlukla villoglandüler) mimari invazyon lehinedir. Müsinöz farklılaşmalı EEK, atipik müsinöz glandüler proliferasyonlar ile karışabilir; kribriform-konfluent yapı ve sitolojik atipi ayıracıdır.

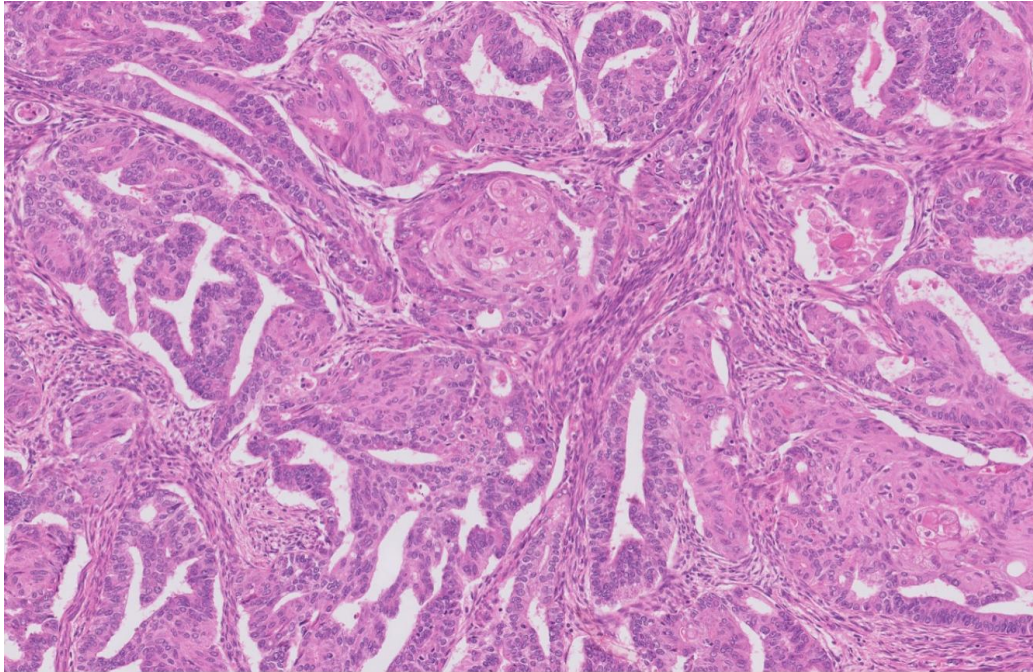
Derecelendirme (grading) FIGO'ya göre yapılır (Tablo 2.2.3.1.1) ;

Tablo 2.2.3.1.1 Endometrioid Endometriyal Karsinom Derecelendirmesi

Dereceler	
G1:	≤%5 solid (glandüler-dışı, skuamöz-dışı) büyüme
G2:	%6–50 solid (glandüler-dışı, skuamöz-dışı) büyüme
G3:	>%50 solid (glandüler-dışı, skuamöz-dışı) büyüme

Tümör hücrelerinin >%50'sinde belirgin sitolojik atipi varsa derece bir basamak artırılır; ancak mimariye göre orantısız nükleer atipide seröz karsinom dışlanmalıdır. Klinik kullanımda ikili derecelendirme önerilir: düşük dereceli (G1–G2) ve yüksek dereceli (G3).

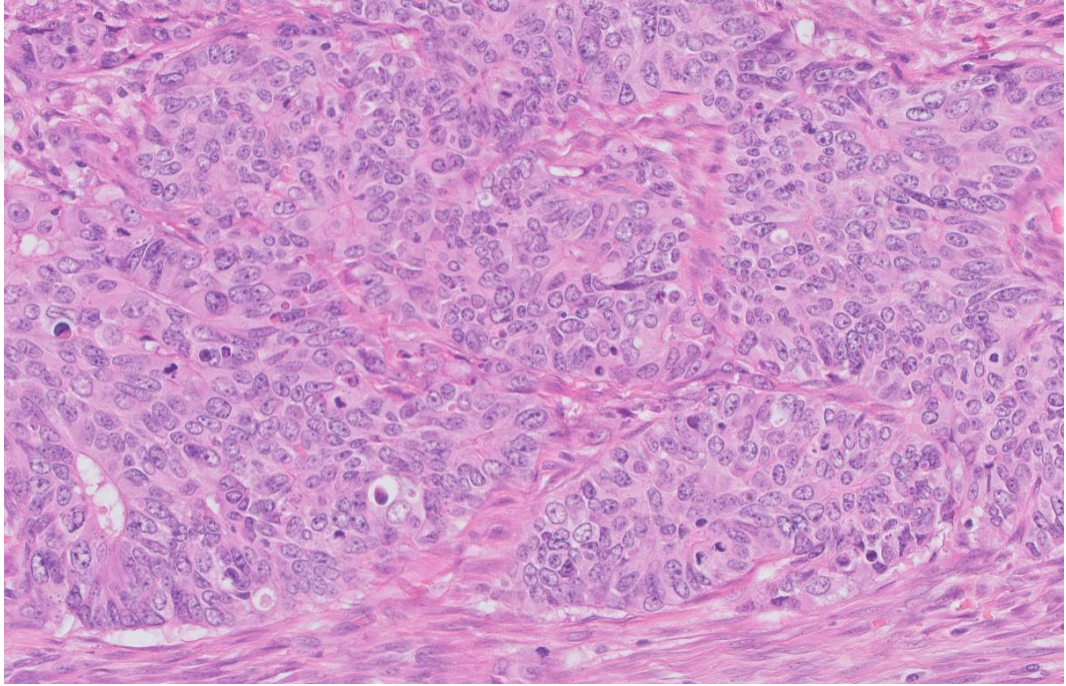
Düşük dereceli EEK: yaygın güçlü ER/PR pozitif, p16 yamalı pozitif boyanır. Böylece tipik olarak diffüz p16 pozitif ve ER/PR negatif (HPV-ilşkili) ve p16/ER/PR negatif (HPV-bağımsız) endoservikal adenokarsinomdan ayrılabilir. (Şekil 2.2.3.1.1)



Şekil 2.2.3.1.1 Düşük Dereceli Endometrioid Endometriyal Karsinom (FIGO Grade 1), no specific molecular profile (NSMP)

Düşük dereceli endometrioid endometriyal karsinomlarda sık görülen skuamöz diferansiasyon dikkati çekmektedir.

Yüksek dereceli EEK – seröz karsinom ayrımı: EEK daha sıklıkla solid ve nükleer pleomorfizmi daha az belirgindir. Mimariye göre orantısız yaygın yüksek dereceli atipide seröz karsinom düşünülmelidir. (Şekil 2.2.3.1.2) ARID1A, PTEN veya MMR proteinlerinden birinin kaybı EEK lehinedir. p53 anormali düşük derecelide %2–5, yüksek derecelide ~%20 oranında bildirilmiştir.



Şekil 2.2.3.1.2 Yüksek Dereceli Endometrioid Endometriyal Karsinom (FIGO Grade 3, POLE-Mutant)

Lenfovasküler invazyon (LVİ) olguların %5–15’inde görülür; sıklıkla MELF paternli invazyon ve MMR eksikliği ile birliktedir.

Klinikte benimsenen moleküler parametreler ile EEK’ler dört biyolojik alt gruba ayrılabilir. Bu sınıflama prognostik katmanlama ve adjuvan tedavi kararlarını destekler.

UICC TNM ve FIGO (Tablo 2.2.3.1.2) sistemlerine göre evrelemesi yapılır.

Tablo 2.2.3.1.2 2023 FIGO Endometrium Kanseri Evrelemesi

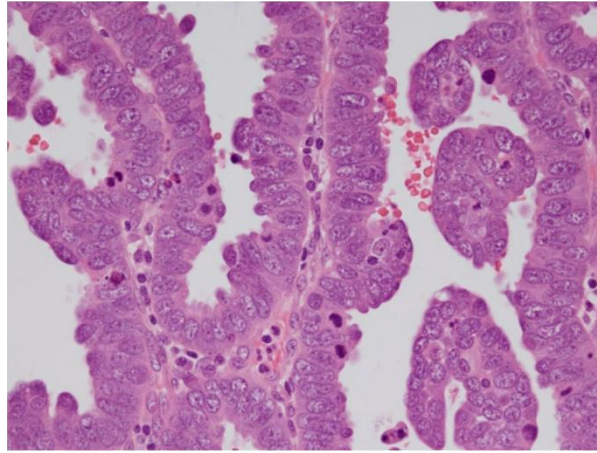
Evre / Alt Evre	Tanım / Kriterler
I	Uterus Korpus Ve Overe Sınırlı
IA1	Polipe veya endometriuma sınırlı, non-agresif histolojik tip endometrium kanseri.
IA2	Miyometriumun %50'den azını invaze eden ve LVİ göstermeyen veya fokal LVİ gösteren, non-agresif histolojik tip endometrium kanseri.
IA3	Düşük dereceli EEK'nın uterusla sınırlı olduğu ancak aynı zamanda overde düşük dereceli EEK tutulumu bulunan durumlar.
IB	Miyometriumun %50 veya daha fazlasını invaze eden ve LVİ göstermeyen veya fokal LVİ gösteren, non-agresif histolojik tip endometrium kanseri.
IC	Miyometrial invazyon göstermeyen agresif histolojik tip endometrium kanseri.
II	Ekstrauterin infiltrasyon olmaksızın servikal stromal invazyon veya diffüz LVİ veya miyometrium invazyonu gösteren agresif histolojik tip:
IIA	Servikal stromayı invaze eden non-agresif histolojik tip endometrium kanseri.
IIB	Diffüz LVİ gösteren non-agresif histolojik tip endometrium kanseri.
IIC	Herhangi bir miyometrial invazyonun bulunduğu agresif histolojik tip endometrium kanseri.
III	Lokal ve/veya bölgesel yayılım gösteren tümörler:
IIIA1	Over ve/veya fallop tüpü tutulumu (IA3 kriterleri dışı)
IIIA2	Uterin subseroz veya seroza tutulumu
IIIB1	Vajina ve/veya parametrium tutulumu
IIIB2	Pelvik periton tutulumu
IIIC1i	Pelvik lenf nodu mikrometastaz
IIIC1ii	Pelvik lenf nodu makrometastaz
IIIC2i	Para-aortik +/- pelvik nodlarda mikrometastaz
IIIC2ii	Para-aortik +/- pelvik nodlarda makrometastaz
IV	
IVA	Mesane ve/veya barsak mukozası tutulumu
IVB	Abdominal periton metastazı, pelvis dışı intraperitoneal karsinomatosis, uzak metastazlar

Evreleme; miyometriyal invazyon derinliği ($<50\%$ / $\geq 50\%$), endoservikal stroma, adneksler ve lenf nodu tutulumuna dayanır. Belirgin LVİ tedavi algoritmalarında dikkate alınır; fokal ve yaygın (≥ 5 damar) ayrımı prognostik olabilir. Endometrium-

over senkron endometrioid karsinomları çoğunlukla klonal olup indolent davranış gösterebilir; seçilmiş olgularda konservatif yaklaşım mümkündür (her iki odak düşük dereceli, miyometriyal invazyon <%50, başka odak yok, yaygın LVİ yok).

2.2.3.2 Seröz Karsinom

Seröz karsinom, belirgin nükleer pleomorfizm ve genellikle papiller veya glandüler büyüme paternleri gösteren, yüksek dereceli bir endometriyal karsinomdur. Tüm endometriyal karsinomların yaklaşık %10'unu oluşturmalarına rağmen, endometriyum kanserine bağlı ölümlerin yaklaşık %40'ından sorumludur. Bu tümörler sıklıkla postmenopozal kanama ile kendini gösterebilir ve olguların %40–50'sinde tanı anında ekstrauterin yayılım mevcuttur. Patogenezinde çoğunlukla TP53 mutasyonları rol oynar. Tümörlerin yaklaşık üçte birinde ERBB2 (HER2) amplifikasyonu saptanır ve bu durum hedefe yönelik tedaviler açısından önem taşır. Histopatolojik olarak seröz karsinomlar, atrofik endometrium veya endometriyal polip zemininde gelişebilir. İmmünohistokimyasal olarak çoğunlukla mutant p53 boyanması, yaygın p16 ekspresyonu ve değişken ER/PR pozitifliği izlenir.



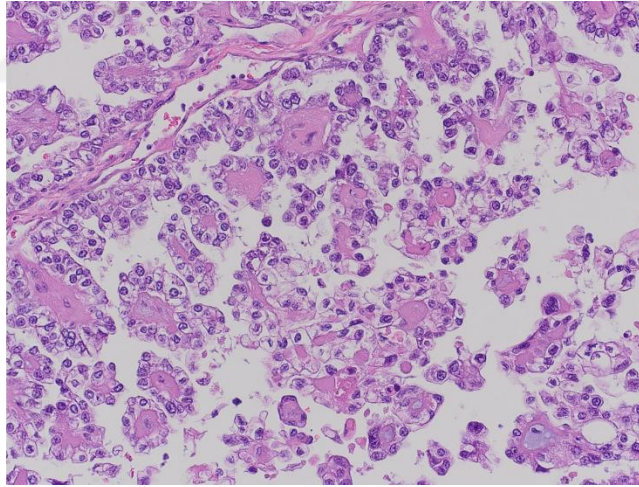
Şekil 2.2.3.2 Seröz Karsinom

Belirgin nükleer pleomorfizm, makronükleoller ve belirgin mitotik aktivite gösteren hücrelerden oluşan yüksek dereceli sitolojiye sahip seröz karsinom.

2.2.3.3 Berrak Hücreli (Clear Cell) Karsinom

Berrak hücreli karsinom, endometriyal karsinomların %10'undan azını oluşturur. Nadir ancak yüksek dereceli ve agresif seyirli bir tümördür. Genellikle postmenopozal dönemde ortaya çıkar ve en sık semptomu postmenopozal kanamadır. Histolojik olarak papiller, tubülokistik ve solid paternlerin kombinasyonu ile karakterizedir; tümör hücreleri genellikle açık ya da eozinofilik sitoplazmalı, küboidal, poligonal veya hobnail (kabara çivisi) morfolojisindedir. Nükleer atipi sıklıkla orta-ileri derecededir. İmmünohistokimyasal olarak HNF1 β , napsin A ve AMACR (P504S) pozitifliği tipiktir; östrojen ve progesteron reseptörleri genellikle negatiftir.

Makroskopik olarak diğer endometriyal karsinomlardan belirgin bir farklılık göstermemekle birlikte, tanı anında olguların yaklaşık yarısı erken evrededir. Beş yıllık sağkalım oranı %55–78 arasında değişir. İleri evre, ileri yaş ve LVİ varlığı kötü prognostik faktörlerdir.



Şekil 2.2.3.3 Berrak Hücreli Karsinom

Papiller patern.

2.2.3.4 Andiferansiye ve Dediferansiye Karsinomlar

Andiferansiye ve dediferansiye endometriyal karsinomlar, oldukça nadirdir. Ancak son derece agresif seyirli tümörlerdir ve tüm endometriyum kanserlerinin yaklaşık %2'sini oluşturur. Andiferansiye karsinom, farklılaşma göstermeyen monomorfik,

diskohesif hücrelerden oluşur; dediferansiye karsinom ise genellikle FIGO derece 1 veya 2 endometrioid karsinom ile birlikte bulunur ve bu diferansiye bileşenden köken alır. Moleküler düzeyde bu tümörlerde sıklıkla MMR protein kaybı ve mikrosatellit instabilitesi saptanır. İmmünohistokimyasal olarak tümör hücreleri EMA ve keratin ile fokal pozitif olup, ER, PR, E-kaderin ve PAX8 ile genellikle negatiftir. Klinik olarak çoğu olgu postmenopozal dönemde, vajinal kanama ile başvurur. Bu tümörlerin prognozu oldukça kötüdür; olguların %55–95’inde nükse bağlı veya hastalığa bağlı ölüm görülür.

2.2.3.5 Mikst Karsinom

Mikst endometriyal karsinom, iki veya daha fazla farklı histolojik tipi bir arada bulunduran endometriyum kaynaklı malign tümörlerdir. Bu bileşenlerden en az biri seröz veya berrak hücreli karsinom olmalıdır. En sık görülen kombinasyon endometrioid ve seröz karsinom birlikteliğidir. Mikst karsinomlar nadirdir ve tüm endometriyal karsinomların yaklaşık %10’unu oluşturur. Klinik özellikleri ayırt edici değildir, ancak prognoz tümörün içerdiği en yüksek dereceli bileşen tarafından belirlenir; dolayısıyla küçük bir alanda seröz veya berrak hücreli komponentin varlığı olguyu yüksek dereceli karsinom kategorisine taşır.

2.2.3.6 Diğer Endometrial Karsinomlar

Diğer endometriyal karsinomlar, nadir görülen ve heterojen bir tümör grubunu oluşturmaktadır. Bu grup içerisinde mezonefrik ve mezonefrik-benzeri adenokarsinomlar, primer skuamöz hücreli karsinom ve gastrik (gastrointestinal) tip müsinöz karsinom yer alır. Mezonefrik-benzeri adenokarsinomlar endometriyum karsinomlarının yaklaşık %1’ini oluşturur ve sıklıkla KRAS mutasyonları ile 1q kazancı gösterir; immünohistokimyasal olarak ER/PR negatif, GATA3 ve TTF1 pozitifliği ile karakterizedir. Gastrik tip müsinöz karsinomlar ise müsin üreten glandüler yapıların varlığı ile tanınır ve bazen mismatch repair (MMR) bozuklukları gösterebilir. Bu tümörlerin tanısı morfolojik özelliklere, servikal kökenli tümörlerin veya gastrointestinal sistem kökenli metastazların dışlanmasına ve endometrioid komponentin yokluğuna dayanır.

2.2.3.7 Karsinosarkom

Karsinosarkom, yüksek dereceli epitelyal (karsinomatöz) ve mezenkimal (sarkomatöz) bileşenlerden oluşan bifazik bir tümördür ve tüm uterin malignitelerin yaklaşık %5'ini oluşturur. Genellikle postmenopozal kadınlarda görülür ve olguların yaklaşık yarısı tanı anında ileri evrededir (FIGO evre III–IV). Olguların büyük çoğunluğunda TP53 mutasyonu mevcuttur ve moleküler açıdan çoğu copy-number yüksek (seröz karsinom benzeri) gruba girer. Histolojik olarak tümör, genellikle endometrioid veya seröz tipte karsinomatöz komponent ve yüksek dereceli sarkom ya da heterolog farklılaşmalar (rabdomyosarkom, kondrosarkom gibi) içeren mezenkimal komponentten oluşur. Klinik olarak agresif seyirli olup, 5 yıllık sağkalım erken evrede %60 civarındayken ileri evrelerde %10'a kadar düşer.

2.3 Bağışıklık Sistemi

İnsan vücudu, patojenlerle (virüs, bakteri, mantar, parazit) sürekli bir karşılaşma içerisindedir. Bu karşılaşmalarda bağışıklık sistemi, doğal (innate) ve kazanılmış, adaptif (adaptive) kollarıyla birlikte çalışarak organizmayı hem hızlı hem de özgül savunma mekanizmalarıyla korur.

Doğal bağışıklık vücudun ilk savunma hattını oluşturur. Bu sistem, genetik olarak kalıtılmış reseptörlerle patern tanıma mekanizmaları (örn. Toll-like reseptörler) aracılığıyla mikrobiyal yapı motiflerini algılar, inflamatuvar sitokinlerin salınımı, fagositik hücre aktivasyonu (makrofajlar, nötrofiller), doğal öldürücü (NK) hücreler ve antimikrobiyal peptitler gibi mekanizmalarla hızla yanıt verir. Gerektiğinde kompleman sistemi ve inflamasyon aracılığıyla patojenlerin ilk kontrolünü sağlar. (21)

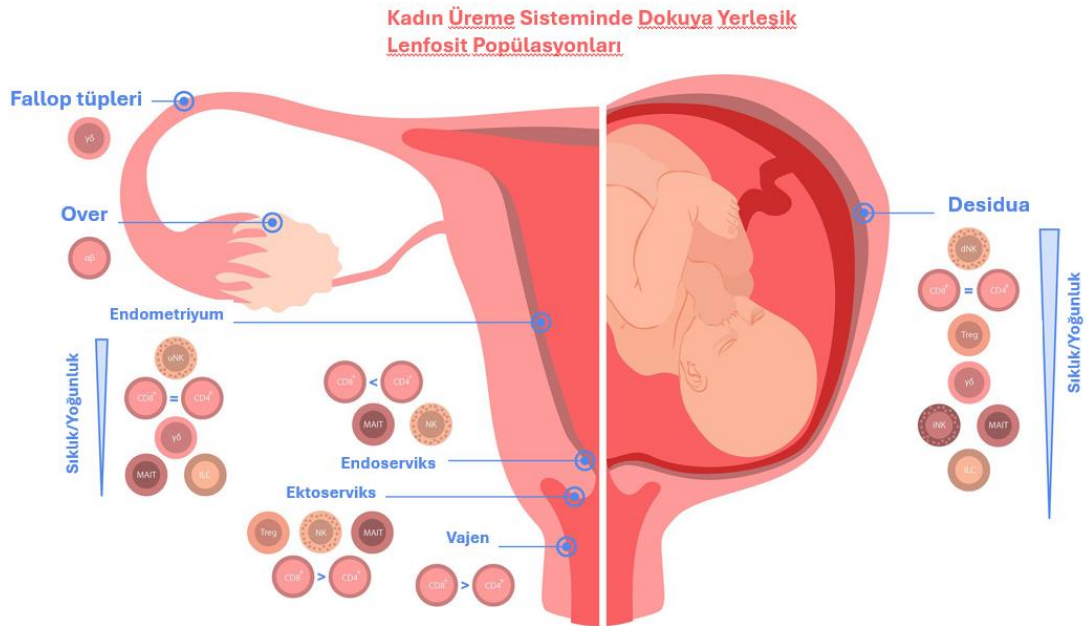
Doğal bağışıklık aynı zamanda adaptif yanıtı “eğitim” verir: antijen sunan hücreler (örneğin dendritik hücreler, makrofajlar), patojen yapısını tanır, işleyip lenf düğümlerine taşır ve naife T hücrelerini aktive eder. Bu sayede adaptif bağışıklık (T ve B hücreleri) devreye girer; özgül antijenlere karşı yanıt üretir, bellek hücreleri oluşturur ve sonraki patojen teması durumunda hızlı, güçlü bir yanıt sağlar.

Bağıışıklık sisteminin bu iki ayağı, biyolojik süreçlerde birbirleriyle sıkı işbirliğı halinde çalışır; doğal sistem adaptifi uyarır, adaptif sistem gerekli sinyallerle doğal yanıtları şekillendirir. (22)

2.3.1 Mukozal Bağıışıklık Sistemi

Mukozal bağıışıklık sistemi, doğal ve adaptif bağıışıklık yanıtlarının birlikte çalıştığı bir sistemdir. Vücudun patojenlere karşı ilk bariyerini oluşturur aynı zamanda mikrobiyotanın ve konağın simbiyotik ilişkisini sürdürmekten sorumludur. Mikrobiyota, konak için faydalı işlevlere sahip olmasına rağmen, mukozal bariyeri aşma tehdidi de oluştururlar. Bu nedenle, doku bütünlüğünün düzenlenmesi için hızlı bir bağıışıklık yanıtı gereklidir(23) . Örneğın bağırsak epiteli, tek bir epitelyal hücre tabakasından oluşur. Bağırsak epitelinin mukozal bağıışıklık sistemini, $\gamma\delta$ T hücreleri ve $\alpha\beta$ T hücrelerinin yanı sıra; B hücreleri, doğuştan gelen lenfoid hücreler, makrofajlar ve dendritik hücreler gibi son derece heterojen bir lökosit popülasyonu oluşturur.

$\gamma\delta$ T hücreleri, deri, solunum sistemi, gastrointestinal ve genital sistem gibi mukozal ve epitelyal bölgelerde yoğun bir şekilde bulunur ve doku yerleşik bağıışıklık hücreleri olarak tanımlanır. (Şekil 2.3.1 (4))

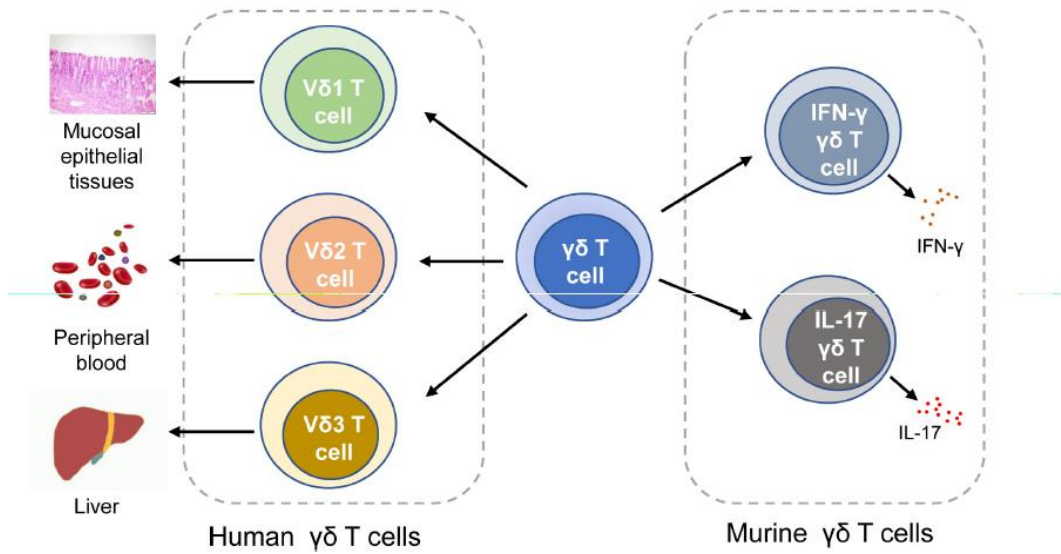


Şekil 2.3.1 Kadın Üreme Sisteminde Dokuya Yerleşik Lenfosit Popülasyonu

2.3.1.1 Gama Delta ($\gamma\delta$) T Hücreleri

$\gamma\delta$ T hücreleri, yüzeylerinde (γ) gamma ve (δ) delta zincirlerini eksprese ederler ve birlikte $\gamma\delta$ TCR'yi oluştururlar. Bunlar, periferik dokuda bolca bulunmalarına rağmen, kandaki tüm T hücrelerinin yalnızca küçük bir yüzdesini temsil ederler (insanlarda toplam T hücrelerinin %1-5'i)(24,25). Farelerde, $\gamma\delta$ T hücre alt grupları genellikle gamma zincirlerine göre isimlendirilirken (Heilig ve Tonegawa terminolojisi)(26), örneğin $V\gamma 1+$, $V\gamma 4+$ veya $V\gamma 7+$ $\gamma\delta$ T hücreleri; insanlarda delta zincirlerine göre gruplandırılırlar, örneğin $V\delta 1+$ veya $V\delta 2+$ $\gamma\delta$ T hücreleri.

İnsan tümörlerinde doku-yerleşik $V\delta 1$ ve $V\delta 3$ alt kümeleri sıklıkla öne çıkar ve pek çok solid tümörde olumlu prognozla ilişkilendirilmiştir; buna karşın dolaşımdaki $V\delta 2$ alt kümesi ise fosfoantijen tanıma eğilimiyle diğer alt kümelerden ayrı bir göreve sahiptir.(26,27)



Şekil 2.3.1.1 $\gamma\delta$ T hücrelerinin sınıflandırılması: İnsanda $\gamma\delta$ T hücreleri $V\delta 1$ T hücreleri, $V\delta 2$ T hücreleri ve $V\delta 3$ T hücreleri olarak sınıflandırılabilir.(27)

$\gamma\delta$ T hücreleri, bağırsakta oldukça yaygındır(28) ve yerleşim yerlerine göre 3 gruba ayrılabilirler. Birinci grup epitelyal hücreler arasında yerleşmiş $\gamma\delta$ bağırsak

intraepitelyal lenfositler (İEL'ler), (7, 8). İkinci $\gamma\delta$ T hücre alt grubu LP'de (lamina propria) bulunur ve $\gamma\delta$ LPL'ler (lamina propria lenfositleri) olarak adlandırılır. Bu hücreler kan dolaşımı içinde veya dokuda yerleşik şekilde olabilirler (10). Son olarak, üçüncü grup ise Peyer plaklarında (PP'ler) yerleşmiş olan $\gamma\delta$ T hücreleridir.

$\gamma\delta$ T hücreleri, Alfa beta ($\alpha\beta$) T hücrelerine göre daha az yaygındır, ancak kadın genital sistemi de dahil olmak üzere çeşitli dokularda önemli roller oynar.

Kadın genital sisteminde $\gamma\delta$ T hücrelerinin önemli yönleri:

Erken Savunma: $\gamma\delta$ T hücreleri, doğumdan itibaren kadın genital yolda bulunur ve mikrobiyal enfeksiyonlara karşı erken savunma hattı olarak görev yapar. Antijen sunumu için önceden ihtiyaç duymadan invaze olan patojenleri hızla tanıyabilir ve tepki verebilirler.

Bağışıklık Gözetimi: $\gamma\delta$ T hücreleri, kadın üreme sisteminde bağışıklık gözetimi ile ilgilidir. Enfeksiyonlar, inflamasyon veya tümör gelişimi gibi herhangi bir anormal hücresel değişime karşı dokuların homeostazını korumaya yardımcı olurlar.

Hızlı Tepki: $\alpha\beta$ T hücrelerinin aksine, $\gamma\delta$ T hücreleri doğal benzeri bağışıklık tepkileri sergiler, bu da onların patojenlere hızlı tepki vermesini sağlar. Mikroplarla ilişkili moleküler paternleri (MAMPs) tanıyabilir ve major histokompatibilite kompleksi (MHC) molekülleri olmadan bile hızlı bir şekilde tepki verebilirler.

Antimikrobiyal Aktivite: $\gamma\delta$ T hücreleri güçlü antimikrobiyal fonksiyonlara sahiptir. Perforin ve granzim gibi sitotoksik moleküllerin salınımıyla enfekte hücreleri doğrudan öldürebilirler. Ayrıca, sitokinler ve kemokinler gibi çeşitli moleküller üreterek diğer bağışıklık hücrelerini enfeksiyon bölgesine çeker ve aktive ederler.

Doku Onarımı: $\gamma\delta$ T hücreleri kadın genital sisteminde doku onarımına ve rejenerasyonuna katkıda bulunur. Büyüme faktörleri üreterek ve ekstraselüler matriks bileşenlerinin üretimini uyarak yara iyileşmesini destekleyebilirler.

Hormonal Etki: $\gamma\delta$ T hücrelerinin kadın genital sistemindeki varlığı ve fonksiyonu hormonal dalgalanmalardan etkilenebilir. Özellikle östrojen, üreme yolu üzerindeki $\gamma\delta$ T hücrelerinin dağılımını ve aktivitesini modüle ettiği gösterilmiştir.

2.3.1.2 Gama Delta ($\gamma\delta$) T Hücreleri ve Kanser İmmünoterapisi

Aktive edilmiş $\gamma\delta$ T hücreleri, granzim B ve perforin salınımı, membran bağlı TRAIL ve Fas (CD95) ligandları aracılığıyla veya IFN- γ veya TNF α üretimiyle bağışıklık yanıtını güçlendirerek sitotoksik aktivite sergiler(29), bu sayede tümör gelişimini engeller. $\gamma\delta$ T hücreleri olmayan fareler kullanılarak oluşturulan kütanöz kanserogenez modelinde, $\gamma\delta$ T hücrelerinin malignite oluşumunu önlediği ilk kez gösterildi(30) . Kanser hastalarında tümör infiltrasyonlarında yüksek sıklıkta $\gamma\delta$ T hücre varlığı, farklı malignitelerde daha iyi klinik sonuçlarla ilişkilidir(31,32) . Daha yeni bir çalışma, V γ 9V δ 2 T hücrelerinin TIL'lerdeki göreceli fazlalığı ve hastaların daha iyi prognozu ile ilişkisini doğrulamaktadır(29). Bu sonuçlar, $\gamma\delta$ T hücrelerinin tümör kontrolündeki önemini vurgulamakta ve kanser tedavisi için potansiyellerini ortaya koymaktadır.

$\gamma\delta$ T hücrelerinin ürettiği başlıca sitokin IFN- γ 'dır ve bu sitokin antiviral, antibakteriyel ve anti-tümör bağışıklıkta önemli bir rol oynar(33) .

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Etik Kurul ve Veri Kullanım İzni

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alınarak (25.10.2023 tarihli KAEK-823 numaralı karar) ve Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Başhekimliğinin veri kullanım izni (07.11.2023 tarihli 774888 numaralı kayıt) ile yapılmıştır.

3.2 Olgu Seçimi

Bu çalışma kapsamında, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı almış ve arşivlenen endometriyal doku içeren patoloji materyalleri retrospektif olarak incelenmiştir. Çalışmaya 01.01.2014 ve 01.08.2023 tarihleri arasında tanı almış ve patoloji arşivinde bulunan 10 malignite dışı küretaj materyali, 10 atipisiz endometriyal hiperplazi (AEH), 20 ± 10 EİN tanılı ve 30 ± 10 düşük dereceli EEK tanılı histerektomi/küretaj materyaline sahip hastalar incelenmeye alınmıştır.

Çalışmaya alınan olguların seçiminde hastane bilgi sistemleri ve Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı arşivleri kullanılmıştır. Seçilen olguların parafin bloklarının incelenebilir durumda olması temel kriter olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte, lenf düğümü metastazı varlığı olan EEK olguları, dosya kayıt eksikliği, parafin bloklara ulaşılamaması veya tümör dokusunun yeterli ve incelenebilir durumda olmaması çalışma dışı bırakılma kriterleri olarak belirlenmiştir.

Bunun sonucunda bazı olgulara ait parafin blokların dokuların yetersiz olması (epitel alanlarının), mevcut immünohistokimyasal boyaların tükenmesi, boyaların miktarının az olması nedeniyle çalışmaya dahil edilen olgu sayıları nihai olarak 44 EEK (19 histerektomi, 25 küretaj), 9 EİN (4 histerektomi, 5 küretaj), 11 AEH (4 histerektomi, 7 küretaj) ve 11 malignite dışı olgu (tamamı küretaj) olarak belirlenmiştir.

Çalışmaya dahil edilen hastaların demografik bilgileri, klinik bulguları ve uygulanan tedavi protokolleri, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı arşivleri incelenerek kaydedilmiştir.

Bu materyallerin histopatolojik incelemesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı mikroskopları kullanılarak yapılmıştır. EİN ve EEK vakalarında en uygun tümör alanları, malignite dışı vakalarda ise en uygun epitel içeren alanlar belirlendikten sonra suya dayanıklı koyu renkli kalemle işaretlenmiştir. İşaretlenen alanlardan seçilen parafin bloklardan mikrotom cihazları kullanılarak kesitler hazırlanmış ve immünohistokimyasal çalışma için belirlenen lamalar oluşturulmuştur.

3.3 İmmünohistokimyasal Boyanma

Çalışmaya alınan hastalara ait preparatlar arşivden çıkarılarak Patoloji Anabilim Dalı mikroskopları (Olympus Bx53) ile tarafımızca incelendi. Seçilen preparatların ait oldukları bloklardan immünohistokimyasal değerlendirme için Akdeniz Üniversitesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'na ait mikrotom cihazları kullanılarak her iki hastanın kesitleri bir pozitif şarjlı lama alınarak 4 mikronluk kesitler alındı. Alınan kesitler 50°C'de bir gece boyunca bekletildi. Alınan kesitlerde immünohistokimyasal TCR γ/δ , IFN- γ , CD3, CD4 ve CD8 antikorları bizim tarafımızdan tam otomatik Dako boyama makinesinde standart prosedür kullanılarak yapıldı. Makinede uygulanan immunohistokimya prosedürü :

- 1.Olgulara ait seçilmiş birer adet parafin bloktan 5 mikronluk kesitler pozitif şarjlı lama alındı. Kesitler 50 °C'de bekletilir.
- 2.İki seri sırasıyla ksilolde 10 dakika, %100 alkolde 5 dakika, %85' lik alkolde 5 dakika ve %75' lik alkolde 5 dakika bekletilerek deparafinizasyon işlemi tamamlanır.
- 3.Kesitler, distile su ile yıkanır. 4.Kesitler, 90 °C sıcaklıkta antijen retrieval solüsyonda önce 20 dakika ve devamında iki kere 5' er dakika süre ile kaynatılır.
- 5.Kaynatma işleminin tamamlanmasının devamında kesitlere 30 dakika soğutma işlemi uygulanır.
- 6.Kesitler distile su ve PBS solüsyonu ile yıkanır.
- 7.Kesitlere H₂O₂ (Hidrojen peroksit) solüsyonunda 10 dakika süreyle endojen peroksit blokajı uygulanır.

8.Endojen peroksit blokajı sonrasında kesitlere, distile su ve PBS solüsyonu ile yıkama yapılır.

9.TCR γ/δ (H-41, Vitro Master Diagnostica) Ready-to-Use (RTU; kullanıma hazır); IFN- γ (MD180R, Medaysis) RTU; CD3 (polyclonal, Dako FLEX – GA503) RTU; CD4 (4B12, Dako FLEX – IR649) RTU; CD8 (C8/144B, Dako FLEX – GA623) RTU spesifik primer antikorlar, kesitler üzerine uygulanır. Nemli ortamda 1 saat inkübasyona alınır.

10.İnkübasyon sonrasında kesitler üzerine sekonder antikor uygulanarak kesitler 10 dakika bekletilir.

11.Kesitler distile su ve PBS ile yıkanır.

12.Kesitler üzerine HRP (Streptavidin Peroksidaz) uygulanarak 10 dakika boyunca beklenilir. Sonrasında kesitler, distile su ve PBS ile yıkanır.

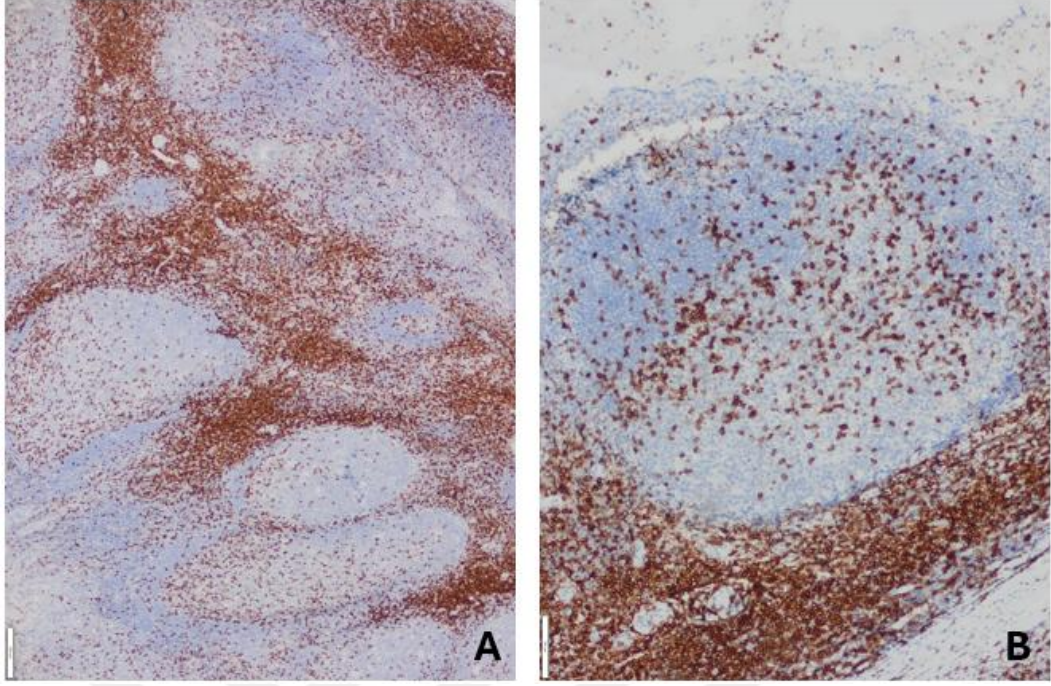
13.DAB (Diamino Benzidine Solüsyonu) solüsyonu kesitlere uygulanarak 2 dakika beklenilir. Sonrasında distile su ve PBS ile yıkanır.

14.Kesitler şale içine alınarak Hematoksilen solüsyonunda 2 dakika bekletilir. Sonrasında musluk suyunda yıkanır.

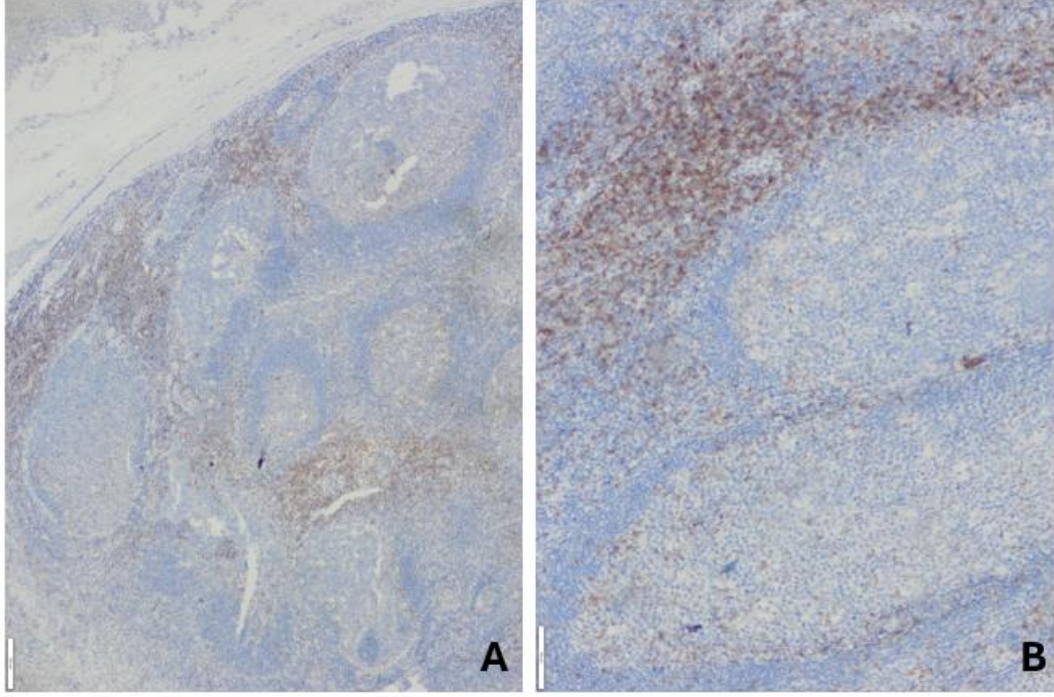
15.Kesitler, %80 alkolde 5 dakika, %96 alkolde 5 dakika, %100 alkolde 5 dakika ve iki seri ksilolde 5' er dakika bekletilerek dehidratasyon işlemi tamamlanır.

16.Kesitler entellan aracılığıyla lamel ile kapatılıp ışık mikroskopunda değerlendirilerek, olgulara özel antikor skorları kayıt altına alınır.

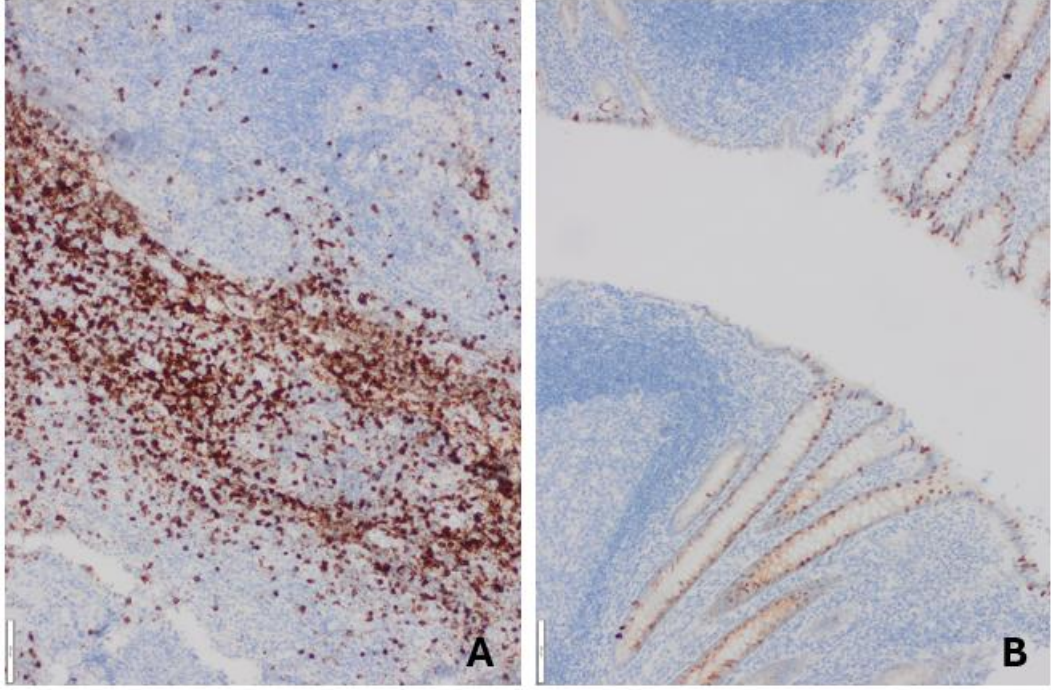
Kontrol amaçlı olarak CD3, CD4, CD8 ve TCR γ/δ boyaları için tonsil dokusu, IFN- γ boyası için ise apendiks dokusu pozitif kontrol dokusu olarak kullanıldı. (**Şekil 3.3.1, Şekil 3.3.2, Şekil 3.3.3, Şekil 3.3.4**)



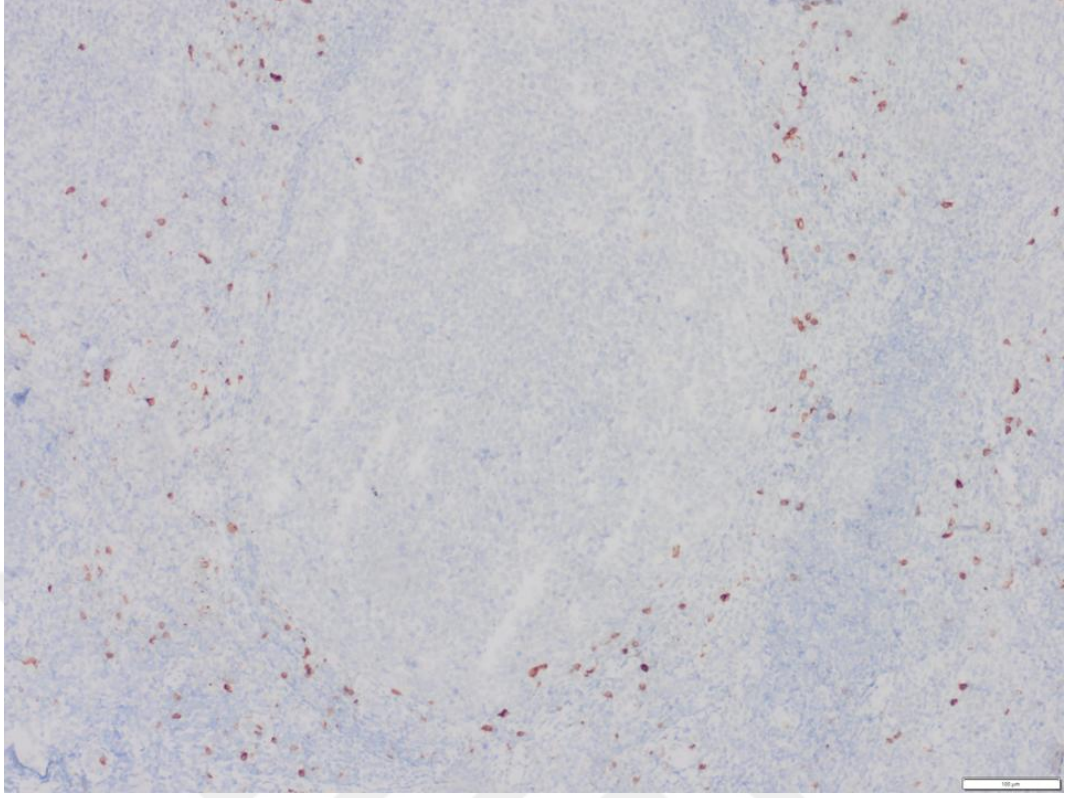
Şekil 3.3.1 CD3 kontrol dokusu (tonsil);A: $\times 50$ büyütmede tonsilin interfoliküler (parakortikal) bölgelerinde yoğun CD3 pozitifliği, B: $\times 100$ büyütmede T hücrelerinin membranöz/sitoplazmik boyanma paterni izlenmektedir.



Şekil 3.3.2 CD4 için pozitif kontrol olarak kullanılan tonsil dokusunda interfoliküler (parakortikal) alanlarda T-helper hücrelerinde membranöz karakterde boyanma izlenmektedir. A: $\times 50$, B: $\times 100$ büyütme.



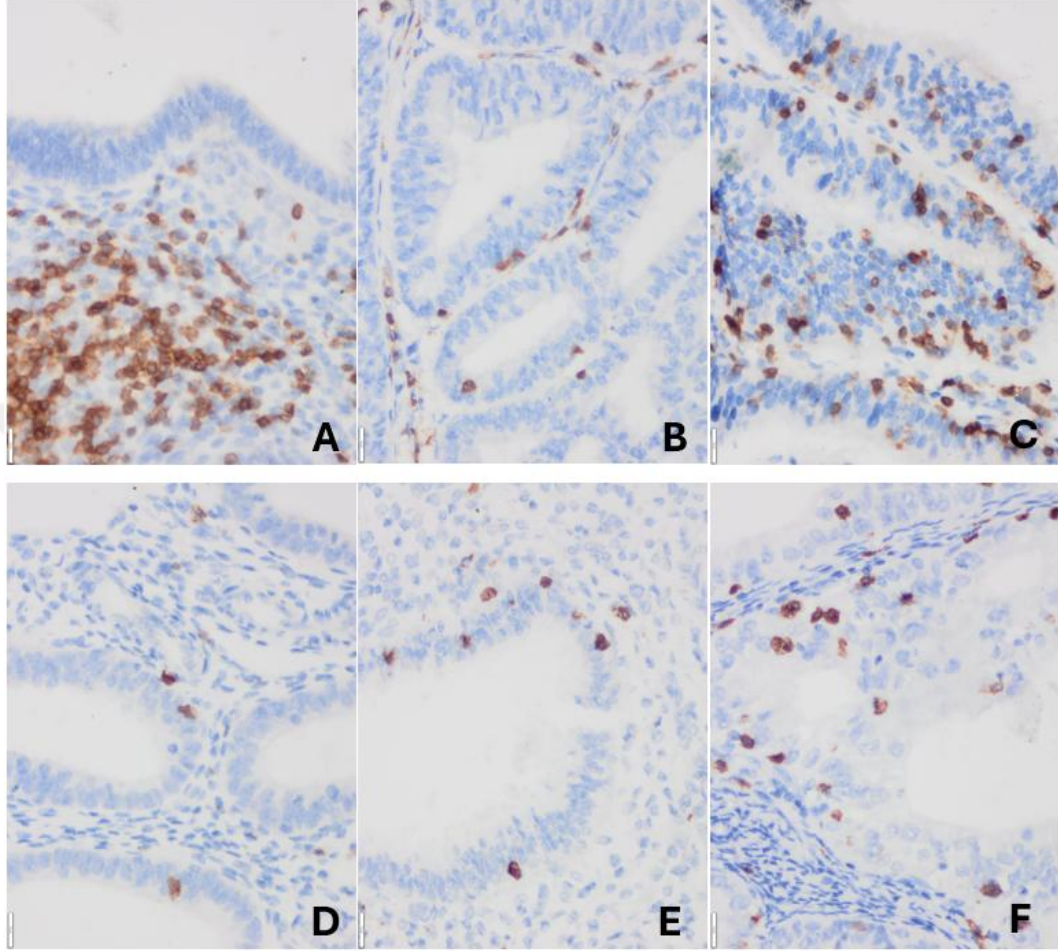
Şekil 3.3.3 Pozitif kontroller: A: $\times 100$ büyütmeye CD8 ile tonsil dokusunda interfoliküler (parakortikal) alanlarda sitotoksik T-hücrelerinde membranöz karakterde boyanma; B: $\times 100$ büyütmeye IFN- γ ile apendiks mukozasında kript çevresinde immün hücrelerde sitoplazmik (yer yer membranöz) boyanma izlenmektedir.



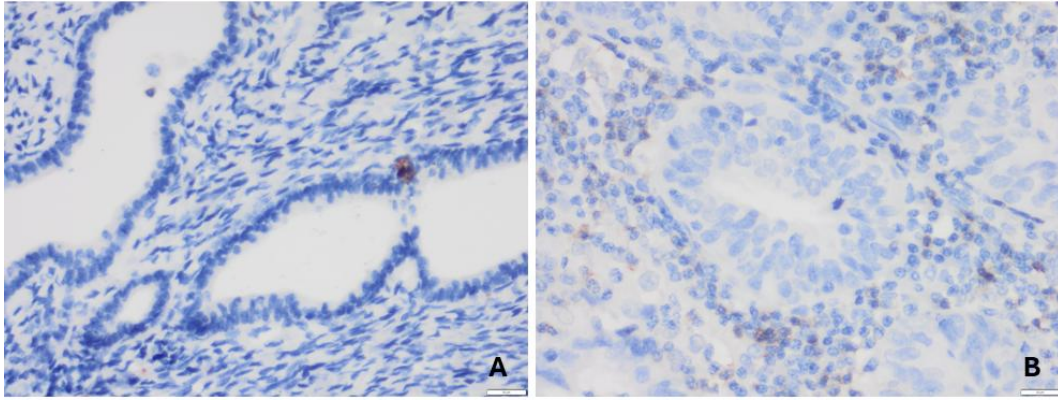
Şekil 3.3.4 TCR γ/δ için pozitif kontrol olarak kullanılan tonsil dokusunda interfoliküler (parakortikal) alanlarda T-lenfositlerde membranöz ve sitoplazmik karakterde boyanma izlenmektedir. $\times 100$ büyütme.

3.4 İmmünohistokimyasal Değerlendirme

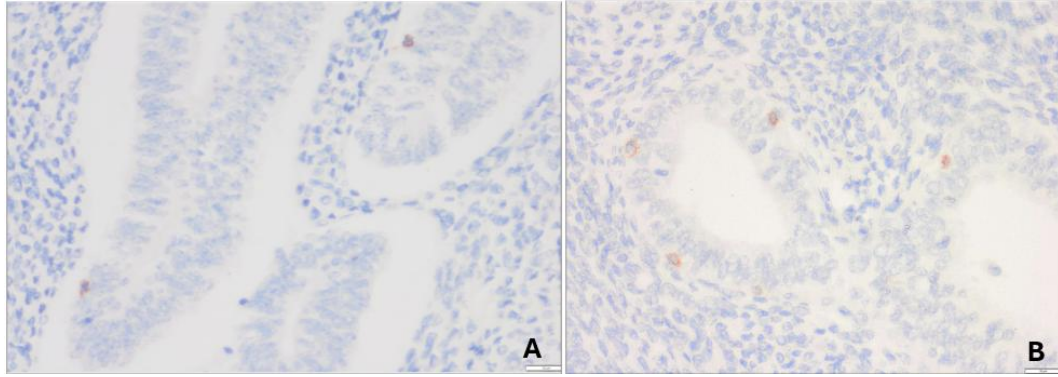
Bu çalışmada intraepitelyal TCR γ/δ , CD3, CD4 ve CD8 spesifik antikor boyanmaları immünohistokimyasal olarak iki farklı yöntemle değerlendirilmiştir. Birinci yöntem kantitatif değerlendirme olup, 1000 epitel hücresi başına düşen immünpozitif lenfosit hücreleri sayılarak yapılacaktır. İkinci yöntem ise semikantitatif değerlendirme olup, $\times 400$ büyütmede alan başına gözlenen immünpozitif lenfosit sayısına göre sınıflandırılmıştır. Tariflenen ikinci yöntemde, intraepitelyal lenfositlerin en çok olduğu alan seçilip bu alanlarda >10 immünpozitif lenfosit görüldüğünde yüksek, 3–10 immünpozitif lenfosit görüldüğünde orta ve <3 immünpozitif lenfosit görüldüğünde düşük olarak kabul edilmiştir. (Şekil 3.4.1, Şekil 3.4.2 ve Şekil 3.4.3) Bu değerlendirmelerde eşik değerler olarak kullanılan 3 ve 10 hücre/Büyük Büyütme Alanı(BBA) sınırları, Kondratiev ve arkadaşları ile Kono-Sato ve arkadaşlarının çalışmalarından referans alınmıştır.(34,35)



Şekil 3.4.1 CD3 (üst sıra, A–C) ve CD8 (alt sıra, D–F) immünohistokimyasal boyamaları. A ve D düşük (<3 immünopozitif lenfosit/BBA), B ve E orta (3–10/BBA), C ve F yüksek (>10/BBA) düzeyde immünopozitif lenfosit infiltrasyonunu göstermektedir (×400).

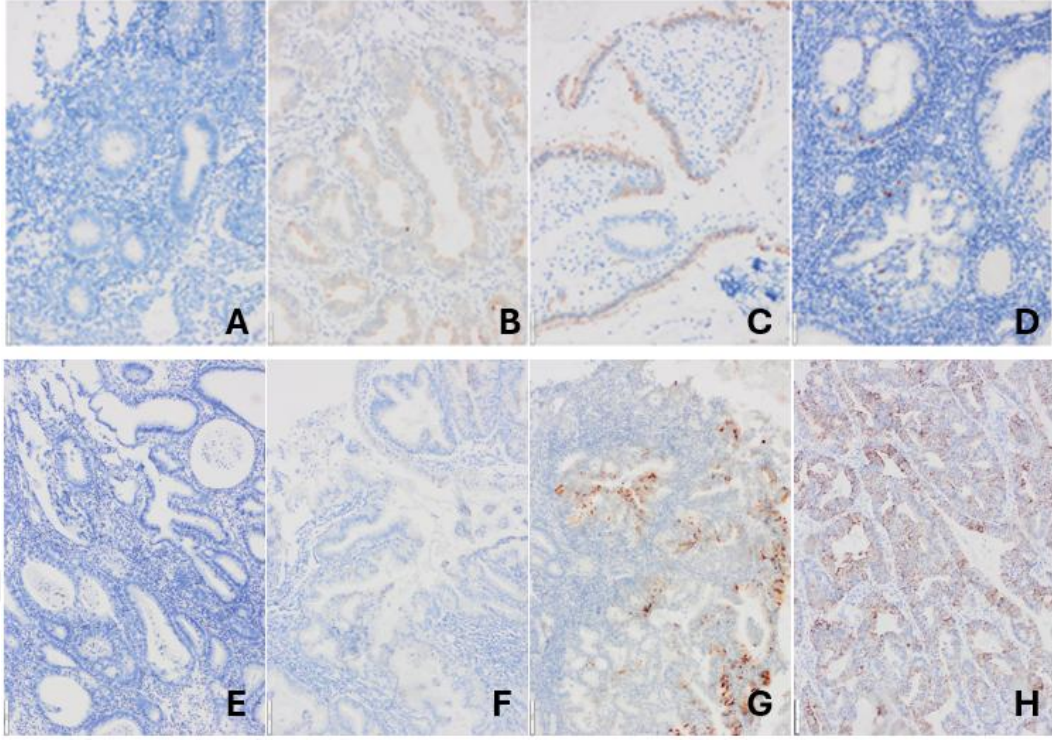


Şekil 3.4.2 CD4 immünohistokimyasal boyamaları. A düşük (<3 immünpozitif lenfosit/BBA), B orta (3–10/BBA) düzeyde immünpozitif lenfosit infiltrasyonunu göstermektedir (×400).



Şekil 3.4.3 TCR γ/δ immünohistokimyasal boyamaları. A düşük (<3 immünpozitif lenfosit/BBA), B orta (3–10/BBA) düzeyde immünpozitif lenfosit infiltrasyonunu göstermektedir (×400).

Bununla birlikte, IFN- γ boyasının sitoplazmik granüler bir paternde izlenmesi nedeniyle 1000 epitel hücresinde ayrı ayrı sayım yapılamamıştır, değerlendirmede daha objektif sonuçlar elde edebilmek için ek bir yöntem uygulanmıştır. İmmünoreaktivite boyanma yaygınlığı ve şiddetine göre skorlanmıştır. Boyanma şiddeti 0–3 arasında (0: negatif, 1: zayıf, 2: orta, 3: güçlü), immünoreaktivitenin yaygınlığı ise 0–4 arasında (0: negatif, 1: %1–25, 2: %26–50, 3: %51–75, 4: %76–100 pozitif immünoreaktivite) puanlanmıştır. (Şekil 3.4.4) Bu yöntem çalışmaya sonradan eklenmiş olup değerlendirmeyi daha objektif hale getirmiştir.



Şekil 3.4.4 IFN- γ immünohistokimyasal boyamaları. A: Negatif (0), B: Zayıf (1), C: Orta (2) şiddette boyanma ($\times 400$), D: Güçlü (3) boyanma; E: %1–25 (yaygınlık skoru 1), F: %26–50 (yaygınlık skoru 2), G: %51–75 (yaygınlık skoru 3), H: %76–100 (yaygınlık skoru 4) ($\times 100$) pozitif hücre oranlarını göstermektedir. Boyanma şiddeti (0–3) ve yaygınlığı (0–4) esas alınarak immünreaktivite değerlendirilmiştir .

IFN- γ boyanması için ayrıca yarı-kantitatif bir yaklaşımla toplam İHK skoru hesaplandı (şiddet [0–3] + yaygınlık [0–4]). Bu yöntem, İHK’de yoğunluk ve kapsam bilgisini bileştirmeyi amaçladı. Bu çalışmada kullanılan immün skorlama ve toplam İHK skoru daha önce Li ve arkadaşlarının (2007) adrenal bez ve böbrek tümörlerinde IFN- γ ekspresyonunu inceledikleri çalışmada tarif ettikleri yöntemeye dayanmaktadır. (36)

Bunlara ek olarak; TCR γ/δ pozitif hücreler yalnızca intraepitelyal bölgede değil, stromada da değerlendirilmiştir; bu amaçla her olguda 1 BBA başına düşen boyanmış stromal lenfosit sayısı belirlenmiştir. Çalışmanın temel hedefi intraepitelyal immün yanıtı analiz etmektir. Ancak değerlendirme sırasında bazı olgularda epitelde belirgin $\gamma\delta$ T hücresi infiltrasyonu gözlenmemesi, immün hücrelerin stromal bölgeye lokalize olabileceği olasılığını düşündürdü. Bu nedenle,

stromal alanda da sayım yapılması yalnızca yardımcı ve açıklayıcı bir gözlem olarak eklendi. Bu analiz, mevcut etik kurul onayında belirtilen yöntemleri değiştirmemekte; sadece elde edilen immün dağılım yorumlayabilmek için yapılmış tamamlayıcı bir değerlendirmedir.

3.5 İstatistiksel Değerlendirme ve Veri Analizi

Veri IBM SPSS Statistics 25 © Copyright SPSS Inc. 1989, 2017 yazılımı kullanılarak analiz edilmiştir. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu örneklem sayısına bağlı olarak Shapiro Wilk ve Kolmogorov Smirnov testleri ile incelenmiştir. Çalışmada yer alan kategorik değişkenler frekans (n) ve yüzde (%) ile sürekli değişkenler ortalama±standart sapma (SS), medyan (IQR 25-75) ve minimum-maksimum değerleri ile sunulmuştur. Normal dağılım göstermeyen veride ve en az bir grupta örneklem sayısının 30'un altına düştüğü durumlarda non-parametrik testlere başvurulmuştur. Buna göre, bağımsız iki grup analizlerinde Mann-Whitney U Testi; bağımsız ikiden fazla grup analizlerinde Kruskal Wallis H Testi kullanılmıştır. Kruskal Wallis H testinin sonucuna göre, Dunn Testi ve Post-Hoc Bonferroni Düzeltmesi çalıştırılmıştır. Bağımsız kategorik değişkenlerin analizinde Pearson Ki-Kare Test, Fisher's Exact Test, Fisher's Freeman Halton Exact Test, Monte Carlo Exact Test ve Yates Düzeltmesi kullanılmıştır. Sürekli değişkenler arasındaki ilişki ise, veri normal dağılmadığından, Spearman Rho Korelasyon Analizi vasıtasıyla ortaya konmuştur. Derin İnvazyon, LVİ üzerinde anlamlı etkisi olan parametrelerde kesim noktası belirlemek için ROC (Receiver Operating Characteristic) analizi yapılmış ve analiz sonuçları Eğri Altında Kalan Alan (AUC), kesim (cut-off) noktaları, duyarlılık ve seçicilik değerleri ve %95 güven aralıkları ile sunulmuştur. Parametrelerin optimal kesim noktaları Youden indeks ile hesaplanmıştır. Çalışmada istatistiksel anlamlılık düzeyi 0,05 olarak kabul edilmiştir.

İmmün mikroçevredeki hücresel yoğunluk ve fonksiyonellik arasındaki ilişkinin belirlenmesi amacı ile analiz öncesinde aşağıdaki türetilmiş (kompozit) değişkenler önceden tanımlandı ve hesaplandı:

- **IFN- γ toplam İHK skoru** = Boyanma Şiddeti (0–3) + Boyanma Yaygınlığı (0–4) (36)
- **Kompozit İmmün Aktivasyon İndeksi-1 (KİAİ-1)** = İntraepitelyal CD8 / IFN- γ toplam skoru – sitotoksik T hücre infiltrasyonunun IFN- γ sitokin çıktısına göre oranı
- **Kompozit İmmün Aktivasyon İndeksi-2 (KİAİ-2)** = İntraepitelyal TCR $\gamma\delta$ / IFN- γ toplam skoru – $\gamma\delta$ T hücre varlığının aynı dokudaki IFN- γ sitokiniyle ilişkilendirilmesi

KİAİ-1 ve KİAİ-2 isimli oransal göstergeler, immün infiltrasyonu özetleyen Immunoscore (CD3/CD8 bileşimi) ve CD8/FOXP3 oranı gibi örneklerle uyumlu keşfetmeye yönelik olan metriklerdir (37).

4.BULGULAR

Çalışmada 4 temel tanı grubu bulunmaktadır. En fazla sayıda hastanın bulunduğu tanı grubu EEK grubudur (%58.6). malignite dışı küretaj ve AEH gruplarında yer alan hastaların oranı %14,7'dir. EİN grubunda ise hastaların %12'si yer almaktadır (Tablo 4.1).

Tablo 4.1 Tanı Grupları

Değişkenler (n=75)	Sayı (n)	Yüzde (%)
Tanı Grupları		
Malignite Dışı Küretaj	11	14.7
Atipisiz Endometriyal Hiperplazi	11	14.7
EİN	9	12.0
Endometriyal Karsinom	44	58.6

Hastaların yaşları 27 ile 76 arasındadır. Tüm hastaların %33.3'ünde Hipertansiyon, %21.3'ünde Diyabetes Mellitus ve %1.3'ünde Polikistik Over Sendromu tanısı bulunmaktadır.

Geçmişte tüm hastaların %4'ü Tamoksifen, %2.7'si ise Hormon Replasman Tedavisi almıştır.

EEK hastalarının %22.7'sinde eşlik eden EİN tespit edilmiştir. EEK hastalarının tamamı ikili dereceleme sistemine göre (Binary Grading) düşük derecelidir. EEK hastalarında miyometrium invazyonu görülmeyenlerin oranı %27.3'tür. 1/2'den az miyometrium invazyonu olan hastaların oranı %56.8 iken, geriye kalan hastalarda 1/2'den fazla miyometrium invazyonu izlenmiştir (Tablo 4.2). 3 hastada serviks invazyonu ve 3 hastada LVİ görülmüştür.

Tablo 4.2 Endometriyum Karsinomu Hastalarında Miyometrium İnvazyonu

Değişkenler (n=44)	Sayı (n)	Yüzde (%)
Miyometrium İnvazyonu		
Yok	12	27.3
1/2'den Az	25	56.8
1/2'den Fazla	7	15.9

EEK hastalarında 1 ile 75 mm. arasında değişen tümör boyutu ortalaması 26.4 ± 16.98 mm.dir (**Tablo 4.3**).

Tablo 4.3 Endometriyum Karsinomu Hastalarında Tümör Boyutu

Değişkenler (n=45)	Ort $\pm$ SS	Med(IQR)	Min-Max
Tümör Boyutu (mm)	26.4 ± 16.98	25(15-35)	1-75

EEK hastalarının %81.8'i Evresi 1A grubundadır. 1A grubundaki hastaların 12 tanesinin evresi 1A1 iken; 24 hasta evre 1A2'dir. Evre 1B grubunda olan EEK hastaları oranı %11.4 iken, Evre 2A'de yer alan hastaların oranı %6.8'dir. (**Tablo 4.4**).

Tablo 4.4 Endometriyum Karsinomu Hastalarında Evresine ait Bilgiler

Değişkenler (n=44)	Sayı (n)	Yüzde (%)
Evre		
1A	36	81.8
1B	5	11.4
2A	3	6.8

4.1. Tüm Vakalarda Analiz Sonuçları

Tüm vakalarda 1000 epitel hücresi başına düşen TCR γ/δ adet ve stromada TCR γ/δ hücre yoğunluğuna ilişkin istatistiki bilgiler **Tablo 4.1.1**'dedir. Epitelde TCR γ/δ hücre yoğunluğu kategorilerine bakıldığında, hastaların büyük oranda (%96) düşük hücre yoğunluğu (<3 immünpozitif lenfosit/BBA), grubunda yer aldıkları anlaşılmaktadır.

Tablo 4.1.1 Tüm Vakalarda TCR γ/δ Antikoruna İlişkin Değerlendirmeler

Değişkenler (n=75)	Ort±SS	Med(IQR)	Min-Max
TCR γ/δ - 1000 Epitel Hücresi Başına Düşen Adet	1.25±1.77	1(0-2)	0-11
TCR γ/δ - Stroma- (1BBA)	2.81±2.05	3(1-4)	0-10
	Sayı (n)	Yüzde (%)	
TCR γ/δ – Epitel Hücre Yoğunluğu			
Düşük (<3 immünpozitif lenfosit/BBA)	72	96.0	
Orta (3-10 immünpozitif lenfosit/BBA)	3	4.0	

Epitelde IFN- γ boyanma şiddeti ve IFN- γ boyanma yaygınlığı dağılımları **Tablo 4.1.2**'de görülmektedir. Hastaların %41.3'ünün boyanma şiddeti ve yaygınlığı negatif olarak izlenmiştir. IFN- γ boyanma şiddeti sonucunda orta kategorisinde yer alan hastaların oranı %26.7 iken, IFN- γ boyanma yaygınlığı sonucu %1 ile %25 arasında değişen değerler alan hastaların oranı ise %41.3 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.1.2 Tüm Vakalarda IFN- γ Antikoruna İlişkin Değerlendirmeler

Değişkenler (n=75)	Sayı (n)	Yüzde (%)
IFN- γ boyanma şiddeti		
Negatif	31	41.3
Düşük	12	16.0
Orta	20	26.7
Yüksek	12	16.0
IFN- γ boyanma yaygınlığı		
Negatif	31	41.3
1-25%	31	41.3
26-50%	7	9.3
51-75%	4	5.3
76-100%	2	2.7

Tablo 4.1.3'de CD3, CD4 ve CD8 parametrelerine ilişkin istatistiki bilgiler verilmiştir. Hastaların %42.7'sinin intraepitelyal CD3 ve CD8 hücre yoğunlukları orta; %98.7'sinin intraepitelyal CD4 hücre yoğunluğu düşük bulunmuştur.

Tablo 4.1.3 Tüm Vakalarda CD3, CD4 ve CD8 Bilgileri Antikorlarına İlişkin Değerlendirmeler

Değişkenler (n=75)	Ort±SS	Med(IQR)	Min-Max
CD3 - 1000 Epitel Hücresi Başına Düşen Adet	16.61±14.68	13(5-21)	1-60
CD4 - 1000 Epitel Hücresi Başına Düşen Adet	0.65±0.85	0(0-1)	0-3
CD8 - 1000 Epitel Hücresi Başına Düşen Adet	18.47±16.9	14(6-25)	1-88
	Sayı (n)	Yüzde (%)	
CD3 - Hücre Yoğunluğu			
Düşük	29	38.7	
Orta	32	42.7	
Yüksek	14	18.7	
CD4 - Hücre Yoğunluğu			
Düşük	74	98.7	
Orta	1	1.3	
CD8 - Hücre Yoğunluğu			
Düşük	25	33.3	
Orta	32	42.7	
Yüksek	18	24.0	

4.2. Tanı Gruplarına göre Analiz Sonuçları

Çalışmanın bu bölümünden itibaren tanı gruplarına göre yapılan karşılaştırmalı analiz sonuçlarına yer verilecektir. **Tablo 4.2.1'**de tanı anındaki yaş parametresi görülmektedir. Dunn Testi ve Post-Hoc Bonferroni Düzeltmesine göre; EEK hastalarının tanı anındaki yaşları diğer tanı gruplarının tamamına göre beklenildiği üzere anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,001$) (**Grafik 4.2.1**).

Tablo 4.2.1 Tanı Gruplarına Göre Tanı Anındaki Yaş

Değişkenler	Tanı Grupları				Test İstatistiği	p	Post-Hoc Analiz Sonuçları						
	Endometriyal Polip (n=11)	Atipisiz Endometriyal Hiperplazi (n=11)	EİN (n=9)	Endometriyal Karsinom (n=44)			p ¹⁻²	p ¹⁻³	p ¹⁻⁴	p ²⁻³	p ²⁻⁴	p ³⁻⁴	
Tanı Anındaki Yaş (Yıl)	43(38-51)	45(42-48)	45(33-48)	55(46.5-65.5)	21.051	<0,001	>0,999	>0,999	0,006	>0,999	0,015	0,017	

^kKruskal-Wallis H Test, Dunn Testi, Post-Hoc Bonferroni Düzeltmesi, *Med(IQR)*

Post-Hoc analiz sonuçlarının gösteriminde kullanılan rakamların karşılıkları şöyledir:

1: Endometriyal Polip

2: Atipisiz Endometriyal Hiperplazi

3: EİN

4: Endometriyal Karsinom

TCR γ/δ (p=0,024), CD3 (p=0,001) ve CD8 (p<0,001) tanı gruplarına göre anlamlı farklılıkların görüldüğü parametrelerdir (**Tablo 4.2.2**). Dunn Testi ve Post-Hoc Bonferroni Düzeltmesi, EİN tanı grubundaki hastaların 1000 Epitel Hücresi Başına Düşen TCR γ/δ değerinin EEK hastalarına göre anlamlı olarak yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Malignite dışı küretaj grubu hastalarının CD3 değerleri EEK hastalarına göre düşüktür. Ayrıca malignite dışı küretaj grubu hastalarının CD8 değerleri EİN ve EEK hastalarına göre anlamlı olarak düşüktür (**Grafik 4.2.2**).

Tablo 4.2.2 Tanı Gruplarına Göre TCR γ/δ , TCR γ/δ Stroma, CD3, CD4 ve CD8 Bilgileri (1000 Epitel Hücresi Başına Düşen Adet)

Değişkenler	Tanı Grupları				Test İstatistiği	p	Post-Hoc Analiz Sonuçları						
	Endometriyal Polip (n=11)	Atipisiz Endometriyal Hiperplazi (n=11)	EİN (n=9)	Endometriyal Karsinom (n=44)			p ¹⁻²	p ¹⁻³	p ¹⁻⁴	p ²⁻³	p ²⁻⁴	p ³⁻⁴	
TCR γ/δ	1(0-2)	1(0-1)	2(1-2)	1(0-1)	9.455	0,024	>0,999	0,402	>0,999	0,208	>0,999	0,013	
TCR γ/δ Stroma	2(1-3)	3(3-4)	3(2-3)	2(1-4)	3.634	0,304	-	-	-	-	-	-	
CD3	4(2-5)	6(3-18)	16(14-20)	14(9-31)	15.711	0,001	>0,999	0,063	0,003	0,568	0,122	>0,999	
CD4	0(0-1)	0(0-0)	1(0-2)	0(0-1)	4.659	0,198	-	-	-	-	-	-	
CD8	3(2-6)	10(5-15)	18(17-32)	16(10,5-32,5)	18.024	<0,001	0,553	0,007	0,001	0,594	0,449	>0,999	
TCR γ/δ /TCR γ/δ Stroma	0.29(0-1)	0.25(0-0.5)	0.67(0.33-1)	0.17(0-0.57)	5.316	0,150	-	-	-	-	-	-	

^kKruskal-Wallis H Test, Dunn Testi, Post-Hoc Bonferroni Düzeltmesi, *Med(IQR)*

Post-Hoc analiz sonuçlarının gösteriminde kullanılan rakamların karşılıkları şöyledir:

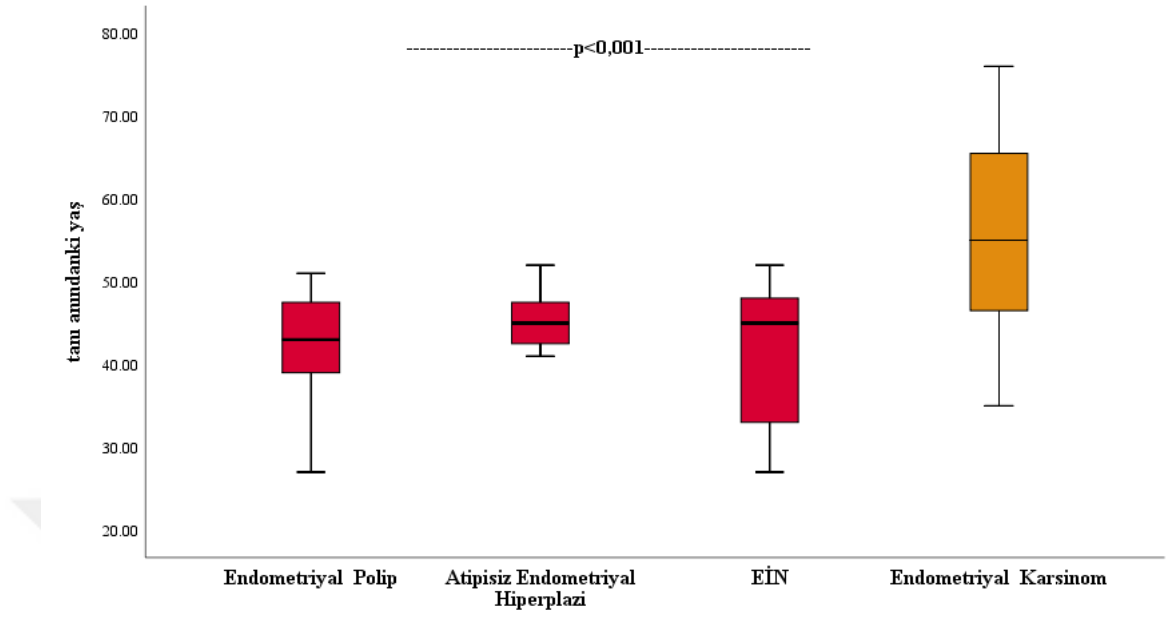
1: Endometriyal Polip

2: Atipisiz Endometriyal Hiperplazi

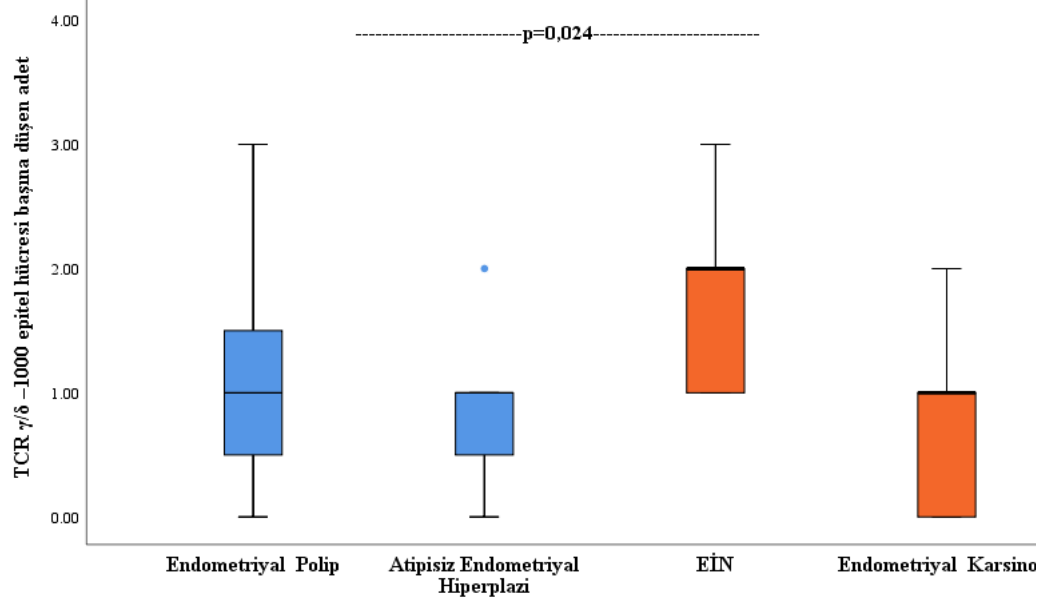
3: EİN

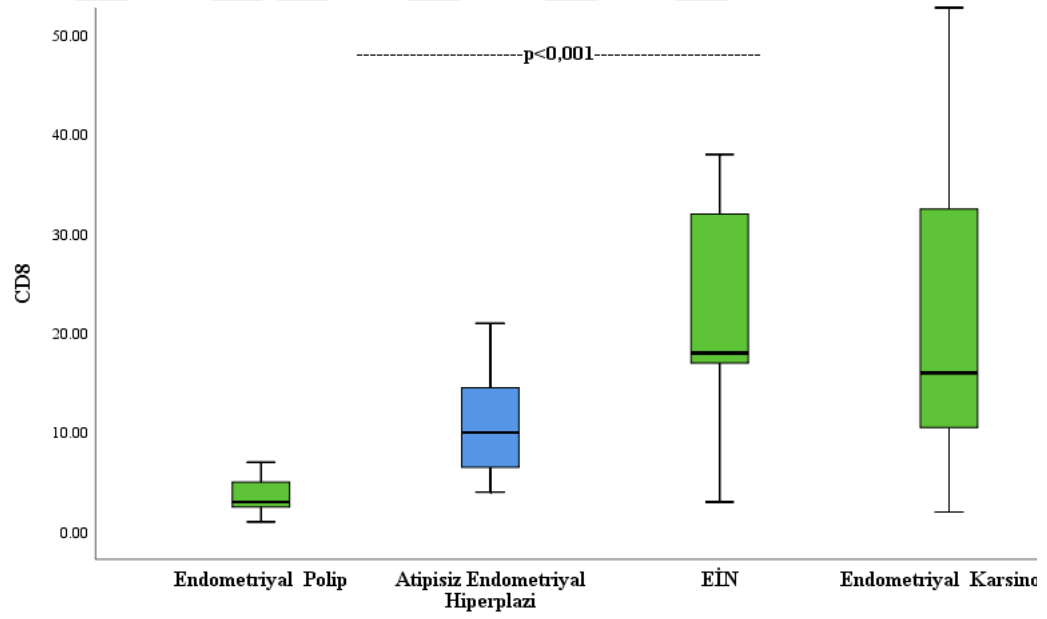
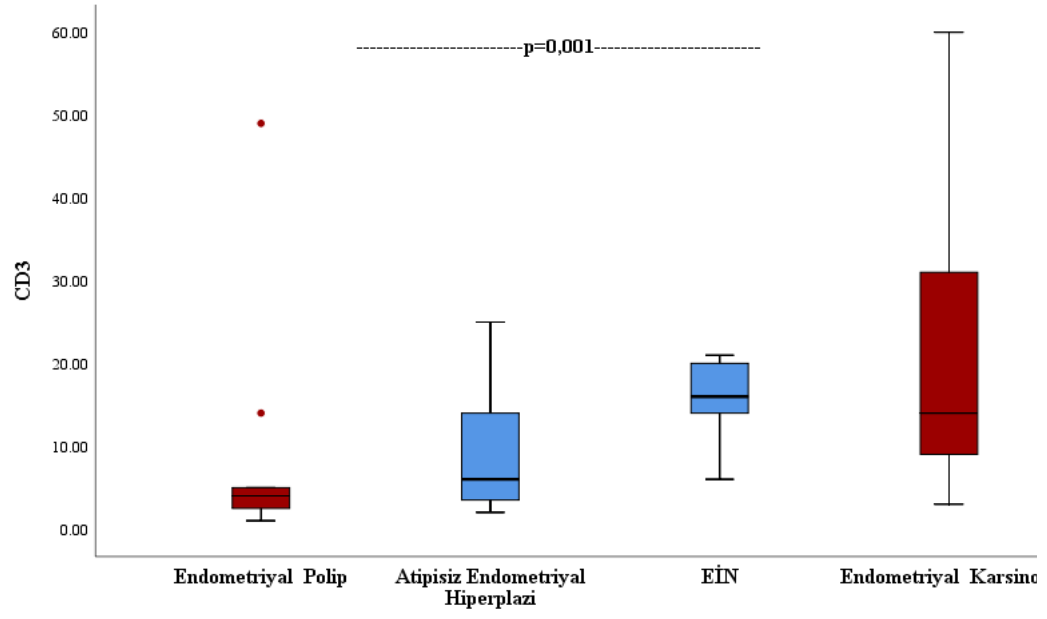
4: Endometriyal Karsinom

Grafik 4.2.1 Tanı Gruplarına Göre Tanı Anındaki Yaş



Grafik 4.2.2 Tanı Gruplarına Göre TCR γ/δ , CD3 ve CD8 Bilgileri





Ek hastalıklar içinde tanı gruplarına göre anlamlı farklılık gösteren tek hastalık hipertansiyon olmuştur ($p=0,003$; **Tablo 4.2.3**). Anlamlı farklılığın hangi tanı gruplarında olduğunu anlamak amacıyla yapılan Post-Hoc Bonferroni Düzeltmesine göre, EEK hastalarında hipertansiyon görülme sıklığı (%47,7), Malignite dışı küretaj hastalarına (%0) göre anlamlı olarak yüksektir.

Tablo 4.2.3 Tanı Gruplarına Göre Ek Hastalık Bilgileri

Değişkenler	Tanı Grupları				Test İstatistiği	P*
	Endometriyal Polip (n=11)	Atipisiz Endometriyal Hiperplazi (n=11)	EİN (n=9)	Endometriyal Karsinom (n=44)		
Diyabetes Mellitus					2.448	0,485
Yok	10(90.9)	10(90.9)	7(77.8)	32(72.7)		
Var	1(9.1)	1(9.1)	2(22.2)	12(27.3)		
Hipertansiyon					13.039	0,003
Yok	11(100) ^a	10(90.9) ^{a,b}	6(66.7) ^{a,b}	23(52.3) ^b		
Var	0(0) ^a	1(9.1) ^{a,b}	3(33.3) ^{a,b}	21(47.7) ^b		
Polikistik Over Sendromu					5.260	0,120
Yok	11(100)	11(100)	8(88.9)	44(100)		
Var	0(0)	0(0)	1(11.1)	0(0)		

*Pearson Ki-Kare Testi, Fisher's Freeman Halton Exact Test, Post Hoc Bonferroni Düzeltmesi, n(%).

Her bir üst simge harfi (^{a,b,c}) 0,05 anlamlılık düzeyinde birbirinden önemli ölçüde farklılık göstermeyen alt grupları ifade etmektedir.

Tamoksifen kullanımı ve hormon replasman tedavisi geçmişleri, tanı gruplarında istatistiksel açıdan benzer oranlardadır. ($p>0,05$; **Tablo 4.2.4**).

Tablo 4.2.4 Tanı Gruplarına Göre Tedavi Bilgileri

Değişkenler	Tanı Grupları				Test İstatistiği	P*
	Endometriyal Polip (n=11)	Atipisiz Endometriyal Hiperplazi (n=11)	EİN (n=9)	Endometriyal Karsinom (n=44)		
Tamoksifen Kullanımı					2.886	0,370
Yok	10(90.9)	10(90.9)	9(100)	43(97.7)		
Var	1(9.1)	1(9.1)	0(0)	1(2.3)		
Hormon Replasman Tedavisi					2.473	0,659
Yok	11(100)	10(90.9)	9(100)	43(97.7)		
Var	0(0)	1(9.1)	0(0)	1(2.3)		

*Pearson Ki-Kare Testi, Fisher's Freeman Halton Exact Test, n(%).

İntraepitelyal hücre yoğunluğu parametreleri arasında tanı gruplarına göre anlamlı farklılıkların tespit edildiği değişkenler CD3 ($p=0,044$) ve CD8'dir ($p=0,001$). İleri

analiz, endometriyal polip grubu hastaların CD3 hücre yoğunluğunun “düşük” olma sıklığının (%72,7), EEK hastalarına (%27,3) göre anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür. CD3 hücre yoğunluğunun diğer kategorilerinde ise (orta ve yüksek) tanı grupları benzer oranlardadır. Endometrial polip grubundaki olguların CD8 hücre yoğunluğu düşük düzeyde olan olguların oranı, diğer üç tanı grubuna göre anlamlı düzeyde yüksektir. CD8 hücre yoğunluğu orta düzeyde olan olguların oranı, AEH grubunda endometrial polip grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek saptanmıştır(Tablo 4.2.5)

Tablo 4.2.5 Tanı Gruplarına Göre Epitelde TCR γ/δ , CD3, CD4 ve CD8 Hücre Yoğunluğu

Değişkenler	Tanı Grupları				Test İstatistiği	p*
	Endometriyal Polip (n=11)	Atipisiz Endometriyal Hiperplazi (n=11)	EİN (n=9)	Endometriyal Karsinom (n=44)		
TCR γ/δ - Hücre Yoğunluğu					1.067	>0,999
Düşük	11(100)	11(100)	9(100)	41(93.2)		
Orta	0(0)	0(0)	0(0)	3(6.8)		
CD3 - Hücre Yoğunluğu					12.104	0,044
Düşük	8(72.7) ^a	7(63.6) ^{a,b}	2(22.2) ^{a,b}	12(27.3) ^b		
Orta	2(18.2) ^a	4(36.4) ^a	5(55.6) ^a	21(47.7) ^a		
Yüksek	1(9.1) ^a	0(0) ^a	2(22.2) ^a	11(25) ^a		
CD4 - Hücre Yoğunluğu					2.086	>0,999
Düşük	11(100)	11(100)	9(100)	43(97.7)		
Orta	0(0)	0(0)	0(0)	1(2.3)		
CD8 - Hücre Yoğunluğu					22.820	0,001
Düşük	10(90.9) ^a	4(36.4) ^b	2(22.2) ^b	9(20.5) ^b		
Orta	1(9.1) ^a	7(63.6) ^b	4(44.4) ^{a,b}	20(45.5) ^{a,b}		
Yüksek	0(0) ^a	0(0) ^a	3(33.3) ^a	15(34.1) ^a		

*Pearson Ki-Kare Testi, Monte Carlo Exact Test, Post Hoc Bonferroni Düzeltmesi, n(%).

Her bir üst simge harfi (^{a,b,c}) 0,05 anlamlılık düzeyinde birbirinden önemli ölçüde farklılık göstermeyen alt grupları ifade etmektedir.

Tanı gruplarına göre anlamlı farklılığın görülmediği bir diğer parametre grubu IFN- γ değişkenleridir. İHK Toplam Skoru (p=0,296), IFN- γ boyanma şiddeti kategorileri (p=0,516) ve IFN- γ boyanma yaygınlığı kategorileri (p=0,761) tanı gruplarında istatistiki açıdan benzer değer ve oranlar almıştır. Tabloda ayrıca, değişkenler arasında doğrusal bir ilişkinin olup olmadığına ilişkin yapılan analiz sonuçları, tanı grupları arasında IFN- γ boyanma şiddeti (p=0,371) ve IFN- γ

boyanma yaygınlığı ($p=0,196$) oranlarında anlamlı bir doğrusal artış ya da azalışın olmadığını ortaya koymuştur. (Tablo 4.2.6)

Tablo 4.2.6 Tanı Gruplarına Göre IFN- γ Bilgileri

Değişkenler	Tanı Grupları				Test İstatistiği	P
	Endometriyal Polip (n=11)	Atipisiz Endometriyal Hiperplazi (n=11)	EİN (n=9)	Endometriyal Karsinom (n=44)		
İHK Toplam Skoru	2(0-4)	0(0-3)	3(2-3)	2.5(0-4)	3.700	0,296 ^k
IFN- γ Boyanma Şiddeti					8.073	0,516*
Negatif	4(36.4)	7(63.6)	2(22.2)	18(40.9)		
Düşük	2(18.2)	1(9.1)	3(33.3)	6(13.6)		
Orta	4(36.4)	3(27.3)	3(33.3)	10(22.7)		
Yüksek	1(9.1)	0(0)	1(11.1)	10(22.7)		
Linear-by-Linear Association		Test İstatistiği: 0.800	$p^{**}=0,371$			
IFN- γ Boyanma Yaygınlığı					8.062	0,761*
Negatif	4(36.4)	7(63.6)	2(22.2)	18(40.9)		
1-25%	5(45.5)	4(36.4)	6(66.7)	16(36.4)		
26-50%	2(18.2)	0(0)	1(11.1)	4(9.1)		
51-75%	0(0)	0(0)	0(0)	4(9.1)		
76-100%	0(0)	0(0)	0(0)	2(4.5)		
Linear-by-Linear Association		Test İstatistiği: 1.671	$p^{**}=0,196$			

^kKruskal-Wallis H Test, *Med(IQR)*

*Pearson Ki-Kare Testi, Monte Carlo Exact Test, $n(\%)$.

**Linear-by-Linear Association

Tanı gruplarına göre TCR $\gamma/\delta/CD3$ oranı ($p=0,034$), Kompozit İmmün Aktivasyon İndeksi-I ($p=0,024$) ve Kompozit İmmün Aktivasyon İndeksi-II ($p=0,007$) değerlerinde istatistiksel açıdan anlamlı farklılıklar saptanmıştır **Tablo 4.2.7**Yapılan Dunn Testi ve Post-Hoc Bonferroni Düzeltmesi sonucunda, TCR $\gamma/\delta/CD3$ oranında görülen anlamlılık kaybolmuştur. Kompozit İmmün Aktivasyon İndeksi-I değeri EEK hastalarında AEH hastalarına göre; Kompozit İmmün Aktivasyon İndeksi-II değeri ise EİN hasta grubunda EEK hastalarına göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (**Grafik 4.3**).

Tablo 4.2.7 Tanı Gruplarına Göre Oranlar

Değişkenler	n ₁ /n ₂ /n ₃ /n ₄	Tanı Grupları				Test İstatistiği	p	Post-Hoc Analiz Sonuçları					
		Endometriyal Polip	Atipisiz Endometriyal Hiperplazi	EİN (n=9)	Endometriyal Karsinom			p ¹⁻²	p ¹⁻³	p ¹⁻⁴	p ²⁻³	p ²⁻⁴	p ³⁻⁴
CD8/CD4	5/2/6/20	4(3-6)	11.5(6-17)	16.5(8.5-19)	14(8.75-17.25)	7.293	0,063 ^k	-	-	-	-	-	-
CD8/CD3	11/11/9/44	1(0.55-1)	1(0.83-2.4)	1.29(0.85-1.6)	1.24(0.67-1.68)	3.252	0,354 ^k	-	-	-	-	-	-
TCR γ/δ/CD3	11/11/9/44	0.25(0-0.5)	0.11(0-0.33)	0.1(0.05-0.21)	0.03(0-0.12)	8.661	0,034^k	>0,999	>0,999	0,164	>0,999	0,940	0,174
Kompozit İmmün Aktivasyon İndeksi-I	11/11/9/44	0(-0.94-0.23)	-0.67(-0.82-0)	-0.02(-0.23-0.33)	0.19(-0.49-0.72)	9.430	0,024^k	>0,999	>0,999	0,413	0,281	0,042	>0,999
Kompozit İmmün Aktivasyon İndeksi-II	11/11/9/44	0.33(0.25-0.5)	0.17(0-0.42)	0.67(0.5-1)	0.15(0-0.33)	12.216	0,007^k	>0,999	0,851	0,815	0,146	>0,999	0,005
IFN-γ Şiddet	11/11/9/44					1.300	0,730						
Düşük		6(54.5)	8(72.7)	5(55.6)	24(54.5)								
Yüksek		5(45.5)	3(27.3)	4(44.4)	20(45.5)								
IFN-γ Yaygınlık	11/11/9/44					3.126	0,389						
≤25		9(81.8)	11(100)	8(88.9)	34(77.3)								
>25		2(18.2)	0(0)	1(11.1)	10(22.7)								

^kKruskal-Wallis H Test, Dunn Testi, Post-Hoc Bonferroni Düzeltmesi, *Med(IQR)*

Post-Hoc analiz sonuçlarının gösteriminde kullanılan rakamların karşılıkları şöyledir:

1: Endometriyal Polip

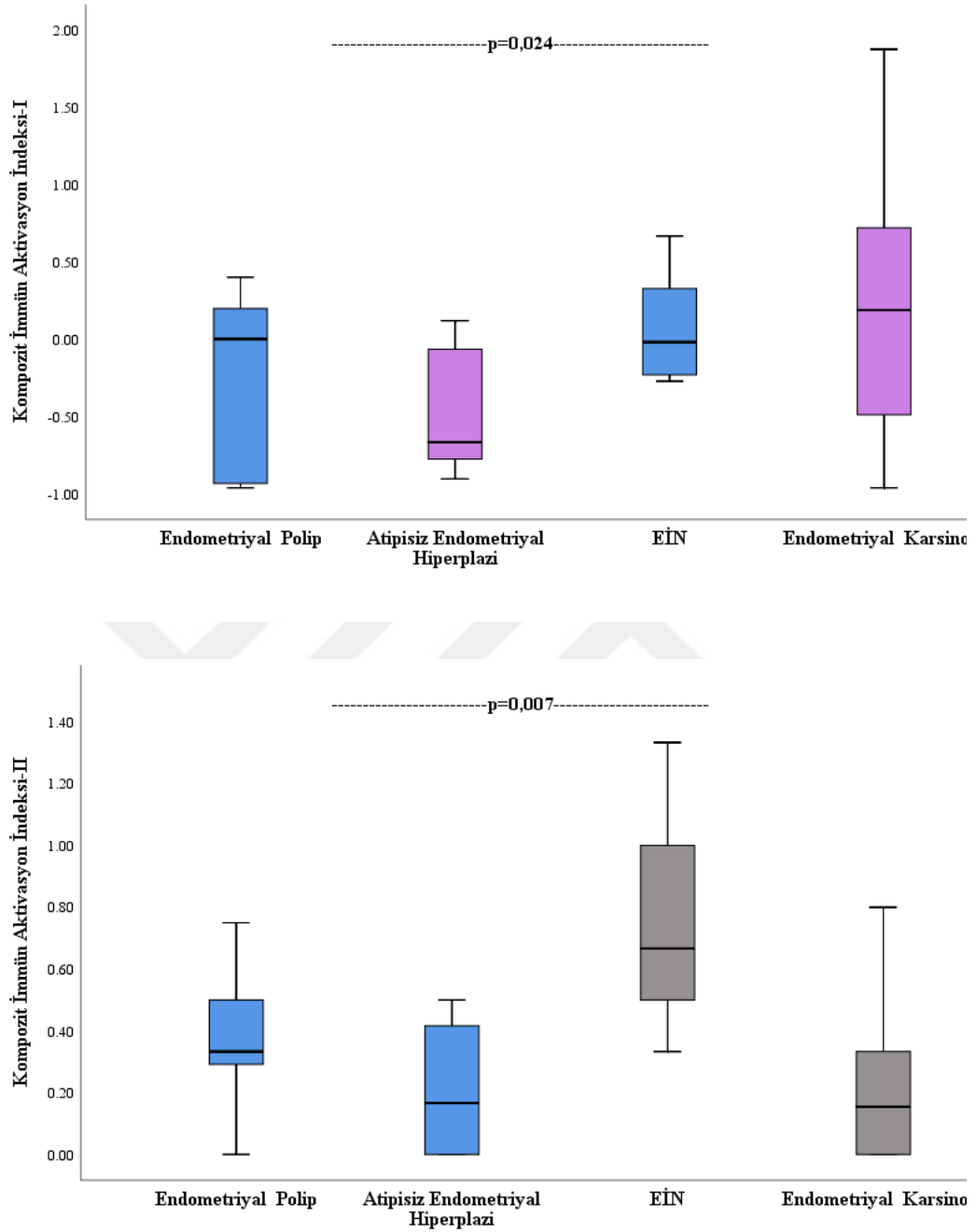
2: Atipisiz Endometriyal Hiperplazi

3: EİN

4: Endometriyal Karsinom

*Pearson Ki-Kare Testi, Fisher's Freeman Halton Exact Test, *n(%)*.

Grafik 4.2.3 Tanı Gruplarına Göre Kompozit İmmün Aktivasyon İndeksi Değerleri



Tablo 4.2.8 'de Tanı Anındaki Yaş ile bazı parametreler arasındaki korelasyon analizlerinin sonuçları sunulmuştur. Analiz sonuçlarında belirtilen “r” değeri korelasyon katsayısıdır. Korelasyon katsayısı -1 ile +1 arasında değer alır. Buradaki +1 pozitif tam ilişki, -1 ise negatif yönlü tam ilişkiyi işaret eder. Korelasyon katsayısı sıfıra yaklaştıkça ilişkinin kuvvetinin zayıf olduğu, -1 veya +1’e

yaklaştığında ise ilişkinin kuvvetlendiği bilinmektedir. Buna göre $r=0,00$ “ilişki yok”, $r=0,01-0,29$ “düşük düzeyde ilişki”, $r=0,30-0,70$ “orta düzeyde ilişki”, $r=0,71-0,99$ “yüksek düzeyde ilişki” ve $r=1,00$ “mükemmel ilişki” olarak yorumlanır. Burada bahsedilen pozitif yönlü ilişki, ilişkinin direkt ve doğrusal olduğu anlamına gelmektedir. Başka bir ifadeyle değişkenler birlikte artıyor veya azalıyorsa, burada pozitif yönlü bir ilişkiden bahsetmek mümkündür. İlişkinin negatif yönde olması ise, ters yönlü bir ilişkiyi ifade etmektedir. Aralarındaki hareket farklı yönlerde olan değişkenlerden birisinin değeri artarken, diğerinin değerinin düşmektedir.

Tüm hastaların (alt gruplara ayrılmadan) tanı anındaki yaşları ile **Tablo 4.2.8**’de görülen parametreler arasında istatistiki açıdan anlamlı herhangi bir ilişki bulunmamaktadır. Burada immün olarak yaşlanmanın (immün senesans) intraepitelyal immün hücre dağılımı üzerindeki etkilerini incelenmek amaçlanmıştır.

Tablo 4.2.8.. Yaş ile Bazı Parametreler Arasındaki Korelasyon Analizi

		TCR γ/δ	Stroma	CD3	CD4	CD8
Tanı Anındaki Yaş (Yıl)	r	-0.225	-0.091	0.083	-0.106	0.142
	p	0.052	0.44	0.477	0.367	0.224

^sSpearman Rho Korelasyon Analizi

4.3. Endometrial Karsinom Vakalarına ait Analiz Sonuçları

Çalışmanın bu bölümünde ise yalnızca EEK hastaları dikkate alınarak yapılan analiz sonuçlarına yer verilmiştir. EEK hastalarında miyometrium invazyonu kategorilerine göre 1000 epitel hücresi başına düşen TCR γ/δ ($p=0,046$) ve TCR γ/δ Stroma ($p=0,044$) parametrelerinde anlamlı farklılıklar saptanmıştır (**tablo 4.3.1**). Ancak yapılan ileri analiz sonucunda TCR γ/δ Stroma parametresindeki anlamlılık kaybolmuştur. 1000 epitel hücresi başına düşen TCR γ/δ parametresinde ise miyometrium invazyonu olmayan EEK hastalarının aldığı değerlerin, miyometrium İnvazyonu 1/2’den fazla olan EEK hastalarının aldığı değerlere göre anlamlı olarak yüksek olduğu anlaşılmıştır . İnvazyonun artışı ile birlikte intraepitelyal TCR γ/δ

hücre parametresinde azalma izlenmiştir. EEK hastalarında miyometrium invazyonu kategorilerine göre anlamlı farklılığın görüldüğü bir diğer parametre IFN- γ yaygınlığıdır ($p=0,008$). Post-Hoc Bonferroni Düzeltmesi, miyometrium invazyonu 1/2'den az olan EEK hastalarının IFN- γ yaygınlık oranlarının %1 ile %25 arasında olma sıklığının (%56), miyometrium invazyonu görülmeyen EEK hastalarının IFN- γ yaygınlığı oranlarının %1 ile %25 arasında olma sıklığına (%8,3) göre anlamlı olarak yüksek olduğunu göstermiştir.

Tablo 4.3.1. Endometriyal Karsinom Hastalarında Miyometrium İnvazyonuna Göre Bazı Parametreler

Değişkenler	Miyometrium İnvazyonu			Test İstatistiği	p	Post-Hoc Analiz Sonuçları		
	Yok (n=12)	1/2'den Az (n=25)	1/2'den Fazla (n=7)			p ¹⁻²	p ¹⁻³	p ²⁻³
TCR γ/δ	1(0.5-1.5)	1(0-1)	0(0-0)	6.170	0,046^k	>0,999	0,041	0,151
TCR γ/δ Stroma	3(0.5-6.5)	2(2-4)	1(0-2)	6.260	0,044^k	>0,999	0,067	0,059
CD3	10(7-27.5)	17(12-33)	10(8-21)	2.379	0,304 ^k	-	-	-
CD4	0.5(0-1.5)	0(0-1)	1(0-2)	0,863	0,649 ^k	-	-	-
CD8	17.5(8-37)	16(13-31)	17(10-35)	0,032	0,984 ^k	-	-	-
İHK Toplam Skoru	0(0-3.5)	3(0-3)	4(0-5)	2.059	0,357 ^k	-	-	-
IFN- γ şiddeti				7.847	0,214 ^a			
Negatif	8(66.7)	7(28)	3(42.9)					
Düşük	1(8.3)	4(16)	1(14.3)					
Orta	2(16.7)	8(32)	0(0)					
Yüksek	1(8.3)	6(24)	3(42.9)					
IFN- γ yaygınlığı				16.560	0,008^a			
Negatif	8(66.7) ^a	7(28) ^a	3(42.9) ^a					
1-25%	1(8.3) ^a	14(56) ^b	1(14.3) ^{a,b}					
26-50%	0(0) ^a	2(8) ^a	2(28.6) ^a					
51-75%	2(16.7) ^a	2(8) ^a	0(0) ^a					
76-100%	1(8.3) ^a	0(0) ^a	1(14.3) ^a					

^kKruskal-Wallis H Test, Dunn Testi, Post-Hoc Bonferroni Düzeltmesi, *Med(IQR)*

Post-Hoc analiz sonuçlarının gösteriminde kullanılan rakamların karşılıkları şöyledir:

1: Yok

2: 1/2'den Az

3: 1/2'den Fazla

^aPearson Ki-Kare Testi, Fisher's Freeman Halton Test, Post Hoc Bonferroni Düzeltmesi, *n(%)*.

Her bir üst simge harfi (^{a,b,c}) 0,05 anlamlılık düzeyinde birbirinden önemli ölçüde farklılık göstermeyen alt grupları ifade etmektedir.

LVİ varlığında ise İHK Toplam Skoru ($p=0,008$), IFN- γ boyanma şiddeti kategorileri ($p=0,020$) ve IFN- γ boyanma yaygınlığı kategorileri ($p=0,009$) anlamlı farklılıklar göstermiştir (**Tablo 4.17**). LVİ görülen EEK hastalarının İHK Toplam Skorları, invazyon görülmeyen EEK hastalarına göre anlamlı olarak yüksektir (**Grafik 4.5**). IFN- γ boyanma şiddeti ve IFN- γ boyanma yaygınlığı parametrelerinde anlamlı farklılığın hangi alt kategorilerde olduğunu anlamak amacıyla Post-Hoc Bonferroni Düzeltmesi uygulanmıştır. Buna göre, LVİ görülen

EEK hastalarında, invazyon görülmeyenlere göre, IFN- γ boyanma şiddeti düzeyinin orta olması ve IFN- γ boyanma yaygınlığı düzeyinin %26 ile %50 arasında olması sıklıkları anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Tablo 4.3.2 Endometriyal Karsinom Hastalarında Lenfovasküler İnvazyonu Varlığına Göre Bazı Parametreler

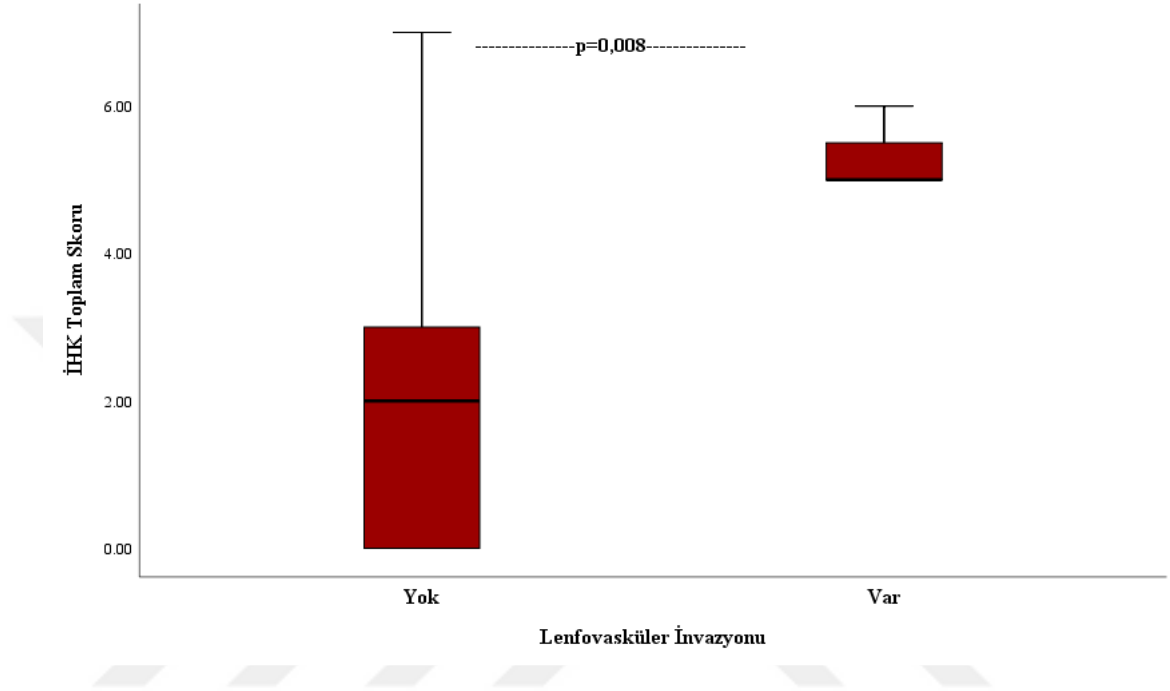
Değişkenler	Lenfovasküler İnvazyonu		Test İstatistiği	P
	Yok (n=41)	Var (n=3)		
TCR γ/δ	1(0-1)	0(0-1)	-0.926	0,421 ^u
TCR γ/δ Stroma	2(1-4)	2(0-2)	-1.086	0,299 ^u
CD3	14(9-29)	21(9-41)	-0.559	0,596 ^u
CD4	0(0-1)	0(0-2)	-0.180	0,895 ^u
CD8	16(11-31)	35(3-67)	-0.699	0,505 ^u
IFN- γ İHK	2(0-3)	5(5-6)	-2.525	0,008^u
Toplam Skoru				
IFN- γ Boyanma Şiddeti			6.659	0,020[*]
Negatif	18(43.9) ^a	0(0) ^a		
Düşük	6(14.6) ^a	0(0) ^a		
Orta	10(24.4) ^a	0(0) ^a		
Yüksek	7(17.1) ^a	3(100) ^b		
IFN- γ Boyanma Yaygınlığı			10.955	0,009[*]
Negatif	18(43.9) ^a	0(0) ^a		
1-25%	16(39) ^a	0(0) ^a		
26-50%	2(4.9) ^a	2(66.7) ^b		
51-75%	3(7.3) ^a	1(33.3) ^a		
76-100%	2(4.9) ^a	0(0) ^a		

^uMann-Whitney U Test, *Med(IQR)*

^{*}Pearson Ki-Kare Testi, Fisher's Freeman Halton Test, Post Hoc Bonferroni Düzeltmesi, *n(%)*.

Her bir üst simge harfi (^{a,b,c}) 0,05 anlamlılık düzeyinde birbirinden önemli ölçüde farklılık göstermeyen alt grupları ifade etmektedir.

Grafik 4.3.1. Endometriyal Karsinom Hastalarında Lenfovasküler İnvazyonu Varlığına Göre IFN- γ İHK Toplam Skoru



Endometriyal Karsinom hastalarında Tümör Boyutu ile **Tablo 4.3.3.**'de yer alan parametreler arasında istatistiki açıdan anlamlı herhangi bir ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4.3.3. Endometriyal Karsinom Hastalarında Tümör Boyutu ile Bazı Parametreler Arasındaki Korelasyon Analizi

		TCR	Stroma	CD3	CD4	CD8
		γ/δ				
Tümör Boyutu (mm)	r	-0.125	-0.153	-0.071	-0.005	0.073
	p	0.426	0.327	0.65	0.975	0.64

^sSpearman Rho Korelasyon Analizi

Tablo 4.3.4. ve **Tablo 4.3.5**'te sırasıyla Derin İnvazyon varlığı, LVİ varlığında anlamlı etkisi olabilecek parametreler için cut-off değerlerini belirlemek amacıyla yapılan ROC analizi sonuçları yer almaktadır. Tabloda yer alan Sensitivite, bir testin gerçek hastaları bulma yeteneğidir. Başka bir ifadeyle gerçek pozitif oranıdır.

Spesifite ise, gerçek hasta olmayanları (sağlıklıları) bulma yeteneği (gerçek negatif oran) olarak kabul edilmektedir.

Derin İnvazyon varlığı ve LVİ varlığı üzerinde ayırt edici nitelikte olan herhangi bir faktör belirlenmemiştir.

Tablo 4.3.4. Derin İnvazyon için ROC Analizi Sonuçları

Değişkenler	AUC (%95 GA)	p ^R	Cut-off value	Sensitivite (%)	Spesifite (%)
TCR γ/δ	0.641	0.155	≤ 0.5	53.1	75.0
TCR γ/δ Stroma	0.589	0,370	≤ 4.5	87.5	41.7
CD3	0.586	0,385	≥ 10.5	71.9	58.3
CD4	0.543	0,664	≤ 0.5	56.3	50.0
CD8	0.507	0,947	≥ 5.5	90.6	25.0

^RRoc Analizi

Tablo 4.3.5. Lenfovasküler İnvazyonu için ROC Analizi Sonuçları

Değişkenler	AUC (%95 GA)	p ^R	Cut-off value	Sensitivite (%)	Spesifite (%)
TCR γ/δ	0.650	0,389	≤ 0.5	66.7	56.1
TCR γ/δ Stroma	0.687	0,284	≤ 2.5	100.0	46.3
CD3	0.598	0,576	≥ 20	66.7	65.9
CD4	0.528	0,871	≤ 0.5	66.7	46.3
CD8	0.622	0,485	≥ 34	66.7	80.5

^RRoc Analizi

4.4. Tümör Durumuna göre Analiz Sonuçları

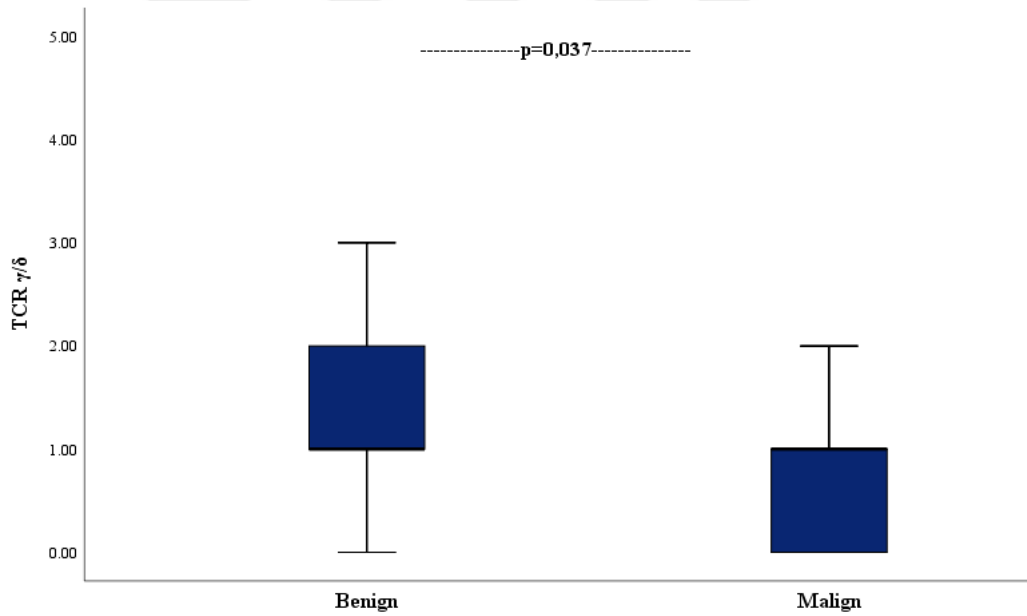
Çalışmanın son bölümünde, tümör durumuna göre benign ve malign gruplarda yer alan hastalara ilişkin yapılan analiz sonuçlarına yer verilmiştir. Tümör içermeyen gruplar, EEK dışı, benign grup olarak bir arada toplanmıştır (n=31). **Tablo 4.4.1.**'de görülen analiz sonuçları, TCR γ/δ (p=0,037), CD3 (p=0,003) ve CD8 (p=0,006) parametrelerinde tümör durumuna göre anlamlı farklılıkların olduğunu ortaya koymuştur. Benign grupta TCR γ/δ ; malign tümör grubunda ise CD3 ve CD8 değerleri anlamlı olarak yüksektir (**Grafik 4.4.1**).

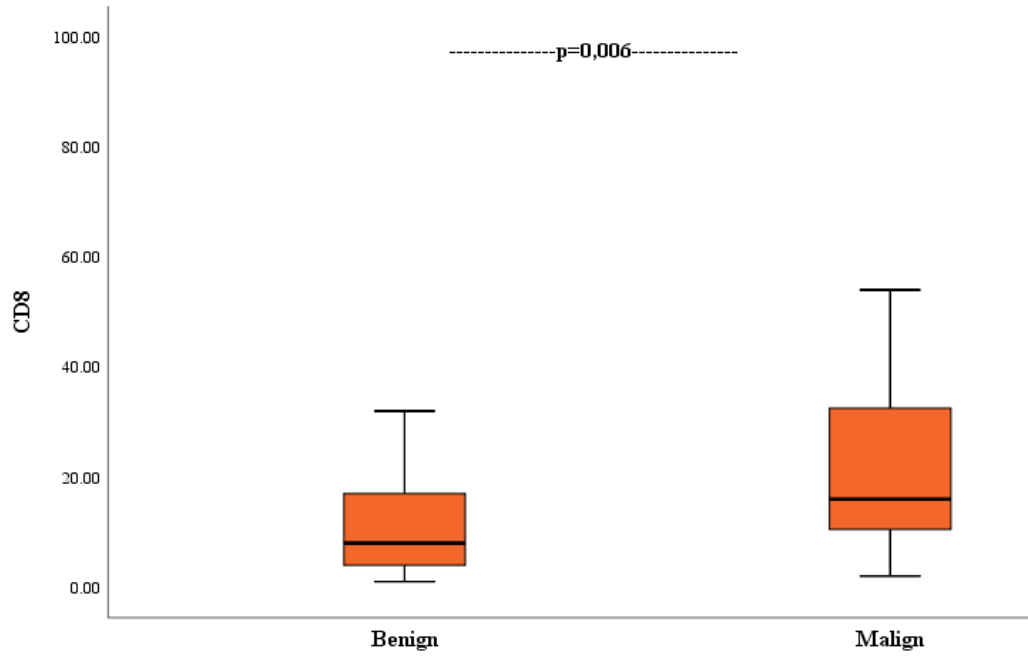
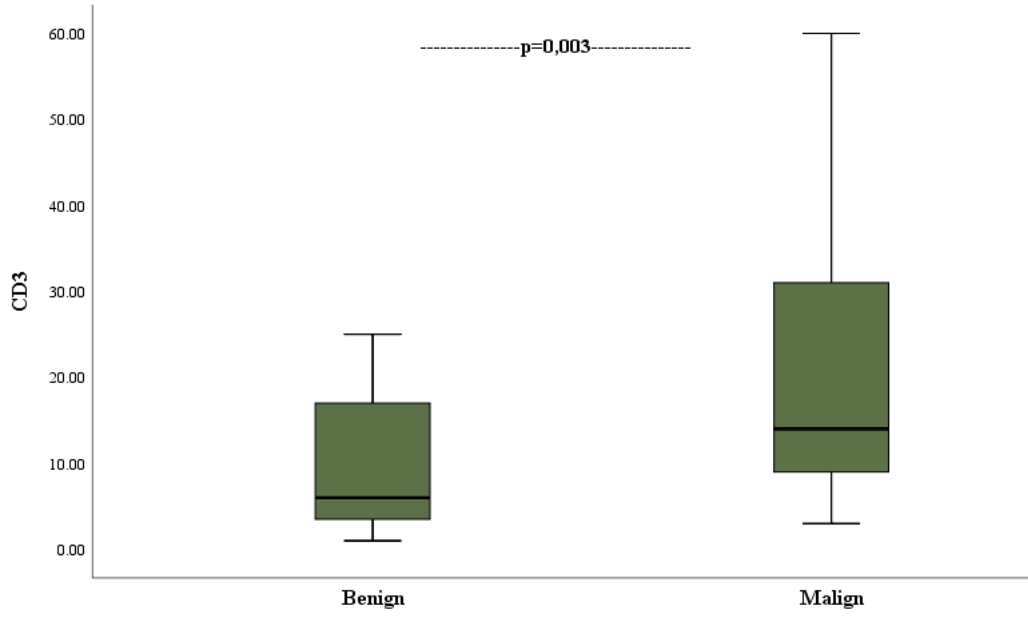
Tablo 4.4.1 Tümör Durumuna Göre TCR γ/δ , Stroma, CD3, CD4 ve CD8 Bilgileri (1000 Epitel Hücresi Başına Düşen Adet)

Değişkenler	Tümör Durumu		Test İstatistiği	p ^u
	Benign (n=31)	Malign (n=44)		
TCR γ/δ	1(1-2)	1(0-1)	-2.086	0,037
TCR γ/δ Stroma	3(2-4)	2(1-4)	-1.088	0,277
CD3	6(3-18)	14(9-31)	-3.011	0,003
CD4	0(0-1)	0(0-1)	-0.450	0,653
CD8	8(4-17)	16(10.5-32.5)	-2.730	0,006
TCR γ/δ /Stroma	0.33(0.2-1)	0.17(0-0.57)	-1.329	0,184

^uMann-Whitney U Test, Med(IQR)

Grafik 4.4.1. Tümör Durumuna Göre TCR γ/δ , CD3 ve CD8 (1000 Epitel Hücresi Başına Düşen Adet)





CD3 hücre yoğunluğu ($p=0,039$) ve CD8 hücre yoğunluğu ($p=0,007$) parametreleri tümör durumuna göre anlamlı farklılığın görüldüğü parametrelerdir (**Tablo 4.4.2.**). Post-Hoc Bonferroni Düzeltmesi, CD3 ve CD8 hücre yoğunluğu düşük olan hastaların benign grupta daha çoktur. CD8 hücre yoğunluğu yüksek olan hastaların ise malign tümör grubunda anlamlı olarak yüksek olduğunu göstermiştir.

Tablo 4.4.2.Tümör Durumuna Göre TCR γ/δ , CD3, CD4 ve CD8 Hücre Yoğunluğu

Değişkenler	Tümör Durumu		Test İstatistiği	p*
	Benign (n=31)	Malign (n=44)		
TCR γ/δ - Hücre Yoğunluğu			2.202	0,263
Düşük	31(100)	41(93.2)		
Orta	0(0)	3(6.8)		
CD3 - Hücre Yoğunluğu			6.500	0,039
Düşük	17(54.8) ^a	12(27.3) ^b		
Orta	11(35.5) ^a	21(47.7) ^a		
Yüksek	3(9.7) ^a	11(25) ^a		
CD4 - Hücre Yoğunluğu			0.714	>0,999
Düşük	31(100)	43(97.7)		
Orta	0(0)	1(2.3)		
CD8 - Hücre Yoğunluğu			10.007	0,007
Düşük	16(51.6) ^a	9(20.5) ^b		
Orta	12(38.7) ^a	20(45.5) ^a		
Yüksek	3(9.7) ^a	15(34.1) ^b		

*Pearson Ki-Kare Testi, Fisher's Exact Test, Post Hoc Bonferroni Düzeltmesi, n(%).

Her bir üst simge harf (a,b,c) 0,05 anlamlılık düzeyinde birbirinden önemli ölçüde farklılık göstermeyen alt grupları ifade etmektedir.

IFN- γ şiddet (p=0,264), IFN- γ yaygınlık (p=0,362) ve İHK Toplam Skoru (p=0,287) parametreleri benign ve malign grubu hastalarında istatistiksel olarak benzer değer ve oranlar almıştır (**Tablo 4.4.3**).

Tablo 4.4.3. Tümör Durumuna Göre IFN- γ Bilgileri

Değişkenler	Tümör Durumu		Test İstatistiği	p
	Benign (n=31)	Malign (n=44)		
IFN- γ Boyama Şiddeti			4.037	0,264*
Negatif	13(41.9)	18(40.9)		
Düşük	6(19.4)	6(13.6)		
Orta	10(32.3)	10(22.7)		
Yüksek	2(6.5)	10(22.7)		
IFN- γ Boyanma Yaygınlığı			4.260	0,362*
Negatif	13(41.9)	18(40.9)		
1-25%	15(48.4)	16(36.4)		
26-50%	3(9.7)	4(9.1)		
51-75%	0(0)	4(9.1)		
76-100%	0(0)	2(4.5)		
İHK Toplam Skoru	2(0-3)	2.5(0-4)	-1.065	0,287 ^u

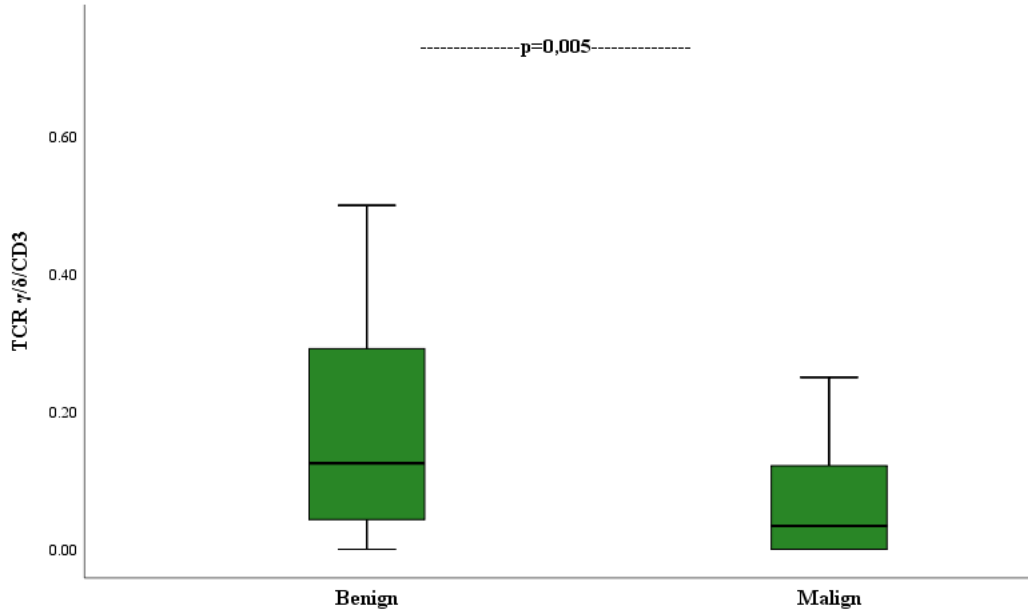
*Pearson Ki-Kare Testi, Fisher's Freeman Halton Exact Test, *n*(%).

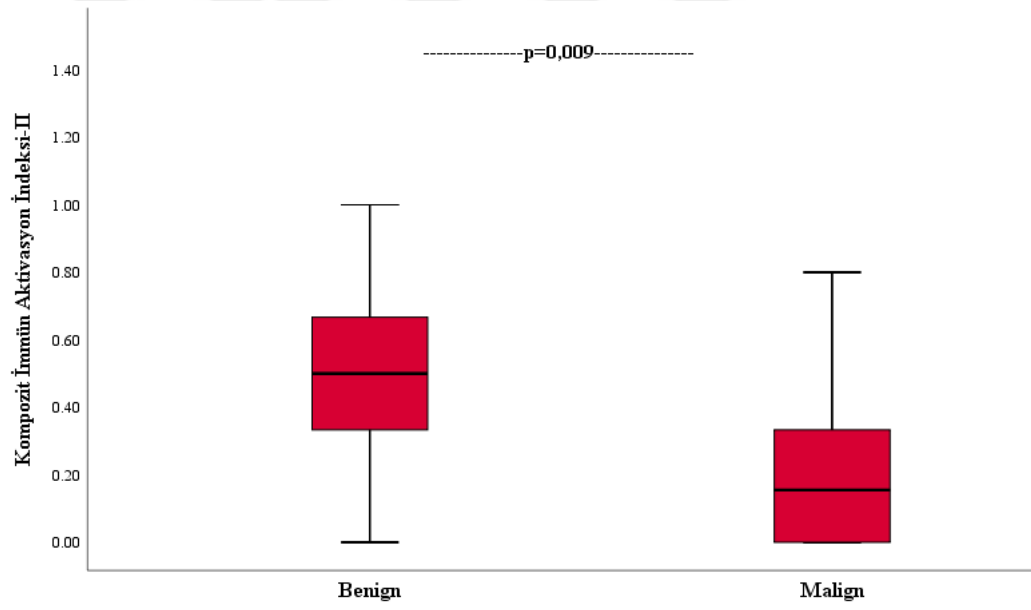
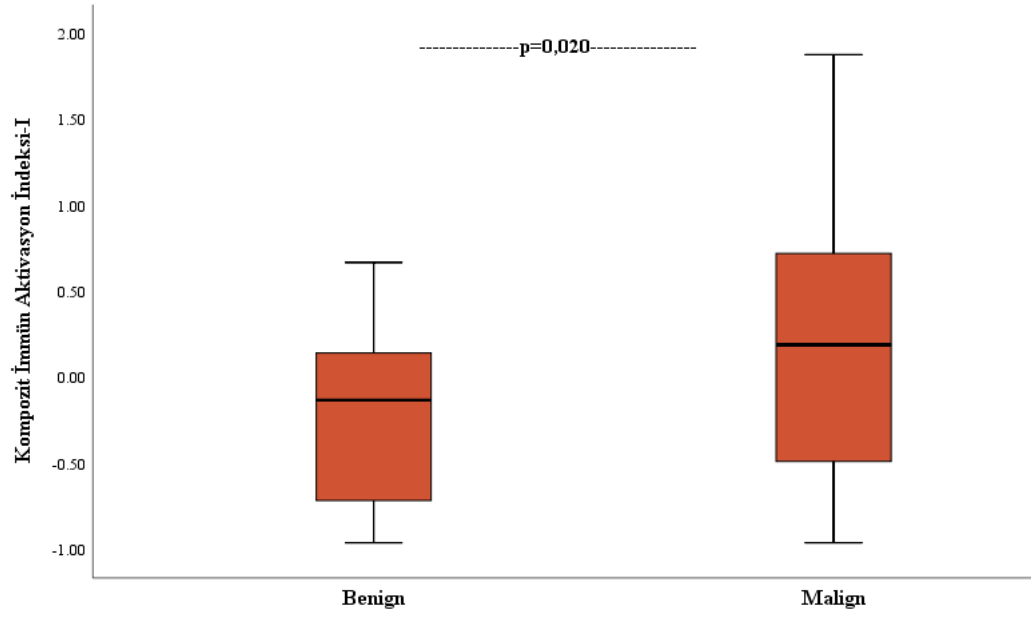
^uMann-Whitney U Test, *Med(IQR)*

TCR $\gamma/\delta/CD3$ oranı ($p=0,005$), Kompozit İmmün Aktivasyon İndeksi-I ($p=0,020$) ve Kompozit İmmün Aktivasyon İndeksi-II ($p=0,009$) parametreleri tümör varlığına göre anlamlı farklılık göstermiştir. TCR $\gamma/\delta/CD3$ oranı ve Kompozit İmmün Aktivasyon İndeksi-II değerleri benign grupta, Kompozit İmmün Aktivasyon İndeksi-I değeri ise malign grupta anlamlı olarak yüksektir (**Grafik 4.4.2**).

Tablo 4.4.4. Tümör Durumuna Göre Oranlar

Değişkenler	Tümör Durumu		Test İstatistiği	p
	Benign (n=31)	Malign (n=44)		
CD8/CD4	7(4-17)	14(8.75-17.25)	-1.106	0,291 ^u
CD8/CD3	1(0.81-1.6)	1.24(0.67-1.68)	-0.153	0,876 ^u
TCR γ/δ /CD3	0.13(0.04-0.33)	0.03(0-0.12)	-2.836	0,005^u
Kompozit İmmün Aktivasyon İndeksi-I	-0.13(-0.73-0.16)	0.19(-0.49-0.72)	-2.324	0,020^u
Kompozit İmmün Aktivasyon İndeksi-II	0.5(0.33-0.67)	0.15(0-0.33)	-2.614	0,009^u
IFN- γ boyanma şiddeti			0.119	0,730 [*]
Düşük	19(61.3)	24(54.5)		
Yüksek	12(38.7)	20(45.5)		
IFN- γ boyanma yaygınlığı			1.347	0,246 [*]
≤25	28(90.3)	34(77.3)		
>25	3(9.7)	10(22.7)		

^uMann-Whitney U Test, *Med(IQR)*^{*}Pearson Ki-Kare Testi, Yates Düzeltmesi, *n(%)*.**Grafik 4.4.2 Tümör Durumuna Göre TCR γ/δ /CD3, Kompozit İmmün Aktivasyon İndeksi-I ve Kompozit İmmün Aktivasyon İndeksi-II**



5.TARTIŞMA

Kanser immünolojisi, son yıllarda tümör progresyonu ve tedaviye yanıtın belirlenmesinde en önemli alanlardan biri hâline gelmiştir. Tümör mikroçevresindeki immün hücrelerin türü, yoğunluğu ve dağılımı yalnızca tümör biyolojisini değil, aynı zamanda hastalığın prognozunu da belirlemektedir. Özellikle mukozal yüzeylerden köken alan malignitelerde, epitel-stroma arası immün etkileşimlerin analizi büyük önem taşımaktadır. Endometriyum dokusu hormonal uyarılara, mikroorganizmalara ve immünolojik uyarılara açık, dinamik bir sistemdir.

Mukozal bağışıklık sistemi, enfeksiyonlara karşı ilk koruma hattını oluşturmakla birlikte, konak ile mikrobiyota arasındaki hassas dengenin sürdürülmesinde temel rol oynar (1,2). Bu sistemin özgün bileşenlerinden biri olan $\gamma\delta$ T hücreleri, mukozal ve epitelyal yüzeylerde dokuda yerleşik immün hücreler olarak görev yapar. Kadın genital sisteminde doğumdan itibaren bulunan bu hücreler, mikrobiyal ajanlara karşı hızlı yanıt vererek erken savunma sağlar ve epitel bütünlüğünün korunmasına katkıda bulunur (4). Ürettikleri başlıca sitokin olan IFN- γ , antiviral, antimikrobiyal ve antitümör bağışıklığın merkezinde yer alır (4).

Son yıllarda $\gamma\delta$ T hücrelerinin tümör immünolojisindeki önemi giderek daha fazla anlaşılmış, bu hücreleri hedefleyen immünoterapötik yaklaşımlar klinik araştırmalara konu olmaya başlamıştır (5,6).

EİN lezyonları, EEK'nın prekürsörleri olarak kabul edilmektedir(9). Bu nedenle, EIN'den invaziv karsinom evresine geçişte immün mikroçevredeki değişimlerin incelenmesi, endometriyal tümör gelişiminin patofizyolojisini anlamada kritik önem taşımaktadır.

Gen ekspresyonuna dayalı çalışmalar, $\gamma\delta$ T hücrelerinin endometriyal kanserde hem bağışıklık yanıtının şekillenmesinde hem de hastalığın seyrinin belirlenmesinde önemli bir role sahip olabileceğini ortaya koymuştur (10,11). Bununla birlikte, Zhou ve arkadaşları (12), $\gamma\delta$ T hücrelerinin tümör dokusundaki artışının her zaman olumlu bir klinik sonuçla ilişkili olmadığını, aksine bu hücrelerin aşırı aktivitesinin tedaviye daha zayıf yanıt ve daha kısa sağkalımla bağlantılı olabileceğini bildirmiştir.

Mevcut literatürde $\gamma\delta$ T hücrelerinin akım-sitometrisi temelli analizlerine rastlanmakla birlikte (13), endometriyal polip, AEH, EIN ve EEK olgularının histolojik kesitlerinde bu hücrelerin immünohistokimyasal dağılımını sistematik olarak inceleyen bir çalışmaya henüz rastlanmamıştır. Dolayısıyla, bu araştırma, söz konusu eksikliği doldurmayı ve $\gamma\delta$ T hücrelerinin endometriyal karsinogenez sürecindeki önemini ortaya koymayı amaçlamıştır.

Çalışmamızda, TCR γ/δ , IFN- γ , CD3, CD4 ve CD8 belirteçleriyle immünohistokimyasal değerlendirme yapılmıştır. Yapılan değerlendirmelerde IFN- γ için şiddet ve yaygınlık temelli yarı-kantitatif toplam skor kullanılarak, sitoplazmik-granüler boyanmanın incelenmesindeki güçlükleri azaltmak amaçlanmıştır.

Söz konusu yaklaşım, immünohistokimyada yoğunluk ve kapsam bilgisini birleştiren H-score, Allred, IRS geleneğiyle benzerlik gösterir ve gruplar arası karşılaştırılabilirliği artırmak amacıyla kullanılmıştır (38)

Ayrıca, immün mikroçevrenin hücresel bileşenleri (CD8, TCR γ/δ) ile sitokin çıktısını (IFN- γ) ilişkilendirmek için iki deneysel skor tanımlanmıştır: intraepitelyal CD8 / IFN- γ toplam skoru ve intraepitelyal TCR $\gamma\delta$ sayısı / IFN- γ toplam skoru. Bu oranlar; literatürde prognostik ve biyolojik anlam taşıdığı gösterilen bileşik/oran göstergeleri (ör. CD4/CD8 oranı, CD8/FOXP3 oranı) ile paralel bir mantık izler (37,39). $\gamma\delta$ T hücrelerinin çeşitli malignitelerde tümör kontrolü ve bağışıklık düzenlenmesindeki rolleri göz önüne alındığında, $\gamma\delta$ T hücrelerinin varlığının IFN- γ ile birlikte değerlendirilmesi biyolojik olarak anlamlı olabilir(40–42).

Bununla birlikte, çalışmamızda kullandığımız deneysel skorlamalar keşfedici nitelikte olup, klinik süreçlerinde kullanılmadan önce daha geniş örneklem ve çok merkezli doğrulama çalışmalarına ihtiyaç vardır.

Deneysel tümör modellerinde $\gamma\delta$ T hücrelerinin tümör bölgesine çok erken dönemde (yaklaşık 3. günde) göç ettiği ve başlıca erken IFN- γ kaynağı olarak işlev gördüğü; $\gamma\delta$ T hücrelerinden IFN- γ üretiminin yetersiz olduğu koşullarda tümör gelişiminin belirgin arttığı gösterilmiştir (41) Aynı çalışmada $\gamma\delta$ T hücre kaynaklı IFN- γ 'nın, tümör antijenleriyle tetiklenen $\alpha\beta$ T hücrelerinin IFN- γ üretimini etkinleştirerek sonraki adaptif yanıtı güçlendirdiği de bildirilmiştir.

Sonuçlarımız, benign ve EİN olgularında intraepitelyal $\gamma\delta$ T hücrelerinin yoğun olduğunu; EEK olgularında ise $CD3^+$ ve $CD8^+$ hücre infiltrasyonunun arttığını göstermektedir. Ayrıca Kompozit İmmün Aktivasyon İndeksi (KİAİ-1 ve KİAİ-2) hesaplamaları, KİAİ-1'in (intraepitelyal $CD8 / IFN-\gamma$ toplam skoru) malign grupta; KİAİ-2'nin (intraepitelyal $TCR\gamma\delta$ sayısı / $IFN-\gamma$ toplam skoru) ise benign grupta anlamlı olarak yüksek olduğunu ortaya koymuştur.

Sonuçlarımız EİN evresinde mukozal bariyerde yerleşmiş $\gamma\delta$ T hücre gözetiminin aktif olduğunu, malign transformasyonla birlikte sitotoksik $CD8^+$ T hücre baskın bir mikroçevreye geçildiğini göstermektedir. Bu bulgu, $\gamma\delta$ T hücrelerinin EİN–EEK geçişinde erken immün gözetimden efektör T hücre baskın yanıtı geçişte önemli rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

5.1 CD3, CD8 ve CD4 Hücreleri ile Literatür Karşılaştırması

Endometriyal kanserlerde artmış intraepitelyal $CD3^+$ ve $CD8^+$ hücre yoğunluğunun daha iyi prognozla ilişkili olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir(34,43,44) .

Kono-Sato ve arkadaşları tarafından 2022 yılında gerçekleştirilen çalışmada 107 EEK olgusu incelenmiştir. Olgular, erken evre (IB) ve ileri evre (IIIC/IVB) olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Çalışmada yalnızca tümör dokusu değerlendirilmiş; tümör hücre yuvaları içindeki intraepitelyal T-lenfositler (E-TILs) ile invazyon kenarındaki stromal lenfositler (S-TILs) ayrı ayrı analiz edilmiştir. Bununla birlikte, bizim çalışmamızda gerçekleştirdiğimiz gibi tümör dışı normal endometriyum dokusu veya kontrol grubu üzerinde herhangi bir inceleme yapılmamıştır(34).

Kono-Sato ve arkadaşlarına ait bu çalışmada, intraepitelyal $CD3^+$ ve $CD8^+$ T-lenfositlerin artmış yoğunluğu, hem erken hem ileri evre EEK' daha iyi prognoz ile ilişkili bulunmuştur. Buna karşılık, bu hücrelerin azlığı bağımsız olarak daha kötü sağkalım göstergesi olarak belirlenmiştir. Çalışmada ayrıca $CD68^+$ ve $CD163^+$ makrofajların (TAMs) varlığı ile prognoz arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Özellikle, E-TILs, S-TILs'e göre daha güçlü prognostik değer taşımaktadır.(34)

Bizim çalışmamızda ise prognoz analizi yapılmamış, farklı endometriyal lezyon grupları karşılaştırılmıştır. Sonuçlarımız, benign endometriyum ve EİN olgularında intraepitelyal $\gamma\delta$ T hücrelerinin yoğun olduğunu, buna karşılık erken evre EEK olgularında $CD3^+$ ve $CD8^+$ T hücre infiltrasyonunun arttığını göstermektedir. Bu

bulgu, endometriyal karsinogenez sürecinde immün mikroçevrenin erken evrelerde $\gamma\delta$ T hücrelerinden, malign dönüşümle birlikte $CD8^+$ sitotoksik T hücre yanıtına doğru değiştiğini düşündürmektedir. Dolayısıyla, bizim bulgularımız bu hücrelerin tümöral progresyon aşamasında aktifleşen adaptif immün yanıtın göstergesi olabileceğini desteklemektedir.

Benzer şekilde, Guo ve arkadaşları tarafından yapılan 17 çalışmalık meta-analizde de yüksek $CD8^+$ T hücre yoğunluğunun endometriyal kanserlerde genel sağkalım, progresyonsuz sağkalım ve hastalıksız sağkalım açısından anlamlı biçimde daha iyi prognozla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu meta-analizde epitelyal yerleşimli $CD8^+$ hücrelerin prognostik etkisinin stromal yerleşimden daha güçlü olduğu, ayrıca $CD45RO^+$ hafıza T hücrelerinin de benzer şekilde olumlu etkiler gösterdiği belirtilmiştir.(43)

Bu literatür verileri, bizim çalışmamızda erken evre EEK olgularında gözlenen artmış $CD3^+$ ve $CD8^+$ hücre yoğunluğunun, ilerleyen hastalık aşamalarında potansiyel olarak prognoz açısından koruyucu bir immün yanıtın parçası olabileceğini düşündürmektedir.

Bizim çalışmamızda EEK olgularında belirgin $CD3^+$ ve $CD8^+$ artışı, $CD4^+$ hücrelerin ise düşük bulunması, yardımcı-sitotoksik T hücre dengesinin sitotoksik T hücreler lehine kaydığını göstermektedir. Bu durum, immün-aktif fakat regülatuar kontrolü sınırlı bir mikroçevreyi işaret etmektedir.

Ahuja ve ark. (2024) ise yüksek stromal TIL oranını ($\% \geq 20$) erken evre ve düşük grade olgularla anlamlı ilişkilendirmiştir. Bizim çalışmamızda intraepitelyal T lenfositlerin incelenmiş olması, stromal ve epitel düzeyin birbirini tamamlayan iki farklı immün katmanı temsil ettiğini göstermektedir.(45) Ancak bizim çalışmamızda immünohistokimyasal yöntem ile $CD3^+$, $CD8^+$ ve $CD4^+$ T lenfositlere stromada bakılmamıştır.

5.2 $\gamma\delta$ T Hücrelerinin Önemi

$\gamma\delta$ T hücreleri, MHC'den bağımsız ve hızlı yanıt kapasitesi sayesinde mukozal dokularda erken savunma avantajı sağlar. Tümörlerde doku-yerleşik V δ 1 ve V δ 3 alt kümeleri sıklıkla öne çıkar ve pek çok solid tümörde olumlu prognozla ilişkilendirilmiştir; buna karşın dolaşımdaki V δ 2 alt kümesi ise fosfoantijen tanıma eğilimiyle diğer alt kümelerden ayrı bir göreve sahiptir. Bu alt-kümelenme, $\gamma\delta$ T hücrelerinin dokuya yerleşim özellikleri, antijen tanıma biçimi ve efektör fonksiyonlarına yansıtan fonksiyonel heterojenitesini gösterir .(46)

Chabab ve arkadaşları ayrıca, $\gamma\delta$ T hücrelerinin bazı durumlarda antitümör yanıtı katkı sağlarken, bazı solid kanserlerde immünsupresif ve pro-tümöral fonksiyonlar da üstlenebildiğini vurgulamıştır. Bu bulgu, tümör mikroçevresi ilerledikçe $\gamma\delta$ T hücrelerinin fonksiyonel yön değiştirebileceğini ve bazı alt kümelerin baskılayıcı fenotiplere kayabileceğini düşündürmektedir.(46)

Endometrial kanser özelinde en kapsamlı analizlerden biri olan Mysona arkadaşlarının 2025 yılında yaptığı çalışmada, TCGA'daki 543 hasta ile tek-hücre dizileme veri seti (SRP349751) üzerinden (TRUST4 ve GLIPH2 analizleriyle) $\gamma\delta$ TCR repertuarını ve transkriptomlarını incelemiştir. Bu çalışmada POLE ve MSI-H moleküler alt tiplerde $\gamma\delta$ T hücre infiltrasyonunun en yüksek düzeyde olduğu sonucuna ulaşmışlardır ve V δ 1 ve V δ 3 infiltrasyonunun evre ve moleküler alt tipten bağımsız olarak prognostik değer taşıdığı göstermişlerdir, Bu bulgular, endometrial kanserde $\gamma\delta$ T hücrelerini hedefleyen immünoterapilerin rasyonel bir aday olduğunu desteklemektedir (47)

Moleküler sınıflama perspektifinden bakıldığında, POLE ve MSI-H tümörlerin genel olarak “immün aktif/sıcak” mikroçevrelere sahip olduğu; CN-L/H grupların ise daha “immün inaktif/soğuk” profil sergilediği bilinmektedir. Mysona ve arkadaşlarının özellikle POLE ve MSI-H alt tiplerini $\gamma\delta$ T hücreden zengin saptaması bu bağlamla uyumludur.

Bizim çalışmamızda, EİN olgularında $\gamma\delta$ T hücre varlığının belirgin ve EEK'de azalmış olması, endometrial karsinogenez sürecinde immün mikroçevrenin zamanla yeniden şekillendiğini düşündürmektedir. Ayrıca bizim olgularımızda miyometrium invazyonu olmayan EEK vakalarında TCR γ/δ düzeyleri anlamlı olarak yüksekti; ayrıca invazyon kategorilerine göre IFN- γ yaygınlığında anlamlı

farklılık ($p=0,008$) saptandı. Miyometrium invazyonu 1/2'den az olan EEK hastalarının IFN- γ yaygınlık oranlarının, miyometrium invazyonu görülmeyen EEK hastalarına göre anlamlı olarak yüksek olduğunu gösterilmiştir. Bu nedenle, erken fazda $\gamma\delta$ -aracılı bariyer gözetiminin baskınlığı “erken alarm” mekanizmasını yansıtabilir. İnvazyon ilerledikçe ise inflamatuvar IFN- γ sitokin yanıtının öne çıktığı şeklinde yorumlanabilir.

Chabab ve arkadaşları'nın $\gamma\delta$ T hücrelerinin geç evrelerde azaldığını ve bazı alt kümelerin immünsupresif veya pro-tümöral fenotiplere kayabileceğini belirtmesi ile Mysona ve arkadaşları'nın POLE/MSI-H tümörlerde “sitotoksik fakat kısmen yorgun(exhausted)” $\gamma\delta$ T profili tanımlaması, EİN'den EEK'ye ilerlemede hem sayısal hem fonksiyonel gerilemeyi destekleyebilir.

Klinik açıdan, V δ 1 ve V δ 3 zenginliği potansiyel biyobelirteç adayları olarak değerlendirilebilir. Erken dönemde $\gamma\delta$ T hücre aktivasyonunu güçlendiren yaklaşımlar (örneğin $\gamma\delta$ -TCR hedefli ajanlar) ve $\gamma\delta$ T hücre tedavileri (hastaya dışarıdan verilen, transfer edilen), özellikle POLE/MSI-H tümör gruplarında faydalı görünmektedir. Buna karşılık, immün inaktif/soğuk (CN-L/H) tümörlerde mikroçevreyi “ısıdıran” kombinasyon yaklaşımları (örneğin anti-PD-1/PD-L1 ile birlikte $\gamma\delta$ T) gelecekte araştırılmaya değerdir.

5.3 IFN- γ ve LVI ilişkisi

Çalışmamızda lenfovasküler invazyon mevcut olan olgularda immünohistokimyasal IFN- γ ekspresyonunun daha şiddetli ve yaygın olduğu saptanmıştır.

Zhu ve arkadaşları tarafından 2024 yılında yapılan deneysel çalışmada benzer şekilde, IFN- γ sinyalinin lenfatik endotelial hücrelerde Claudin-3 ekspresyonunu artırarak lenfatik bariyer bütünlüğünü güçlendirdiği ve tümör hücrelerinin trans-lenfatik migrasyonunu azalttığı gösterilmiştir(48).

LVI saptanan alanlarda tümör hücrelerinin lenfatik endoteliumu zorlaması, lokal immün mikroçevrede belirgin bir yanıtı tetikliyor gibi görünmektedir. Bu süreçte özellikle CD8⁺ T hücreleri ve makrofajlar tarafından artan IFN- γ salınımı, invazyonun aktif bir nedeni olmaktan ziyade, gelişen doku hasarı ve endotel

stresine karşı reaktif bir yanıt biçiminde değerlendirilebilir. Dolayısıyla, IFN- γ artışı invazyonu kolaylaştıran bir faktör değil, aksine invazif sürece eşlik eden immün aktivasyonun ve bariyer onarımının bir göstergesi olabilir. Bu açıdan bakıldığında, IFN- γ ekspresyonundaki artışın, tümör progresyonunun pasif bir sonucu olmanın ötesinde, lenfatik bariyer bütünlüğünü korumaya yönelik savunucu bir mekanizmanın parçası olduğu düşünülebilir.

5.4 KİAİ-1 ve KİAİ-2'nin Yorumu

Kompozit İmmün Aktivasyon İndeksi-1 (KİAİ-1), intraepitelyal CD8⁺ hücre yoğunluğunun IFN- γ toplam skoruna oranı olarak;

Kompozit İmmün Aktivasyon İndeksi-2 (KİAİ-2) ise intraepitelyal TCR $\gamma\delta$ ⁺ hücre sayısının IFN- γ toplam skoruna oranı olarak tanımlanmıştır.

TCR $\gamma/\delta/CD3$ oranı ($p=0,005$), Kompozit İmmün Aktivasyon İndeksi-I ($p=0,020$) ve Kompozit İmmün Aktivasyon İndeksi-II ($p=0,009$) parametreleri Tümör Durumuna göre anlamlı farklılık göstermiştir. TCR $\gamma/\delta/CD3$ oranı ve Kompozit İmmün Aktivasyon İndeksi-II değerleri benign tümör grubunda, Kompozit İmmün Aktivasyon İndeksi-I değeri ise malign grupta anlamlı olarak yüksektir.

Gruplar arasındaki karşılaştırmalarda,

KİAİ-1 (CD8⁺/IFN- γ) değeri EEK hastalarında, AEH hastalarına göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

KİAİ-2 (TCR $\gamma\delta$ /IFN- γ) değeri ise EİN olgularında, EEK hastalarına göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır.

Tümör varlığına göre yapılan analizlerde, TCR $\gamma\delta/CD3$ oranı ($p = 0,005$), KİAİ-1 ($p = 0,020$) ve KİAİ-2 ($p = 0,009$) parametreleri arasında anlamlı farklar belirlenmiştir. Buna göre: KİAİ-2 değeri benign grupta, KİAİ-1 değeri ise malign grupta anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur.

Bu bulgular, endometriyal karsinogenez sürecinde bağışıklık yanıtının erken dönemde $\gamma\delta$ T hücreleri aracılığıyla bariyer düzeyinde başlatıldığını, ilerleyen evrelerde ise klasik CD8⁺ sitotoksik T hücre yanıtının baskın hale geldiğini göstermektedir. Bu değişim, hastalığın farklı evrelerinde uygulanabilecek immünoterapötik stratejiler açısından da klinik anlam taşımaktadır.

Erken evrede $\gamma\delta$ T hücrelerinin belirgin olduğu olgular, bu hücrelerin aktivasyonunu destekleyen tedavi yaklaşımlarına (örneğin $\gamma\delta$ -TCR hedefli ajanlara): İleri evrede ise artmış CD8⁺ infiltrasyonu ve IFN- γ ekspresyonu, kontrol noktası inhibitörlerine daha uygun adaylar olabilir.

5.5 Çalışmanın Kısıtlılıkları

Bu çalışmanın en önemli kısıtlılıklarından biri, moleküler alttıplendirmenin (özellikle POLE mutasyon analizinin) yapılamamış olmasıdır. Bu nedenle, immün paternler moleküler alt tiplerle korele edilememiştir. EEK tanılı olguların tamamında immünohistokimyasal olarak MSI belirteçleri ve p53 değerlendirmesi yapılmadığından, bu değişkenler analizlere dâhil edilmemiştir. Mevcut vakalar arasında yalnızca altı olguda immünohistokimyasal p53 incelemesi yapılmış olup mutant p53 boyanma paterni saptanmamıştır. İmmünohistokimyasal MSI analizi sekiz olguda gerçekleştirilmiş, bunlardan ikisinde ekspresyon kaybı izlenmiştir (birinde MLH1 ve PMS2, diğerinde MSH2 ve MSH6 kaybı). Her iki vakada da p53 “wild” tipte izlenmiştir. Bu immünohistokimyasal veriler heterojen örnekleme nedeniyle istatistiksel analizlere katılmamıştır. Gelecekte moleküler sınıflandırma yapılmış geniş serilerle $\gamma\delta$ T hücrelerinin, intraepitelyal lenfosit infiltrasyonu paternlerinin ve KİAİ skorlarının birlikte değerlendirilmesi, prognostik ve terapötik çıkarımların güçlenmesini sağlayacaktır (10,11).

Vaka sayılarının belirlenmesinde immünohistokimyasal boyaların miktarı kısıtlayıcı rol oynamıştır. Sonuçların daha fazla hasta sayısı ve çok merkezli çalışmalarla konfirme edilmesi önerilir.

6.SONUÇLAR

Bu çalışma, endometriyal karsinogenez sürecinde immün mikroçevrenin değişimini ortaya koymaktadır. Bulgularımız, benign ve EİN olgularında yaygın intraepitelyal $\gamma\delta$ T hücre varlığının, erken immün gözetimin temel bileşenlerinden biri olabileceğini göstermiştir. Malign dönüşümle birlikte ise bu yanıtın yerini artmış $CD3^+$ T hücre ve $CD8^+$ sitotoksik T hücre infiltrasyonu almıştır.

Lenfovasküler invazyon saptanan olgularda IFN- γ artışı, invazyonun nedeni olmaktan çok, endotel hasarına karşı gelişen reaktif bir immün yanıt veya bariyer stabilitesini koruyucu mekanizması olarak yorumlanabilir.

Kompozit İmmün Aktivasyon İndeksleri (KİAİ-1 ve KİAİ-2), endometriyal karsinogenezde immün yanıtın erken dönemde $\gamma\delta$ T hücre aracılı bariyer savunmasından, ilerleyen evrelerde $CD8^+$ sitotoksik yanıt ağırlıklı bir fenotipe dönüştüğünü nicel olarak desteklemiştir. Bu farklılaşma, evreye özgü immünoterapötik stratejilerin geliştirilmesi açısından da klinik anlam taşımaktadır. Bulgularımız, $\gamma\delta$ T hücrelerinin hem invazyon sürecinin değerlendirilmesinde hem de tedavi stratejilerinin belirlenmesinde (örneğin $\gamma\delta$ -TCR hedefli ajanlar veya kontrol noktası inhibitörleriyle kombinasyonlar) değerli bir hedef olabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, moleküler alttıplendirmenin eksikliği, örneklem büyüklüğü ve yarı-kantitatif skorlama gibi kısıtlılıklar nedeniyle, sonuçların çok merkezli, moleküler sınıflandırılmış daha geniş serilerde doğrulanması gereklidir.

7. ÖZET

NORMAL ENDOMETRİYUM, ATİPİSİZ ENDOMETRİYAL HİPERPLAZİ, ENDOMETRİÖİD İNTRAEPİTELYAL NEOPLAZİ VE ENDOMETRİÖİD ENDOMETRİYAL KARSİNOMLARDA İNTRAEPİTELYAL LENFOSİTLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ VE KARAKTERİZASYONU

Bu çalışmada, endometriyumun dört farklı tanı grubunda; malignite dışı küretaj, atipisiz endometriyal hiperplazi (AEH), endometriyal intraepitelyal neoplazi (EİN) ve endometrioid endometriyal karsinom (EEK) olgularında TCR γ/δ , CD3, CD4, CD8 ve IFN- γ immünohistokimyasal belirteçlerinin intraepitelyal dağılımı değerlendirilmiştir. Toplam 75 hastanın %58,6'sı EEK grubundadır. Tanı grupları arasında intraepitelyal TCR γ/δ ($p=0,024$), CD3 ($p=0,001$) ve CD8 ($p<0,001$) açısından anlamlı farklar bulunmuştur. EİN grubunda TCR γ/δ hücre yoğunluğu, EEK hastalarına göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. EEK olgularında CD3 ve CD8 düzeyleri belirgin olarak yüksektir. Miyometrium invazyonu arttıkça epitelde TCR γ/δ hücrelerinin azaldığı gözlenmiştir ($p=0,046$). Lenfovasküler invazyon varlığında IFN- γ boyanma şiddeti ve yaygınlığı anlamlı şekilde artmıştır ($p=0,008$). Kompozit İmmün Aktivasyon İndeksi-I EEK grubunda, İndeks-II ise EİN grubunda yüksek bulunmuştur. Bulgular, endometriyumda özellikle CD8⁺ sitotoksik T hücreleri ve γ/δ T hücrelerinin premalign lezyonlardan malign transformasyona geçişte rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Gama delta T hücreleri, endometriyum, endometrioid endometriyal karsinom, IFN- γ , CD3, CD4, CD8, mukozal bağışıklık, tümör mikroçevresi

8. ABSTRACT

EVALUATION AND CHARACTERIZATION OF INTRAEPITHELIAL LYMPHOCYTES IN NORMAL ENDOMETRIUM, ENDOMETRIAL HYPERPLASIA WITHOUT ATYPIA, ENDOMETRIOID INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA, AND ENDOMETRIOID ENDOMETRIAL CARCINOMA

In this study, the intraepithelial distribution of immunohistochemical markers TCR γ/δ , CD3, CD4, CD8, and IFN- γ was evaluated across four diagnostic groups of the endometrium: benign curettage, endometrial hyperplasia without atypia (AEH), endometrial intraepithelial neoplasia (EIN), and endometrioid endometrial carcinoma (ECC). Among a total of 75 patients, 58.6% were in the ECC group. Significant differences were observed among the diagnostic groups in intraepithelial TCR γ/δ ($p=0.024$), CD3 ($p=0.001$), and CD8 ($p<0.001$) expression. The density of TCR γ/δ cells was significantly higher in the EIN group compared to ECC cases, whereas CD3 and CD8 levels were markedly increased in ECC. A decrease in epithelial TCR γ/δ cell counts was observed with increasing depth of myometrial invasion ($p=0.046$). The intensity and extent of IFN- γ staining were significantly higher in cases with lymphovascular invasion ($p=0.008$). Composite Immune Activation Index-I was elevated in the ECC group, while Index-II was higher in EIN cases. These findings suggest that, within the endometrium, CD8⁺ cytotoxic T cells and γ/δ T cells may play important roles in the transition from premalignant lesions to malignant transformation.

Keywords: T-Lymphocytes, Gamma-Delta, endometrium, endometrial neoplasms, Interferon-gamma, CD3 Antigens, CD4 Antigens, CD8 Antigens, mucosal immunity, tumor microenvironment

9.KAYNAKÇA

1. Rampoldi F, Prinz I. Three layers of intestinal $\gamma\delta$ T cells talk different languages with the microbiota. *Front Immunol.* 2022;13:849954.
2. Dogan S, Terzioglu E, Ucar S. Innate immune response against HPV: Possible crosstalking with endocervical $\gamma\delta$ T cells. *J Reprod Immunol.* 2021;148:103435.
3. Cheng M, Hu S. Lung-resident $\gamma\delta$ T cells and their roles in lung diseases. *Immunology.* 2017;151(4):375–84.
4. Yüzen D, Arck PC, Thiele K. Tissue-resident immunity in the female and male reproductive tract. In: *Seminars in immunopathology.* Springer; 2022. p. 785–99.
5. Saura-Esteller J, De Jong M, King LA, Ensing E, Winograd B, De Gruijl TD, et al. Gamma delta T-cell based cancer immunotherapy: past-present-future. *Front Immunol.* 2022;13:915837.
6. Zou C, Zhao P, Xiao Z, Han X, Fu F, Fu L. $\gamma\delta$ T cells in cancer immunotherapy. *Oncotarget.* 2016;8(5):8900.
7. Zhao Y, Dong P, He W, Zhang J, Chen H. $\gamma\delta$ T cells: Major advances in basic and clinical research in tumor immunotherapy. *Chin Med J (Engl).* 2024;137(01):21–33.
8. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394–424.
9. Trimble CL, Kauderer J, Zaino R, Silverberg S, Lim PC, Burke JJ, et al. Concurrent endometrial carcinoma in women with a biopsy diagnosis of atypical endometrial hyperplasia: a Gynecologic Oncology Group study. *Cancer.* 2006;106(4):812–9.
10. Liu J, Nie S, Wu Z, Jiang Y, Wan Y, Li S, et al. Exploration of a novel prognostic risk signatures and immune checkpoint molecules in endometrial carcinoma microenvironment. *Genomics.* 2020;112(5):3117–34.
11. Zhang J, An L, Zhou X, Shi R, Wang H. Analysis of tumor mutation burden combined with immune infiltrates in endometrial cancer. *Ann Transl Med.* 2021;9(7).
12. Zhou X, Ling Z, Yang B. Systematic analysis of tumor-infiltrating immune cells in human endometrial cancer: a retrospective study. *medRxiv.* 2019;19003707.

13. Cazzetta V, Portuesi R, Fiamengo B, Vitobello D, Mikulak J, Mavilio D. Targeting $\gamma\delta$ T cells for the immunotherapy of endometrial cancer. *The Journal of Immunology*. 2023;210(1_Supplement):211–37.
14. Buckley H, Fox H. *Biopsy pathology of the endometrium*. CRC Press; 2024.
15. Blaustein A. *Blaustein's pathology of the female genital tract*. Springer Science & Business Media; 2011.
16. Höhn AK, Brambs CE, Hiller GGR, May D, Schmoeckel E, Horn LC. 2020 WHO classification of female genital tumors. *Geburtshilfe Frauenheilkd*. 2021;81(10):1145–53.
17. Bokhman J V. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol*. 1983;15(1):10–7.
18. Levine DA, 1 CGARNG sequencing centres: BIGG 1 GSB 1 CK 1 LE 1 SA 1 SC 1 LM, 2 WU in SLKC 2 DD 2 FR 2 FL 2 KVJ 2 MMD 2 OM 2 SH 2 WRK 2 YK 2 DL 2 MER, 22 U of SC& JHBSB 21 BMS 22 LPH 22 TJTJ 22 VDBDJ 22 WDJ 22 LPW 22 SH, 23 I for SBRSM 23 SI. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature*. 2013;497(7447):67–73.
19. McAlpine JN, McConechy M, Hoang L, Leung S, Nakonechny Q, Lum A, et al. A clinically applicable molecular-based classification for endometrial cancers. *American Society of Clinical Oncology*; 2016.
20. Bosse T, Nout RA, McAlpine JN, McConechy MK, Britton H, Hussein YR, et al. Molecular classification of grade 3 endometrioid endometrial cancers identifies distinct prognostic subgroups. *Am J Surg Pathol*. 2018;42(5):561–8.
21. Aristizábal B, González Á. *Innate immune system*. In: *Autoimmunity: From bench to bedside* [Internet]. El Rosario University Press; 2013.
22. McDaniel MM, Meibers HE, Pasare C. Innate control of adaptive immunity and adaptive instruction of innate immunity: bi-directional flow of information. *Curr Opin Immunol*. 2021;73:25–33.
23. Nielsen MM, Witherden DA, Havran WL. $\gamma\delta$ T cells in homeostasis and host defence of epithelial barrier tissues. *Nat Rev Immunol*. 2017;17(12):733–45.
24. Chien Y hsiu, Becker DM, Lindsten T, Okamura M, Cohen DI, Davis MM. A third type of murine T-cell receptor gene. *Nature*. 1984;312(5989):31–5.
25. Carding SR, Egan PJ. $\gamma\delta$ T cells: functional plasticity and heterogeneity. *Nat Rev Immunol*. 2002;2(5):336–45.
26. Heilig JS, Tonegawa S. Diversity of murine gamma genes and expression in fetal and adult T lymphocytes. *Nature*. 1986;322(6082):836–40.

27. Ma R, Yuan D, Guo Y, Yan R, Li K. Immune effects of $\gamma\delta$ T cells in colorectal cancer: a review. *Front Immunol*. 2020;11:1600.
28. Takagaki Y, DeCloux A, Bonneville M, Tonegawa S. Diversity of $\gamma\delta$ T-cell receptors on murine intestinal intraepithelial lymphocytes. *Nature*. 1989;339(6227):712–4.
29. Tosolini M, Pont F, Poupot M, Vergez F, Nicolau-Travers ML, Vermijlen D, et al. Assessment of tumor-infiltrating TCRV γ 9V δ 2 $\gamma\delta$ lymphocyte abundance by deconvolution of human cancers microarrays. *Oncoimmunology*. 2017;6(3):e1284723.
30. Girardi M, Oppenheim DE, Steele CR, Lewis JM, Glusac E, Filler R, et al. Regulation of cutaneous malignancy by $\gamma\delta$ T cells. *Science* (1979). 2001;294(5542):605–9.
31. Meraviglia S, Lo Presti E, Tosolini M, La Mendola C, Orlando V, Todaro M, et al. Distinctive features of tumor-infiltrating $\gamma\delta$ T lymphocytes in human colorectal cancer. *Oncoimmunology*. 2017;6(10):e1347742.
32. Lu H, Dai W, Guo J, Wang D, Wen S, Yang L, et al. High abundance of intratumoral $\gamma\delta$ T cells favors a better prognosis in head and neck squamous cell carcinoma: a bioinformatic analysis. *Front Immunol*. 2020;11:573920.
33. Tyler CJ, Doherty DG, Moser B, Eberl M. Human V γ 9/V δ 2 T cells: innate adaptors of the immune system. *Cell Immunol*. 2015;296(1):10–21.
34. Kono-Sato T, Miyai K, Yamagishi Y, Miyamoto M, Takano M, Matsukuma S, et al. Intraepithelial lymphocytes are indicators of better prognosis in surgically resected endometrioid-type endometrial carcinomas at early and advanced stages. *BMC Cancer*. 2022;22(1):361.
35. Kondratiev S, Sabo E, Yakirevich E, Lavie O, Resnick MB. Intratumoral CD8+ T lymphocytes as a prognostic factor of survival in endometrial carcinoma. *Clinical Cancer Research*. 2004;10(13):4450–6.
36. Li Q, Zhang XQ, Nie L, Chen GS, Li H, Zhang F, et al. Expression of interferon- γ in human adrenal gland and kidney tumours. *Br J Cancer*. 2007;97(3):420–5.
37. Tuomisto A, Sirniö P, Elomaa H, Karjalainen H, Äijälä VK, Kastinen M, et al. Integrating tumor intraepithelial CD8+ and stromal FOXP3+ T cell densities as an enhanced immune prognostic index in colorectal cancer. *Laboratory Investigation*. 2025;104213.
38. Mezheyeuski A, Backman M, Mattsson J, Martín-Bernabé A, Larsson C, Hrynchuk I, et al. An immune score reflecting pro-and anti-tumoural balance of tumour microenvironment has major prognostic impact and predicts immunotherapy response in solid cancers. *EBioMedicine*. 2023;88.

39. Wang K, Shen T, Siegal GP, Wei S. The CD4/CD8 ratio of tumor-infiltrating lymphocytes at the tumor-host interface has prognostic value in triple-negative breast cancer. *Hum Pathol.* 2017;69:110–7.
40. Silva-Santos B, Serre K, Norell H. $\gamma\delta$ T cells in cancer. *Nat Rev Immunol.* 2015;15(11):683–91.
41. Gao Y, Yang W, Pan M, Scully E, Girardi M, Augenlicht LH, et al. $\gamma\delta$ T cells provide an early source of interferon γ in tumor immunity. *J Exp Med.* 2003;198(3):433–42.
42. Prinz I, Silva-Santos B, Pennington DJ. Functional development of $\gamma\delta$ T cells. *Eur J Immunol.* 2013;43(8):1988–94.
43. Guo F, Dong Y, Tan Q, Kong J, Yu B. Tissue infiltrating immune cells as prognostic biomarkers in endometrial cancer: a meta-analysis. *Dis Markers.* 2020;2020(1):1805764.
44. Palomero J, Panisello C, Lozano-Rabella M, Tirtakasuma R, Díaz-Gómez J, Grases D, et al. Biomarkers of tumor-reactive CD4+ and CD8+ TILs associate with improved prognosis in endometrial cancer. *J Immunother Cancer.* 2022;10(12):e005443.
45. Ahuja S, Dubey A, Zaheer S. Association of stromal tumor-infiltrating lymphocytes with clinicopathological parameters in endometrial cancer. *Korean Journal of Clinical Oncology.* 2024;20(2):74.
46. Chabab G, Boissière-Michot F, Mollevi C, Ramos J, Lopez-Crapez E, Colombo PE, et al. Diversity of tumor-infiltrating, $\gamma\delta$ T-cell abundance in solid cancers. *Cells.* 2020;9(6):1537.
47. Mysona DP, Shah A, Jaeger N, Almadadi A, Orr B, McIndoe R, et al. The protective role of $\gamma\delta$ T cells in endometrial cancer. *Cancer Immunology, Immunotherapy.* 2025;74(10):318.
48. Zhu L, Bai Y, Li A, Wan J, Sun M, Lou X, et al. IFN- γ -responsiveness of lymphatic endothelial cells inhibits melanoma lymphatic dissemination via AMPK-mediated metabolic control. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease.* 2024;1870(7):167314.