



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**



**MİKROSATELLİT STABİL VE İNSTABİL ENDOMETRİUM
KANSERLERİ ARASINDA TEDAVİ HEDEFİ OLABİLECEK
İMMÜNHİSTOKİMYASAL BELİRTEÇLERİN MORFOLOJİK
VE KLİNİK PARAMETRELER EŞLİĞİNDE
KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Ezgi Dicle SERBES

**TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Duygu ENNELİ**

**ANKARA
2023**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**MİKROSATELLİT STABİL VE İNSTABİL ENDOMETRİUM
KANSERLERİ ARASINDA TEDAVİ HEDEFİ OLABİLECEK
İMMÜNHİSTOKİMYASAL BELİRTEÇLERİN MORFOLOJİK
VE KLİNİK PARAMETRELER EŞLİĞİNDE
KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Ezgi Dicle SERBES

**TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Duygu ENNELİ**

**ANKARA
2023**

Ankara Üniversitesi
Tıp Fakültesi Dekanlığı'na,

Tıpta Uzmanlık Tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Mikrosatellit Stabil ve İnstabil Endometrium Kanseri Arasında Tedavi Hedefi Olabilecek İmmünohistokimyasal Belirteçlerin Morfolojik ve Klinik Parametreler Eşliğinde Karşılaştırılması” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Bu tez çalışmasıyla ilgili tüm süreçler Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı İnsan Araştırmaları Etik Kurulu Birimi tarafından, 03.03.2023 tarihinde, İ03-118-23 numaralı kararla onaylanmıştır.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Ezgi Dicle SERBES

Tarih:

İmza:

ÖZGÜNLÜK RAPORU

Mikrosatellit Stabil ve İnstabil Endometrium Kanseri Arasında Tedavi Hedefi Olabilecek İmmünohistokimyasal Belirteçlerin Morfolojik ve Klinik Parametreler Eşliğinde Karşılaştırılması

ORJİNALLİK RAPORU

%5

BENZERLİK ENDEKSİ

%5

İNTERNET KAYNAKLARI

%2

YAYINLAR

%1

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

Gönderim Ayrıntıları

Öğrenci Kimliği	Yok
Sınıf Adı	Tıpta Uzmanlık Tezi
Sınıf Kimliği	39230673
Gönderi Numarası	2106650985
Gönderi Tarihi	01-Jun-2023 01:33PM (UTC+0300)
Gönderi Sayısı	1
Dosya Adı	Ezgi_Tez_SON.docx
Dosya Uzantısı	docx
Dosya Boyutu	18.47M
Karakter Sayısı	279832
Kelime Sayısı	40603
Sayfa Sayısı	153

	TÜRKİYE CUMHURİYETİ ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ	
MİKROSATELLİT STABİL VE İNSTABİL ENDOMETRİUM KANSERLERİ ARASINDA TEDAVİ HEDEFİ OLABİLECEK İMMÜNHİSTOKİMYASAL BELİRTEÇLERİN MORFOLOJİK VE KLİNİK PARAMETRELER EŞLİĞİNDE KARŞILAŞTIRILMASI		
Dr. Ezgi Dicle SERBES		
TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI ADI TIPTA UZMANLIK TEZİ		
TEZ DANIŞMANI Doç. Dr. Duygu ENNELİ		
ANKARA 2023		

KABUL ONAY SAYFASI

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN	
Adı, Soyadı: Ezgi Dicle SERBES	Sınav tarihi: 15 / 06 / 2023
Anabilim/Bilim Dalı: Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı	
Tez Danışmanı: Doç. Dr. Duygu ENNELİ	

II. TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER
Tezin Başlığı: Mikrosatellit Stabil ve İnstabil Endometrium Kanseri Arasında Tedavi Hedefi Olabilecek İmmünohistokimyasal Belirteçlerin Morfolojik ve Klinik Parametreler Eşliğinde Karşılaştırılması
Tezin Niteliği: ☒ Ana Dal Uzmanlık Tezi ☐ Yan Dal Uzmanlık Tezi
Kaçıncı tez sınavı olduğu: ☒ 1 ☐ 2 ☐ 3

III. KARAR
Yapılan tez sınavı sonucunda yukarıda belirtilen tezin “Tıpta Uzmanlık Tezi” olarak ☒ Kabulüne ☐ Reddine ☐ Düzeltmeler yapıldıktan sonra tekrar değerlendirilmesine ☒ Oy birliği ☐ Oy çokluğu ile karar verilmiştir.

IV. AÇIKLAMALAR
Lütfen, tezin reddi veya düzeltme istenmesi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız.

Jüri Başkanı
Prof. Dr. Berna SAVAŞ
Anabilim/Bilim Dalı

Jüri Üyesi
Doç. Dr. Duygu ENNELİ
Anabilim/Bilim Dalı

Jüri Üyesi
Prof. Dr. Özlem IŞIKSAÇAN ÖZEN
Anabilim/Bilim Dalı

ÖNSÖZ

Hayatım boyunca yapmayı planladığım bu meslekte, geniş ailem olarak gördüğüm bu bölümde, bana yer veren ve destekleyen, patolojiyi bana çok sevdiren, bilgi ve tecrübelerini her daim paylaşan, hem iyi bir patolog hem iyi bir araştırmacı olabilmek için ilham aldığım tüm hocalarıma çok teşekkür ederim.

Tez sürecim yanı sıra asistanlığım boyunca da hep yanımda olan, öğrencisi olmaktan gurur duyduğum, yardımlarını ve bilgilerini hiçbir zaman esirgemeyen, tez danışmanım, sevgili hocam *Doç. Dr. Duygu Enneli* 'ye ayrıca çok teşekkür ederim.

Tez sürecimde preanalitik süreçlerde bana yol gösteren, her zaman desteğini gördüğüm değerli hocam *Prof. Dr. Gülşah Kaygusuz* 'a, teze dahil edilen hastaların klinik takip verilerinin edinilmesi aşamasında yardımlarını esirgemeyen Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim dalındaki değerli meslektaşlarım *Uzm. Dr. Çağatayhan Öztürk* ve *Dr. Necati Berk Kaplan* 'a ve çalışmamızın istatistik kısmında yardımcı olan Biyoistatistik Anabilim Dalı öğretim üyesi *Doç. Dr. Derya Gökmen* 'e çok teşekkür ederim.

Eğitimim boyunca beraber çalıştığımız anabilim dalı ve rapor sekreterlerimiz, bölüm görevlileri, arşiv ve kayıt memurları, tüm patoloji, dijital patoloji, immünohistokimya, moleküler ve sitoloji laboratuvar çalışanları yanı sıra, tanımak ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum çalışma arkadaşlarım *İnga Adanır, Elif Kardelen Çağdaş, Nesrin Reisli, Elif Tuncel, Nermin Aras, Havva Berber, Asya Tuğçe Bol, Batuhan Pamuk, Ekin Gedik, Ahmet Ramazan Akur, Seda Nur Sayır, Hayrettin Aknar, Muhammet Şamil Özlü* ve asistanlık sürecim boyunca çekirdek ailem olmuş, düşe kalka beraber büyüdüğüm dostlarım *Dilara Akbulut, Selim Sevim, Elif Özgür, Zariyakhanım Gahramanlı Öztürk, Eda Nur Kozan, Hazal Kardelen Kahraman*, ve melek ablam *Uzm. Dr. Seher Yüksel* 'e çok teşekkür ederim.

Bilimin yolundan gitmek ve ülkeme değer katabilmek için ilham aldığım, bir kadın olarak bağımsızlığım ve haklarım için en önemli devrimleri yapmış olan, *Mustafa Kemal ATATÜRK* 'e de minnettarlığımı belirtmek isterim.

Son olarak, her zaman yanımda hissettiğim, varlıkları güç veren, hayatı anlamlı kılan, başta canım annem *Nermin Kuz*, babam *Ferit Kuz* ve abim *Ozan Fırat Kuz* olmak üzere tüm ailem, dostlarım, minik patili antidepresanım *Canda* ve hayatımın neşesi, sevgilim, biricik eşim *Taner* 'e çok teşekkür ederim.

Ezgi Dicle SERBES

Ankara, 2023

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Özgünlük Raporu	iii
Kabul Onay Sayfası	iv
Önsöz	v
İçindekiler	vi
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	ix
Şekiller Dizini	xii
Resimler Dizini	xii
Tablolar Dizini	xiv
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ VE AMAÇ	5
4. GENEL BİLGİLER	7
4.1. Uterus Embriyolojisi, Anatomisi, Histolojisi ve Menstrüel Siklus	7
4.1.1. Uterus Embriyolojisi, Anatomisi, Histolojisi	7
4.1.2. Menstrüel Siklus	9
4.1.2.1. Proliferatif Faz	9
4.1.2.2. Sekretuar Faz	10
4.1.2.3. Menstruasyon Fazı	11
4.1.3. Menstrüel Siklusun Hormonal Kontrolü	11
4.2. Uterin Korpus Kanserinlerde Epidemiyoloji, Klinik Özellikler, Etiyoloji ve Risk Faktörleri	13
4.2.1. Epidemiyoloji	13
4.2.2. Klinik Özellikler	15
4.2.3. Etiyoloji ve Risk Faktörleri	18
4.2.3.1. Endometrial Karsinogeneizde Östrojen ve Progesteronun Reseptörlerinin Yeri	20
4.2.3.2. Endometrial Karsinogeneizde Östrojen Dışı Mekanizmalar	23
4.2.3.3. Endometrial Karsinogeneizde Moleküler Özellikler	23
4.3. Endometrium Kanserlerinde Sınıflama	24
4.3.1. Endometrium Kanserlerinde Patogenetik ve Histopatolojik Sınıflama	25
4.3.1.1. Endometrioid Tip Endometrium Karsinomu	26
4.3.1.2. Seröz Endometrium Karsinomu	32

4.3.1.3. Şeffaf Hücreli Endometrium Karsinomu	33
4.3.1.4. Andiferansiye ve Dediferansiye Karsinom	34
4.3.1.5. Endometrial Mikst Karsinom	35
4.3.1.6. Diğer Endometrial Karsinomlar	35
4.3.1.7. Karsinosarkom	35
4.3.1.8. Nöroendokrin Tümörler	36
4.3.2. Endometrium Kanserlerinde Moleküler Sınıflama	36
4.3.2.1. <i>POLE</i> -Ultramutasyonlu Grup	38
4.3.2.2. MMR Sistem Defekti İçeren (MMRd), Hipermutasyonlu Grup	39
4.3.2.3. Kopya Sayısı Yüksek, Seröz Benzeri, p53 mutant Grup	43
4.3.2.4. Kopya Sayısı Düşük, MMRp, Spesifik Moleküler Özellik İçermeyen Grup	43
4.3.3. Herediter Sendromlar	43
4.3.3.1. Lynch Sendromu	44
4.3.3.2. Cowden Sendromu	44
4.4. Endometrial Karsinomlarda Mikroçevre	44
4.4.1. Hücre Aracılı Mekanizmalar	45
4.4.1.1. CD8 Pozitif T Lenfositler	45
4.4.1.2. Regülatuar T Lenfositler	45
4.4.1.3. Makrofajlar	46
4.4.1.4. NK Hücreleri	46
4.4.1.5. Dendritik Hücreler	46
4.4.2. Moleküler Hedefler	47
4.4.2.1. PD-1 / PD-L1	47
4.4.2.2. Diğer Hedefler	48
5. GEREÇ ve YÖNTEM	49
5.1. Olgu Seçimi, Blok Tasarımı ve Histopatolojik Değerlendirme	49
5.2. İmmünohistokimyasal, Dijital ve Moleküler Değerlendirme	53
5.3. İstatistiksel Değerlendirme	57
6. BULGULAR	58
6.1. AÜTF Patoloji Anabilim Dalında Ocak 2005-Aralık 2022 Arasında Endometrium Kanseri Tanısı Alan Tüm Vakalara Genel Bakış	58
6.2. Çalışmaya Dahil Edilen Tüm Vakalara Ait Deskriptif Verilerin Sonuçları	61
6.2.1. Çalışmaya Dahil Edilen Tüm Vakalara Ait Klinik Deskriptif Veriler	61
6.2.2. Çalışmaya Dahil Edilen Tüm Vakalara Ait Histopatolojik Deskriptif Veriler	62
6.2.3. Çalışmaya Dahil Edilen Tüm Vakalara Ait İmmünohistokimyasal Deskriptif Verilerin Sonuçları	65
6.2.4. Çalışmaya Dahil Edilen Tüm Vakalara Ait Moleküler Verilerin Sonuçları	70

6.3. MMRd Vakaların Deskriptif Verilerinin Sonuçları	73
6.4. MMRp Vakaların Deskriptif Verilerinin Sonuçları	80
6.5. MMRd ve MMRp Vakaların Karşılaştırması	85
6.6. Nihai olarak MSI/MMRd ve MSS/MMRp Olduğuna Karar Verilen Vakaların Karşılaştırılması	90
6.8. Diğer İmmünohistokimyasal Verilere Göre Tüm Vakaların Karşılaştırılması	97
6.9. Klinik ve Histopatolojik Verilere Göre Tüm Vakaların Karşılaştırılması	99
6.10. Eksitus Gerçekleşen Vakalara Ait Veriler ve Sağkalım Analizleri	103
7. TARTIŞMA	107
8. SONUÇ ve ÖNERİLER	121
9. KAYNAKLAR	124



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

α	: Alfa
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AKT	: Protein kinaz B
ARID1A	: AT-rich interactive domain 1A geni
AÜTF	: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
β	: Beta
COUP-TFII	: Chicken ovalbumin upstream promotor transcription factor 2
CTNNB1	: Katenin ilişkili protein beta 1
DKK1	: Dickkopf-ilşkili protein 1
E2	: Östradiol
EK	: Endometrial kanser
EEK	: Endometrioid tip endometrium kanseri
ER	: Östrojen reseptörü
ERα/ERβ	: Östrojen reseptörü α /Östrojen reseptörü β
ERK/MAPK	: Extacellular signal-regulated kinase/Mitogen-activated protein kinase
ESGO/ESTRO/ESP	: European Society of Gynecologic Oncology/ European Society for Radiotherapy and Oncology/ European Society of Pathology
ESR1	: Östrojen reseptör alfa1 kodlayan gen
FGFR2	: Fibroblast büyüme faktör reseptör 2 geni
FIGO	: International Federation of Gynecology and Obstetrics
FOXO1	: Forkhead box protein O1
FSH	: Folikül uyarıcı hormon
GnRH	: Gonadotropin salıverici hormon
GPOR	: G protein kenetli östrojen reseptörü
HAND2	: Heart and neural crest derivatives expressed 2
HE	: Hematoksilen Eozin
HNF1B	: Hepatosit nükleer faktör 1 beta
IARC	: Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı

IGF-1	: İnsülin benzeri büyüme faktörü 1
IGFBP	: İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein
ISGyP	: International Society of Gynecological Pathologists
IHH	: Indian hedgehog sinyal molekülü
İHK	: İmmünohistokimya
KOK	: Kombine oral kontraseptif
KRAS	: Kirsten rat sarkom viral onkogen homologu
LH	: Lüteinleştirici hormon
MEK	: Mikst tip endometrial kanser
MLH1	: mutL homolog 1
MMR	: Mismatch repair (Hatalı baz eşleşmesi onarımı) sistemi
MMRd	: Mismatch repair deficient / MMR sistem defekti bulunan
MMRp	: Mismatch repair proficient / MMR sistem defekti bulunmayan
MSH2	: MutS Homolog 2
MSH3	: MutS Homolog 3
MSH6	: MutS Homolog 6
MSI	: Mikrosatellit instabil
MSI-H(igh)	: Mikrosatellit instabilitesi yüksek
MSH-L(ow)	: Mikrosatellit instabilitesi düşük
mTOR	: mammalian Target of Rapamycin
mut/m	: Mutant
NGS	: Yeni jenerasyon sekanslama
P4	: Progesteron 4, pregn-4-en-3,20-dion
PARP	: Poly ADP (Adenosine-di-phosphate) Ribose Polymerase
PCNA	: Proliferating cell nuclear antigen
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PGR	: Progesteron reseptörünü kodlayan gen
PI3K	: Fosfatidilinositol 3-kinaz
PIK3CA	: Fosfatidilinositol 3-kinaz, katalitik, alfa
PIK3R1	: Fosfatidilinositol 3-kinaz, regülatuar subünite 1
PKOS	: Polikistik over sendromu
PMS2	: Protein mismatch system homolog 2

POLE	: Polimeraz, epsilon, katalitik subünite
PR	: Progesteron reseptörü
PRA/PRB	: Progesteron reseptörü A/Progesteron reseptörü B
PTCH	: Protein yamalı homolog (Pathced)
PTEN	: Fosfataz ve tensin homologu
RIA	: Rahim içi araç
RAS	: Rat sarcoma
RAF	: Rapidly accelerated fibrosarcoma
SB/YKS	: Seröz benzeri / Yüksek kopya sayılı
SCC	: Skuamöz hücreli karsinom
SEK	: Seröz endometrium karsinomu
SEER	: Surveillance, Epidemiology and End Results
SMÖİ	: Spesifik moleküler özellik içermeyen
SHBG	: Seks hormon bağlayıcı globulin
ŞHEK	: Şeffaf hücreli endometrium karsinomu
TAHBSO	: Total abdominal histerektomi ve bilateral salpingooferektomi
TCGA	: Kanser Genom Atlası
TİL	: Tümörü infiltre eden lenfosit
TP53	: Tümör protein p53 geni
WHO / DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organisation)
WNT	: Wingless/Integrated

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil.4.1.1.	Uterus anatomisi. Şekil BioRender.com ile tarafımdan oluşturulmuştur.....	8
Şekil.4.1.2.	Menstrüel döngü boyunca, uterin, ovaryan, hormonal ve histolojik değişiklikler şekilde özetlenmiştir. Şekil BioRender.com ile tarafımdan oluşturulmuştur.....	12
Şekil 4.2.1.	ABD, SEER veritabanına göre, yaşa göre ayarlanmış, ırk ayrımı olmadan, uterin kanser insidans ve ölüm oranları gösterilmiştir. Gidişatta izlenen 2020 yılındaki uyumsuzluk, Covid-19 pandemi süreci ile ilişkilendirilmiştir.....	15
Şekil.4.2.2.	Menstrüel siklus fazlarına göre östrojen ve progesteronun endometrial epitelyal ve stromal hücreler arasındaki iletişimi, hormon reseptörleri aracılığı ile etki gösterdikleri sinyal yolları şekilde özetlenmiştir. Detaylı açıklama metin içerisinde yer almaktadır.....	22
Şekil 4.3.1.	Endometrioid karsinom ve seröz karsinomların basitleştirilmiş patogenezi şekilde gösterilmiştir	33
Şekil 4.3.2.	Endometrial kanserlerin moleküler sınıflamasında algoritmik yaklaşım.....	37
Şekil 5.1.1.	Çalışmaya dahil edilebilmiş 108 vakanın (51 MMRd, 57 MMRp), çalışma için seçilme akışı gösterilmiştir.....	51
Şekil 5.1.2.	Her bir vakanın iki farklı bloğundan iki tane birer milimetrelik korlar manuel olarak alınarak, şekildeki cihaz yardımı ile toplam 6 adet TMA bloğu oluşturulmuştur (Beecher Manual Tissue Arrayer, Model-MTA1).....	52
Şekil 5.1.3.	Manuel olarak oluşturulan doku mikrodizin bloklarının dizaynları gösterilmiştir.....	52
Şekil 6.1.1.	AÜTF Tıbbi Patoloji Anabilim dalında, yıllara göre tüm endometrial kanserler, endometrioid tip endometrial kanserler, seröz endometrial kanserler ve diğer endometrial kanserlerin dağılımı gösterilmiştir.....	59
Şekil 6.1.2.	AÜTF Tıbbi Patoloji Anabilim dalında, yıllara göre düşük dereceli ve yüksek dereceli endometrial kanserlerin dağılımı.....	59
Şekil 6.1.3.	AÜTF Tıbbi Patoloji Anabilim dalında yıllara göre, endometrial kanser vakaların FIGO evrelerine göre dağılımı gösterilmiştir	60
Şekil 6.1.4.	AÜTF Tıbbi Patoloji Anabilim dalında yıllar içerisinde endometrioid tip, seröz tip ve tüm endometrial kanserli hastaların ortalama tanı yaşlarının değişimi gösterilmiştir.....	60
Şekil 6.6.1.	MSI/MMRd ve MSS/MMRp grup arasında tümör içi CD3, CD8 ve total CD8 yoğunluklarının karşılaştırması kutu grafiği ile gösterilmiştir	95
Şekil 6.6.2.	MSI/MMRd ve MSS/MMRp grup arasında tümördeki ve stromadaki PD-L1 dansitelerinin karşılaştırması	96
Şekil 6.7.	Tümör hücrelerinde PD-L1 boyanma duruma göre sağkalım grafiği gösterilmiştir.....	99

RESİMLER DİZİNİ

Resim 4.1.	Endometrioid tip endometrium kanserinde görülebilecek varyant morfoloji ve diferansiyasyon paternleri.....	28
Resim 4.2.	MELF tipi invazyon ve lenfovasküler invazyon karşılaştırması.....	29
Resim 4.3.	Endometrial seröz karsinom ve endometrioid karsinom örnekleri.....	33
Resim 5.2.1.	Dijital preparat üzerinde, CD3 pozitif boyanan intratümöral, stromal lenfositlerin işaretlenmesi ve kantitatif analiz örneği.....	54
Resim 5.2.2.	Dijital preparat üzerinde PD-L1 değerlendirmesi	55
Resim 5.2.3.	Dijital preparat üzerinde PD-L1'in tümör stromasında değerlendirilmesi.....	55
Resim 6.2.1.	Mikrosatellit instabilitesi gösteren EEK örneği	67



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo.4.2.1.	Uluslararası Kansere Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından yayınlanan “GLOBOCAN 2020” verilerine göre, melanom dışı deri kanserleri çıkarıldıktan sonra, kadınlarda en sık görülen ilk 10 kanserin Türkiye, Avrupa, ABD ve dünya genelinde dağılımı.....	14
Tablo 4.2.2.	Uluslararası Kansere Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından yayınlanan “GLOBOCAN 2020” verilerine göre, melanom dışı deri kanserleri çıkarıldıktan sonra, kadınlarda kanser ilişkili ölümlere en sık yol açan ilk 10 kanserin Türkiye, Avrupa, ABD ve dünya genelinde dağılımı.	14
Tablo.4.2.3.	Uterin kanserlerin, histolojik tip ve evreye göre 5 yıllık sağkalım oranları	16
Tablo 4.2.4.	FIGO derecelendirme ve evreleme kriterleri	17
Tablo 4.2.5.	Endometrium kanseri ile ilgili bildirilmiş risk faktörleri ve ilişki dereceleri.....	19
Tablo 4.3.1.	Endometrial kanserlerin farklı sınıflandırmaları.....	25
Tablo 4.3.2.	Endometrial kanserlerde ESGO/ESTRO/ESP rehberlerine göre risk stratifikasyonu ve prognostik risk grupları	31
Tablo 4.3.3.	Endometrial kanserlerde ESGO/ESTRO/ESP rehberlerine göre, moleküler sınıflama dahil edilmiş risk stratifikasyonu ve prognostik risk grupları.....	31
Tablo 4.3.4.	Moleküler grupların, histolojik subtiplerde görülme oranları	37
Tablo 4.3.5.	İnsan mikrosatellit onarım sistemi kompleksleri, komplekslerin bileşenleri ve baskın elemanların işlevleri.....	41
Tablo 4.3.7.	MMRd ve MSI-H terminolojilerinin karşılaştırılması.....	42
Tablo 4.4.1.	Antitümöral ve immünsupresif yanıttan sorumlu mikroçevreye ait hücresel elemanlar	45
Tablo.4.4.2.	Endometrial kanserlerde immünsupresif mikroçevredeki temel hücre tipleri ve özellikleri	47
Tablo 6.1.1.	Ocak 2005 – Aralık 2022 tarihleri arasında AÜTF Tıbbi Patoloji Anabilim dalında tanı konan tüm endometrial kanserlerin, histolojik subtip, ortalama yaş, FIGO derece ve evrelerine göre dağılımı	58
Tablo 6.2.1.	Çalışmaya dahil edilen tüm vakaların klinik ve histolojik verilerinin deskriptif özellikleri	64
Tablo 6.2.2.	Tüm vakalara ait immünohistokimyasal analizlerin sonuçları	65
Tablo 6.2.3.	MMR vakaların MMR proteinlerindeki ifade kayıplarının dağılımı ve PCR-MSI testi sonuçları	66
Tablo 6.2.4.	İHK ve PCR-MSI testi sonuçlarının karşılaştırması	66
Tablo 6.2.5.	CD3 ve CD8 boyalı doku mikrodizinin immün kesitlerine ait deskriptif sonuçlar.....	68

Tablo 6.2.6.	CD4 ve CD45 boyalı doku mikrodizin immün kesitlerine ait deskriptif sonuçlar	69
Tablo 6.2.7.	PD-L1 boyalı doku mikrodizin immün kesitlerine ait deskriptif sonuçlar	70
Tablo 6.2.8.	NGS uygulanan hastaların analiz sonuçları	72
Tablo 6.3.1.	MMRd grupta yer alan vakaların klinik ve histopatolojik deskriptif verileri	76
Tablo 6.3.2.	MMRd grupta yer alan vakaların immünhistokimyasal analizlerinin sonuçları	77
Tablo 6.3.3.	MMRd grupta PD-L1 boyalı doku mikrodizin immün kesitlerine ait deskriptif sonuçlar	78
Tablo 6.3.4.	MMRd grupta CD3 ve CD8 boyalı doku mikrodizin immün kesitlerine ait deskriptif sonuçlar	79
Tablo 6.4.1.	MMRp grupta yer alan vakaların klinik, histopatolojik ve immünhistokimyasal özellikleri	82
Tablo 6.4.2.	MMRp grupta, PD-L1 boyalı doku mikrodizin immün kesitlerine ait deskriptif sonuçlar	84
Tablo 6.4.3.	MMRp grupta CD3 ve CD8 boyalı doku mikrodizin immün kesitlerine ait deskriptif sonuçlar	84
Tablo 6.4.4.	MMRp grupta, CD4 ve CD45 boyalı doku mikrodizin immün kesitlerine ait deskriptif sonuçlar	85
Tablo 6.9.	Nekroz ve komedonekrozun diğer histolojik veriler ve mikrosatellit instabilite durumu ile ilişkisi	102
Tablo 6.10.1.	Eksitus gerçekleşen vakalara ait seçili klinik, histopatolojik, moleküler ve immünhistokimyasal veriler	103
Tablo.6.10.2.	Tüm vakalarda, istatistiksel olarak sağkalım ile anlamlı ilişki gösteren parametreler	104
Tablo.6.10.3.	MSI/MMRd vakalarda, istatistiksel olarak sağkalım ile anlamlı ilişki gösteren parametreler	105
Tablo.6.10.4.	MSS/MMRp vakalarda, istatistiksel olarak sağkalım ile anlamlı ilişki gösteren parametreler	106

1. ÖZET

Amaç: Çalışmamızda, CD3, CD4, CD8, CD45, PD-L1 antikorları kullanılarak, mikrosatellit instabil ve stabil endometrioid tip endometrium kanserlerinin, tümör immün mikroçevresi açısından farklılıklarını değerlendirmek; tümör immün mikroçevresinin, histopatolojik veriler ile birlikte hastaların prognozu üzerindeki etkisini araştırmak amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: AÜTF Tıbbi Patoloji Anabilim dalında Ocak 2020 – Aralık 2022 yılları arasında endometrioid tip endometrium kanseri tanısı almış ve MMR sistem defekti açısından immünhistokimyasal olarak araştırılmış, çalışmaya dahil edilme kriterlerini sağlayan, 108 hasta seçildi. Bunlardan 51’inde immünhistokimya ile MMR sistem defekti gösterilmişti (MMRd). 57’sinde İHK ile MMR protein kaybı mevcut değildi (MMRp). 51 MMRd vakası içerisinde, PCR-MSI testi veya NGS ile mikrosatellit instabilitesi gösterilen vakalar “MSI/MMRd” grup (n=35) olarak belirlendi. Moleküler analizler ile mikrosatellit instabilitesi gösterilememiş 16 vaka ve 57 MMRp vaka birlikte “MSS/MMRp” grubu (n=73) oluşturdu. Hastalara ait HE ve MSH2, MSH6, PMS2, MLH1, ER, PR, p53 boyalı preparatlara patoloji arşivinden ulaşıldı. Tüm vakalarda, FIGO evre, FIGO histolojik derece, prognostik risk grubu, lenfovasküler invazyon varlığı ve yaygınlığı, lenf nodu metastazı, myometrial invazyon derinliği, MELF tipi invazyon varlığı ve yaygınlığı, farklı diferansiyasyon paternleri (skuamöz, müsinoz) ve paternlerin yaygınlığı, histolojik varyantlar, nekroz varlığı ve yaygınlığı, komedonekroz, psammomatöz kalsifikasyon varlığı, tümör lokalizasyonu, ER ve PR ile tümör hücrelerinin boyanma yüzdeleri, MSH6, PMS2, MLH1, MSH2 ve p53 ekspresyon durumları yeniden değerlendirildi. Vakaların tümörlü arşiv bloklarından, her vaka için en az 2 en çok 5 adet, 1 milimetre çapa sahip kor seçilerek, 6 adet doku mikrodizin bloğu oluşturuldu. Doku mikrodizin bloklarından hazırlanan CD3, CD4, CD8, CD45 boyalı kesitler dijital patoloji ünitesinde tarandıktan sonra bilgisayar ortamında değerlendirildi, tümör içinde ve tümör stromasında, milimetrekaredeki CD3, CD4, CD8 ve CD45 pozitif boyanan lenfosit sayıları (dansite) hesaplandı. Doku mikrodizin bloklarından hazırlanan PD-L1 kesitleri dijital ortamda değerlendirildi, pozitif boyanan neoplastik hücreler ve boyanmayan neoplastik hücreler sayılarak kombine pozitif skor ve milimetrekaredeki pozitif tümör hücre sayısı hesaplandı. Ayrıca, PD-L1 ile pozitif boyanan stromal mononükleer inflamatuvar hücrelerin, tümör stromasının yüzde ne kadarını kapladığı belirlendi. Tümördeki ve stromal lenfositlerdeki PD-L1 boyanması 2 şekilde gruplandırıldı. Öncelikle, “negatif”, “<%1”, “%1-25”, “>%25”

şeklinde dörtlü, ardından “negatif” ve “pozitif: (<%1) + (%1-25) + (>%25)” şeklinde ikili grup oluşturuldu. Verilerin analizi, SPSS 23.0 (IBM, Armonk, NY, ABD) programı ile yapıldı, $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular: MSI/MMRd grup, MSS/MMRp gruba göre daha ileri evre, yüksek histolojik derece, büyük tümör boyutu göstermiş; daha sık ve daha yaygın MELF tipi invazyon, LVI ve nekroz içermişti. MSI/MMRd grupta lenf nodu metastazı, komedonekroz ve psammom daha sıktı. İntratümöral CD3 ve CD8 pozitif lenfosit yoğunluğu, total CD8 pozitif lenfosit yoğunluğu, stromal lenfositlerdeki ve tümöral hücrelerdeki PD-L1 yoğunluğu MSI/MMRd grupta anlamlı olarak daha fazlaydı. Yaygın MELF tipi invazyon izlenen vakalarda, stromal lenfositlerdeki PD-L1 miktarında artış izlendi. Yapılan sağkalım analizlerinde, mikrosatellit instabilitesi/MMR sistem defektinin sağkalım, nüks, metastaz üzerinde etkisi izlenmemekle birlikte; ileri yaş, lenfovasküler invazyon, lenf nodu metastazı, yüksek derece ve ileri evre, psammom, yaygın nekroz, derin myometrial invazyon yüksek prognostik risk grubu azalmış sağkalım ile ilişkili bulundu. Bunlardan, yaygın LVI, yaygın nekroz ve derin myometrial invazyon nüks/metastaz gelişimi ile de ilişkiliydi. LVI, nekroz yaygınlığı, FIGO derecesi ve myometrial invazyon parametreleri kullanılarak yapılan çok değişkenli Cox analizinde, sağkalım üzerinde, FIGO derecesi ve nekroz yaygınlığı bağımsız prognostik etki göstermekteydi. Ayrıca PD-L1 ile tümör hücrelerinde boyanma izlenmeyen “negatif” grupta sağkalım anlamlı olarak azalmıştı. Tümör içi CD8 pozitif lenfosit yoğunluğunda azalma MSI/MMRd grupta azalmış sağkalım ile ilişkili iken, MSS/MMRp grupta stromal CD4 pozitif lenfositlerde artış, azalmış sağkalım ile ilişkiliydi.

Sonuç: MSI/MMRd grupta kötü prognostik morfolojik bulgular daha sık izlenmektedir; buna rağmen, MSI/MMRd tümörlerin, sağkalım ve nüks/metastaz gelişimi açısından MSS/MMRp gruptan farklılık göstermemesinin nedeni, kuvvetle muhtemel immün mikroçevrelerinin birbirinden farklı olmasıdır. MSI/MMRd grupta, intratümöral CD8 yoğunluğundaki artışın uzamış sağkalım ile ilişkili bulunması da bu düşüncüyü kanıtlamaktadır. Tümör hücrelerinde ve stromal lenfositlerde PD-L1 ifadesinin prognostik önemine dair literatürde çelişkili sonuçlar mevcuttur. Bizim çalışmamızda, tümör hücrelerinde artan PD-L1 ifadesinin uzamış sağkalım ile ilişkili bulunması, PD-L1 ve CD8 pozitif hücre miktarlarının korelasyon göstermesi ile ilişkili olabilir.

Anahtar Kelimeler: Endometrial karsinoma, mikrosatellit instabilitesi, tümör mikroçevresi, prognoz, immün kontrol noktası.

2. ABSTRACT

Aim: The purpose of our study was to evaluate the differences in tumor microenvironments of microsatellite instabile and stable endometrioid type endometrial carcinomas by using CD3, CD4, CD8, CD45, PD-L1 antibodies. It was aimed to investigate the prognostic effect of tumor immune microenvironment together with histomorphological features which may help predicting response to immunotherapy.

Materials and methods: The study group consisted of 108 patients who were diagnosed as endometrioid type endometrial carcinoma at Ankara University Medical School, Pathology Department between January 2020 – December 2022 and met the inclusion criterias. In 51 of these, MMR system deficiency was demonstrated by immunohistochemistry (MMRd group). 57 had no MMR protein loss with IHC (MMRp group). Among MMRd group, the cases showing microsatellite instability by PCR-MSI test or NGS were determined as “MSI/MMRd” group (n=35). Remaining 16 cases that did not show MSI by molecular analyses, and 57 MMRp cases together constituted the “MSS/MMRp” group (n=73). Archival HE, MSH2, MSH6, PMS2, MLH1, ER, PR, p53 stained sections of all cases were reevaluated for FIGO grade, stage, prognostic group, presence and extent of lymphovascular invasion, lymph node metastasis, depth of myometrial invasion, presence and extent of MELF type invasion, presence and extent of squamous and mucinous differentiation, presence and extent of necrosis, comedonecrosis, psammomatous calcification, tumor localisation, hormone receptor status, MMR proteins and p53 expressions. Six tissue-microarray (TMA) blocks were constructed in which each case was represented by at least 2 (max 5) cores of 1 mm size. CD3, CD4, CD8, CD45, PD-L1 stained TMA sections were scanned and evaluated on digital images. CD3, CD4, CD8, CD45 positive lymphocyte densities were calculated for both intratumoral and stromal compartments as follows: number of positive cells/mm². For PD-L1, both density and combined positive scores were calculated for neoplastic cells. For stromal PD-L1 evaluation, percentage of tumor stroma that was covered by PD-L1 positive stromal mononuclear inflammatory cells were estimated. Two different categorisations were used for both stromal and tumoral PD-L1 staining by using %1 and %25 cut-offs (negative, <1%, 1-25%, >25%) followed by “negative” and “positive” groups. Statistical analyses was performed using SPSS 23.0 (IBM, Armark, NY, USA), p<0.05 was considered statistically significant.

Results: The MSI/MMRd group showed more cases with advanced stage, high histological grade, larger tumor size than the MSS/MMRp group. LVI, tumor necrosis and MELF type invasion was more frequent and extensive in the MSI/MMRd group. Lymph node metastasis, comedonecrosis and psammomatous calcification were more common in the MSI/MMRd. Intratumoral CD3 and CD8 positive lymphocyte density, total CD8 positive lymphocyte density, PD-L1 density in stromal lymphocytes and tumor cells were significantly higher in the MSI/MMRd. In cases with extensive MELF, an increase in the PD-L1 staining in stromal lymphocytes was observed. Although there was no difference in terms of survival, recurrence or metastasis between MSI/MMRd and MSS/MMRp cases; clinicopathological features like older age, LVI, lymph node metastasis, high grade, advanced stage, psammoma bodies, extensive necrosis, deep myometrial invasion were found to be associated with decreased survival. Of these, LVI, extensive necrosis and deep myometrial invasion were also associated with recurrence/metastasis. Multivariate Cox analysis using LVI, extent of necrosis, FIGO grade and myometrial invasion showed that FIGO grade and extent of necrosis were independent prognostic factors for survival. In addition, survival was significantly decreased in the group that PD-L1 was totally negative in neoplastic cells. Moreover, increase in intratumoral CD8 positive lymphocyte density was associated with prolonged survival time in the MSI/MMRd group. While, increase in stromal CD4 positive lymphocyte density was associated with decreased survival in the MSS/MMRp.

Conclusions: Although poor prognostic morphological findings were more common in the MSI/MMRd group, there was no difference in terms of survival, recurrence or metastasis between MSI/MMRd and MSS/MMRp cases. The reason of this is thought to be related with the differences in tumor microenvironment among tumor groups. Increased intratumoral CD8 positive lymphocyte density being correlated with better survival as shown in our study which can be considered as a proof of this argument. There are conflicting results in the literature regarding the prognostic significance of PD-L1 expression of neoplastic cells and stromal lymphocytes. In our study, increased PD-L1 expression on tumor cells was found to be associated with prolonged survival, which in fact may be related to the correlation between PD-L1 and CD8 positive cells among all compartments.

Anahtar Kelimeler: Endometrial carcinoma, microsatellite instability, tumor microenvironment, prognosis, immun checkpoint.

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Endometrial kanserler, Türkiye’de ve sosyoekonomik düzeyi yüksek ülkelerde en sık görülen jinekolojik kanserlerdir. İnsidansı her geçen yıl artmaktadır ve gelecekte de artmaya devam edeceği öngörülmektedir. Kadınların kansere bağlı ölümleri sıralamasında başlarda yer alan endometrial kanserlerin, son dekadda mortalitesinde de belirgin bir azalma izlenmemiştir. Çoğunlukla erken evre ve düşük derecede tanı alabilen, bu aşamada cerrahi olarak tedavi edilen ve prognozu iyi seyreden endometrial kanserlerde, beklenmedik rekürensler izlenebilmektedir. Bu nedenle, klinik gidişatın tahmin edilebilmesi ve optimal adjuvan tedavi kararının verilebilmesi için histomorfolojik prognostik parametreler yanısıra moleküler sınıflama kullanılmaktadır.

Endometrial kanserlerin moleküler gruplarından birisi olan , mikrosatellit instabil grup, DNA onarım sistemlerindeki hatalara sekonder yüksek neoantijen yükü barındıran dolayısıyla tümöre karşı gelişecek immün yanıtın yoğun beklendiği tümörleri içerir. Mikrosatellit instabilitesinin araştırılması hem hastaların Lynch sendromu açısından taranmasına olanak sağlarken, hem de prognostik ve prediktif veriler sağlamaktadır. Yüksek mutasyon ve neoantijen yüküne bağlı morfolojik olarak da heterojenite gösteren mikrosatellit instabil tümörlerin prognostik önemi tartışmalıdır. Bu nedenle mikrosatellit instabilitesinin tek başına orta derecede prognostik önemi olduğu kabul edilmekte ve mikrosatellit instabil vakalarda, histopatolojik risk stratifikasyon kriterleri ile birlikte prognoz tayini yapılması önerilmektedir. Prognostik önemi dışında, mikrosatellit instabilitesi immünoterapi yanıtı öngörmeye prediktif belirteçlerden birisi olarak kullanılmaktadır. Mikrosatellit instabil endometrial kanserlerin immün “checkpoint” inhibitör tedavisine daha iyi yanıt verdiğine dair çalışmalar bulunmakla birlikte, bu konu hakkındaki tartışmalar devam etmektedir ve henüz evrensel bir görüş birliği sağlanamamıştır. Tümör heterojenitesi, immün sistemin dinamik doğası ve tümörlerin immün sistemden kaçış için multipl mekanizmalar geliştirmesi, güvenilir prediktif belirteç tayinini zorlaştırmaktadır.

Çalışmamızda, mikrosatellit instabil ve stabil endometrioid tip endometrial kanserlerinin tümör mikroçevresindeki farklılıklarını değerlendirmek ve tümör mikroçevresinin, morfolojik bulgular eşliğinde, hastaların prognozu üzerindeki etkisini araştırmak amaçlanmıştır. Endometrioid tip endometrium kanserleri, en sık endometrial kanserler olması nedeniyle tercih edilmiştir. Değerlendirilmesi planlanan parametreler

açısından kohortun saflığını artırmak amacıyla diğer histolojik subtipler çalışmaya dahil edilmeyecektir.

Ocak 2020 – Aralık 2022 tarihleri arasında AÜTF Tıbbi Patoloji Anabilim dalında tanı almış, tanı aşamalarında mikrosatellit instabilitesi açısından immünhistokimyasal yöntemlerle araştırılmış endometrioid tip endometrial kanser vakaları içerisinde, immünhistokimyasal olarak “mismatch repair” (MMR) sistem defekti gösteren 51, göstermeyen 57 olmak üzere 108 vaka seçilmiştir. 51 vaka içerisinde moleküler PCR-MSI ve NGS analizleri sonucunda mikrosatellit instabilitesi gösterilmiş 35 vaka “mikrosatellit instabilitesi gösteren (MSI/MMRd)” grup içerisinde değerlendirilecek, kalan 73 vaka “mikrosatellit instabilitesi göstermeyen (MSS/MMRp)” grup içerisinde değerlendirilecektir.

Hastalara dair patoloji arşivinde yer alan HE ve MSH2, MSH6, PMS2, MLH1, ER, PR, p53 boyalı kesitler yeniden değerlendirilecek; ayrıca her hastanın tümörlü parafin blokları kullanılarak doku mikrodizin blokları hazırlanacaktır. Morfolojik olarak FIGO derece, evre, myometrial invazyon derinliği, lenfovasküler invazyon, MELF (mikrokistik, elonge, fragmente) tipte myometrial invazyon, varsa farklı diferansiyasyon paternleri ve histolojik varyantlar yanı sıra, nekroz, komedonekroz ve psammomatöz kalsifikasyon değerlendirilecektir. Tümör mikroçevresinin araştırılması için, doku mikrodizin bloklarından hazırlanacak CD3, CD4, CD8, CD45 ve PD-L1 boyalı immün kesitler dijital patoloji ünitesinde taranarak, kantitatif olarak değerlendirilecektir. Ayrıca farklı tedavi hedefleri için belirteç olma olasılığı bulunan BRAF-VE1 ve C-erbB2 immünhistokimyasal boyamaları da doku mikrodizin bloklarından hazırlanacak immün kesitlerde değerlendirilecektir.

Çalışmanın en temel amacı, önemi güncelliğini koruyan ve hakkında sınırlı sayıda literatür bulunan endometrial kanser mikroçevresinin, mikrosatellit instabilitesi ve morfolojik bulgular ile birlikte değerlendirilerek, endometrial kanserlerdeki en temel sorun olan prognoz tayini ve adjuvan tedavi ihtiyacı olan hastaların seçilmesi konusunda patoloğlara ve klinisyenlere yardımcı olabilecek prognostik faktörlerin saptanmasıdır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Uterus Embriyolojisi, Anatomisi, Histolojisi ve Menstrüel Siklus

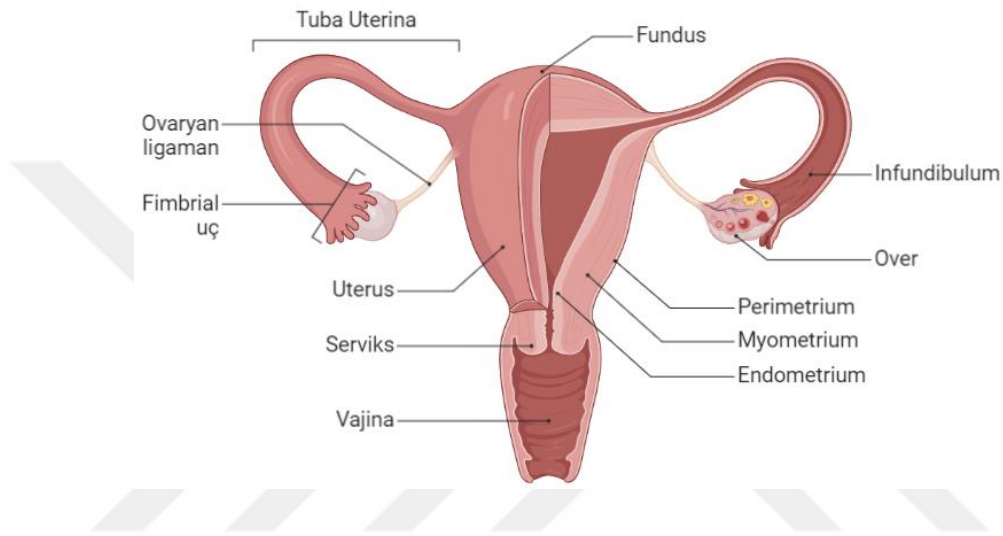
4.1.1. Uterus Embriyolojisi, Anatomisi, Histolojisi

Uterus, korpus ve serviks olmak üzere iki kısımdan oluşur. Doğumda yaklaşık 4 cm uzun çaplıdır ve yenidoğanlarda serviks hacmi baskındır. Uterus duvarı sırasıyla içten dışa endometrium, myometrium ve perimetriumdan oluşur (**Şekil 4.1.1**). Uterin korpus endomyometriumu, postovulatuvar 8-9.haftalarda, mülleryan (paramezonefrik) kanalların füzyonu ile oluşur. Ektoserviks ve vajenin üst 2/3'ünün epiteli, vajinal mülleryan kökenli iken, alt 1/3'ü ürogenital sinüsten gelişir. Endoservikal glandüler epitel ise, uterin mülleryan orijinlidir (1, 2). Gestasyonun 20.haftasına kadar, endometrium tek katlı kolumnar epitel ve kalın bir fibroblastik stromadan ibarettir. 20.haftadan sonra, yüzey epiteli, stromaya invajine olmaya başlar ve myometriuma doğru uzanan glandüler yapıları oluşturur. Doğum anında endometrium kalınlığı 0.5 mm'den incedir, yüzey epiteli ve bezleri döşeyen epitel, kısa kolumnar/küboidal özelliktedir, proliferatif veya sekretuar aktivite göstermez, bu hali postmenapozal endometriuma benzetilir. Puberte öncesi endometrium inaktif kalmaya ve serviks uterusun baskın hacmini oluşturmaya devam eder. Üreme çağında ise, normal uterus boyutları ve ağırlığı kişinin parite durumuna göre yaygın değişkenlik gösterecek şekilde artış gösterir. Nullipar kadınlarda yaklaşık 8 cm uzun çaplıdır ve yaklaşık 40-100 gramdır. Parite arttıkça büyür, uzar ve ağırlığı artar (3).

Korpus ve serviksi, fibromuskuler internal os ayırır. Uterin korpus, fundus, gövde ve istmus kısımlarından oluşur. Fundus, fallopi tüplerinin orifislerinin üst kısmına, istmus ise alt uterin segmente karşılık gelir (**Şekil 4.1.1**). Uterusun posteriorunda rektum, anteriorunda mesane bulunur, pelvik peritonla kaplıdır ve ligamanlarla (ligamentum teres uteri, ligamentum ovarii proprium) desteklenir. Üreme çağında, endometrium siklik değişiklikler gösterir. Bu siklik morfolojik değişiklikler özellikle endometriumun üst 2/3'ünde belirgindir (fonksiyonel tabaka). Bazal tabakada (alt 1/3) ise morfolojik değişiklikler minimaldir.

Endometrium vasküler yapılardan zengindir. Myometrial radyal arterler endometriuma düzenli aralıklarla penetrasyon göstererek bazal arterleri, bazal arterler ise horizontal ve vertikal dallanarak endometriumun bol miktarda kanlanmasını sağlayacak damar yapısını oluşturur. Fonksiyonel tabakadaki endometrial damar yapıları, özel olarak spiral arterioller olarak

adlandırılır. Spiral arteriollerin gelişimi, dallanması, bağlantılar oluşturarak yüzey epiteli altında prekapiller sistem oluşturmaları ve menstrüel siklusta yaygın katlanma, tortuozite göstermeleri, ovaryan steroid hormonlar ve prostaglandinler sayesinde gerçekleşir. Endometrial ve myometrial arterleri birbirinden, endometrial arterlerde subendotelyal elastik dokunun olmaması ayırır. Ancak bazalde, endometriuma penetrasyon göstermekte olan myometrial arterlerin bulunabileceği unutulmamalıdır. Endometrial venler ve arterler, bezler ve lenfatikler birbirleriyle yakın komşuluk halindedir. Uterin lenfatikler, subserozal plexuslar aracılığı ile pelvik ve paraaortik lenf nodüllerine drene olur (3).



Şekil.4.1.1. Uterus anatomisi. Şekil BioRender.com ile tarafımdan oluşturulmuştur.

İmmünohistokimyasal olarak, normal endometrial bez ve stroma ER ve PR pozitifdir. Endometrial glandlar, proliferatif fazda Bcl2 ile diffüz boyanır. Boyanma şiddeti, erken ve mid sekretuar fazlarda azalır, geç sekretuar fazda tekrar artar (4). Endometrial glandlar ayrıca CK7 pozitif, CK20 negatiftir. Endometrium stroması CD10, Bcl2, SMA pozitif; CD34 ve desmin negatiftir. Serviks stroması ise aksine genellikle CD10 ve Bcl2 negatif, CD34 pozitifdir. Alt uterin segmentte ise örtüşen immünohistokimyasal özellikler olabilir. Normal endometriumda değişken kompozisyonlarda hematopoietik hücreler izlenir. Lenfositler özellikle proliferatif fazda, germinal merkezi belirgin foliküller veya agregatlar oluşturabilir. Ayrıca postmenapozal dönemde de bazal endometriumda lenfoid agregatlar bulunabilir. İmmünohistokimyasal olarak endometriumdaki lenfositlerin yaklaşık %1'i B lenfosit olup, çoğunluğunu T lenfositler oluşturur. Özellikle sekretuar fazla CD56 pozitif NK hücreleri de bol miktarda izlenebilir. Menstruasyon fazı hariç diğer fazlarda, az miktarda nötrofil vardır. Plazma hücresi beklenmemekle birlikte, seyrek tek tük varsa ve morfoloji normal görünüyor ise, kabul edilebilir, ancak plazma hücresi varlığı daha çok endometritte beklenir (3). Mast hücreleri endometriumda bazal tabakada izlenebilir; ayrıca myometriumda, endometrial poliplerde de

olabileceği gibi bazen leiomyom içerisinde çok yüksek miktarda izlenebilir. Histiositler de normal endometriumda görülebilir, eozinofil beklenmez (3).

4.1.2. Menstrüel Siklus

Üreme çağı boyunca, hipotalamus ve hipofizin kontrolünde overden salgılanan hormonlara yanıt olarak, endometriumda döngüsel proliferasyon, farklılaşma ve dökülme gerçekleşir. Endometrium morfolojisi hormon seviyelerine bağımlı bir şekilde sürekli değişkenlik gösterir (5, 6). Siklusun proliferatif fazında, endometrium nispeten stabil bir morfolojiye sahiptir. Günden güne küçük farklılıklar görülebilmekle birlikte siklusun net gününü belirlemek mümkün değildir. Ovulasyonu takiben sekretuar fazda, nispeten günden güne daha belirgin değişiklikler mevcuttur. Ancak endometrial siklik histolojik gün tayini kriterlerinin, tarihsel olarak açıklanandan çok daha az ayırt edici olduğunu belirtilmiştir (7). Siklus gün tayini geçmişte infertilite kökeni araştırmak için kullanılırken, günümüzde endometrial örneklemelerin çoğu, anormal uterin kanama şikayetinin sebebini araştırmaya yönelik yapılmaktadır ve siklus günü çok nadiren sorgulanmaktadır. Menstrüel siklus, kişiden kişiye değişmekle birlikte ortalama 28 gündür. Kişiler arası farklılık, siklusun proliferatif ve menstrüasyon fazındaki değişkenliklerine bağlıdır, sekretuar faz genellikle sabittir. Üreme çağında, hormona yanıt veren, morfolojisi değişkenlik gösteren ve menstrüasyonda dökülen tabaka fonksiyonel tabakadır, dökülen fonksiyonel tabakayı tekrar bazal tabaka oluşturur. Bazalde inaktif bezler ve inaktif stroma mevcuttur. Bezler genellikle düzgün aralıklı ve yüzeye dik yerleşir. Bazaldeki spiral arterlerin kas tabakası fonksiyonel tabakadakilerden kalındır. Tamamen bazal tabaka içeren bir örnek, siklus gün tayini belirlemek için yetersizdir. Ayrıca alt uterin segmentin de hormonlara az yanıt verdiği, siklus boyunca ciddi morfolojik değişiklik göstermediği ve gün tayininde kullanılamayacağı unutulmamalıdır. Ayrıca polip, endometrit ve başka patolojik lezyonların varlığında doğru siklus gün tayini yapmak genellikle mümkün değildir (3).

4.1.2.1. Proliferatif Faz

Siklusun birinci günü, menstrüasyonun başladığı birinci gündür. Endometrium yaklaşık olarak 3-4.günlerde östrojen etkisi ile birlikte proliferasyona başlar. Proliferatif faz süresince kalınlığı 4-5 milimetreyi bulabilir. 5-14.günlerde, endometriumda kalınlaşma, glandüler, stromal ve vasküler büyüme gerçekleşir. Endometrial glandlar uniformdur, birbirlerinden düzgün ve geniş aralıklarla ayrılırlar. Basit tübüler arkitektür gösterirler. Nadiren hafif dilate bezler görülebilir. Stromada daha az olmak üzere, stroma ve bezlerde mitozlar seçilir. Glandüler

epitel psödostratifiye küboidal/kısa kolumnar özellikte olup orta miktarda bazofilik sitoplazma içerir. Yuvarlak-oval şekilli, küçük nükleol içerebilen nükleuslar, bazal membrana dik yerleşimlidir. Proliferatif aktivite 8-10.günlerde maksimum seviyesine ulaşır ve bu noktada glandüler epitel daha stratifiye, mitozlar daha sık izlenir. Proliferatif faz boyunca, endometrial stroma genellikle yoğun hücresellik içerir, stromal hücreler küçük, oval, hiperkromatik nükleuslu, sınırları ve sitoplazmaları ayırt edilemeyen hücrelerdir. Arada seyrek ince duvarlı stromal damarlar mevcuttur. Folikül benzeri lenfoid agregatlar görülebilir. Geç proliferatif fazda, bez yapılarında tortuozite, değişken şekil ve büyüklük, subnükleer vakuoller izlenmeye, mitoz azalmaya, stromal ödem oluşmaya başlar (3).

4.1.2.2. Sekretuar Faz

Progesteron etkisinde gerçekleşen, glandüler sekresyon, tortuozite ve kalabalıklaşma; stromal matürasyon, vasküler farklılaşma ve endometrial kalınlık artışı (7-8 mm) ile karakterli fazdır. Erken (16-18.gün), mid (19-23.gün) ve geç sekretuar (24-28.gün) olmak üzere birbirleriyle devam eden, keskin sınırlarla ayrılamayan 3 fazdan oluşur. Erken sekretuar fazda endometrial bezler hala tübüler görünebilir, mitoz izlenebilir. Geç proliferatif fazda seçilmeye başlayan subnükleer vakuoller, öncelikle seyrek ve irregülerken, zamanla progresif olarak sayı ve dağılımları artar. Ovülasyonun morfolojik bulgusu glandların ve hücrelerin %50'sinden fazlasında subnükleer vakuol görülmesidir. Erken sekretuar fazda özellikle fonksiyonel tabakanın ortalarında daha belirgindirler. Geç proliferatif ve erken sekretuar fazların stromaları ayırt edilemez. Mid-sekretuar faza doğru sitoplazmik vakuoller supranükleer hale gelmeye, lümene doğru ilerlemeye başlar ve dolayısıyla glandüler sekresyon miktarında artış görülür. Ancak bezlerin lümeninde izlenen sekresyonun sekretuar endometriumla özgül olmadığını bilmek gereklidir, proliferatif faz, hiperplastik ve malign süreçlerde de görülebilir. Mid-sekretuar bezlerde mitoz artık belirgin değildir. Fonksiyonel tabakanın yüzeyindeki bezler nispeten daha az sekretuar aktivite gösterir, bu durum yüzeyel biyopsilerde yanılmaya neden olabilir. Sekretuar faz boyunca stromal ödem progresif olarak artar, spiral arterioller belirginleşir, spiral arteriollerin çevresindeki stromal hücrelerde sitoplazmik eozinofili artışı ile karakterli predesidualizasyon görülür. Geç sekretuar fazda, sekretuar aktivite azalır, bez epitelinde taraklanma, yüzeyel stromada predesidualizasyonda artış izlenir. Derin tabakalarda daha az predesidual değişiklik gözlenir. Bazen predesidual hücreler iğsi, hatta taşlı yüzük hücre morfolojisinde görünebilir. Geç sekretuar fazda menstruasyon öncesi, stromada lenfositler ve seyrek nötrofiller görülebilir, endometrit ile karıştırılmamalıdır. Geç sekretuar endometriumda bezler birbirlerine çok daha yakın yerleşimlidir, yüzeyde endometrial hiperplaziye

benzetilebilir ancak mitoz yoktur. Bazen Aries-Stella reaksiyonuna benzer görünüm olabilir, gebelikle karıştırılmamalıdır. Menstrüasyon öncesi bezlerde apoptozis, küçük damar yapılarında fibrin trombus ve stromaya eritrosit ekstrasvazasyonu başlar (3).

4.1.2.3. Menstruasyon Fazı

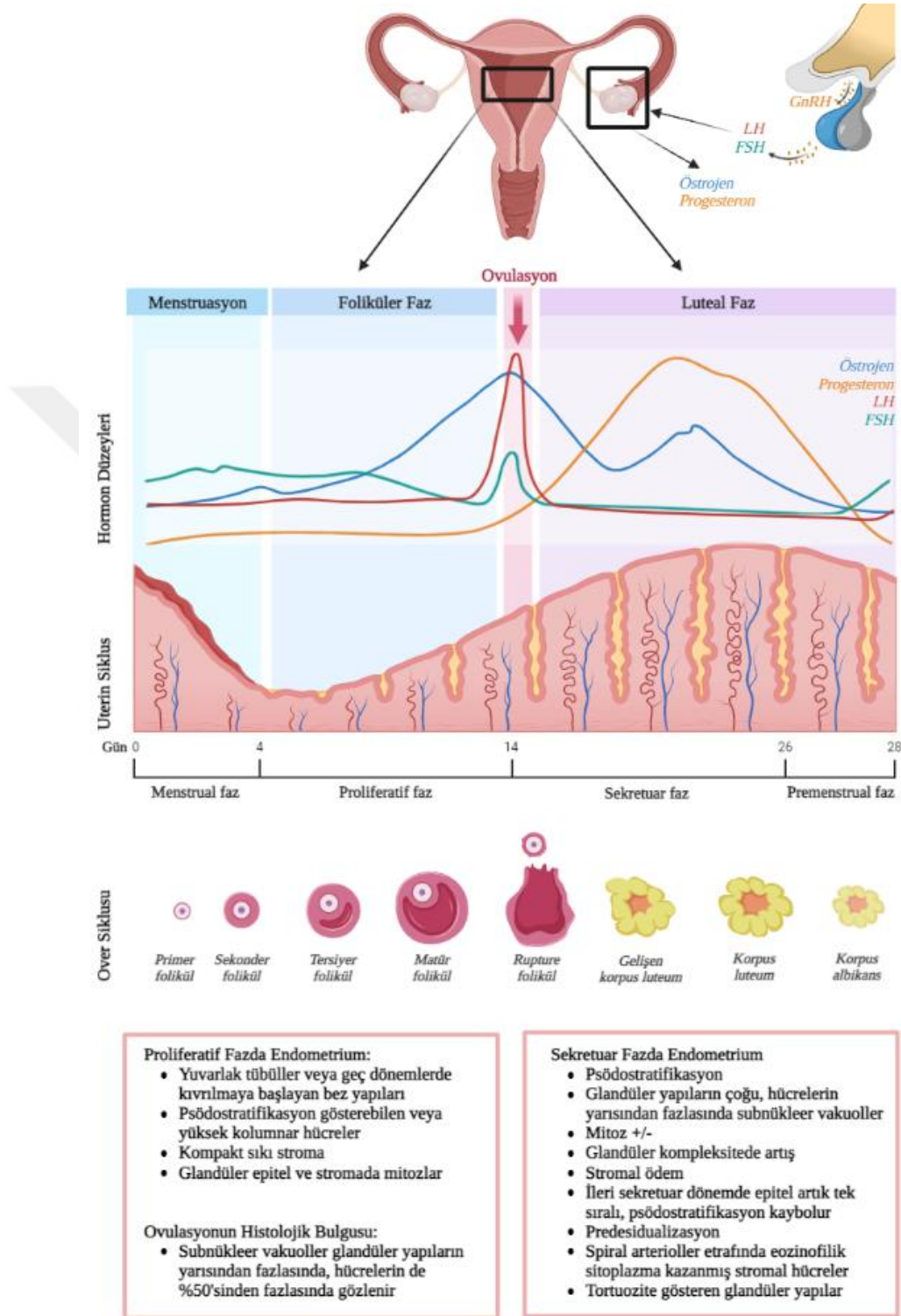
Menstruasyon, ortalama 4 gün süren, glandüler ve stromal yıkım bulgularının izlendiği fazdır. Stromal hücrelerdeki predesidualizasyon kaybolur, stroma kondanase olur, parçalanır, stromal hücreler glandüler yapılardan ayrılmış küçük sıkı hiperkromatik topluluklar halinde izlenir (stromal mavi topçuklar, “*stromal blue balls*”). Ayrıca menstrüel fazda, nekrotik debri, nötrofilik infiltrasyon, interstisyel kanama, fibrin depozitleri, gland ve stromada apoptotik cisimler izlenir (3). Bazen, stromal doku izlenmediği veya çok az kaldığında, bez yapıları sırt sırta vererek sıkıca paketlenir, hiperplazi ya da karsinom şüphesi yaratabilir. Yıkımı takiben, endometrial bezlerin yüzeyinde mikropapiller görünüm izlenebilir. Papiller sinsityal metaplazi olarak isimlendirilen bu görünüm, aslında bir metaplazi olmaktan ziyade, doku yıkımına sekonder dejeneratif/rejeneratif bir süreçtir, mitoz ve epitel içinde nötrofiller de içerebilir. Papiller sinsityal metaplazi, menstruasyon ilişkili olmayan yıkım durumlarında da gerçekleşebilir, nadiren özellikle arkitektür çok belirgin olup, mitoz da göze çarptığında seröz karsinom kuşkusu yaratabilir, ayırıcıda p53 immünohistokimyası uygulanabilir. Seröz karsinomda diffüz, kuvvetli; papiller sinsityal metaplazide zayıf, heterojen yabancı tipte p53 boyanması beklenir (8).

4.1.3. Menstrüel Siklusun Hormonal Kontrolü

Endometriumda, menstrüel siklus boyunca tariflenen fizyolojik ve morfolojik hadiseler, hipotalamik-pituiter-ovaryan yolağın kontrolü altında gerçekleşir. Epitelyal ve stromal hücreler üzerinde asıl etki gösteren, ovaryan kaynaklı östrojen ve progesteron hormonudur. Yine östrojen ve progesteron, hipotalamus ve hipofiz üzerinde, negatif ve pozitif geribildirim mekanizmaları sayesinde, ovülasyon ve siklus düzenlenmesinde işlev görür. Siklus boyunca östrojen ve progesteronun endometriumdaki konsantrasyonları değişkendir (Şekil.4.1.2).

Ovaryan granüloza hücrelerinden, hipofizer FSH etkisi altında salgılanan östrojen, stromal hücrelerdeki reseptörleri aracılığıyla büyüme faktörlerinin (IGF1, IGF2, EGF vb.) sentezini sağlar. Stromal hücrelerden gelen büyüme faktörleri ve epitelyal hücrelerdeki reseptörleri aracılığıyla da DNA transkripsiyon regülasyonu ve çeşitli hücresel yollar üzerinden epitelde mitojenik etki gösterir. Östrojenin ER α ve ER β olmak üzere iki tip nükleer

reseptörü mevcuttur. Östrojen reseptörlerinin %90-95'i nükleer reseptör olmakla birlikte sitoplazmik membranda daha az oranda G protein ilişkili östrojen reseptörü (GPER) tanımlanmıştır. Uterustaki başlıca reseptör subtipi ER α 'dır.



Şekil.4.1.2. Menstrüel döngü boyunca, uterin, ovaryan, hormonal ve histolojik değişiklikler şekilde özetlenmiştir. Şekil BioRender.com ile tarafımdan oluşturulmuştur

Ovülasyonu takiben LH etkisinde gelişen korpus luteumdan salgılanan progesteron hormonu ise PRA ve PRB reseptörleri aracılığıyla, östrojenin stroma ve epitel üzerindeki etkisini baskılayarak, mitojenik etkiyi durdurup endometrial glandların farklılaşmasını indükler.

Özetle, endometriumun fonksiyonel tabakasında, steroid hormonlar arasındaki dialog sonucunda gerçekleşen bu süregelen ve dinamik süreç, stromal ve epitelyal hücrelerde gözlenen hücre çoğalması ve programlanmış hücre ölümü ile karakterize hassas bir dengeden ibarettir.

4.2. Uterin Korpus Kanserinlerde Epidemiyoloji, Klinik Özellikler, Etiyoloji ve Risk Faktörleri

4.2.1. Epidemiyoloji

Endometrial kanserler, uterin korpusun en iç tabakası olan endometriumdan köken alırlar. Gelişmiş ülkelerde, uterusu en sık rastlanan malign tümör grubunu oluşturmaktadırlar. Bu nedenle endometrium kanserlerine ait epidemiyolojik veriler, epidemiyoloji veri tabanlarında yer alan “Uterin Korpus Kanseri” alt grubu ile bağdaştırılarak sunulmuştur.

Uterin korpus kanserleri, sosyoekonomik düzeyi yüksek ve gelişmiş ülkelerde en sık, dünya genelinde ise ikinci en sık jinekolojik kanserlerdir (9, 10). Dünya genelinde, kadınlarda görülen tüm kanserler arasında ise altıncı sıklıktadır (10). Kadınlar için, kansere bağlı ölümlerin de önde gelen nedenleri arasında yer almaktadır. Epidemiyolojik verilere göre, uterin kanserler, kadınların kansere bağlı ölümleri sıralamasında, Amerika Birleşik Devletleri’nde altıncı, İngiltere’de dördüncü sıradadır (11). Gelişmiş ülkelerde, kadınlardaki kanser ilişkili ölümlerin yaklaşık %2’sini uterin kanserler oluşturmaktadır (11). Türkiye’de ise, en son 2021 yayınlanan 2017 yılına ait verilere göre, en sık rastlanan jinekolojik kanser olmasının yanında, kadınların en sık beşinci kanseridir ve kadınların kansere bağlı ölümleri sıralamasında onuncu sırada yer almaktadır (11, 12). Uterin korpus kanserleri ile ilişkilendirilerek oluşturulmuş epidemiyolojik verilerin özetleri **Tablo 4.2.1. ve 4.2.2’de** gösterilmiştir. Dünya genelinde, 2020 yılında, 97 binden fazla kadının ölümüne neden olan, insidansı 417 bini geçen uterin korpus kanserlerinin, insidans oranları ülkeler arasında farklılıklar göstermekle birlikte, Kuzey Amerika ve Avrupa’da, dünyanın diğer bölgelerine göre daha yüksek olduğu dikkati çekmektedir (11, 13). Amerika Birleşik Devletlerinde, uterin kanser insidansının 1970’li yıllarda en üst rakamlara ulaştığı görülmüş, bu durum dengelenmemiş ekzojen östrojen hormon kullanımı ile ilişkili bulunmuştur (14). Dengelenmemiş östrojen kullanımının karsinojenik olduğu fark edildikten ve

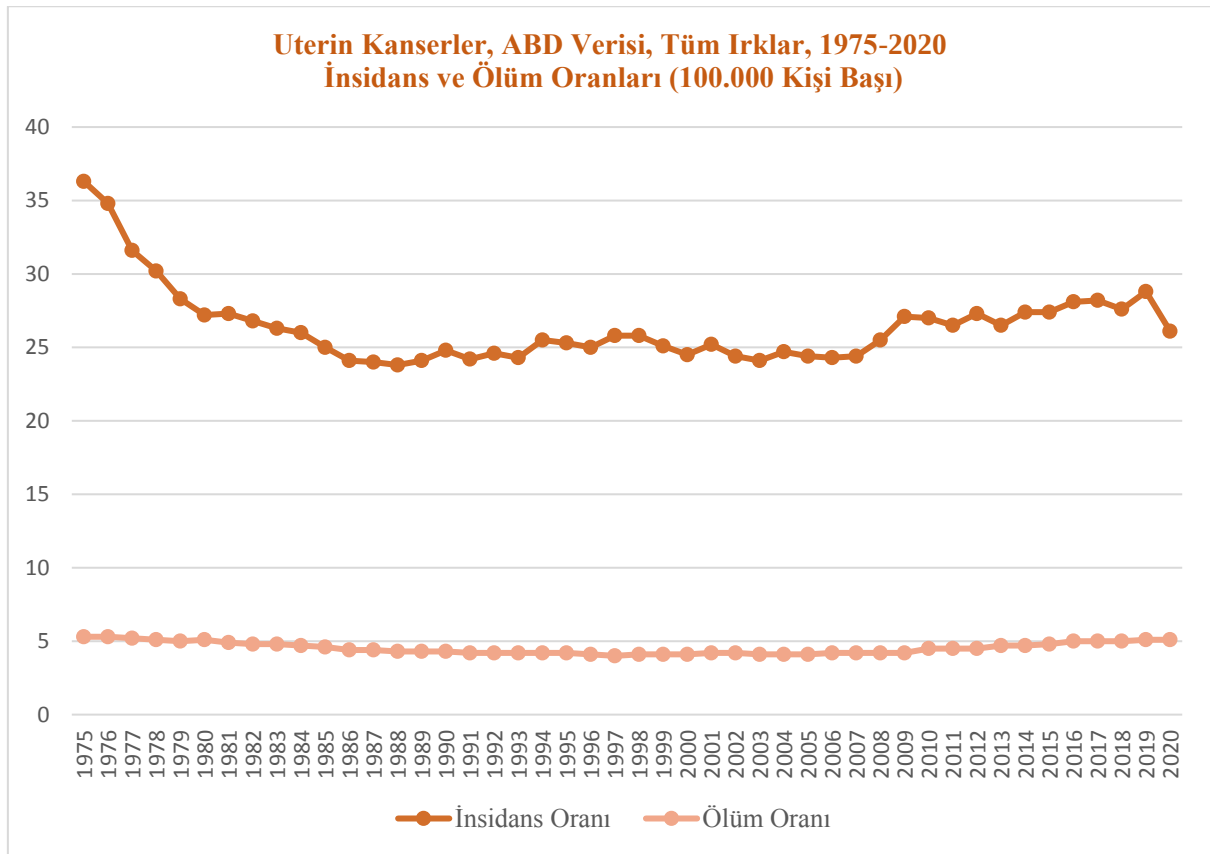
ABD’de bu ürünlerin kullanımı azaltıldıktan sonra, insidans oranlarının 90’lı yılların başlarına kadar düştüğü, 90’lı yıllardan 2006 yılına kadar durağan seyrettiği ve 2006 yılından sonra artış göstermeye başladığı gözlenmiştir. Beş yıllık sağkalımı %80’in üzerinde hesaplanan uterin kanserlerin mortalitesi ise son birkaç dekaddır ya hafif azalmakta ya da durağan seyretmektedir; ancak 2009 yılından sonra çok hafif bir artış izlenmeye başlamıştır (**Şekil.4.2.1**) (14, 15).

Tablo.4.2.1. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından yayınlanan “GLOBOCAN 2020” verilerine göre, melanom dışı deri kanserleri çıkarıldıktan sonra, kadınlarda en sık görülen ilk 10 kanserin Türkiye, Avrupa, ABD ve dünya genelinde dağılımı.

	Türkiye	Dünya	Orta ve Doğu Avrupa	ABD
1	Meme	Meme	Meme	Meme
2	Tiroid	Kolorektal	Kolorektal	Akciğer
3	Kolorektal	Akciğer	<u>Uterin Korpus</u>	Kolorektal
4	Akciğer	Serviks	Akciğer	<u>Uterin Korpus</u>
5	<u>Uterin Korpus</u>	Tiroid	Serviks	Deri Melanomu
6	Mide	<u>Uterin Korpus</u>	Over	Tiroid
7	Over	Mide	Mide	NonHodgkin Lenfoma
8	Pankreas	Over	Tiroid	Pankreas
9	Lösemi	Karaciğer	Pankreas	Böbrek
10	Santral Sinir Sistemi	NonHodgkin Lenfoma	Böbrek	Lösemi

Tablo 4.2.2. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından yayınlanan “GLOBOCAN 2020” verilerine göre, melanom dışı deri kanserleri çıkarıldıktan sonra, kadınlarda kanser ilişkili ölümlere en sık yol açan ilk 10 kanserin Türkiye, Avrupa, ABD ve dünya genelinde dağılımı.

	Türkiye	Dünya	Orta ve Doğu Avrupa	ABD
1	Meme	Meme	Meme	Akciğer
2	Akciğer	Akciğer	Kolorektal	Meme
3	Kolorektal	Kolorektal	Akciğer	Kolorektal
4	Mide	Serviks	Pankreas	Pankreas
5	Pankreas	Mide	Mide	Over
6	Over	Karaciğer	Over	<u>Uterin Korpus</u>
7	Santral Sinir Sistemi	Pankreas	Serviks	Karaciğer
8	Karaciğer	Over	<u>Uterin Korpus</u>	Lösemi
9	Lösemi	Özofagus	Santral Sinir Sistemi	NonHodgkin Lenfoma
10	<u>Uterin Korpus</u>	Lösemi	Karaciğer	Santral Sinir Sistemi



Şekil 4.2.1. ABD, SEER veritabanına göre, yaşa göre ayarlanmış, ırk ayrımı olmadan, uterin kanser insidans ve ölüm oranları gösterilmiştir. Gidişatta izlenen 2020 yılındaki uyumsuzluk, Covid-19 pandemi süreci ile ilişkilendirilmiştir (15, 16).

Çalışmalar uterin kanserlerin insidans oranlarının önümüzdeki yıllar içerisinde artmaya devam edeceğini ön görmektedir (17, 18). Toplam popülasyondaki yaşlı nüfus oranındaki ve obezitedeki artış, uterin kanser yükünün artarak devam edeceğini ortaya koymaktadır.

4.2.2. Klinik Özellikler

Uterin korpus kanserlerinin en büyük grubunu oluşturan endometrial kanserler, çoğunlukla postmenapozal dönemdeki kadınların hastalığıdır. Alt tiplerine göre yaş aralıkları farklılık göstermekle birlikte, endometrial kanser vakalarının %90'ından fazlası 50 yaşın üstündeki kadınları ilgilendirmektedir, ortalama yaş 63'tür (19). Endometrial kanserli kadınların büyük kısmı anormal vajinal kanama veya akıntı şikayeti ile kliniğe başvurur ki bu durum, erken tanıya olanak sağlamaktadır (20). Hastalığın 5 yıllık sağkalımı %80'in üzerinde olmakla birlikte, ileri derece ve ileri evredeki vakalar yanı sıra; non-endometrioid karsinomlarda prognoz kötü seyretmektedir (**Tablo.4.2.3**). Güncel klinik yaklaşımda ana tedavi basamağı, cerrahi olarak uterusun, adneksiyel yapılar, overler ve/veya pelvik/paraaortik lenf nodülleri ile birlikte çıkarılmasıdır (Total abdominal histerektomi, bilateral salpingooferektomi

(TAHBSO) ve/veya pelvik/paraaortik lenfadenektomi). Risk değerlendirmesinin ardından, gerekli görüldüğü durumlarda, adjuvan hormon tedavisi, kemoterapi, radyoterapi, vajinal brakiterapi uygulanabilmektedir (21).

Tablo.4.2.3. Uterin kanserlerin, histolojik tip ve evreye göre 5 yıllık sağkalım oranları

	Tüm evreler (%)	Lokalize (%)	Bölgesel (%)	Uzak metastaz (%)
Tüm uterin kanserler	81.0	94.9	69.8	18.4
Endometrioid karsinom	91.5	97.6	79.9	43.4
Seröz karsinom	48.4	82.1	47.6	17.0
Şeffaf hücreli karsinom	60.2	86.8	58.3	23.2

(Kaynak: Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program (www.seer.cancer.gov) SEER*Stat Database. National Cancer Institute, DCCPS, Surveillance Research Program, Surveillance Systems Branch) (22).

Endometrial kanserlerde tanımlanan kötü prognostik özellikler; ileri yaş (>65), tümör boyutu (>2 cm), lenfovasküler invazyon, %50'nin üzerinde myometrial invazyon, alt uterin segmentte tümör varlığı, ER ve PR ifade kaybı, adneks tutulumu, lenf nodu metastazı, FIGO derece 3 morfoloji, ileri FIGO evresi (III, IV), seröz, şeffaf hücreli karsinom veya karsinosarkom varlığı olarak özetlenebilir (23). Güncel FIGO dereceleme ve evreleme sistemi **Tablo.4.2.4'te** özetlenmiştir, FIGO sistemi tüm endometrial kanser histopatolojik subtiplerinde kullanılmaktadır bilinen en güçlü prognostik parametrelerin başını çekmektedir (24).

Tablo 4.2.4. FIGO dereceleme ve evreleme kriterleri

FIGO Evre		TNM	Tanımı
FIGO I	IA	T1a N0 M0	Tümör endometriumda veya myometrium iç ½'sinde sınırlıdır.
	IB	T1b N0 M0	Tümör myometriumun dış ½'sine invazedir.
FIGO II		T2 N0 M0	Tümör serviksin stromasına infiltredir, uterusu aşmamıştır.
FIGO III	IIIA	T3a N0 M0	Tümör seroza ve/veya adnekslere infiltredir (direkt yayılım veya metastaz).
	IIIB	T3b N0 M0	Tümör vajen veya parametriumu infiltredir (direkt yayılım veya metastaz).
	IIIC1	T1-3 N1mi M0	Pelvik lenf nodunda mikrometastaz (0.2-2 mm).
		T1-3 N1a M0	Pelvik lenf nodunda makrometastaz (>2 mm).
	IIIC2	T1-3 N2mi M0	Paraaortik lenf nodunda mikrometastaz. (0.2-2 mm)
		T1-3 N2a M0	Paraaortik lenf nodunda makrometastaz (>2 mm).
FIGO IV	IVA	T4 N(hepsi) M0	Tümör mesane ve/veya rektal mukozaya infiltredir.
	IVB	T4 N(hepsi) M1	Klinik veya mikroskopik saptanmış uzak metastaz (Abdominal yayılım, inguinal lenf nodu metastazı dahil)
FIGO Derece*			Tanımı
Derece 1 (Düşük dereceli)		İyi diferansiye	<%5 Solid komponent oranı
Derece 2 (Düşük dereceli)		Orta diferansiye	%6-50 Solid komponent oranı
Derece 3 (Yüksek dereceli)		Kötü diferansiye	>%50 Solid komponent oranı

*:FIGO histolojik derecelendirmesinde skuamöz diferansiyasyon alanları solid alan yüzdesine eklenmez ve neoplastik hücrelerin %50'sinden fazlasında yüksek nükleer atipi izlenmesi evreyi tek başına bir derece artırır.

4.2.3. Etiyoloji ve Risk Faktörleri

Tarihsel olarak, Bokhman'ın 1983'teki ilk endometrial karsinom klasifikasyonundan beri, seks steroid hormonlarındaki dengesizlikler, daha spesifik tabirle, endometriumun progesterona oranla aşırı östrojen tarafından stimülasyonu, endometrial kanserlerin (özellikle Bokhman tip 1) patogenezinde ana etken olarak sorumlu tutulmaktadır (25, 26). Progesteron tarafından dengelenmemiş yüksek östrojenin, endometrium üzerindeki mitojenik etkisi sayesinde, replikasyon sırasında onkogen ve tümör supresor genlerde ortaya çıkabilecek mutasyonlar neticesinde, endometrial hücrelerin neoplastik klonal transformasyon ihtimalinin artacağı, bu konudaki yaygın anlayışı oluşturmaktadır (27). Progesteron tarafından etkisi dengelenmemiş östrojen etiolojisini bir çatı olarak kabul edersek, bu çatı altında, destekleyici bir çok kanıt bulmak mümkündür. Öncelikle, sağlıklı premenapozal kadınlarda, endometriumdaki proliferasyonun en çok menstrüel siklusun proliferatif fazında, yani östradiol seviyelerinin en tepede, progesteron seviyelerinin ise en düşük olduğu zaman gerçekleştiği bilinmektedir. Menstrüel siklusun sekretuar fazında progesteron seviyesindeki artış ile endometriumdaki hücre bölünmesinin durulduğu ve menstrüasyon öncesinde de apoptozisin başladığı bilinmektedir. Endometrial karsinom riski ve kanda yüksek östradiol seviyeleri arasında pozitif ilişki gösteren çalışmalar da mevcuttur (28, 29). Epidemiyolojik çalışmalarda da hayat boyu, özellikle östrojen olmak üzere seks steroid hormonlarına daha uzun süre veya daha fazla maruziyete neden olan erken menarş veya geç menapoz yaşı, postmenapozal dengelenmemiş ekzojen östrojen hormon kullanımının endometrium kanser riskini artırdığı gösterilmiştir. Aksine, östrojene maruziyeti azaltıcı veya dengeleyici etkisi bulunan, progesteron baskın bir dönem olan gebelik sürecinin, dolayısıyla paritenin, postmenapozal dönemde progesteron da içeren kombine hormon preparatlarının kullanımının endometrial kanser riskini azalttığı gösterilmiştir (**Tablo.4.2.5**) (30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43).

Endometrial kanserlerin patogenezindeki ana yolak olan hormonal dengesizlikler yanı sıra, risk faktörleri açısından yapılan çalışmalarda, aşırı adipozite, yüksek vücut kitle indeksi, fiziksel aktivite, diyabet, metabolik sendrom, PKOS, sigara, alkol, nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar, endometriozis, uterin leiomyomlar, pelvik inflamatuvar hastalık öyküsü, cinsel yolla bulaşan hastalıklar araştırılmıştır.

Tablo 4.2.5. Endometrium kanseri ile ilgili bildirilmiş risk faktörleri ve ilişki dereceleri

Risk Faktörü (Kaynakça)	İlişki Derecesi
Östrojen içerikli, kontraseptif amaçlı olmayan hormon kullanımı (30)	Riskte 2.3 kat artış
Östrojen ve progestin içerikli, non-kontraseptif hormon kullanımı (31)	Riskte %22 azalma
Tamoksifen kullanımı (32)	Riskte 2.7 kat artış
Sıralı oral kontraseptif kullanımı (33, 34)	Riskte 4.6-7.3 kat artış
Kombine oral kontraseptif (KOK) kullanımı (35)	Riskte %50 azalma
Rahim içi araç (RIA) kullanımı (Hormonsuz) (44)	Riskte %17 azalma
Tubal ligasyon (45)	Risk ile ilişki yok
Aşırı adipozite (36)	Her 5kg/mm ² için 1.6 kat risk artışı
Fiziksel aktivite (46)	Riskte %20-30 azalma
Diabet (47)	Riskte 2.1 kat artış
Metabolik sendrom (48)	Riskte 1.4 kat artış
Erken menarş yaşı (37)	Riskte 1.4 kat artış
Geç menapoz (37)	Riskte 2.2 kat artış
Parite (38, 39)	Riskte %20-50 azalma
Emzirme (37, 39, 40, 41, 42, 49, 50, 51, 52)	Yetersiz kanıt
İnfertilite (43)	Riskte 1.2 kat artış
PKOS (53)	Riskte 2.8 kat artış
Sigara kullanımı (54, 55)	Riskte %26-37 azalma
Aile öyküsü (56)	Riskte 1.8 kat artış

Yağlanma artışı ve yüksek vücut kitle indeksinin (VKİ) endometrial kanser riskini artırmasının altında yatan en büyük sebep, postmenapozal dönemde, overin etkisinin azalması ile birlikte yağ dokunun androjen aromatisasyonu aracılığıyla östrojen sentezi için ana kaynak haline gelmesidir (57). Obezite hem östrojenin kullanılabilirliğini artıran (büyüme faktörlerinde artış, büyüme faktörü bağlayıcı proteinlerde azalma, androjen aromatisasyonu) hem de nonhormonal yollarla (inflamasyon ve diğer metabolik yollar) karsinogeneze katkı sağlayan önemli bir risk faktörüdür (27, 57, 58, 59).

Fiziksel aktivitenin endometrial kanser riskinde azalışa neden olması, postmenapozal dönemde yağ dokudan salınan östrojen miktarı ve VKİ üzerinde kontrol sağlaması ile açıklanabilmektedir; ancak yapılan çalışmalarda, vücut kitle indeksinden bağımsız olarak da fiziksel aktivite ve düşük endometrial kanser riski arasında ilişki bulunmuştur (60, 61). Bu durum, fiziksel aktivitenin, inflamatuvar/immün yollar ve hücrel sinyal yolları üzerinde de etkisi olabileceğini düşündürmektedir (60).

Diabet ve metabolik sendromun, endometrial kanser riskinde artışa sebep olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur. Mekanizma net aydınlatılamamış olmakla birlikte, diabette çeşitli büyüme faktörlerinin (östrojen ilişkili büyüme faktörleri ve IGF'ler) seviyesindeki artışın ve bunların işlevinde artışa neden olan bağlayıcı faktörlerin (SHBG, IGFBP) miktarlarındaki azalmanın, endometrial proliferasyonda etkili olduğu düşünülmektedir (62).

PKOS, kronik anovulasyon, obezite ve diabet ile karakterli bir hastalıktır. Özellikle kronik anovulasyonda, korpus luteumdan progesteron sentezinin gerçekleşmemesi, PKOS hastalarındaki artmış endometrial kanser riskinin nedeni olarak kabul edilmektedir (63). Ancak literatürde bu konuda sınırlı veri olduğu unutulmamalıdır.

Sigara ve endometrium kanseri arasında ters ilişki bulunduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (54, 55). Günlük tüketilen sigara miktarındaki artış ile düşük endometrial kanser riski arasındaki ilişki, sigaranın doz bağımlı bir etkisi olduğunu düşündürmekle beraber, sigaraya başlama yaşının daha erken olması veya sigara tüketilen sürenin uzunluğu açısından istatistiksel ilişki saptanamamıştır (54). Mekanizma bilinmemekle beraber, sigara tüketicilerinde üriner östradiol miktarının daha düşük olması, sigaranın antiöstrojenik etkileri olduğunu düşündürmektedir (64). Ancak çalışmalarda, serum östrojen seviyeleri açısından sigara içen ve içmeyenler arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanamamıştır (65).

Alkol, nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar, endometriozis, leiomyom, pelvik inflamatuvar hastalık öyküsü ve cinsel yolla bulaşan hastalıkların endometrial kanserler ile ilişkisi araştırılmış olsa da tatmin edici sonuçlar elde edilememiş, yapılan meta-analizlerde daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulduğu belirtilmiştir (66, 67, 68).

Tüm bu risk faktörleri çoğunlukla tip 1 karsinomlar için söz konusudur. Etiyoloji açısından endometrial kanser alt tipleri arasında heterojenitenin mevcut olduğu unutulmamalıdır. Örneğin seröz karsinomlarda en önemli risk faktörü ileri yaş ve endometrial atrofidir.

4.2.3.1. Endometrial Karsinogeneizde Östrojen ve Progesteronun Reseptörlerinin Yeri

Endometriumun fonksiyonel (yüzeyel) tabakası, menstrüel sikluslarda, döngüsel olarak dökülmektedir. Menstrüasyon aşamasında dökülmeyen, daha derinde yerleşen tabaka ise bazal tabakadır ve bazal tabakanın kök hücrelere ev sahipliği yaptığı düşünülmektedir. Bundan yola çıkarak bazal tabakada hormon reseptörlerinin ifadesinin, endometrial karsinogenezi anlamada

önemli olabileceği düşünülmüştür; fakat bu tabaka sadece histerektomi materyallerinde üzerinde çalışma yapabileceğimiz bir tabakadır. Ayrıca, bazal tabaka genellikle fonksiyonel tabakadan daha az hormona duyarlıdır. ER, PR ifadesinin, adet döngüsü ve reproduktif dönem boyunca değişkenlik gösterdiği de unutulmamalıdır. Endometriumun farklı tabakalarındaki farklı hücre kompozisyonları, menstrüel siklus ve kişinin yaşamı boyunca hücresellikte izlenen varyasyon, hormon reseptörlerinin patogeneze araştırılmasını zorlaştırmaktadır. Buna paralel olarak, dokularda mikrodiseksiyon yapılmadığı takdirde bu hücresel karışım, moleküler profillemeye yapmayı ve yorumlamayı da zorlaştırmaktadır.

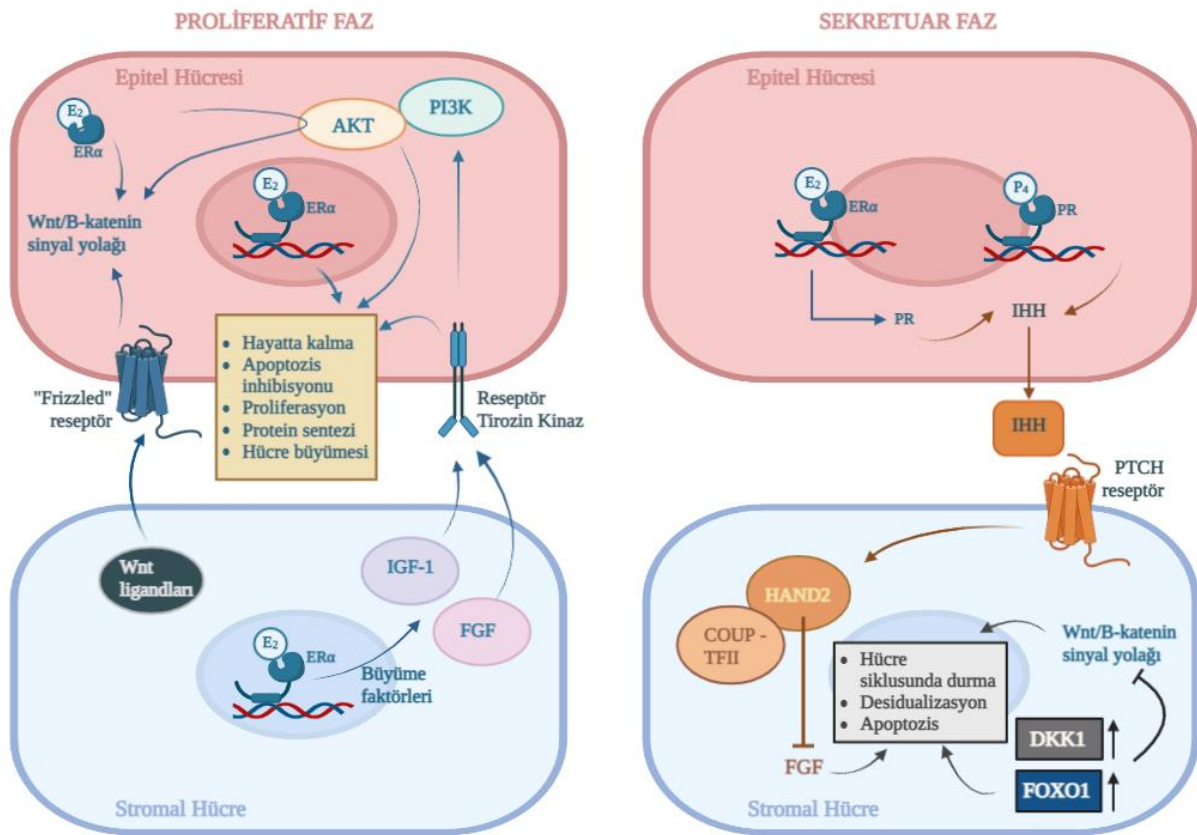
Östrojen etkilerini, ER α , ER β , GPER aracılığı ile gösterir. ER α , ER β ve ER α/β “knockout” farelerde yapılan çalışmalarda, endometriumda östrojenin proliferatif etkisinden sorumlu olan reseptörün özellikle ER α olduğu gösterilmiştir ve ER α uterustaki ana östrojen reseptör subtipidir (69). ER β ise ER α ’nın endometriumdaki etkisini antagonize etmektedir (70, 71). Endometrium kanserlerinde ER β ’nın önemini araştıran çalışmalar mevcut olmakla birlikte, patogeneze rolü netleştirilememiştir. Bugüne kadar daha çok ER α disregülasyonları yaygın olarak çalışılmıştır (71, 72). ER α , proliferatif fazda artan östrojene bağlanarak, PI3K/Akt yolağı, Wnt/B-katenin yolağı üzerinden ve ayrıca nükleer reseptörü aracılığı ile çeşitli kritik öneme sahip büyüme faktörlerinin (EGF, FGF, IGF-1 gibi) ifadesini artırarak hücre çoğalması ve büyümesine katkı sağlar (**Şekil.4.2.2.**). PI3K/Akt ve Wnt/B-katenin yolaklarındaki disregülasyonlar patogenezin temelinde yer almaktadır (73).

Progesteron reseptörü, östrojen reseptörü gibi, endometriumun hem epitelinde hem de stromal hücrelerinde ifade edilir. Progesteron, PRA ve PRB isoformları ile stromal hücre ve gland epitelindeki östrojen reseptörlerini azaltır ve endometriumu östrojene cevapsız hale getirir. Stromal hücrelerdeki PR, parakrin etki ile epiteldeki proliferasyonu inhibe eder (73). Progesteron, sekretuar fazda arttığı zaman, epitelyal hücredeki *Ihh* ifadesi yanısıra stromal hücredeki PTCH1 reseptör ifadesi ve COUP-TFII ifadesini artırır. Bunun sonucunda *Hand2* transkripsiyon faktöründe artış görülür. *Hand2*, büyüme faktörlerinin (örneğin fibroblast büyüme faktörleri) mitojenik yolaklardaki etkilerini antagonize eder. Ayrıca progesteron, *DKK1* ve *FOXO1* transkripsiyonunu artırarak, östrojen tarafından uyarılmış Wnt yolağını inhibe eder (**Şekil.4.2.2.**) (73).

ESR1, ER α ’yı kodlayan gendir ve endometrial kanserlerin yaklaşık %4 kadarında somatik mutasyon içermektedir. Endometrial kanserlerde, östrojen reseptörünün ligand bağlayıcı bölgesindeki fonksiyon kazanımı ile sonuçlanan mutasyon, ER α ’nın sürekli olarak aktif

kalmasına neden olur (74, 75). TCGA kohortunda ayrıca 240 endometrial kanserin %6.7'sinde, *PGR*'de de somatik mutasyon ya da delesyon gözlenmiştir (76).

Özetle, östrojen, sitoplazmik ve nükleer reseptörlerini kullanarak, hücre içi sinyal yolları ve büyüme faktörleri aracılığıyla, epitelde mitojenik etki gösterirken; progesteron, östrojenin proliferatif etkisini azaltarak endometrial glandların farklılaşmasını indükler. Bu dengeli dialog, hormonal düzensizlikler veya tarifiyen kritik sinyal yollarında ortaya çıkabilecek çeşitli mutasyonlar nedeniyle sağlanamadığında neoplastik transformasyon için zemin oluşmaktadır.



Şekil.4.2.2. Menstrüel siklus fazlarına göre östrojen ve progesteronun endometrial epitelyal ve stromal hücreler arasındaki iletişimi, hormon reseptörleri aracılığı ile etki gösterdikleri sinyal yolları şekilde özetlenmiştir. Detaylı açıklama metin içerisinde yer almaktadır.

IGF1, İnsulin benzeri büyüme faktörü 1; FGF, Fibroblast büyüme faktörü; DKK1, Dickkopf-iliskili protein 1; PTCH, Patched homolog; IHH, Indian hedgehog. Şekil BioRender.com ile tarafımdan oluşturulmuştur.

Endometrial tümörlerde, ER ve PR ifade durumu, tümörün histolojisi, derecesi, invazyon derinliği ve hastanın prognozu ile ilişkili olduğu bilinmektedir (77, 78, 79, 80). ER ve PR pozitifliği, düşük dereceli tümörlerde ve endometrioid tip endometrium kanserlerinde, yüksek

dereceli tümörlere ve non-endometrioid tip kanserlere göre daha sıktır (77). Hem endometrioid hem non-endometrioid kanserlerin metastazlarında, primerlerine göre PR ifade kaybına daha sık rastlanır. Endometrioid subtip içerisinde de ER ve PR ifade kaybı, derin myometrial invazyon, artmış tümör evre ve derecesi ile ilişkili bulunmuştur. Tümör rekürensi, lenf nodu metastazı, azalmış hastalıksız sağkalım ile ER ve ER α ifade kayıpları ilişkili bulunmuştur (78, 79, 80). PR ifadesinin de birçok çalışmada prognostik önemi gösterilmiştir (81). ER ve PR ifadesi, endometrial kanserlerin tanı aşamasında ve tedavi kararında rutin kullanılmamakla birlikte, bahsedilen gelişmeler, klinik risk sınıflamasına adapte edilebileceklerini düşündürmektedir.

Özetle, endometrial kanserlerde bugüne kadar bildiklerimiz, endometrium dokusu seviyesinde hormon metabolizmasını tam anlamıyla aydınlatabilmiş olmasa da, bahsi geçen risk faktörleri ile ilişkinin gösterilmesi, hormonal dengesizliklerin endometrial kanser etiyolojisindeki önemini altını çizmektedir.

4.2.3.2. Endometrial Karsinogeneizde Östrojen Dışı Mekanizmalar

Endometrial karsinomların patogenezinde ayrıca androjen seviyelerinde artış, insülin direnci, kronik inflamatuvar süreçler, adipokin seviyesinde düşüş, leptin seviyesinde artış, proinflamatuvar sitokinlerde artış gibi çeşitli nonöstrojenik faktörler de suçlanmaktadır. Endometrial kanser ilişkili metabolik disfonksiyonu yansıtabilecek aday serum biyobelirteçleri tanımlanmış ancak henüz bu konuda validasyon sağlanmamıştır (82).

4.2.3.3. Endometrial Karsinogeneizde Moleküler Özellikler

Kanser Genom Atlası (TCGA) ile 248 çeşit tümörün moleküler özelliklerinin gösterilmesi sayesinde, endometrial kanserlerle ilişkili moleküler değişiklikler de aydınlatılmıştır (83). Moleküler sınıflandırmada, *POLE* ultramutasyonlu grup, MMR sistem defektli grup (MMRd), yüksek kopya sayılı/seröz-benzeri ve spesifik moleküler özellik içermeyen (SMÖİ, düşük kopya sayılı, mikrosatellit stabil) olmak üzere toplam 4 adet grup tanımlanmıştır. *POLE* ultramutant, MMR sistem defektli ve spesifik moleküler özellik içermeyen 3 grup içerisinde, somatik mutasyonlar da sık eşlik etmektedir. Bunlar başlıca *PTEN*, *FGFR2*, *ARID1A*, *CTNNB1*, *KRAS* mutasyonlarını içermektedir. *PTEN* inaktivasyonu endometrioid tip endometrium kanserlerinde temel “driver” mutasyondur (84). MMRd grupta, çoğunlukla genin susturulması ile karakterli, *MLH1* promotor hipermetilasyonu izlenmekle birlikte herediter mutasyonlar (Lynch) ve aynı gende iki somatik mutasyon da (Lynch benzeri, sporadik) izlenebilir. Yüksek

kopya sayılı/seröz benzeri alt grupta mutasyon sayısı diğer üç gruba göre daha azdır, bu grupta %90 vaka *TP53* mutasyonları ve sık kopya sayısı değişiklikleri ile karakterlidir. *TP53* mutasyonlu, kopya sayısı yüksek/seröz benzeri grupta yer alan, yüksek dereceli endometrioid tip karsinomların %50'sinde eşlik eden *PTEN* mutasyonları mevcuttur. Seröz karsinomlarda *PTEN* mutasyonları %2.6 sıklıkta bildirilmektedir (22). Kopya sayısı yüksek/seröz benzeri gruptaki *TP53* mutasyonu “driver” mutasyon iken diğer alt gruplarda *TP53* mutasyonu saptandığı zaman bu, “passanger” mutasyon olarak kabul edilmektedir.

TCGA RNA sekanslama dataları, endometrial kanserleri transkriptomik özelliklerine göre farklı başlıklarda farklı sayıda kümeler ayırmıştır (83). Endometrioid tip endometrium kanserleri özelinde 4 küme tanımlanmıştır. Birinci kümede, *ESR1* ve *PGR* mRNA ifadesi ve hormon reseptör ekspresyonu yüksek, mikrosatellit instabil tümörlerin yoğun bulunduğu ve neredeyse tamamen *PTEN* mutasyonlu tümörler yer alır. İkinci kümede, genç, obez kadınlar ve *CTNNB1* mutasyonları yer almaktadır, bu kümenin sağkalımı birinci kümeden düşüktür. Birinci ve ikinci kümelerin ikisi de obezite ilişkilidir, gösterdikleri moleküler heterojenitenin, endometrioid endometrial kanser hastalarındaki klinik farklılıkları açıklayabileceği düşünülmektedir (22, 85). TCGA ayrıca, “PARADIGM” tümör kümeleri başlığı altında da 5 küme tanımlamıştır. Bunlardan “Küme 5”, hormonal protein ifadesinin bol izlendiği tümörlerin bulunduğu küme olup, yüksek seviyelerde MYC, FOXA1 ve HIF1 protein ekspresyonu içerir. Bu 3 proteinin de östrojen ilişkili hücresel yollarda rolü bulunmaktadır (83, 86, 87, 88).

Özetle, endometrioid tip endometrial kanserlerin patogenezinin sorumlu hücresel yollarda (PIK3CA/Akt ve WNT/B-katenin), ya bu yollarla ilişkili gen mutasyonları (Örneğin *PTEN*, *CTNNB1*, *ARID1A*, *KRAS*) ya da bu yolları uyaran veya inhibe eden hormon reseptörlerindeki genetik mutasyonlar ve/veya ilgili reseptör ekspresyon miktarında değişiklikler görülmektedir. Seröz tip endometrial kanserlerin moleküler patogenezinde ise *TP53* mutasyonları ve/veya kopya seviyelerinde artış izlenmektedir (84).

4.3. Endometrium Kanserlerinde Sınıflama

Endometrial tümörlerin kategorizasyonunda, birbirleriyle çeşitli noktalarda örtüşmeler gösteren üç tip sınıflandırma kullanılmaktadır: Bokhman'ın 1983 yılında tanımladığı dikotom patogenetik sınıflama, histopatolojik sınıflama ve moleküler sınıflama (**Tablo.4.3.1**).

Tablo 4.3.1.Endometrial kanserlerin farklı sınıflandırmaları

Endometrial Kanserlerin Sınıflamaları	Özellikler
Patogenetik Sınıflama (Bokhman’83)	Tip 1 (%85) -Karşılanmamış östrojen fazlalığı, hiperlipidemi, obezite, endometrial hiperplazi ilişkili -Düşük-orta dereceli histoloji -Çoğu endometrioid tip -Progesteronlu hormon tedavisine iyi yanıt -İyi prognoz -İlişkili moleküler özellikler: <i>PTEN</i> , <i>PIK3CA</i> , <i>CTNNB1</i> , <i>KRAS</i> , <i>ARID1A</i> mutasyonları, mikrosatellit instabilitesi
	Tip 2 (%15) -Endometrial atrofi ilişkili, ileri yaş, östrojen bağımsız, obezite ilişkisi -Az diferansiye histoloji -Çoğu seröz veya şeffaf hücreli tip -Kötü prognoz -İlişkili moleküler özellikler: <i>TP53</i> mutasyonu, <i>HER2/neu</i> amplifikasyonu, E-kaderin mutasyonu, P16 inaktivasyonu, heterozigosite kaybı
Histopatolojik Sınıflama (DSÖ’2020)	Endometrioid (%85) EİN zemini, çoğunlukla düşük histolojik derece Çoğunlukla iyi prognoz Majör “driver” mutasyon: <i>PTEN</i>
	Seröz (%3-10) SEİK zemini, hepsi yüksek dereceli (FIGO derece 3) Kötü prognoz, agresif davranış Majör “driver” mutasyon: <i>TP53</i>
	Şeffaf Hücreli (<%5) İleri yaş, kötü prognoz, heterojen moleküler profil
	Mikst Biri seröz veya şeffaf hücreli olacak şekilde iki histolojik tip içerir, yüksek dereceli. En yüksek dereceli bileşene göre davranış
	Andiferansiye/ Dediferansiye İleri yaş, kötü prognoz
	Karsinosarkom (<%2) İleri yaş, kötü prognoz
	Diğer Mezonefrik benzeri, SCC, Primer gastrik tip müsinöz karsinom. Çok nadir. Serviks kökeni ekarte edilmeli.
Moleküler Sınıflama (DSÖ’2020)	<i>POLE</i> ultramutasyonlu Her histolojik subtipde olabilir, morfoloji çok heterojen Tipik olarak Derece 3 EEK, bol TİL, yüksek mutasyon yükü, iyi prognozlu, patojenik mutasyon olmalı
	Mikrosatellit instabil Sporadik, Lynch ilişkili, <i>MLH1</i> hipermetilasyonu ilişkili Yüksek derece, bol TİL, MELF invazyon, müsinöz morfoloji, lenfovasküler invazyon, orta prognoz
	Yüksek kopya sayılı (Seröz benzeri) Seröz karsinomlar, bazı şeffaf hücreli ve yüksek dereceli endometrioid karsinomlar, kötü prognoz
	Spesifik moleküler özellik göstermeyen (Düşük kopya sayılı, mikrosatellit stabil) Heterojen, orta prognoz

EİN, endometrioid intraepitelyal neoplazi; SEİK, seröz endometrial intraepitelyal karsinom; EEK, endometrioid tip endometrium kanseri; TİL, tümör infiltre eden lenfosit; MELF, mikrokistik, elongate fragmente tipte invazyon.

4.3.1. Endometrium Kanserlerinde Patogenetik ve Histopatolojik Sınıflama

Endometrial karsinomların ilk sınıflaması, Bokhman tarafından, 1983 yılında, hastaların klinik özellikleri temel alınarak oluşturulmuştur (25). Bu sınıflamaya göre endometrial kanserlerin %85’ini endokrin ve metabolik düzensizliklerle ilişkili belirti ve bulgularla prezente olan, indolan klinik seyirli tip 1 karsinomlar oluşturur (25). Tip 1 karsinomların histopatolojik karşılığı, özellikle düşük veya orta dereceli, yüzeyel invaziv ve erken evre endometrioid

karsinomlardır. Tip 2 karsinomlar ise, hormonal disfonksiyondan ziyade, endometrial atrofi ile ilişkilendirilen, yüksek dereceli olma eğilimindeki, myometriuma derin invazyon gösteren, agresif klinik seyirli ve ileri evredeki karsinomlardır (25). Tip 2 karsinomların günümüzdeki histopatolojik prototipi seröz karsinomlardır. Ancak bu sınıflamanın, ortak morfolojik ve immünohistokimyasal özellikler gösteren kanserlerde tekrarlanabilirliği düşük olduğu için, zaman içerisinde modifiye edilmiştir ve morfoloji temelli DSÖ klasifikasyonu, günümüzde daha yaygın olarak kabul görmektedir.

4.3.1.1. Endometrioid Tip Endometrium Karsinomu

Endometrial karsinomların en yaygın tipidir. Yeni tanı alan endometrial karsinom vakalarının yaklaşık %85'ini oluşturur. Malign endometrial bezlerin proliferatif endometriuma benzetilmesi nedeniyle bu ismi almıştır (84). Genellikle dallanan bez yapıları ve/veya papiller uzanımlar ile karakterli kompleks arkitektürde glandüler proliferasyon gösteren, yuvarlak veya elonge çekirdek içeren, psödostratifiye neoplastik hücreler bulundurulur. Çekirdekler genellikle düşük derecelidir, değişken derecelerde stromal ve epitelyal mitotik figürler mevcuttur. Tüm endometrium kanser tiplerinde olduğu gibi FIGO derecelemesi uygulanır. Skuamöz, müsinöz, villoglandüler, sekretuar, silyalı diferansiyasyon gösteren varyantları tanımlanmıştır (**Resim.4.1.**). Varyantların prognostik önemi bulunmamaktadır. Skuamöz diferansiyasyon, endometrioid karsinomların %10-25 kadarında görülebilir, bunu tanımak önemlidir çünkü FIGO derecelendirmesinde, bu bölgelerin solid alan yüzdesine katılmaması gerekir. Müsinöz diferansiyasyon da sık görülür, eğer çok yaygın ise ayırıcı tanıda gastrointestinal tip endometrial adenokarsinom düşünülür. Diferansiyasyon tiplerinin de varyantlar gibi klinik özellikler ile ilişkisi bulunmamaktadır (89). Endometrioid karsinomların çoğu FIGO derece 1 ve 2 özellikte olup, benzer epidemiyolojik ve moleküler özellikler (başlıca *PTEN* mutasyonu) gösterirler ve iyi prognozludurlar. Ancak, derece 3 tümörlerin prognozu daha kötüdür, bir kısmında *TP53* mutasyonu izlenir ve bu tümörler moleküler olarak kopya sayısı yüksek (seröz-benzeri) sınıfa girer (84). Derece 1 ve 2 tümörlerin büyük çoğunluğu ise diğer üç moleküler sınıfa girmektedir. FIGO derece 1 ve 2 tümörler için düşük dereceli, FIGO derece 3 tümörler için yüksek dereceli terminolojisi de kullanılabileceği önerilmektedir, bunun prognozla daha kuvvetli ilişki gösterdiği bildirilmiştir (90, 91).

Endometrioid tip endometrium karsinomunun, endometrial atipik hiperplazi (endometrioid intraepitelyal neoplazi/EİN) zemininde geliştiği düşünülmektedir. EIN, morfolojik olarak, sırt sırta vermiş ancak aralarında ince bir stromanın seçilebildiği, füzyon

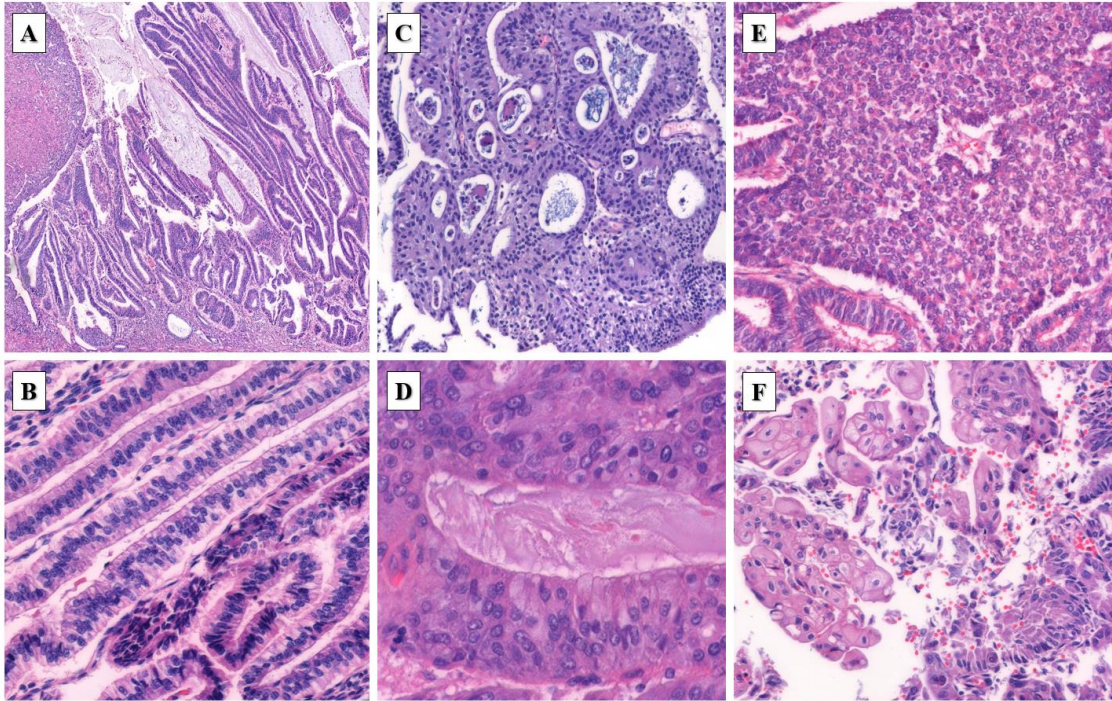
göstermeyen kompleks glandüler yapılar, eozinofilik sitoplazma ve nükleer atipi ile karakterlidir. Bez yapılarında dallanma veya papiller projeksiyonlar izlenebilmekle birlikte, endometrioid karsinomdan farklı olarak stromal veya myometrial invazyon izlenmez. Bu konuda literatürde temel alınan tarihsel çalışmada, atipik hiperplazide %25, atipisiz hiperplazide ise %3 vakada karsinom geliştiği belirtilmiştir (92). Karsinom riski için en temel histolojik değişikliğin nükleer atipi olduğu bilinmektedir (93).

Endometrial karsinomlarda myometrial invazyon farklı şekillerde gözlenebilir. Geniş itici sınırlarla invazyon veya geniş kitleler, kord ve kümeler şeklinde yaygın infiltrasyon izlenebilir. Geniş itici sınırlarla invazyon gösterdiğinde, eğer komşu etkilenmemiş endomyometrial bileşke seçilemezse invazyonun gerçekten var olup olmadığını anlamak zor olabilir. Diffüz infiltrasyonda genellikle, neoplastik bezler çevresinde gevşek fibröz doku ve kronik inflamatuvar hücrelerden oluşan stromal yanıt izlenir. Nadiren iyi diferansiye karsinomlarda, derin invazyona stromal yanıt eşlik etmeyebilir ve neoplastik bezler çevre myometrium ile direkt kontakt halinde olabilir (adenoma malignum paternde invazyon). Diffüz myometrial invazyon endometrioid kanserler için kötü prognostiktir. Murray ve arkadaşları tarafından 2003 yılında tanımlanan MELF tipi (mikrokistik, elonge ve fragmante) invazyon ise neoplastik bezlerden uzanarak ayrılma gösteren, düzleşmiş bir epitelle döşeli olabilen, bazen mikrokistik görüntü oluşturabilen ve fibromikzoid stromal reaksiyon ile karakterli myometrial invazyon paternidir (**Resim.4.2**) (94). Kanserinin adenomyozis odağına uzanımı myometrial invazyondan ayırt edilmelidir, çünkü gerçek myometrial invazyondan daha derinde yerleşen adenomyozis odağında kanser varlığının prognozu etkilemediği gösterilmiştir (95, 96). Yaşlı kadınlarda, adenomyozis odağında fibrozis ve atrofiye bağlı minimal stroma izlendiğinde ayırt etmek zor olabilir, bu durumda etraftaki desmoplazi varlığı/yokluğu, ödem, inflamasyon ve bezlerin şekilleri birlikte değerlendirilmelidir. Gerçek invazyonda, desmoplazi, neoplastik glandlar çevresi myometriumda daha gevşek görüntü, sıklıkla eşlik eden kronik inflamasyon ve bezlerin şekillerinde düzensizlik ve irregülerite beklenir. Adenomyozis odağında kanser var ise, bez şekilleri düzgün olup, desmoplazi ve inflamasyon beklenmez. Yüzeyel myometrial invazyon değerlendirmesi, endomyometrial bileşke normalde de düzensiz olduğu için zor olabilir. Yüzeyel myometrial invazyon kararı verirken, neoplastik bezlerin komşuluğunda normal endometrial bez ve stromanın bulunmadığından emin olunması gerekmektedir. Myometriumun %50'sinden fazlasında invazyon olması kötü prognostik özellik göstermektedir, aksine noninvaziv veya myometriumun iç ½'sinde sınırlı olan tümörler çok daha iyi seyretmektedir, bu nedenle invazyon derinliğinin belirlenmesi önemlidir. İnvazyon derinliği belirlenirken, tümöre en yakın benign endometrial bez seçilir ve burası endomyometrial bileşke olarak kabul

edilir, myometrium kalınlığı burdan ölçülür, daha sonra tümörün en derin olduğu alan belirlenerek oranlanır.

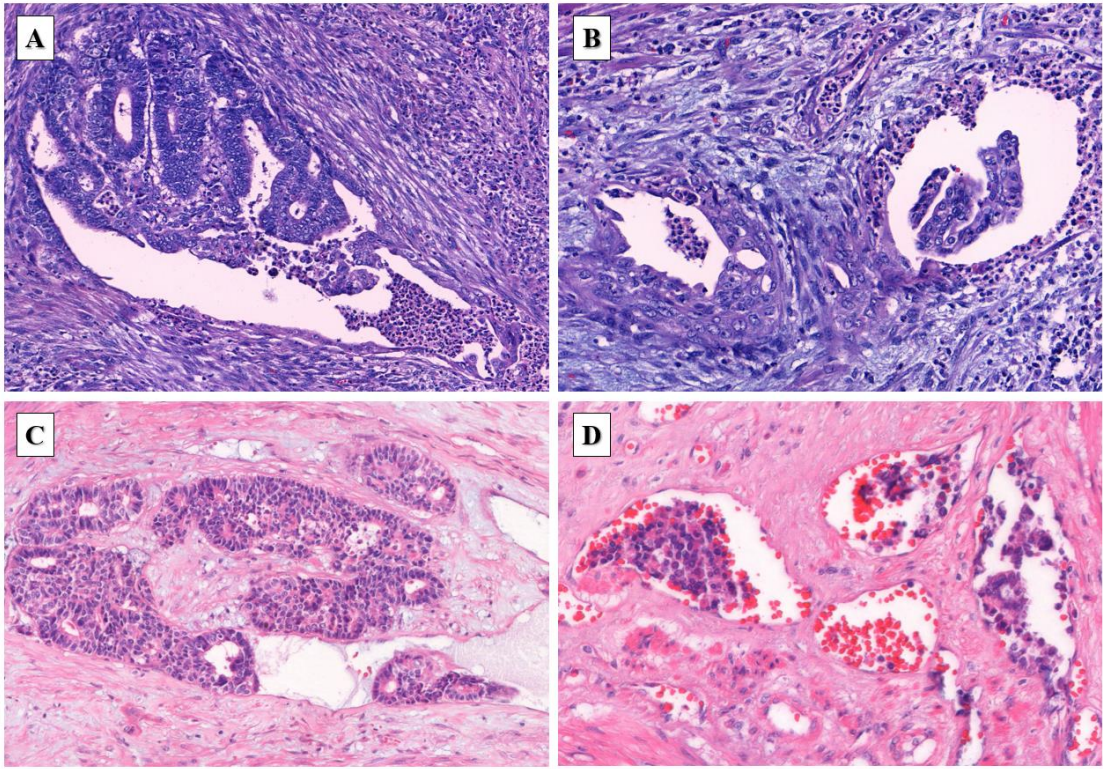
İmmünohistokimyasal olarak endometrioid tip endometrial kanserler, PAX8, PANCK, EMA, CA125, BerEp4, CK7 pozitif, CK20 negatiftir. Müsinöz ve skuamöz metaplazi alanlarında CDX2 boyanabilir. Diğer adenokanserlerin aksine, EEK vimentinle güçlü pozitiflik gösterir. Endoservikal adenokarsinomların aksine p16 ile diffüz kuvvetli blok tarzında pozitiflik izlenmez. Tanısal yaklaşımda panel şeklinde multipl antikorlar kullanılmalıdır.

Endometrioid karsinomların moleküler patogenezi, immünohistokimyasal profilini de daha rahat anlamamıza fırsat sağlamıştır. FIGO derece 1 ve 2 tümörler yaygın ER, PR pozitifliği gösterirken, derece 3 EEK'ların yaklaşık yarısında, azalan oranlarda hormon reseptör pozitifliği izlenir. EEK Derece 1 tümörlerde p53'ün immünohistokimyasal olarak mutant fenotipe boyanması beklenmez, derece 2'lerin az bir kısmında gözlenebilir, derece 3'lerde ise daha sıktır. P53 mutant boyanma paterni öncelikle seröz, şeffaf hücreli ve andiferansiye karsinomları akla getirmelidir (89). P53'ün iki mutant boyanma paterni mevcuttur, %80'nin üzerinde diffüz ve güçlü nükleer pozitif olabileceği gibi, nükleer boyanma hiç izlenmeyebilir (null fenotip).



Resim 4.1. Endometrioid tip endometrium kanserinde görülebilecek varyant morfoloji ve diferansiyasyon paternleri

A. Villoglandüler varyant EEK (x3.6). **B.** Sekretuar varyant EEK (x30). **C.** Mikroglândüler varyant EEK (x20). **D.** Müsinöz diferansiyasyon gösteren EEK (x20). **E.** Solid alan içeren EEK (x20). **F.** Skuamöz diferansiyasyon gösteren EEK (x20). EEK, endometrioid tip endometrium kanseri.



Resim 4.2. MELF tipi invazyon ve lenfovasküler invazyon karşılaştırması

A,B. Etrafında fibromikzoid stromal reaksiyonun izlenebildiği, neoplastik hücrelerle döşeli kistik yapılar şeklinde myometriuma uzanan glandüler yapılar (x40, x30). **C,D.** Endotelle döşeli ve içerisinde eritrositlerin izlenebildiği lümenal yapılar içerisinde, duvara tutunmuş görünümde neoplastik hücreler ile karakterli lenfovasküler invazyon örneği (x20, x40).

Endometrioid karsinomların moleküler patogenezinde, daha önce de kısaca bahsedildiği gibi, PI3K/PTEN/AKT/mTOR, WNT/B-katenin ve RAS/RAF/MEK/ERK yollarındaki bozulmalar, mikrosatellit instabilitesi, ultramutasyonlu fenotipe yol açan fonksiyonel *POLE* mutasyonları, *ARID1A* geninde izlenen mutasyonlar nispeten sıklık gösterir (83). Endometrioid karsinomların %80-95 kadarında PI3K/PTEN/AKT/mTOR yolağında moleküler aberasyonlar mevcuttur (83). *PTEN* tümör baskılayıcı genindeki, fonksiyon kaybı ile sonuçlanan somatik mutasyonlar, endometrioid kanserlerde en sık görülen (%30-54) moleküler anomali olup, *PTEN*'in PI3K yolağındaki antagonize edici etkisini ortadan kaldırmaktadır. *PTEN* mutasyonlarının atipik hiperplazide de (%20-48) gösterilmesi, endometrioid karsinom patogenezinin erken basamaklarında gerçekleştiğini kanıtlamaktadır (97). *PTEN* dışında, endometrioid subtipde, PI3K/PTEN/AKT/mTOR yolağı ile ilişkili *PIK3CA*, *PIK3R1*, *TSC2*, *STK11* mutasyonları da tanımlanmıştır. PI3K/PTEN/AKT/mTOR yolağı üzerinde etkinlik gösteren, klinik çalışmaları devam eden mTOR, PI3K, AKT ve PARP inhibitörleri, endometrioid karsinomlar için tedavi hedefi şansı da oluşturmaktadır (84). RAS/RAF/MEK/ERK yolağı ise hücre proliferasyonu, sağkalımı ve farklılaşması için ana yollardan biridir ve PI3K/AKT/mTOR yolağı ile de iletişim halindedir. Endometrioid

karsinomların %15-24 kadarında bu yolakla ilişkili *KRAS* mutasyonu bulunmaktadır (83). Kanonikal Wnt/B-katenin yolağı ise çeşitli hücresel süreçler, hücre proliferasyonu, migrasyonu, hücrenin kaderi ve polarite ile ilişkilidir. Endometrioid karsinomların %19-37'sinde bu yolakla ilişkili fonksiyon kazanımı ile sonuçlanan *CTNNB1* mutasyonu izlenmektedir (83, 85). Tüm EEK'ların yaklaşık %10 kadarında *TP53* mutasyonu da izlenir, bu kanserin başlangıcı değil progresyonunda etkilidir (89). EEK'larda ayrıca *EGFR*, *CMYC*, *HER-2/neu*, *BCL2* gibi onkogen amplifikasyonları seyrek vakada araştırılmıştır ancak daha ileri çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır (98, 99). Endometrioid karsinomlarda sıklıkla saptanabilen mikrosatellit instabilitesi ve ultramutasyonlu fenotipe yol açan fonksiyonel *POLE* mutasyonları ilerleyen başlıklarda detaylandırılacaktır.

Endometrioid karsinomlar, lenfatik, hematojen, komşuluk yoluyla invazyon, transtubal ve transperitoneal yayılım gösterebilir. Öncelikle pelvik lenf nodlarına gitme eğilimindedir ancak seyrek olarak izole paraaortik lenf nodu metastazı da bildirilmiştir. Standart tedavi olarak TAH+BSO ve/veya pre/post operatif radyo/kemoterapi uygulanmaktadır. Postoperatif hormon replasman tedavisi erken evre hastalarda uygulanabilmektedir. Pelvik/paraaortik lenf nodu diseksiyonu, özellikle, derece 3, derin invaziv, ileri evre EEK veya nonendometrioid subtipler için uygulanmaktadır (89). Son yıllarda diseksiyon kararı verilmesinde, sentinel lenf nodu uygulaması yaygınlaşmış, morbiditeyi azalttığı fikri kabul bulmuştur. Ancak, myometrial invazyon derinliği için frozen inceleme tekrarlanabilir değildir, tanıda %38'e varan tutarsızlıklar bulunmaktadır, bu yüzden patologlar tarafından önerilmemektedir (100).

Endometrial kanserlerde tedavi kararı verirken risk stratifikasyonu uygulanmaktadır (**Tablo.4.3.2**) (101). Risk stratifikasyonunda histopatolojik tip, derece, myometrial invazyon, lenfovasküler invazyon (yok/fokal/yaygın) kullanılır. Son ESGO/ESTRO/ESP rehberinde, moleküler sınıfı bilinen vakalar için, moleküler sınıf da risk stratifikasyonuna eklenmiştir (**Tablo.4.3.3**). Derece 1 ve 2, endometriumda sınırlı veya minimal invaziv, lenfovasküler invazyon içermeyen tümörler düşük riskli kabul edilir, ameliyat dışında başka tedaviye ihtiyaç duyulmaz. Pelvik/paraaortik lenf nodu metastazı, adneksiyel, ekstrauterin veya intraperitoneal yayılım varlığında yüksek risk grubuna girer ve postoperatif radyoterapi uygulanır. Düşük veya yüksek risk sınıfına girmeyen vakalar orta riskli kabul edilir, bunlarda kesin tedavi rehberleri oluşturulamamıştır, hastaya kişiselleştirilmiş risk değerlendirilmesi yapılarak karar verilmelidir.

Tablo 4.3.2. Endometrial kanserlerde ESGO/ESTRO/ESP rehberlerine göre risk stratifikasyonu ve prognostik risk grupları

Risk Grupları ve Özellikleri – Moleküler sınıf bilinmiyorsa		Tedavi
Düşük	FIGO Evre 1a, FIGO Derece 1 veya 2, Yaygın LVI yok (fokal LVI olabilir).	Tedavi yok
Orta	Evre 1b, Derece 1 veya 2, Yaygın LVI yok VEYA, Evre 1a, Derece 3, Yaygın LVI yok VEYA, Evre 1a, Nonendometrioid tip, myometrial invazyon yok.	VBt veya, Tedavi yok
Orta – Yüksek	Derece/İnvazyon derinliğinden bağımsız evre 1 (1a/1b), Yaygın LVI, VEYA, Evre 1b, Derece 3, LVI +/- VEYA, Evre 2	KT + RT
Yüksek*	Evre 3, 4a, Rezidü hastalık yok VEYA Evre 1-4a, İnvaziv nonendometrioid karsinom, rezidü hastalık yok	KT +/- RT + AAT
İleri – Metastatik*	Evre 3, 4a, Rezidü hastalık var VEYA Evre 4b	Sistemik tedaviler

VBt, vajinal brakiterapi; KT, kemoterapi; RT, radyoterapi, AAT, anti-angiogenez tedavisi (bevacizumab).

*:Moleküler temelli hedeflenmiş tedaviler uygulanabilir, örneğin immünoterapi (101).

Tablo 4.3.3. Endometrial kanserlerde ESGO/ESTRO/ESP rehberlerine göre, moleküler sınıflama dahil edilmiş risk stratifikasyonu ve prognostik risk grupları

Risk Grupları ve Özellikleri – Moleküler sınıf biliniyorsa	
Düşük	Evre 1-2, <i>POLE</i> mut, rezidü hastalık yok VEYA, Evre 1a, MMRd/SMÖİ, düşük derece, yaygın LVI yok (fokal olabilir)
Orta	Evre 1b, MMRd/SMÖİ, düşük derece, yaygın LVI yok (fokal olabilir) VEYA, Evre 1a, MMRd/SMÖİ, yüksek derece, yaygın LVI yok VEYA, Evre 1a, p53mut ve/veya nonendometrioid, myometrial invazyon yok.
Orta – Yüksek	Derece/İnvazyon derinliğinden bağımsız evre 1 (1a veya 1b), MMRd/SMÖİ, yaygın LVI, VEYA, Evre 1b, MMRd/SMÖİ, Derece 3, LVI durumundan bağımsız VEYA, Evre 2, MMRd/SMÖİ
Yüksek	Evre 3, 4a, MMRd/SMÖİ, rezidü hastalık yok VEYA Evre 1-4a, p53mut, myometrial invazyon var, rezidü hastalık yok VEYA Evre 1-4a, MMRd/SMÖİ, invaziv nonendometrioid tip karsinom, rezidü hastalık yok
İleri metastatik	Evre 3, 4a, rezidü hastalık var, herhangi bir moleküler subtip VEYA Evre 4b, herhangi bir moleküler subtip

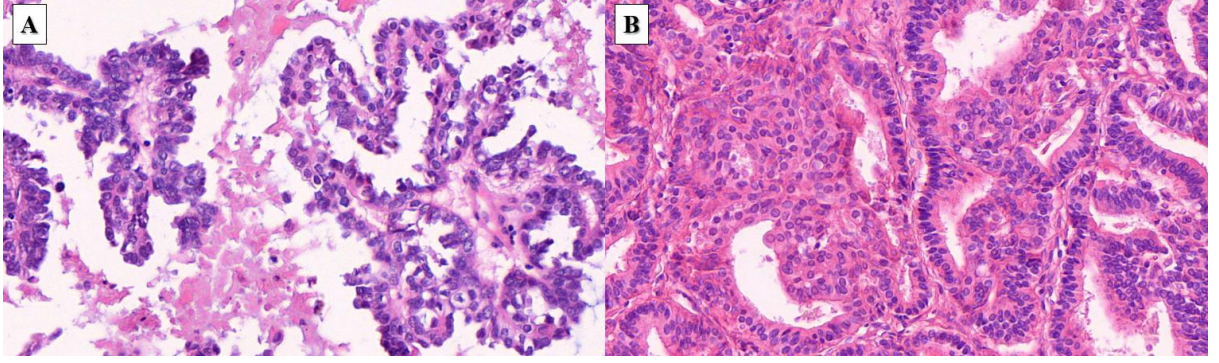
4.3.1.2. Seröz Endometrium Karsinomu

Endometriumun seröz karsinomu, endometrioid karsinomuna oranla çok daha az görülmekle birlikte (%3-10), agresif davranışlıdır ve mortalitesi yüksektir. Seröz karsinomun en belirgin özelliği, yüksek derece nükleer atipi, eozinofilik nükleol ve atipik mitozlarla karakterli belirgin sitolojik atipidir. Papiller, glandüler veya solid arkitektürel paternler gösterebilir (**Resim.4.3.**). Glandüler ve papiller paternlerdeki seröz karsinomlarda, endometrioid karsinomun glandüler ve papiller paternlerinde gözlenen düzgün lüminal sınırların aksine, lüminal yüzeyde taraklanma izlenir. Tüm seröz karsinomlar FIGO derece 3 özellikte (yüksek dereceli) kabul edilir. Endometrioid karsinomların aksine, seröz karsinomlar genellikle obez olmayan, hiperöstrojenizm durumunun söz konusu olmadığı, daha ileri yaştaki kadınlarda ve endometrial atrofi zemininde ortaya çıkar (**Şekil.4.3.1**). Prekürsöz lezyonu olan seröz endometrial intraepitelyal karsinom (SEİK), seröz karsinom için tariflenen hücrelerin morfolojik özelliklerini gösteren epitele sahiptir, ancak invazyon izlenmez (102). SEİK tabirindeki intraepitelyal kelimesi daha iyi prognozlu olduğunu düşündürmemeli, bu lezyonlar malign kabul edilmelidir. SEİK tanısı alan kadınlarda, invazyon gözlenmeden de senkron ve metakron metastazlar, peritoneal disseminasyon riski yüksektir.

Seröz karsinomların %90 kadarında *TP53* mutasyonları gözlenmektedir (103). *TP53* mutasyonu sıklıkla “*missense*” mutasyon özelliğindedir, disfonksiyonel proteinin akümüasyonu nedeniyle ve immünohistokimyasal olarak diffüz kuvvetli p53 boyanması saptanır. Aksine, daha nadiren “*nonsense*” veya “*frameshift*” mutasyonları gerçekleştiğinde, p53 proteini hiç üretilemez veya parçalanır dolayısıyla, p53 immünohistokimyası tamamen negatif olur (“null” patern). P53 immünohistokimyası bu özellikleri ile seröz karsinomların tanı ve moleküler sınıflandırmasında yaygın olarak kullanılsa da, yaklaşık %10 kadarında *TP53* mutasyonu bulunmadığı, bu vakalarda immünohistokimyasal olarak yabancı “*wild*” paternde p53 boyanması izleneceği unutulmamalıdır. Seröz karsinomların prekürsör lezyonu olan SEİK’lerde de *TP53* mutasyonun saptanması, *TP53* mutasyonunun seröz karsinomlarda erken evrelerde gerçekleşen bir “*driver*” mutasyon olduğunu düşündürmektedir.

Seröz karsinomlar, endometrioid karsinomların çoğundan daha sayıca sakin bir mutasyon profili bulundurmakla birlikte kopya sayısı değişiklikleri daha yüksektir (83). *TP53* mutasyonu yanısıra seröz karsinomlarda, *PPP2R1A*, *FBXW7*, *SPOP*, *CHD4*, *TAF1* genlerinde somatik mutasyonlar, *ERBB2*, *MYC*, *CCNE1* geninde amplifikasyon, p16 ve synuclein- γ aşırı ifadesi izlenebilir. Ayrıca, *PIK3CA*, *PTEN* ve *PIK3R1* mutasyonları, endometrioid tipe göre daha az

olsa da gözlenebilir (84). *ERBB2/HER2* reseptör tirozin kinazda protein ekspresyonuna yol açan gen amplifikasyonu, seröz karsinomlarda değişken oranlarda bildirilmiştir (%17-57) (104). İleri evre seröz endometrial kanserlerde *ERBB2/HER2* inhibitör tedavisinin etkinliğini araştıran az sayıda klinik çalışma mevcuttur (105).



Resim 4.3. Endometrial seröz karsinom ve endometrioid karsinom örnekleri

A. Endometrial seröz karsinom (x36.5). **B.** Endometrioid tip endometrium karsinomu (x31.4).



Şekil 4.3.1. Endometrioid karsinom ve seröz karsinomların basitleştirilmiş patogenezi şekilde gösterilmiştir

EEK atipik hiperplazi zemininde gelişirken, seröz karsinom atrofi zemininde gelişmektedir.

4.3.1.3. Şeffaf Hücreli Endometrium Karsinomu

Şeffaf hücreli endometrial karsinomlar (ŞHEK), tüm endometrium kanserlerinin %5'inden azını oluşturur. Pür şeffaf hücreli karsinomlar derece 3 kabul edilmektedir. Ancak yıllar içerisinde yapılan klinikopatolojik ve moleküler çalışmalarda, şeffaf hücreli

karsinomların heterojen bir grup olduğu gösterilmiştir. Morfolojik olarak, fokal de olsa yüksek nükleer derece bulunmalıdır. Değişken arkitektürel paternler (tübülökistik, papiller veya solid) izlenir. Tüm şeffaf hücreli karsinomlar şeffaf sitoplazma göstermediği gibi (örneğin eozinofilik varyant ŞHEK), şeffaf sitoplazmalı tüm tümörler de şeffaf hücreli karsinom değildir. Ayrıca, seröz ve endometrioid karsinomlarda da şeffaf hücre değişikliği görülebilir. Tüm bu heterojenite nedeniyle, literatürde ŞHEK'lar ile ilgili farklı biyolojik davranış ve patogeneze tarifleyen çalışmalar mevcuttur. Pür ŞHEK'lar bile aslında heterojen bir tümör grubudur. Vakaların çoğu ER, PR negatifliği, p53 "wild" tip boyanma, HNF1B ve napsin A pozitifliği gösterir (106, 107). Yaklaşık %46'sında fokal kuvvetli p53 boyanması gösterir, bu da şeffaf hücreli karsinomlarda subklonal *TP53* mutasyonu varlığını desteklemektedir (108). Şeffaf hücreli karsinomlardaki güncel moleküler bilgilerimize göre en sık görülen mutasyon *TP53* mutasyonu olmakla birlikte morfolojisi gibi moleküler özellikleri de heterojendir ve eşlik eden çok sayıda başka mutasyon da tanımlanmıştır (84). ŞHEK, genellikle ileri yaşta, atrofi zemininde görülür, endometrial polipte de gelişebilirler. Prekürsör lezyon tanımlanmamıştır. Beş yıllık sağkalım yaklaşık %50-60 civarındadır (84).

4.3.1.4. Andiferansiye ve Dediferansiye Karsinom

Endometriumun dediferansiye karsinomu, keskin bir sınırla birbirinden ayrılan düşük dereceli endometrioid karsinom sahasına eşlik eden, diferansiyasyonunu kaybetmiş tümör alanlarından oluşan nadir bir tümördür. Düşük dereceli alan genellikle endometrial yüzeye yakinken, dediferansiye komponent daha derin myometriumda yer alır. Andiferansiye karsinomda ise hiçbir farklılaşma sahası izlenmez. Diferansiyasyonunu kaybetmiş sahalarda, tabakalar halinde, veziküler nükleus ve küçük nükleollü, monoton, diskoheziv, küçük-orta boyutlu, mitotik olarak aktif neoplastik hücrelerden oluşur. Küçük büyütmelelerde düşük dereceli stromal sarkom, küçük hücreli karsinom veya lenfoma ile karışabilir ancak yakından değerlendirildiğinde, stromal sarkomun damarlanması izlenmez, küçük hücreli karsinomun tuz-biber çekirdeği veya nükleer üst üste binmeleri mevcut değildir. Ayırıcı tanısına derece 3 endometrioid karsinom da girmekle birlikte, dediferansiye karsinomda komponentler arasında izlenen kesin sınırlanma, yüksek dereceli endometrioid karsinomda beklenen bir bulgu değildir (84).

Dediferansiye/andiferansiye karsinomlar geniş bir yaş aralığında görülür, tipik olarak agresif kliniğe sahiptir, hastaların yarısı tanı anında metastatiktir. Ancak, güncel moleküler

alışmalar, bu tümörlerin heterojen olduğu göstermiştir. Tüm moleküler alt tipler ile örtüşebilir, büyük bir kısmında mikrosatellit instabilitesi bulunduğu bildirilmiştir (109).

4.3.1.5. Endometrial Mikst Karsinom

İki veya daha fazla histolojik subtip ile karakterli endometrial kanserlerdir. Mikst karsinom diyebilmek için, daha az sıklıkta izlenen morfolojinin, tüm tümörün en az %10 kadarını oluşturması gerektiği yıllarca kabul edilmiştir. Ancak, son DSÖ sınıflamasında, herhangi bir yüksek dereceli karsinom oranının yeterli olduğu, %10'dan az da olsa prognozu etkileyeceği bildirilmektedir. En sık rastlanan kombinasyon, endometrioid karsinom ve seröz karsinom birlikteliğidir. Mikst karsinom tanısı verebilmek için bileşenlerden birinin seröz veya şeffaf hücreli karsinom olması gereklidir (110). Mikst karsinomlarda davranış, en yüksek dereceli bileşene göre öngörülür. Dolayısıyla, tariflenen oranlardan bağımsız, tüm mikst karsinomlar yüksek dereceli kabul edilmelidir.

4.3.1.6. Diğer Endometrial Karsinomlar

Endometriumda çok daha nadir karşılaşılan diğer primer endometrial karsinomlar, mezonefrik benzeri adenokarsinom, mezonefrik adenokarsinom, primer gastrik (gastrointestinal) tip müsinöz karsinom ve primer yassı hücreli karsinomlardır. Servikal köken ve metastaz ayırt edilmelidir. Diğer endometrial kanser subtipleri gibi evrelendirilir. Bu kanserler hakkında literatürde sınırlı sayıda veri mevcuttur.

4.3.1.7. Karsinosarkom

Uterin karsinosarkomlar, tüm uterin kanserlerin %2'sinden azını oluşurmaktadır. Büyük boyutlu, lümene polipoid gelişim gösteren ve çoğunlukla kaviteyi dolduran hatta servikal ostan protrüde olabilen, klinik olarak agresif gidişli tümörlerdir. Karsinomat z ve sarkomatöz alanlar içeren bifazik bir tümör tipidir. Bu iki komponentin de histolojileri çok farklı olabilir. Karsinomat z komponenti, seröz, şeffaf hücreli, andiferansiye, yüksek dereceli endometrioid veya karışık olabilir; nadiren düşük dereceli endometrioid karsinom içerebilir. Sarkomatöz komponenti, uterusta bulunabilen mezenşimal dokuları içerebileceği gibi (homolog; stromal sarkom, leiomyosarkom), ekstrauterin dokular da (heterolog; rabdomyosarkom, kondrosarkom, osteosarkom) içerebilir. Heterolog bileşen varlığı kötü prognoz ile ilişkilidir. Literatürde bu tümörün patogenezi ile ilgili üç farklı teori bulunmaktadır: Koll zyon, kombinasyon ve konversiyon (111). Moleküler alışmalar, uterin karsinosarkomların çoğunda monoklonal

kökeni ortaya koymuş ve konversiyon teorisini desteklemiştir (112, 113). Dolayısıyla sarkomatöz diferansiyasyon gösteren bir karsinom olduğu fikri güncel kabul edilen görüştür. Karsinomlara benzer metastaz paterni göstermesi, metastazlarının çoğunlukla karsinomatöz komponentten oluşması da bu fikri desteklemektedir. Bilinen en sık mutasyon somatik *TP53* mutasyonudur (112, 113).

4.3.1.8. Nöroendokrin Tümörler

Endometriumda nadir rastlanan bir tümör grubudur. Düşük dereceli (karsinoid) veya yüksek dereceli (küçük hücreli veya büyük hücreli nöroendokrin karsinom) olabilir. Kadın genital sisteminde en sık servikte yerleşirler ancak her lokalizasyonda görülebilir. Uterusta gözlemlenirken, endometrial epitelden köken aldıkları düşünülmektedir. Kadın genitalinde gözlenen diğer primer nöroendokrin tümörlerin aksine, uterusda büyük boyutlara ulaşabilir. Tanı için morfoloji yanısıra immünohistokimyasal olarak en az bir nöroendokrin belirteç pozitifliği gereklidir.

4.3.2. Endometrium Kanserlerinde Moleküler Sınıflama

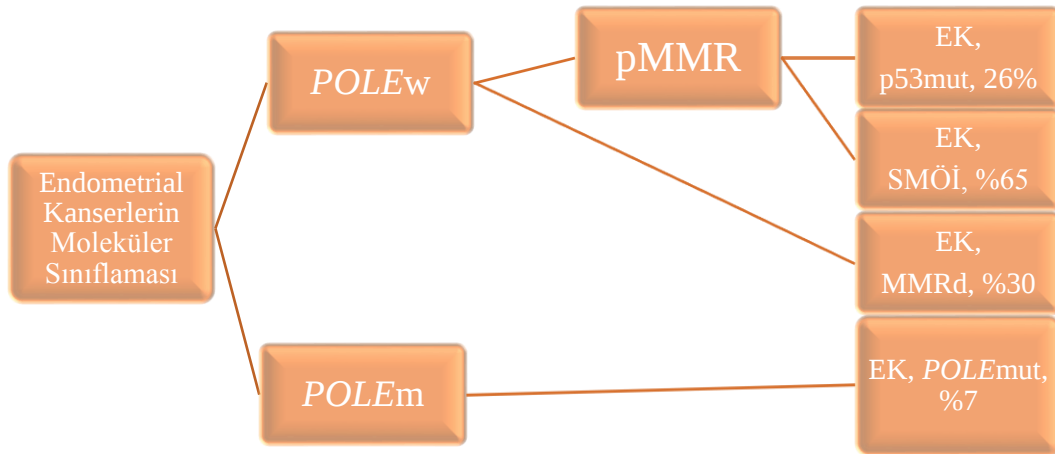
TCGA ile endometrium kanserlerinin moleküler özelliklerinin aydınlatılması, moleküler olarak da endometrial kanserlerin farklılıklar gösterdiğini kanıtlamış, moleküler sınıflama yapılabilmesine olanak sağlamıştır (83). Güncel Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ/WHO) sınıflamasına da moleküler klasifikasyon dahil edilmiştir (**Şekil.4.3.2**). Buna göre, endometrium kanserleri için histolojik subtiplerden bağımsız 4 ana moleküler grup tanımlanmıştır. Endometrial kanserlerin mikroskopik morfoloji temelli sınıflaması, özellikle düşük dereceli tümörlerde tanı ve tedaviyi yönlendirme için yeterli olmakla birlikte, yüksek dereceli tümörler söz konusu olduğunda, gözlemciler arası değişkenlik artabilmekte, tanı süreci zorlaşabilmektedir (114). Tümörlerin histomorfolojik ve moleküler karakteristiklerin entegre edilmesi, özellikle yüksek dereceli tümörlerde, hastaların prognostik stratifikasyonuna katkı sağlamaktadır (101, 115). Hatta diyebiliriz ki, yüksek dereceli tümörlerde moleküler sınıflama, histolojik sınıflamadan çok daha önemlidir. Örneğin yüksek dereceli (FIGO derece 3) endometrioid karsinom ve seröz karsinomların ayırıcı tanısı histoloji ve immünohistokimya kullanıldığında bazen imkansız olabilmekte, patoloğlar arası tanı uyumsuzluğu artmaktadır. Bu iki tümör tipinin prognostik olarak da birbirinden çok farklı olmadığı gösterilmiştir (116). Seröz karsinomların sadece peritoneal yayılım konusunda, derece 3 endometrioid karsinomlardan önde olduğu bilinmektedir (117). Bu iki tümör tipinin ayırıcı tanısında histolojik subtiplendirme yerine moleküler sınıflama yapılması, hastaların takip ve tedavisine daha fazla olanak

sağlamakta, moleküler klasifikasyonun katkısı bu gibi durumlarda çarpıcı olmaktadır (115). Ayrıca moleküler sınıflama bazen histopatolojik sınıflamaya da yardımcı olabilir. Örneğin, *POLE* mutasyonu veya MMR sistem defekti saptanan bir vakada seröz karsinom tanısından uzaklaşılabilir. Moleküler gruplar her histopatolojik sınıfta değişken sıklıkta görülebilir (118). Histopatolojik subtiplerde görülme oranları **Tablo.4.3.4**'de gösterilmiştir.

Tablo 4.3.4. Moleküler grupların, histolojik subtiplerde görülme oranları

	DDEEK	YDEEK	SEK	ŞHEK	Mikst	A/DEK	KS	NEK	MBEK
POLEmut	%6.2	%12.1	%0*	%3.8	%5.6	%12.4	%5.3	%7.1	%0
MMRd	%24.7	%39.7	%0*	%9.8	%33.3	%44	%7.3	%42.9	%0
YKS/SB	%4.7	%21.3	%100**	%42.5	%61.1	%18.6	%73.9	%35.7	%0
SMÖİ	%63.5	%28	%0*	%40.9	%0	%25	%13.5	%14.3	%100

POLEmut, *POLE* ultramutasyonlu; **MMRd**, mikrosatellit sistem defekli; **YKS/SB**, Yüksek kopya sayılı/seröz benzeri; **SMÖİ**, Spesifik moleküler özellik içermeyen; **DDEEK**, Düşük dereceli endometrioid endometrium karsinomu; **YDEEK**, yüksek dereceli endometrioid endometrium karsinomu; **SEK**, seröz endometrium karsinomu; **ŞHK**, şeffaf hücreli endometrium karsinomu; **A/DEK**, andiferansiye/dediferansiye endometrium karsinomu; **KS**, karsinosarkom; **NEK**, nöroendokrin karsinom; **MBEK**, mezonefrik benzeri endometrium karsinomu. *:Seröz morfolojiye sahip, *POLEmut* veya *MMRd* endometrial karsinomlar, yüksek dereceli, seröz benzeri endometrioid karsinom olarak adlandırılmalıdır. **: *TP53* mutasyonu içermeyen ya da p53 “wild” tip ekspresyon gösteren seröz karsinomlar nadiren bulunur, bunlarda yüksek kopya sayısı mevcuttur. *Makaleden uyarlandı* (118).



Şekil 4.3.2. Endometrial kanserlerin moleküler sınıflamasında algoritmik yaklaşım

Tüm endometrial kanser histolojik subtiplerine uygulanabilecek, histolojiden bağımsız, moleküler algoritma gösterilmiştir. *POLEmut*, *POLE* ultramutasyonlu grup; MMR, mismatch repair; MMRd, “mismatch repair deficient”; MMRp, “mismatch repair proficient”; SMÖİ, spesifik moleküler özellik içermeyen; m/mut, mutasyon; w, wild/yabani; EK, endometrial kanser.

4.3.2.1. *POLE*-Ultramutasyonlu Grup

POLE-ultramutasyonlu subtip, endometrial kanserlerde en az rastlanan ancak tüm tümörler içerisinde en yüksek mutasyon yüküne sahip tümörlerden biridir. Tek bir tümörde 10.000'den fazla mutasyon mevcuttur. DNA polimeraz epsilonun, santral katalitik subünitesini kodlayan *POLE* geninin ekzonükleaz bölgesinde gerçekleşen mutasyonlar, replikasyon sırasında DNA onarım yeteneğinden yoksun disfonksiyonel bir holoenzim oluşmasına sebep olur. Endometrial kanserlerin %5-7'sinde *POLE* mutasyonları tanımlanmıştır (83, 119). *POLE* ultramutasyonlu endometrial kanserlerin çoğu endometrioid morfoloji göstermekle birlikte seröz ve MBEK hariç her histolojik tipte gözlelenebilir (**Tablo.4.3.4**).

Endometrial karsinomların moleküler klasifikasyonunda, *POLE* ultramutant grup için tanımlanmış 11 adet patojenik ve fonksiyonel mutasyon mevcuttur (**p.P286R**, **p.V411L**, p.S297F, p.A456P, p.S459F, p.F367S, p.L424I, p.M295R, p.P436R, p.M444K, p.D368Y) (120). Bu mutasyonlar özellikle 9, 11, 13 ve 14.ekzonlarda izlenmektedir. Çoğunlukla somatik olmakla birlikte nadiren herediter de olabilir. *POLE* mutasyon tayini, NGS tekniği ile yapılabilmektedir, henüz herhangi bir immünohistokimyasal boya mevcut değildir.

POLE mutasyonlu endometrial karsinomlarda, bozulan DNA onarım sistemi nedeniyle çok fazla sayıda mutasyon izlenmesinin bir sonucu olarak, çok farklı histolomorfolojik özellikler bir arada bulunabilir. Yine çok fazla mutasyon izlenmesinin bir sonucu olarak, *TP53* mutasyonu veya MMR sistem defekti gözlelenebilir, ve bu eşlikçilerin prognostik önemi bulunmamaktadır (118). Dolayısıyla *POLE* mutasyonu saptandığında, mikrosatellit instabilitesi veya p53 mutasyonu bulunması önemini kaybetmektedir (118). *POLE* ultramutant grupta çok mutasyon izlenmesi, bol miktarda neoantijen oluşumuna yol açar ve buna karşı gelişen güçlü bir immün yanıt mevcuttur. Bu immün yanıt sayesinde, hastaların prognozunun çok iyi seyrettiği düşünülmektedir.

Hem makroskopik hem mikroskopik olarak kaotik görünen bu tümörler, daha genç hastalarda ve çoğunlukla yüksek histolojik derecede saptansa da, hatta nonendometrioid tiplerde de saptansa da bu hastaların mortalitesi düşük, prognozu iyidir (118). *POLE* ultramutasyonu saptandığı zaman bu hastalar adjuvan kemoterapi veya radyoterapi almazlar. *POLE* mutasyonu değerlendirilirken, literatürde tanımlanan fonksiyonel mutasyonlardan biri olup olmadığına dikkat etmek gereklidir. Fonksiyonel olmayan *POLE* mutasyonu içeren bir endometrium karsinomu *POLE*-ultramutasyonlu gruba girmez ve kötü prognoz gösterebilir. Rutin olarak henüz kullanılmasa da prognostik önemi ve immünoterapi seçeneği için, en

azından seçili vakaların, fonksiyonel *POLE* mutasyonları açısından araştırılması önerilmektedir (89). ESGO/ESTRO/ESP rehberleri düşük riskli EK ve orta riskli olup düşük dereceli histolojisi olan endometrium kanserlerinde *POLE* mutasyon analizinin yapılmayabileceğini, özellikle yüksek risk grubuna giren hastalarda araştırılmasını önermiştir (101).

4.3.2.2. MMR Sistem Defekti İçeren (MMRd), Hipermutasyonlu Grup

DNA “mismatch” onarım (MMR) sistemi, genom bütünlüğünün korunmasında ana DNA onarım sistemlerinden biridir. MMR sistem defekli (MMRd) grup, MMR sisteminde somatik kazanılmış veya herediter mutasyonlar sebebiyle oluşan, *POLE*-ultramutasyonlu kadar olmasa da yüksek mutasyon yüküne sahip (hipermutant), en sık endometrioid subtipde saptanan moleküler alt gruptur. Sporadik vakalarda, *MLH1* geni promotor bölgesindeki hipermetilasyona sekonder epigenetik susturulma sonucu, MMR sisteminde bozulma meydana gelir, bu da genom boyunca somatik mutasyonların (1-4 baz çiftini ilgilendiren baz değişiklikleri, insersiyon ve delesyonlar) birikimine ve bunların düzeltilememesine, dolayısıyla mutasyon yükünün artmasına yol açar. Eğer bu mutasyonlar şans eseri kanser genlerinde gerçekleşirse, patojenik “driver” mutasyonlara sebep olur. Çalışmalar, mikrosatellit instabil endometrium kanserlerinde, *ATR*, *CTCF*, *JAK1*, *RNF43*, *RPL22* mutasyonlarına da dikkat çekmektedir (121, 122, 123, 124, 125).

MMR eksikliği bir veya daha fazla MMR protein ifade kaybı ile tanımlanır. MMR proteinleri, dimerler şeklinde kompleksler oluşturup, MMR sisteminin çalışmasından sorumludurlar. DNA’da rekombinasyon veya replikasyon sırasında ortaya çıkan hasarlar, endojen veya ekzojen antijenlerin ve toksinlerin oluşturduğu hasarlar, DNA onarım sistemleri tarafından onarılır. MMR sistemi de küçük baz yanlış eşleşmelerini, insersiyon ve delesyonlarını tanımak, ortama başka ek onarım proteinlerini çağırmak, hatalı bölgeyi eksize etmek ve daha sonra eksize edilen bölgeyi yeni DNA sentezi ile doldurmaktan sorumludur. DNA onarımı, iplik spesifik, çift yönlü olmalı ve tek bir baz hatasını bile tanımalıdır. MSH2 ve MSH6’dan oluşan MutSα kompleksi hatalı bölgeyi tanır, DNA’ya bağlanır ve ortama MutLα dimerinin (MLH1, PMS2) ve PCNA (Proliferation cell nuclear antigen), replikasyon faktörü C, ekzonükleaz 1, replikasyon proteini A ve DNA ligaz 1’in takviyesini sağlar. MutLα, çağrılan faktörlerin aktivasyonundan ve yolağın akışının sağlanmasından sorumludur. MutLα ve ekzonükleaz aktivitesi ile hatalı bölge kesilir. Replikasyon faktör ve proteinleri kesilen bölgenin uzaklaştırılması ve DNA’nın korunmasında görev alır. DNA polimeraz α ve DNA ligaz sayesinde, kesilen bölge tekrar sentezlenir ve birleştirilir. MutSα ve MutLα komplekslerindeki

bileşenden biri baskın olmalıdır (Baskın proteinler: MSH2 ve MLH1). Baskın bileşen erken parçalanmayı önleyerek dimerin stabilize edilmesinden sorumludur. MMR sistemi, mitoz ve mayozun G2 kontrol noktasında çalışır. MMR sistemi ilişkili proteinler, oluşturdukları dimerler ve işlevleri **Tablo.4.3.5**'te gösterilmiştir (126). MutSα kompleksi küçük boyuttaki hasarları tanırken, MutSβ (MSH2, MSH3) dimeri daha büyük boyuttaki insersiyon ve delesyonları tanıma yeteneğine sahiptir (127).

Mikrosatellitler, genomun kodlayıcı olan ve kodlayıcı olmayan bölgelerinde, dağınık ve bol miktarda bulunan, tekrarlayan küçük DNA dizileridir. Bu diziler, tekrarlayan yapıları gereği, DNA polimerazın replikasyon sırasında hata yapmasına yatkın bölgelerdir ve bu durum mikrosatellitleri MMR sistem eksikliklerine, özellikle duyarlı hale getirir. MMR sistem defektleri sıklıkla mikrosatellit bölgelerdeki baz hatalarıyla karakterlidir (126).

Mikrosatellit instabilitesi immünohistokimyasal ve moleküler yöntemlerle saptanabilir. İmmünohistokimyasal yöntemde, MSH2, MSH6, PMS2 ve MLH1 boyanma paternlerine bakılır ve kayıp varsa MMR sistem defekti bulunduğunu gösterir. Heterodimer içerisindeki baskın bileşenin kaybı, diğerinin de kaybına neden olacağı için sadece PMS2 ve MSH6 boyanmasını yeterli bulan laboratuvarlar da mevcuttur. MMR immünohistokimyasının değerlendirmesi fiksasyon sıkıntılarından çok sık etkilendiği için bazı durumlarda zor olabilmektedir. Endometrial stromal hücreler veya lenfositlerde nükleer boyanma ile karakterli pozitif internal kontrol mutlaka bulunmalıdır. MMR protein kaybı olmadığı durumlarda, epitelyal nükleustaki boyanma, stromadakinden daha kuvvetli olmalıdır (118).

PCR tabanlı moleküler fragman analizinde ise kullanılan panele göre değişikliklik göstermekle birlikte, en yaygın kullanılan ProMega pentaplex kitinde BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24 ve MONO-27 mononükleotid lokusları analiz edilir. Tek bir lokusta instabilite varsa düşük mikrosatellit instabilitesi (MSI-L), 2 ve daha fazla lokusta instabilite varsa yüksek mikrosatellit instabilitesi (MSI-H) olarak adlandırılır. Hiç instabilite yoksa mikrosatellit stabildir (MSS). Moleküler analizin hastanın kendi tümörsüz normal DNA'sı ile karşılaştırma yaparak değerlendirilmesi gerekmektedir. Yüksek mikrosatellit instabilitesi, MMR proteinlerinde kayıpla (MMRd) korelidir (126) (**Tablo.4.3.7**).

Tüm kanserler içerisinde mikrosatellit instabilitesinin en yaygın görüldüğü tümör tipi endometrial kanserlerdir (%31.4)(126). Bunu kolon (%19.7), mide (%19.5) ve rektum (%5.7) takip eder (**Tablo.4.3.6**).

Tablo 4.3.5. İnsan mikrosatellit onarım sistemi kompleksleri, komplekslerin bileşenleri ve baskın elemanların işlevleri

MMR Dimer Kompleksleri	Kompleks Bileşenleri	İşlev
MutSa	MSH2, MSH6	Baz-baz yanlış eşleşmelerini ve küçük IDL'leri tanır, MutLa dimerini ortama çağırır.
	<i>MSH2</i>	Dimerin baskın elemanıdır, MSH6'nın hızlı parçalanmasını önler, dimeri stabilize eder.
MutSβ	MSH2, MSH3	Daha büyük boyuttaki IDL'leri tanır
MutLa	MLH1, PMS2	Yanlış eşleşen bazlar ve MutSa kompleksi ile birleşir, heterodupleks ve homoduplex ayırımını artırır. Hatalı nükleotidlerin kesilmesinde ve kesilen bölgenin tekrar sentezlenmesinde rol oynayacak ek protein ve enzimleri ortama çağırır.
	<i>MLH1</i>	Dimerin baskın elemanıdır, PMS2'nin hızlı parçalanmasını önler, dimeri stabilize eder.
MutLβ	MLH1, PMS1	Bilinmiyor.
MutLy	MLH1, MLH3	MutLa'nın yedeğidir. Mayozdaki rekombinasyonda görevlidir.

IDL, insertion deletion loops. *Makaleden uyarlandı* (127).

Tablo 4.3.6. MMR sistem defekti görülme oranlarının tüm solid tümörler arasındaki dağılımı

Tümör bölgesi	Sıklık	Tümör bölgesi	Sıklık	Tümör bölgesi	Sıklık
<u>Endometrium</u>	%31.4	Serviks SCC, ESAK.	%2.6	Ovaryan SKAK.	%1-2
Kolon	%19.7	Wilms	%2-3	Kolanjiokarsinom	%1-2
Mide	%19.5	Mezotelyoma	%2.4	HCC	%1-2
Rektum	%5.7	Özofageal karsinom	%1-2	Baş boyun SCC	%1-2
Adrenokortikal kar.	%4.3	Meme	%1-2	GBM	%0.25
Uterin KS	%3-4	RCC	%1-2	Diğer	<%1

Uterin KS, uterin karsinosarkom; SCC, skuamöz hücreli karsinom; ESAK, endoservikal adenokarsinom; RCC, renal hücreli karsinom; SKAK, seröz kistadenokarsinom; HCC, hepatoselüler karsinom; GBM, glioblastoma multiforme. *Makaleden uyarlandı* (127).

Tablo 4.3.7. MMRd ve MSI-H terminolojilerinin karşılaştırılması

MMRd	MSI-H
-DNA onarım sistemi olan MMR sisteminde inaktivasyon olarak tanımlanır. -Yüksek mikrosatellit instabilitesine yol açar. -İmmünohistokimyasal olarak veya NGS ile değerlendirilir.	-Moleküler alterasyon ve hipermutasyonlu fenotip olarak tanımlanır. -Defektif MMR sisteminin bir sonucudur. -“Germline” DNA’da bulunmayan, değişken boyutlarda, tekrarlayan DNA sekansları ile karakterlidir. -MSI varlığı, MMR sisteminin çalışmadığının fenotipik kanıtıdır. -Mikrosatellitlerin uzunluklarındaki farklılıkları direkt değerlendiren PCR ya da NGS yöntemi ile saptanır.

MMRd, “mismatch” repair sistem defekti; MSI-H, mikrosatellit instabilitesi yüksek (high). *Makaleden uyarlandı (127).*

Histolojik olarak MMRd ve *POLE* ultramut gruplar benzerlikler gösterir. İkisi de en sık endometrioid subtipde rastlanır. İkisi de yüksek dereceli morfolojisi olan vakalarda, düşük dereceli morfolojisi olanlara göre daha sıktır. İkisinde de artmış neoantijen yüküne sekonder, belirgin lenfositik infiltrasyon ve morfolojik heterojenite mevcuttur.

MMRd moleküler alt grubun genel sağkalımı orta düzeydedir. Prognostik önemi, *TP53* mutasyonundan fazla, *POLE* mutasyonundan azdır. ESGO/ESTRO/ESP rehberleri, MMRd endometrial kanserleri, FIGO derece, histotip, myometrial invazyon derinliği ve lenfovasküler invazyon durumuna göre farklı risk gruplarına ayırmaktadır (128). Ancak, bu faktörlerin hepsinin MMRd endometrial kanserlerde prognostik olarak önemli olup olmadığı net değildir (128). Derin myometrial invazyon ve lenfovasküler invazyonun MMRd grupta prognozu kötü etkilediği, tümör derecesinin ise prognoz üzerinde etkisi olmadığı bildirilen çalışmalar mevcuttur (129). Hatta histolojik subtipin bile prognostik önemi bulunmadığını bildiren yayınlar bulunmaktadır (128). Farklı histolojik subtiplerde sabit olarak orta derecede prognostik önemi olduğu düşünülmektedir. Bazı çalışmalarda, erken derece ve evre kanserlerde saptanırsa kötü, ileri evre ve nonendometrioid kanserlerde saptanırsa iyi klinik sonuçla ilişkili olduğu bildirilmektedir (130, 131, 132, 133). Özetle, farklı derece ve histolojik subtiplerin, bu grubun morfolojik heterojenitesi ile alakalı ve prognozdan bağımsız olduğu düşünülmektedir (118, 128).

MMRd grup, MMRp gruba göre radyoterapiye daha duyarlıdır; ayrıca yüksek mutasyon yükü ve immün hücre infiltrasyonu nedeniyle immünoterapi için de aday gösterilmektedir (134, 135). Tüm solid tümörlerde MMR sistem defekti gösteren vakaların, PD-1 yolağı inhibisyonuna

iyi yanıt verdiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (136, 137). Endometrial kanserlerde de *POLE*ultramut ve MMRd gruplarda immün kontrol blokaj inhibitörleri ile ilgili çalışmalar devam etmektedir (136, 138, 139).

4.3.2.3. Kopya Sayısı Yüksek, Seröz Benzeri, p53 mutant Grup

Ultramutasyonlu ve hipermutasyonlu tümörler çıkarıldıktan sonra, TCGA, düşük mutasyon yüklü endometrial kanserleri somatik kopya sayısı değişikliklerine göre gruplamıştır. Kopya sayısı yüksek grupta, sıklıkla *TP53* mutasyonu (>%90) izlenmekle birlikte, bu grupta *TP53* mutasyonunun izlenmediği tümörlerin de mevcut olduğu unutulmamalıdır. En sık seröz karsinomlar izlenmekle birlikte her histolojik subtipi örtüşebilir. MMRd ve *POLE*ultramut gruplarda *TP53* mutasyonunun herhangi bir prognostik önemi bulunmamaktadır. P53 immünohistokimyası bu grubu saptamak için yaygın olarak kullanılan kolay ve ucuz bir yöntemdir ancak %10'a yakın vakayı kaçırabilir (118). Seröz benzeri, yüksek kopya sayılı moleküler subgruptaki tümörler, daha yaşlı hastalarda, genellikle yüksek dereceli, belirgin nükleer atipi gösteren agresif tümörlerdir ve bu vakalarda her zaman adjuvan kemoradyoterapi verilmektedir. Histotipten bağımsız, bu tümörlerde *HER2* amplifikasyonu ve yüksek PARP-1 ekspresyonu da saptanabilmekte ve tedavi hedefi olarak kullanılabilir (118). Ayrıca yine bu grupta anti-anjiogenez tedavilerin (bevacizumab) etkili olduğunu belirten yayınlar da mevcuttur (140).

4.3.2.4. Kopya Sayısı Düşük, MMRp, Spesifik Moleküler Özellik İçermeyen Grup

Adından da anlaşılacağı üzere, bu grupta, MMR sistem defekti gözlenmez, kopya sayısı değişikliği azdır, *POLE* fonksiyonel mutasyonları mevcut değildir. Ancak, sık olarak *PTEN*, *PIK3CA*, *PIK3R1*, *ARID1A* ve *CTNNB1* mutasyonları izlenir. En sık endometrioid subtipde gözlenmekle birlikte diğer histolojik subtiplerde de gözlenebilir (**Tablo.4.3.4**). Bu grupta L1CAM ifade artışının risk stratifikasyonu için kullanımı çalışılmaktadır (133).

4.3.3. Herediter Sendromlar

Endometrial kanserlerin çoğu sporadiktir ama genetik yatkınlık da söz konusudur. Lynch ve Cowden sendromları endometrial kanser ile ilişkili herediter sendromlardır.

4.3.3.1. Lynch Sendromu

Lynch sendromu otozomal dominant kalıtılan, dört MMR proteinini kodlayan genlerin birinde “germline” mutasyon sonucu ortaya çıkan herediter kanser sendromudur. Artmış mutasyon fenotipi sebebiyle malignitelere yatkınlık ve erken yaşta malignite gelişimi ile karakterlidir. Herediter kolorektal kanserlerin en sık sebebi olup, kolorektal karsinomların yaklaşık %3’ünden sorumludur. Sendromik hastaların, kolorektal ve endometrial kanserler dışında da bir çok tümöre yatkınlığı artmıştır (141, 142, 143). Lynch sendromu hastalarında sıklıkla ilk saptanan kanser, endometrium karsinomudur ve bu nedenle tüm endometrium karsinomlarında MMR/MSI testi ile tarama yapılması, Lynch sendromunun daha erken saptanmasını sağlayarak, bu hastaların gelecekte gelişebilecek daha ölümcül kanser (sıklıkla kolorektal) tipleri açısından takip altında kalmasını sağlar (144, 145). Lynch sendromunun tanınması, hastanın kendisi ve ailesi için erken tanı, takip ve risk azaltıcı profilaktik yaklaşımların uygulanabilmesi açısından ciddi önem taşımaktadır. Bu nedenle, MMR sistem defekti saptanan tüm hastaların, Lynch sendromu açısından taranmasını öneren çalışmalar literatürde mevcuttur (146). Endometrium kanserlerinin %30’unda MMR sistem defekti mevcut olup, bunların çoğunluğunun sebebi *MLH1* geninin promotöründe meydana gelen hipermetilasyon sonucu genin susturulmasıdır. Dolayısıyla *MLH1* ve *PMS2* kaybı olan vakaların epigenetik kökenli olma ihtimali daha yüksek iken, *MSH2* ve/veya *MSH6* kayıplarında somatik veya “germline” mutasyon varlığı düşünülür. Eğer mutasyon “germline” ise Lynch sendromunu destekler. Artık, yeni tanı alan tüm endometrial kanserlerin MMRd açısından immünohistokimyasal olarak araştırılması önerilmektedir. *MLH1* ve *PMS2* kaybı varsa *MLH1* metilasyon analizi yapılmalıdır, metilasyon saptanırsa somatik bir değişiklik olduğu kanıtlanmış olur. Metilasyon yoksa veya *MHS2* ve/veya *MSH6* veya sadece *PMS2* kaybı varsa, hastalara Lynch sendromu açısından genetik danışmanlık önerilmelidir (89).

4.3.3.2. Cowden Sendromu

Cowden sendromu, *PTEN* mutasyonları ile ilişkili otozomal dominant kalıtılan, meme, tiroid ve endometrium kanserlerinde risk artışı ile karakterli bir sendrom olup bu hastalara düzenli kanser taranması önerilmektedir (89).

4.4. Endometrial Karsinomlarda Mikroçevre

Endometrial mikroçevrede, immün sistem denge halinde işlev görmelidir. Endometriumu enfeksiyonlardan korurken bariyer görevi görmeli ama gestasyon ve fetal gelişim için

immünsupresif etki göstermelidir. Tümör mikroçevresinde ise, tümörün antijenik özellikleri yanısıra nekroz ve hipoksiye sekonder immün sistem uyarılır. Bu immün yanıt üzerinde baskılayıcı bir etki oluşması ise karsinogeneze katkı sağlar. Dolayısıyla, tümör mikro çevresinde, tümörün büyümesini engellemeye çalışan inflamatuvar hücreler ile anti-tümör yanıtı baskılamaya çalışan immünsupresif hücreler birlikte yer alır. Bu savaşta inflamatuvar hücrelerin tükenmesi, tümöral veya stromal hücrelerin inflamatuvar prosesi baskılayacak proteinler (CTLA4, PD-L1) ifade etmeye başlamaları, bazı neoplastik hücrelerin immün yanıtı kaçmasına neden olur ve karsinogeneze katkı sağlar. Tümör mikroçevresini oluşturan hücresel elemanların kompozisyonu tümörden tümöre değişkenlik gösterir. Endometrial kanserlerdeki immünsupresif mikroçevre, hücre aracılı veya moleküler hedefler üzerinden gerçekleşir.

Tablo 4.4.1. Antitümöral ve immünsupresif yanıtı sorumlu mikroçevreye ait hücresel elemanlar

Antitümör İmmün Mikroçevre	İmmünsupresif Mikroçevre
CD8 pozitif T lenfositler, Th1 lenfositler, M1 fenotipinde makrofajlar, NK hücreleri, DC1 fenotipinde dendritik hücreler	Th2 lenfositler, M2 fenotipinde makrofajlar, Foxp3+ regülatuar T lenfositler DC2 fenotipinde dendritik hücreler

4.4.1. Hücre Aracılı Mekanizmalar

4.4.1.1. CD8 Pozitif T Lenfositler

Endometrial kanser vakalarında, kontrol grubuna göre endometriumdaki CD8 pozitif T hücre sayısının azaldığını; derece 3 EEK’lerde, sağlıklı kontrole göre kanda da CD8 pozitif T lenfosit sayısının azaldığını bildiren yayınlar mevcuttur (147). Başka bir çalışmada, tümörün invaziv kenarında intraepitelyal CD8 pozitif T lenfosit sayısı artışı diğer etmenlerden bağımsız iyi prognostik faktör olarak gösterilmiştir (148).

4.4.1.2. Regülatuar T Lenfositler

Chang ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, evre I-IV EK vakalarında, CD4+/CD25+ regülatuar T lenfosit miktarının, tümörü infiltre eden lenfositler arasında, kanda olduğundan daha yoğun bulunduğunu göstermiştir, aynı çalışmada bunların daha ileri derece, evre ve myometrial invazyon ile ilişkili olduğu bulunmuştur (149). Regülatuar T lenfositlerin,

endometrial kanser mikroçevresinde CD8 pozitif T lenfositler üzerinde baskılayıcı etkisi bulunmaktadır (149).

4.4.1.3. Makrofajlar

M1 veya M2 fenotipinde olabilen, tümörigenezde M2 fenotipinde polarizasyon gösteren ve bu tipi immünsupresyon ile ilişkili olan, artan miktarları kötü prognostik özellik gösteren, kanser vakalarında benign durumlardan da bu nedenle daha çok bulunan hücre grubudur (150). M2 makrofajların ileri evre kanserlerde daha çok bulunduğu ve daha kötü genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalım ile ilişkili oldukları gösterilmiştir (151). Ayrıca makrofajlar tarafından salgılanan interlökin ve sitokinler sayesinde, östradiolün neoplastik proliferasyon üzerindeki etkisinin arttırıldığı gösterilmiştir (152).

4.4.1.4. NK Hücreleri

Endometrial kanser mikroçevresinde, NK hücre aktivitesi bozulmuştur. Kanser vakalarında, sağlıklı vakalara göre daha az sayıda bulunurlar. Evre I EK vakalarında yapılan çalışmalarda, azalmış NK hücre aktivitesinin, artmış nükleer atipi ve myometrial invazyon ile ilişkisi bulunmuştur (153, 154).

4.4.1.5. Dendritik Hücreler

Antitümör bağışıklıkta önemli bir rolü olan, T hücrelerine antijen sunumundan sorumlu, önemli bir mikroçevre hücre grubudur. Dendritik hücrelerdeki disfonksiyon, EK'lerde progresyon ile ilişkili bulunmuştur. Kanserlerde normal endometriuma göre miktarının azaldığı gösterilmiştir ve bu durumun tümör hücrelerinin immün sistemden kaçışına olanak sağladığı düşünülmektedir (155).

Tablo.4.4.2. Endometrial kanserlerde immünsupresif mikroçevredeki temel hücre tipleri ve özellikleri

Hücre Tipi	Kanserdeki Durumu	Klinik anlamı
CD8 T lenfosit	Azalı	Tümörün invaziv sınırında intraepitelyal CD8 lenfosit miktarında artış bağımsız iyi prognostik faktör.
Treg	Artar	CD4+/CD25+ T lenfositlerin varlığı derece, evre ve myometrial invazyon ile ilişkili. CD4+/Foxp3+ hücresi sayısı ve CD4+/Foxp3+ hücrelerin CD8+ hücrelere oranı prognostik.
Makrofaj	Artar	Artışı kötü hastalıklı ve genel sağkalım ile ilişkili
NK hücresi	Azalı	Aktivitede azalma myometrial invazyon derinliği ile ilişkili. Miktarı prognozla ilişkili
Dendritik hücre	Azalı	Tümör progresyonu ve lenf nodu metastazında gecikme ile ilişkili
B lenfosit	Artar	T, NK ve makrofajlarda azalma ile birlikte B lenfositler ve dendritik hücrelerde artış kötü prognostik

4.4.2. Moleküler Hedefler

4.4.2.1. PD-1 / PD-L1

PD-1, CD4 ve CD8 pozitif T lenfositlerin yüzeyinde eksprese edilir. Bilinen iki ligandı vardır: PD-L1 ve PD-L2. PD-L1 en iyi bilinen immün kontrol noktası inhibitörüdür. Bu yolağ, daha önce sıklıkla malign melanom, over ve kolorektal kanserlerde çalışılmış, endometrial kanserlerde ise son yıllarda araştırılmaya başlanmıştır. Primer, reküren ve metastatik endometrial kanser vakalarının hepsinin %67-100'ünde PD-L1 ekspresyonu izlenir (156). Orta ve az diferansiye EK vakalarında ve nonendometrioid subtiplerde, iyi diferansiye ve EEK'lara göre daha sık PD-L1 ifadesine rastlanır. Endometrial kanserlerde özellikle *POLE* ultramut ve MMRd grupta, PD-L1 ifadesindeki artışın, progresyonsuz sağkalım için bağımsız bir kötü prognostik faktör olduğu gösterilmiştir. Analizlerde yüksek PD-L1/CD8 ve PD-L1/PD-1 oranları daha kısa progresyonsuz sağkalım ile ilişkili bulunmuştur (157, 158).

PD-1/PD-L1 yolağı normalde T hücre aktivasyonunda “downregülasyon” sağlayan inhibitör bir kontrol yolağıdır. Tümör hücreleri de immün sistemden kaçış için bu yolaqları

taklit edebilmektedir. Kanser hücreleri, yüzeylerinde PD-L1 ve PD-L2 eksprese etme yeteneği kazandıklarında, CD4 ve CD8 pozitif tümör infiltrate eden lenfositlerin (TIL) yüzeyindeki PD-1 reseptörüne bağlanarak, tümör mikroçevresindeki lenfositlerde inaktivasyona neden olur ve immün sistemden bu şekilde kaçabilir. Bu yolağı hedefleyen immünolojik tedavilerin, kanser tedavisinde kullanılabileceği son birkaç dekaddır araştırma konusu olup seçili tümörlerde başarılı sonuçlar elde edilmiştir. İmmün kontrol noktası blokaj inhibitörleri, tümörün immün sistemden kaçışını engelleyerek, immün sistemin reaktif olmasını sağlar. Bu tedavilerin seçiminde bilinen prediktif özellikler; yüksek tümör mutasyon yükü, mikrosatellit instabilitesi, *POLE* fonksiyonel mutasyonu varlığıdır. Ancak bunlardan daha başarılı prediktif belirteç ihtiyacı devam etmektedir.

4.4.2.2. Diğer Hedefler

Literatürde ayrıca; IDO, B7-H3, B7-H4, çeşitli HLA molekülleri, RCAS1, COX-2, Fas ve FasL, IL-6 ve survivin, diğer moleküler hedefler olarak tanımlanmıştır (159). Bunları hedefleyen immünmodulator ajanlar araştırılmaktadır. Bu moleküller, tezin kapsamı dışında olduğu için detaya girilmemiştir.

Özetle, endometrial karsinomlarda immün sistemden kaçış, çeşitli mutasyonlar, T lenfosit ve NK hücre aktivitesi üzerinde inhibisyon, PD-L1 protein ifadesinin ve kanserli hücrelerin östrojen sensitivitesinin artırılması sayesinde gerçekleşmektedir.

5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1. Olgu Seçimi, Blok Tasarımı ve Histopatolojik Değerlendirme

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalında, Ocak 2005 – Aralık 2022 yılları arasında endometrium kanseri tanısı almış tüm vakalara “Hastane Bilgi Sistemi” kayıtlarından ulaşıldı.

AÜTF Patoloji Anabilim Dalında Ocak 2020-Aralık 2022 yılları arasında, endometrial küretaj veya histerektomi materyallerinden “Endometrioid tip endometrium karsinomu” tanısı almış, immünohistokimyasal olarak MMR sistem defekti açısından (MSH2, MSH6, PMS2, MLH1 antikorları kullanılarak) incelenmiş, yeterli miktarda tümör dokusu bulunan ve işlemler sırasında tümör dokusunun tükenmeyeceği yönünde karara varılmış tüm vakalar çalışmaya dahil edildi (Şekil.5.1.1).

Endometrioid dışı histolojik subtipte sahip, endometrioid tipte ancak incelemeler için yeterli miktarda tümör dokusu bulundurmayan veya endometrioid tip endometrium karsinomu tanısını metastaz dokusundan almış ve laboratuvarımızda sadece metastaz dokusu bulunan, muhtemel tespit/takip artefaktları nedeniyle optimal inceleme yapılamayacağı yönünde karara varılmış, immünohistokimyasal olarak MMR sistem defekti araştırılmamış, hasta veya hasta yakınından alınmış aydınlatılmış onam formu olmayan vakalar çalışmaya dahil edilmedi. Ayrıca eşlik eden jinekolojik veya başka bir sisteme ait malignite tanısı bulunan vakalar çalışmadan çıkarıldı.

Çalışmaya dahil edilme koşullarını sağlayan 112 endometrioid tip endometrium karsinomu vakasının tümörlü HE kesitlerine arşivden ulaşıldı ve iki patolog (DE, EDS) tarafından, birlikte ve eş zamanlı olarak yeniden değerlendirildi. MELF tipi invazyon (yok/fokal/yaygın), FIGO histolojik derece (derece 1,2,3), nekroz (var/yok), nekroz yaygınlığı (≤ 30 :fokal, $31-60$:multifokal, > 60 :yaygın), komedonekroz (var/yok), lenfovasküler invazyon [yok, fokal (< 5 damar), yaygın (≥ 5 damar)], farklı histolojik patern (villoglandüler, mikroglandüler, sekretuar) veya diferansiyasyonlar [skuamöz/müsinöz diferansiyasyon varlığı ve yüzdece yaygınlıkları (≤ 30 :fokal, $31-60$:multifokal, > 60 :yaygın)], EIN (var/yok), EIN alanı değerlendirilebiliyor ise EIN odağında MMR protein ifadeleri (kayıp var/kayıp yok), myometrium invazyon derinliği değerlendirildi. Myometrial kalınlık, tümörün en derin invazyon gösterdiği alana en yakın endomyometrial bileşkeden serozaya kadarki mesafe

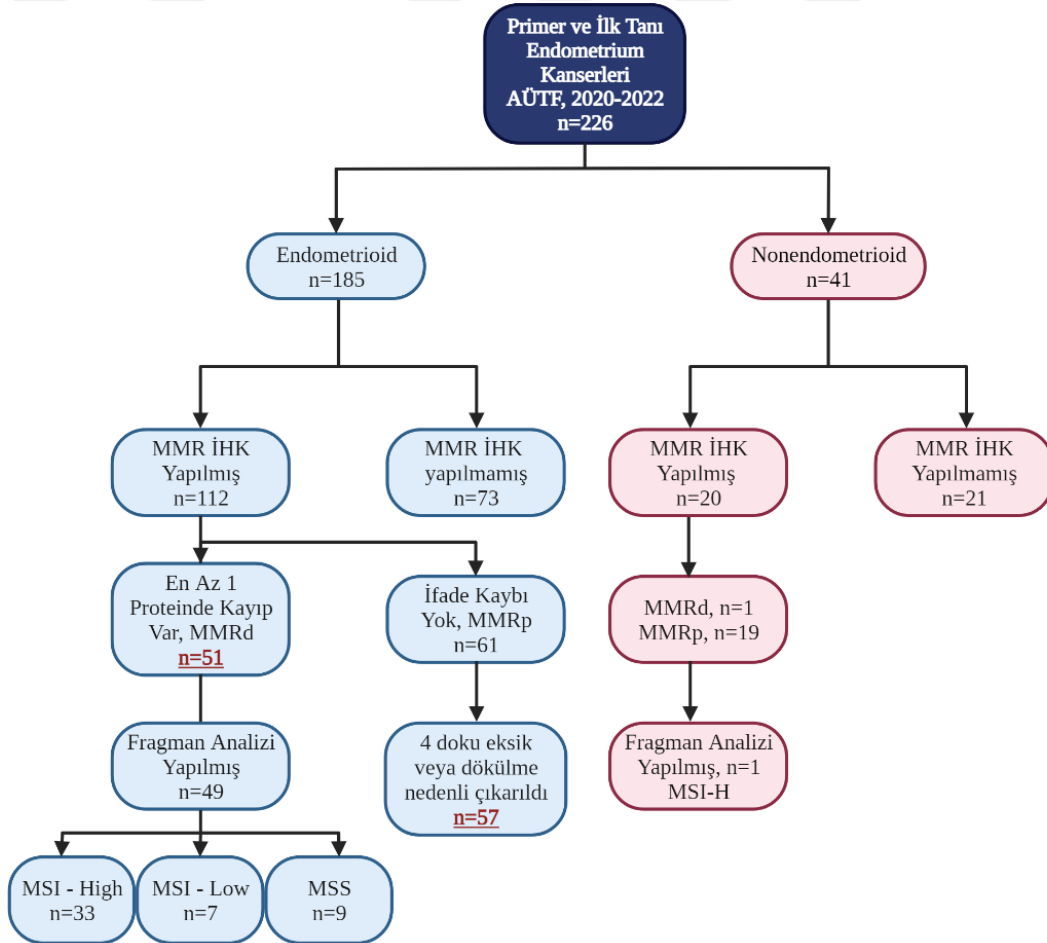
ölçülerek belirlendi. Tümörün myometrium invazyon derinliği ise; tümörün en derin olduğu nokta ile endomyometrial bileşke arasındaki mesafenin, ölçülen total myometrial kalınlığa yüzde olarak oranlanması ile hesaplandı. Vakalar tümörün myometrium invazyon derinliğine göre “<%50”, “≥%50-<%100”, “%100 (=serozaya invaze)” şeklinde üç gruba ayrıldı. Tümörler FIGO histolojik derecelerine göre de; düşük (derece 1,2) ve yüksek (derece 3) derece şeklinde gruplandı. FIGO evreleri hem I, II, III, IV şeklinde dört grup halinde; hem de erken (Ia, Ib, II) ve ileri (IIIa, IIIb, IIIc1, IIIc2, IVa, IVb) evre şeklinde iki grup halinde istatistiksel incelemeye alındı. MELF tipte invazyon yaygınlığı değerlendirilirken; endometrial kanserlerde mevcut bir yaygınlık değerlendirmesi bulunmadığı için, kolorektal kanserlerde kullanılan tümör “budding” skorlamasına benzer bir değerlendirme kullanıldı (160). Histerektomi materyalinde, tümörün invaziv sınırlarında en az 10 büyük büyütme alanı taranarak, MELF tipi invazyon <5 odak ise “fokal”, ≥5 odak ise “yaygın” şeklinde sınıflandırıldı.

Vakaların ESGO/ESTRO/ESP rehberine göre risk stratifikasyonu yapıldı (Düşük risk, Orta risk, Orta-Yüksek risk, Yüksek risk, İleri-Metastatik hastalık) (Tablo.4.3.2) (101). Çalışmaya dahil edilen vakaların, yaşları, tümör boyutları (milimetre), sentinel lenf nodu varlığı/yokluğu, lenf nodu metastaz durumları, pTNM evresi, FIGO evresi (Ia, Ib, II, IIIa, IIIb, IIIc1, IIIc2, IVa, IVb), varsa NGS analiz sonuçları, tespit süreleri (gün), tespitsiz kaldı ise tespitsiz kaldıkları süre (gün), tümörlerin internal servikal osa uzaklıkları, operasyon tipi (histerektomi/küretaj) gibi verileri “Hastane Bilgi Sistemi” taranarak, vakaların eski patoloji raporlarından elde edildi. Hastaların patoloji raporlarındaki makroskopik tarif bölümünden, tümöral lezyonların internal osa uzaklığına ilişkin bilgiye ulaşılabilenlerde bu veri kaydedildi. Makroskopik tariflerden tümörün uterus duvarındaki lokalizasyonu bilgisine ulaşılabilen vakalar da “alt uterin segment yerleşimli, fundus yerleşimli veya kavitede tüm uterus duvarını yaygın tutan” olmak üzere, tümörler yerleşim yerlerine göre 3 grupta ele alındı. Internal servikal os’a 20 milimetre veya daha yakın (≤20 mm) yerleştiği bildirilen vakalar alt uterin segment yerleşimli tümörler grubuna alındı. 20 milimetreden uzakta yerleşen tümörler (>20 mm) fundus yerleşimli olarak kaydedildi.

Çalışmaya dahil edilen vakaların, sağkalım bilgileri (hayatta/ölü), sigara kullanım öyküleri (var/yok), vücut kitle indeksi, parite sayıları, adjuvan tedavi bilgileri (yok/ kemoterapi almış/ radyoterapi almış/ kemoradyoterapi almış), tedavi direnci bilgileri (var/yok), takip süreleri (ay), postoperatif hormon tedavisi bilgileri (var/yok), nüks/metastaz durumları (var/yok), Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim dalı işbirliği ile elde edildi. Vücut kitle indeksi verileri sayısal değerler elde edildikten sonra 4 grupta sınıflandırıldı (zayıf:<18.5,

normal:18.5-24.9, hafif kilolu:25-29.9, obez:≥30). Parite durumları da ayrıca sayısal veriler elde edildikten sonra 3 grupta sınıflandı (Nullipar, primipar, multipar).

Tümör kesitlerinin yeniden değerlendirmesi sırasında, tespit ve takibi optimal olan, nekroz içermeyen, tümöre eşlik eden inflamatuvar hücrelerin yoğun olduğu (tümör içinde veya stromada) en az 2 farklı HE kesit ve bunlarda en az 2 temsili alan işaretlendi. Her vaka için, en az 2, en fazla 5 adet olmak üzere 1 mm çapa sahip korlar elde edildi ve 112 vakanın toplam 275 adet tümörlü koru yanı sıra, 35 adet kontrol doku korunu içeren, 6 adet doku mikrodizin bloğu (TMA) oluşturuldu (**Şekil.5.1.2.**). Doku mikrodizin bloklarından inceleme için hazırlanan kesitlerde MMRp grupta olan 61 vakadan dördünde tekrarlayan doku dökülmesi problemi ile karşılaşıldı ve çalışma dışı bırakılan bu 4 vakaya ait 14 adet kor değerlendirmeye alınmadı. Toplamda 108 vakaya ait 261 adet kor üzerinden çalışma gerçekleştirildi (**Şekil.5.1.3.**).

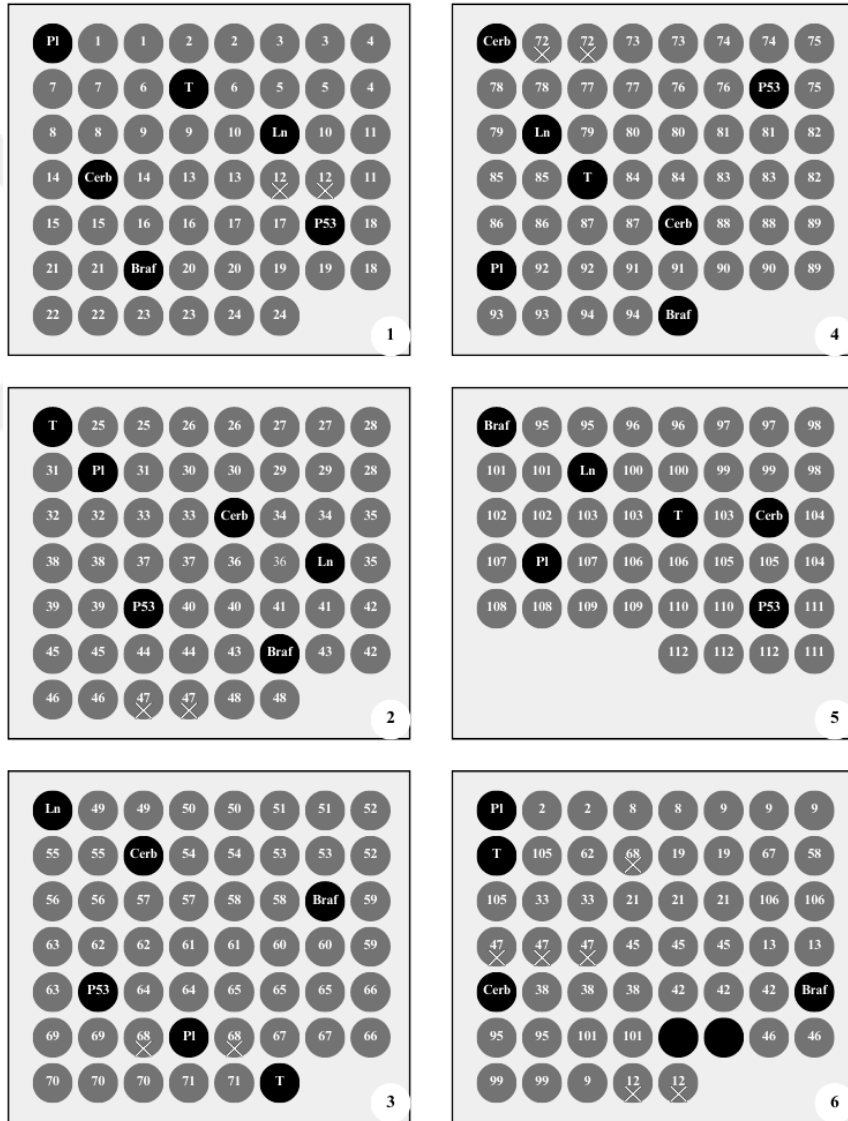


Şekil 5.1.1. Çalışmaya dahil edilebilmiş 108 vakanın (51 MMRd, 57 MMRp), çalışma için seçilme akışı gösterilmiştir

(MMR proteinleri immünohistokimyasal olarak araştırılmış, yeterli miktarda dokusu bulunan ve değerlendirme için optimal bulunan vakalar çalışmaya dahil edilmiştir).



Şekil 5.1.2. Her bir vakanın iki farklı bloğundan iki tane birer milimetrelik korlar manuel olarak alınarak, şekildeki cihaz yardımı ile toplam 6 adet TMA bloğu oluşturulmuştur (Beecher Manual Tissue Arrayer, Model-MTA1)



Şekil 5.1.3. Manuel olarak oluşturulan doku mikrodizin bloklarının dizaynları gösterilmiştir

Vakalar 1'den 112'ye kadar numaralandırılmıştır. Her bir şemanın sağ alt kenarında blok numarası belirtilmiştir. Üzerinde çarpı işareti olan 4 vakaya ait 14 kor doku dökülmesi problemi nedeniyle çalışmadan çıkarılmıştır.

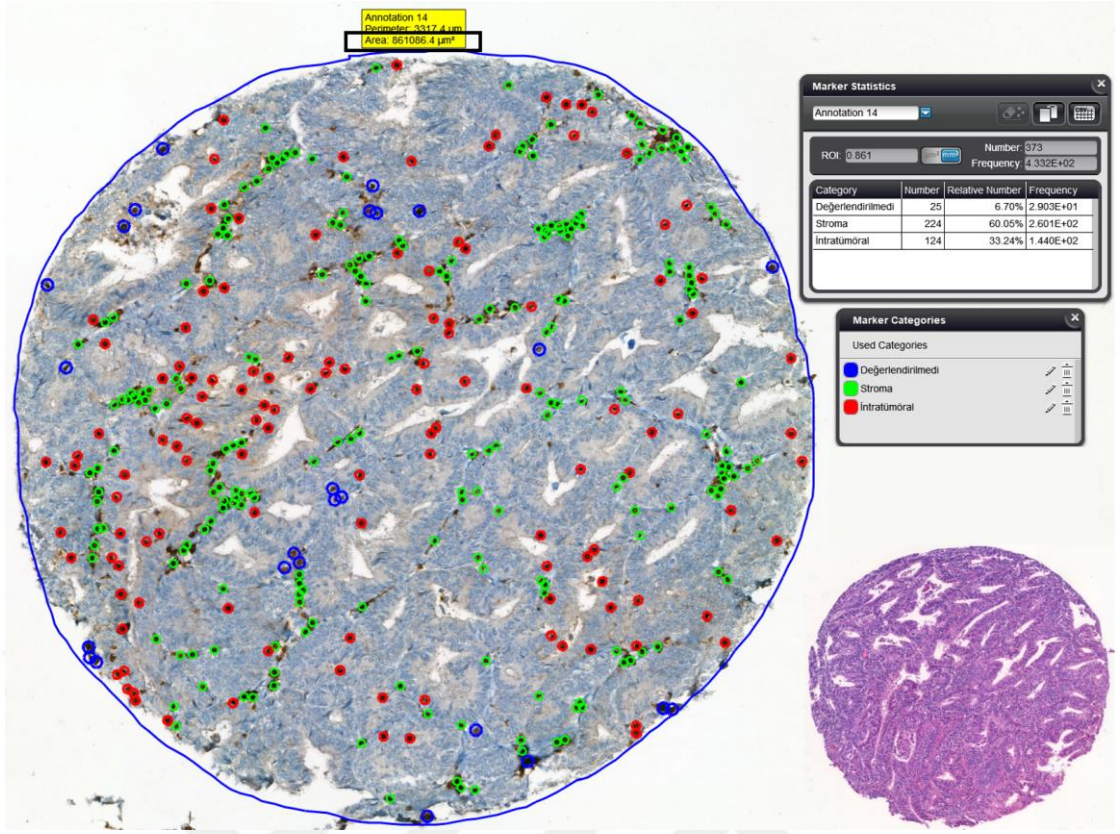
5.2. İmmünohistokimyasal, Dijital ve Moleküler Değerlendirme

İmmünohistokimyasal analizde kullanılacak CD3, CD4, CD8, CD45 antikorları için nonneoplastik tonsil ve lenf nodülü, PD-L1 antikoruna için plasenta dokusu, C-erbB2 için meme kanseri metastazı içeren aksiller lenf nodülü, BRAVE1 için “hairy cell” lösemi infiltrasyonlu dalak dokusu, P53 antikoruna için yüksek dereceli seröz karsinom infiltrasyonlu periton dokusu dış kontrol dokusu olarak belirlendi ve bu kontrol dokularının kolları ile tümörleri temsil eden kollar, her biri için farklı haritalama yapılmış mikrodizin bloklarına gömüldü (**Şekil.5.1.3.**). ER ve PR antikorları için, vakalarda iç kontrol bulunduğundan ayrıca dış kontrol dokusu eklenmedi.

İmmünohistokimyasal inceleme için, tüm doku mikrodizin bloklarından hazırlanan parafin kesitlerde, otomatik immünboyama cihazı (Ventana Medical Systems, Tucson, AZ, ABD) kullanılarak, CD3, CD4, CD45, CD8, PD-L1 (SP263), C-erbB2, ER, PR, p53 BRAF-VE1 antikorları uygulandı. Antikor görselleştirme için, BRAF-VE1, PD-L1 antikorları için Optiview DAB IHC Saptama Kiti (Ventana Medical Systems) ve CD3, CD4, CD8, CD45, ER, PR, p53, C-erbB2 antikorları için UltraView DAB IHC Saptama Kiti (Ventana Medical Systems) kullanıldı. Tüm IHC boyalı kesitler ve HE ile boyanmış kesitler dijital olarak tarandı [3D HISTECH, Panoramic P250 Flash 3 Panoramic scanner 3.0.2, SlideViewer 2.5. (3DHISTECH Ltd., Budapeşte, Macaristan)]. Vaka başına değerlendirilen toplam alan alan dijital görüntüleme platformunda yer alan “Quant Center” kullanılarak milimetre kare cinsinden hesaplandı.

Önceden immünohistokimyasal incelemesi yapılmış olan vakalarda ER, PR, p53, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 boyalı kesitler tekrar değerlendirildi.

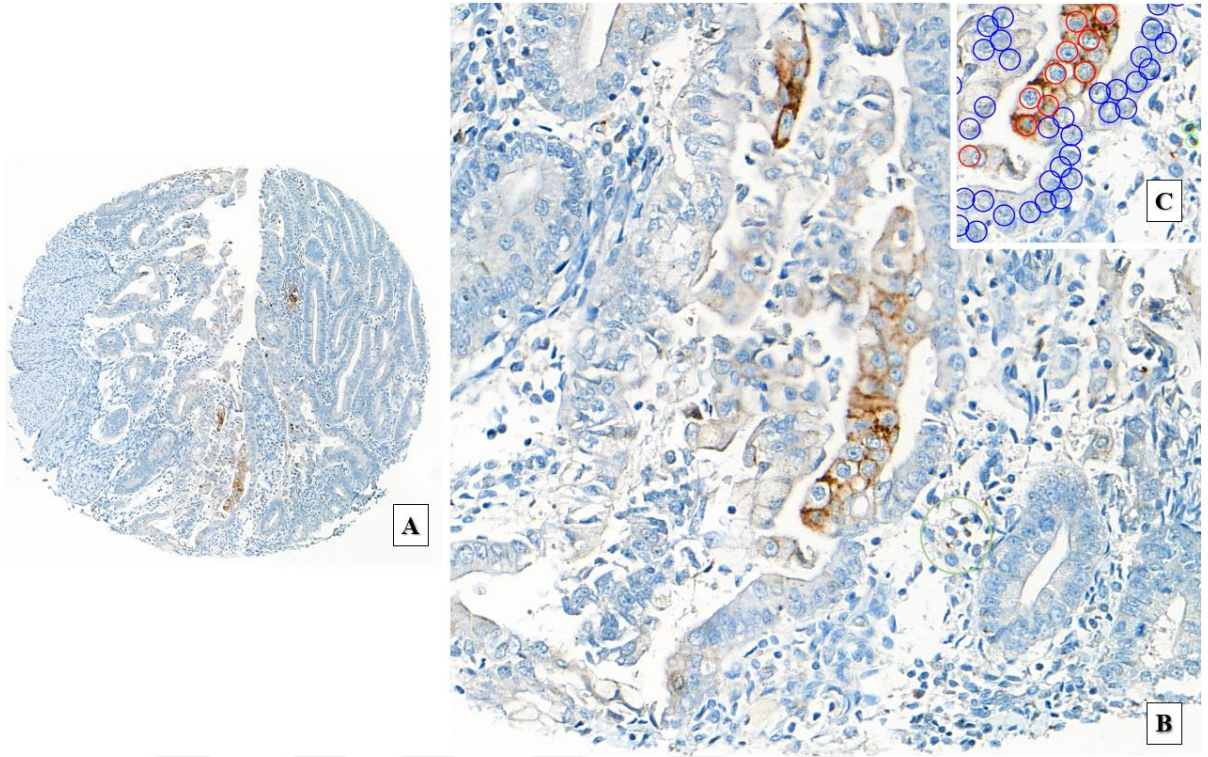
Dijital görüntüleme ortamındaki “Quant Center” yardımı ile, CD3, CD4, CD8 ve CD45 ile stroma ve tümör içerisindeki pozitif boyanan lenfositler ayrı renkler kullanılarak işaretlendi. Her bir antikor için tümör içinde ve tümör stromasındaki pozitif inflamatuvar hücre sayıları ayrı ayrı değerlendirilerek tümör içi pozitif hücre dansitesi ve stromal pozitif hücre dansitesi hesaplandı (Dansite=Pozitif boyanan inflamatuvar hücre sayısı/mm²). Pozitif hücre dansitelerinin dağılımlarına göre gruplamalar yapılarak, immüno skorlar belirlendi. Gruplama iki şekilde yapıldı. Gruplamalardan birisi, 0-25.persentil (Hafif), 26-50.persentil (Hafif/Orta), 51-75.persentil (Orta/Yoğun) ve >75.persentil (Yoğun) olacak şekilde dördü gruplama şeklindeydi. Ayrıca 0-50.persentil (Düşük yoğunlukta) ve >50.persentil (Yüksek yoğunlukta) olacak şekilde ikili ordinal grup elde edildi (161). Nekrotik alanlar, koter artefaktlı sahalarda, lenfovasküler yapıların lümenleri, tümör ve tümör stroması dışı alanlar değerlendirmeye alınmadı.



Resim 5.2.1. Dijital preparat üzerinde, CD3 pozitif boyanan intratümöral, stromal lenfositlerin işaretlenmesi ve kantitatif analiz örneği

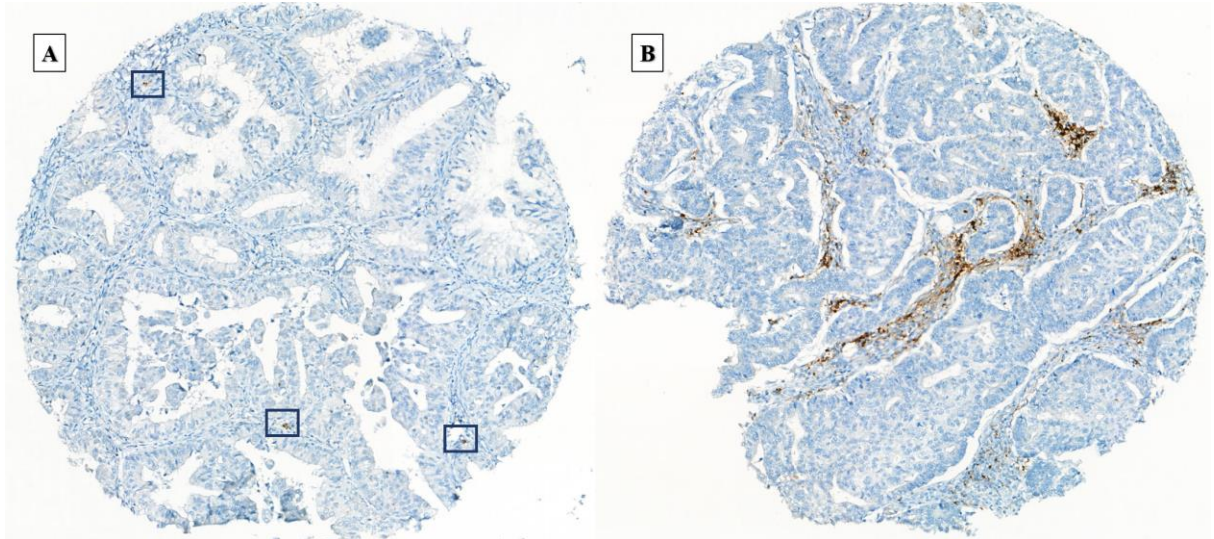
Milimetrekaredeki pozitif boyanan hücre sayısı hesaplanarak, kompartmanlar için ayrı ayrı dansite hesabı yapılmıştır. Kırmızı işaret tümör içindeki lenfositleri, yeşil işaret stromal lenfositleri, mavi işaret değerlendirmeye uygun bulunmayan boyamanları göstermek için kullanılmıştır.

PD-L1 (SP263) değerlendirmesi için “Quant Center” yardımı ile stroma içerisindeki pozitif boyanan lenfositler ve pozitif tümör hücreleri, ayrı renklerle kullanılarak işaretlendi. Hiç boyanmayan tümör ve stroma hücreleri de farklı renklerle işaretlendi. Tümör hücrelerindeki her türlü membranöz boyanma (inkomplet veya komplet), tümör stromasındaki inflamatuvar hücrelerde herhangi bir şiddette membranöz veya sitoplazmik boyanma pozitif kabul edildi. Pozitif boyanan tümör hücre sayısının, toplam tümör hücre sayısına oranı yüzde olarak da hesaplandı (Pozitif tümör hücresi/Toplam tümör hücre sayısı x 100). Boyanma yüzdesine göre vakalar gruplandı (negatif, <%1, %1-25, >%25). Tümör stromasındaki pozitif lenfosit sayısının, tümör stroması alanına oranı yüzde cinsinden belirlendi ve boyanma yüzdesine göre gruplandı (negatif, <%1, %1-25, >%25). Nekrotik alanlar, koter artefaktı gösteren sahalar, lenfovasküler yapıların lümenleri, tümör stroması dışı myometrial dokular değerlendirmeye alınmadı. Tümör hücreleri, lenfosit ve makrofajlar değerlendirildi; nötrofil ve eozinofiller değerlendirmeye alınmadı.



Resim 5.2.2. Dijital preparat üzerinde PD-L1 değeri

A. Doku mikrodizin bloğundan hazırlanan PD-L1 boyalı immün kesit (x10.7). **B.** Yakın incelemede neoplastik hücrelerdeki membranöz boyanma dikkati çekmektedir, çok seyrek stromal lenfositte noktasal boyanma mevcuttur (yeşil işaretlenmiş saha). **C.** Kantitatif analiz; mavi işaret boyanmayan tümör hücrelerini, kırmızı işaret membranöz pozitiflik gösteren tümör hücrelerini, yeşil işaret boyanan stromal lenfositleri işaretlemek için kullanılmıştır.



Resim 5.2.3. Dijital preparat üzerinde PD-L1'in tümör stromasında değeri

A. İşaretli bölgelerde seyrek stromal lenfositte boyanma izlenmiştir (<%1)(x10.0). **B.** Stroma alanının %20'sinden fazlasında PD-L1 pozitif stromal TIL mevcuttur (x9.2).

Vakalardan daha önce ER, PR ve p53 immünohistokimyası zaten yapılmış olanların önceden hazırlanmış İHK boyalı preparatları tekrar değerlendirildi. Öncesinde bu incelemelerin yapılmadığı vakalar için değerlendirme doku mikrodizin bloklarından uygulanan immün kesitlerde yapıldı. ER, PR için tümör hücrelerindeki nükleer boyanma yüzdesi belirlendi. P53 için mutasyon fenotipi (Diffüz, “null”) ve “wild” tip boyanma şeklinde değerlendirme yapıldı.

Doku mikrodizin bloklarında BRAF-VE1 boyanması, negatif, zayıf, orta şiddette ve kuvvetli (0, 1, 2, 3) şeklinde gruplandı. Hiç boyanmayan veya belli belirsiz seyrek boyanma izlenen vakalar negatif kabul edildi. Hafif ancak diffüz sitoplazmik boyanma zayıf kategorisinde değerlendirildi.

Doku mikrodizin bloklarında C-erbB2 değerlendirmesi, meme kanseri C-erbB2 değerlendirme kılavuzuna göre yapıldı (162):

- C-erbB2 (+3) Pozitif: İnvaziv tümör hücrelerinin %10’undan fazlasında komplet, kuvvetli membranöz pozitiflik (Küçük büyütmelede kolay göze çarpmalı).
- C-erbB2 (+2) “Equivocal”: İnvaziv tümör hücrelerinin %10’undan fazlasında hafif-orta şiddette komplet membranöz pozitiflik.
- C-erbB2 (+1) Negatif: İnvaziv tümör hücrelerinin %10’undan fazlasında hafif şiddette inkomplet membranöz boyanma.
- C-erbB2 (0) Negatif: Hiç boyanma yok veya invaziv tümör hücrelerinin %10’undan azında, çok hafif şiddette, belli belirsiz membranöz boyanma.

Çalışmaya dahil edilen 108 vakanın, daha önce bölümümüzde uygulanmış MSH2, MSH6, PMS2, MLH1 boyalı preparatları tekrar değerlendirildi. En az bir protein ifadesinde tamamen kayıp “MMRd” olarak; tüm boyalar ile fokal, multifokal veya yaygın korunmuş nükleer ekspresyon “MMRp” olarak kabul edildi. MMRp diyebilmek için ayrıca, neoplastik hücre nükleusunun, nonneoplastik hücre nükleuslarından daha kuvvetli olması gerekiyordu.

İHK ile MMRd saptanan vakaların, daha önce uygulanmış olan ProMega PCR tabanlı fragman analizleri tekrar değerlendirildi. Beş adet mikrosatellit bölgesinin (BAT-25, BAT-26, MONO-27, NR-21, NR-24) en az 2 tanesinde instabilite olan vakalar “yüksek mikrosatellit instabilitesi gösteren (MSI-H)”, bir bölgede instabilite olan vakalar ise “düşük mikrosatellit instabilitesi gösteren (MSI-L)” olarak değerlendirildi. Hiçbir bölgede instabilite saptanmayan vakalar “mikrosatellit stabil (MSS)” olarak tanımlandı. MSI-L ve MSS vakalar “mikrosatellit instabilitesi göstermeyen vakalar” olarak tek bir grup kapsamına alındı. Ayrıca çalışmaya dahil edilen vakalar içerisinde daha önce NGS uygulanmış 11 vakanın, NGS sonuçları tekrar değerlendirildi.

Çalışmaya dahil edilen vakalar hem immünohistokimyasal gruplarına (MMRd/MMRp) hem de immünohistokimya ve moleküler sonuçlar birleştirilerek elde edilmiş nihai gruplarına (MSI/MMRd ve MSS/MMRp) göre karşılaştırıldı.

5.3. İstatistiksel Değerlendirme

İki bağımsız grup arasında, normal dağılım gösteren sayısal verilerin karşılaştırması için “Independent Samples T testi”; normal dağılım göstermeyen sayısal verilerin veya ordinal verilerin karşılaştırılması için “Mann-Whitney U” testi kullanıldı. Sayısal parametreler içerisinde normal dağılım gösteren tek değişken yaştı. Diğer sayısal parametreler (CD3, CD4, CD8, CD45 pozitif tümör içi ve stromal lenfosit yoğunlukları, ER ve PR boyanma yüzdeleri, yüzde myometrial invazyon derinliği, tümör hücresinde ve stromada pozitif boyanan PD-L1 hücre yüzdeleri ve dansiteleri, total tespit süresi, tespitsiz geçen süre, VKİ, parite) normal dağılmıyordu.

İki gruptan oluşan kategorik değişkenlerin karşılaştırmasında, Pearson ki kare, Fischer exact testleri kullanıldı. Moleküler ve immünohistokimyasal MMR/MSI testleri arası uyumun değerlendirilmesi için McNemar testi ile Kappa katsayısı hesaplandı.

Bağımsız grupların, sürekli nonparametrik değişkenler ile korelasyonunun gösterilmesi için Spearman testi ile korelasyon katsayısı hesaplandı.

Bağımsız ikiden fazla grubun karşılaştırılması için Kruskal-Wallis analizi kullanıldı.

Sağkalım analizi için Kaplan-Meier analizi, sağkalım/nüks/metastaz üzerindeki bağımsız prognostik değişkenlerin belirlenmesi için tek değişkenli ve çok değişkenli Cox analizleri kullanıldı.

Tüm istatistiksel değerlendirmeler SPSS 23.0 (IBM, Armonk, NY, ABD) paket programı ile yapıldı ve $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

DESTEK-TEŞEKKÜR: Bu çalışmada mikroskopik değerlendirme aşaması **Ankara Üniversitesi BAP tarafından desteklenen altyapı projesi (14A0230003)** ile elde edilen dijital patoloji sistemi ile gerçekleştirilmiştir.

6. BULGULAR

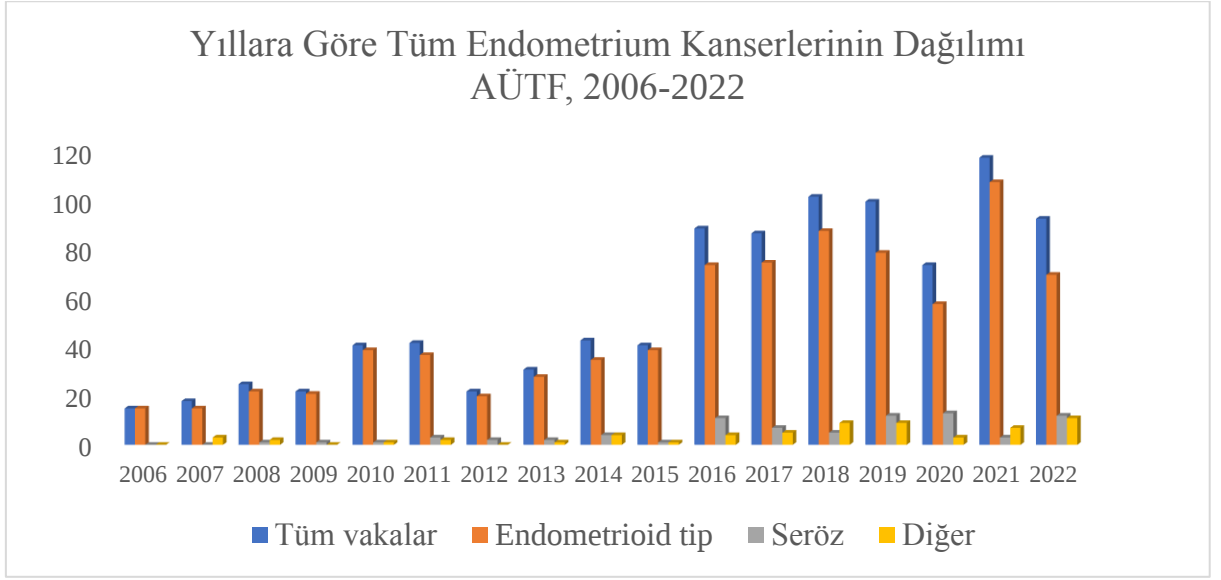
6.1. AÜTF Patoloji Anabilim Dalında Ocak 2005-Aralık 2022 Arasında Endometrium Kanseri Tanısı Alan Tüm Vakalara Genel Bakış

Ocak 2005 – Aralık 2022 tarihleri arasında, Anabilim Dalı’ımızda toplam 967 endometrium kanserinin, %79.4’ü (n=768) histerektomi içeren ameliyat materyalinde, %14.4’ü (n=139) endometrial biyopsi/küretaj materyalinde, %3.7’si (n=36) metastaz/nüks eksizyon materyalinde tanı almıştı ve olguların %2.5’i (n=24) konsültasyon vakasıydı. Tüm vakaların %85.4’ünü (n=826) endometrioid tip endometrium kanserleri oluşturmaktaydı (**Tablo 6.1.1.**).

Tablo 6.1.1. Ocak 2005 – Aralık 2022 tarihleri arasında AÜTF Tıbbi Patoloji Anabilim dalında tanı konan tüm endometrial kanserlerin, histolojik subtip, ortalama yaş, FIGO derece ve evrelerine göre dağılımı

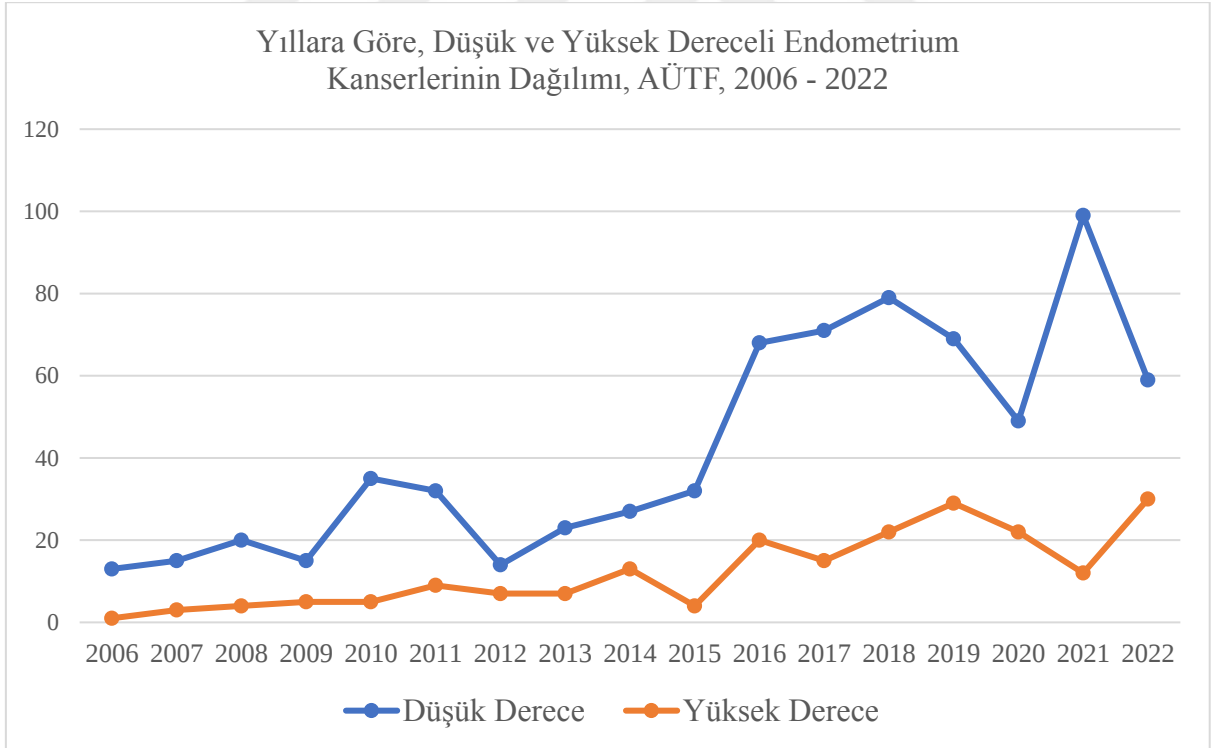
	N (%)	Yaş (Ort)	FIGO Derece			FIGO Evre			
			1 (n,%)	2 (n,%)	3 (n,%)	I (n,%)	II (n,%)	III (n,%)	IV (n,%)
Toplam	967 (%100)	60.1	356 (%38.2)	365 (%39.2)	210 (%22.6)	600 (%76.2)	44 (%5.6)	116 (%14.8)	27 (%3.4)
EEK	826 (%85.4)	59.05	355 (%44.9)	360 (%45.5)	76 (%9.6)	562 (%82.3)	37 (%5.4)	77 (%11.3)	7 (%1)
Seröz	79 (%8.2)	67.25	0	0	79 (%100)	24 (%43.6)	4 (%7.3)	18 (%32.7)	9 (%16.4)
Mikst	22 (%2.3)	61.05	0	0	22 (%100)	3 (%16.7)	1 (%5.5)	11 (%61.1)	3 (%16.7)
ŞHK	5 (%0.5)	70.40	0	0	5 (%100)	3 (%100)	0	0	0
A/DDEK	11 (%1.1)	64.09	0	0	11 (%100)	1 (%14.3)	1 (%14.3)	4 (%57.1)	1 (%14.3)
KS	21 (%2.2)	66.67	0	0	21 (%100)	6 (%31.6)	1 (%5.3)	5 (%26.3)	7 (%36.8)
Diğer*	3 (%0.3)	73	1 (%33.3)	0	2 (%66.7)	1 (%50)	0	1 (%50)	0

*Diğer grup içerisinde, iki adet primer gastrik tip endometrial adenokarsinom, 1 adet primer endometrial “glassy” hücreli karsinom tanısı mevcuttur. EEK, endometrioid endometrium kanseri; ŞHK, şeffaf hücreli endometrium kanseri; A/DDEK, andiferansiye/dediferansiye endometrium kanseri; KS, karsinosarkom; Ort, ortalama; N, vaka sayısı.



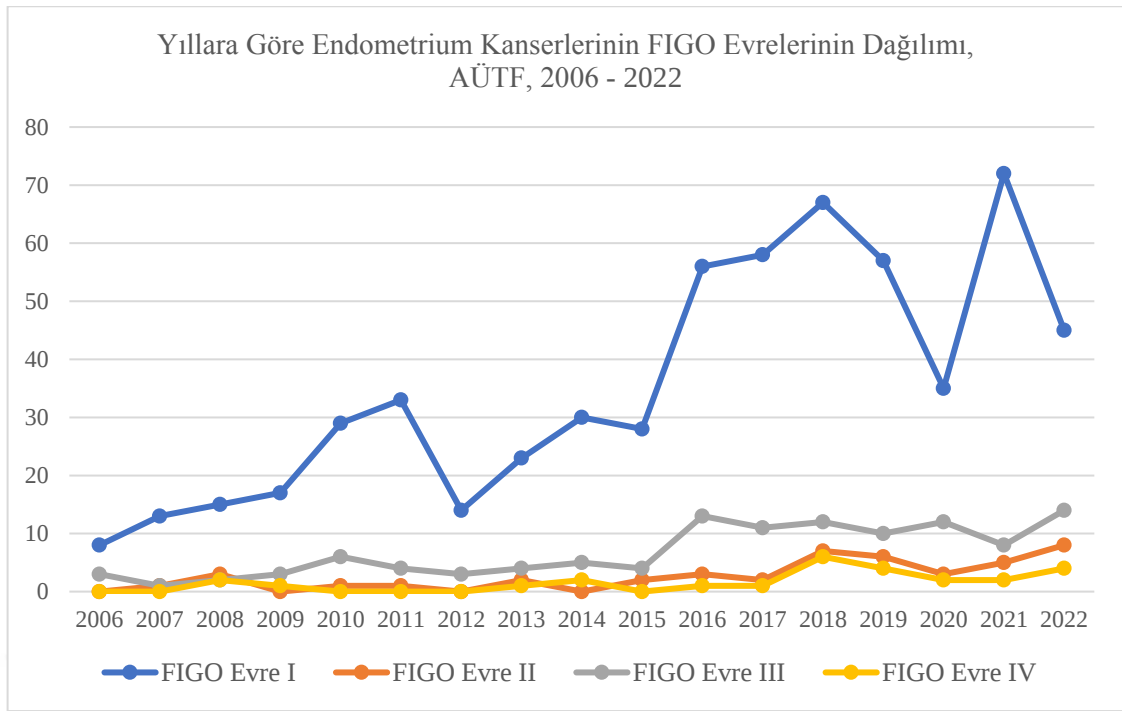
Şekil 6.1.1. AÜTF Tıbbi Patoloji Anabilim dalında, yıllara göre tüm endometrial kanserler, endometrioid tip endometrial kanserler, seröz endometrial kanserler ve diğer endometrial kanserlerin dağılımı gösterilmiştir

2020 yılındaki uyumsuzluk Covid-19 pandemisi ile ilişkili olabilir.



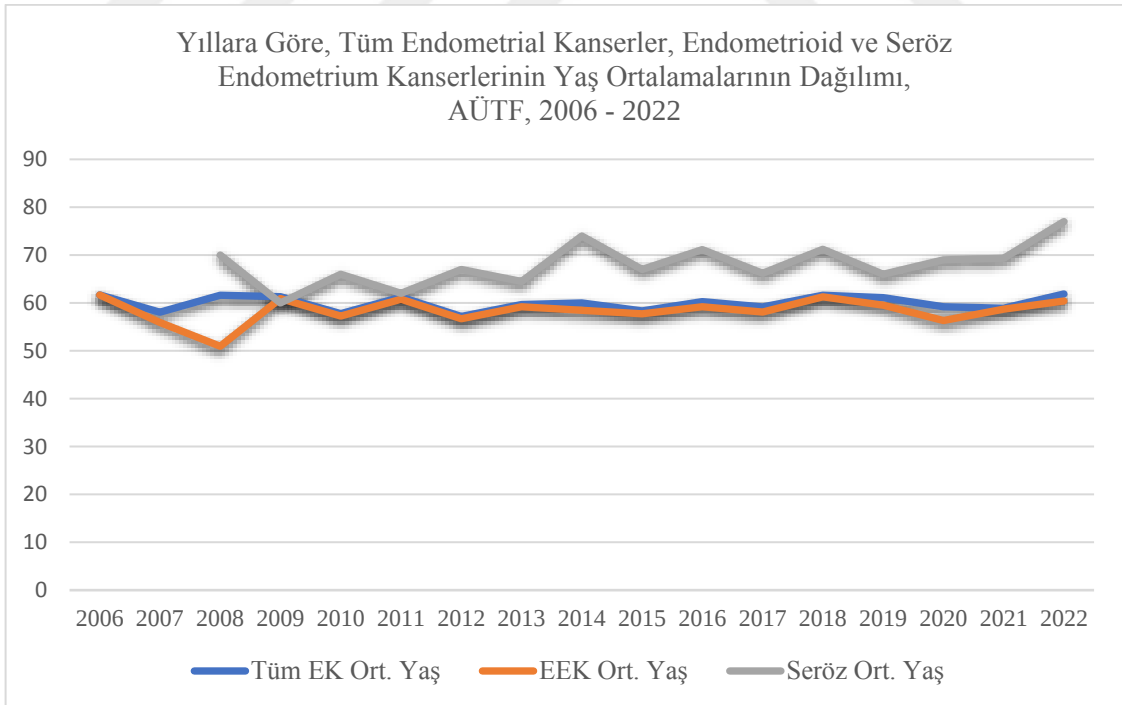
Şekil 6.1.2. AÜTF Tıbbi Patoloji Anabilim dalında, yıllara göre düşük dereceli ve yüksek dereceli endometrial kanserlerin dağılımı.

2020 yılındaki uyumsuzluk Covid-19 pandemisi ile ilişkili olabilir. Yıllar içerisinde genel itibariyle yükseliş trendi izlenmektedir. Düşük derece FIGO derece 1 ve 2, yüksek derece ise FIGO derece 3 kanserleri temsil etmektedir.



Şekil 6.1.3. AÜTF Tıbbi Patoloji Anabilim dalında yıllara göre, endometrial kanser vakaların FIGO evrelerine göre dağılımı gösterilmiştir

2020 yılındaki uyumsuzluk Covid-19 pandemisi ile ilişkili olabilir. Özellikle evre I tümörlerin yıllar içerisinde tanı alma oranlarının arttığı görülmektedir.



Şekil 6.1.4. AÜTF Tıbbi Patoloji Anabilim dalında yıllar içerisinde endometrioid tip, seröz tip ve tüm endometrial kanserli hastaların ortalama tanı yaşlarının değişimi gösterilmiştir

6.2. Çalışmaya Dahil Edilen Tüm Vakalara Ait Deskriptif Verilerin Sonuçları

6.2.1. Çalışmaya Dahil Edilen Tüm Vakalara Ait Klinik Deskriptif Veriler

Çalışma kapsamındaki 108 vakanın 12'si (%11.1) 2020 yılına ait, 96'sı (%88.9) 2021 ve 2022 yıllarına ait primer ve ilk tanı endometrioid tip endometrium kanseri vakasıydı.

Çalışma kapsamındaki 108 vakanın ortalama tanı yaşı 61.23 olarak hesaplandı (38-94). Vakaların %88.9'u (n=96) 50 yaşın üzerindeydi. 32 hasta ise (%29.6) geriatrik popülasyonda (>65 yaş) yer almaktaydı. Üç vakada vücut kitle indeksi verisi mevcut değildi, kalan 105 vakanın ortalama VKİ değeri 33.62 idi (22.8-62.40). Vakaların %6.6'si (n=7) normal kilolu, %28.6'sı hafif kilolu (n=30), %64.8'si obez (n=68) kategorisinde yer aldı, zayıf grupta yer alan hasta bulunmamaktaydı. VKİ bilgisi bulunan 105 vakanın 98'i normalin üstünde vücut kitle indeksine sahipti (%93.3).

Vakaların 3 tanesinde sigara kullanımı bilgisine erişilememişti, 105 vakanın, %12.4'ünde (n=13) sigara kullanım öyküsü mevcuttu, %87.6'sı (n=92) hiç sigara kullanmamış hastalardan oluşmaktaydı. 108 vakanın 3'ünde parite bilgisine erişilememişti, 105 vakanın %16.2'si (n=17) nullipar, %6.7'si (n=7) primipar, %77.1'i (n=81) multipar grupta yer almaktaydı.

Çalışma kapsamındaki 108 vakanın 1'i konsültasyon özelliğindeydi ve 2 vakanın patoloji arşivimizde sadece küretaj materyali mevcuttu. 105 vakanın (%97.2) ise histerektomi operasyonu hastanemizde yapılmıştı ve bunların %32.4'ünün (n=34) arşivimizde aynı zamanda preoperatif endometrial küretaj materyali de bulunmaktaydı. Hastanemizde opere olmuş 105 vakanın 46'sında (%43.8) sentinel lenf nodu diseksiyonu uygulaması yapılmıştı.

Vakaların dördünde takip bilgisi mevcut değildi, kalan 104 hastanın ortalama takip süresi 11 ay idi (1-35 ay). Vakaların 107'sinde sağkalım verisi vardı ve bunların 7'sinde (%6.5) hastalığa bağlı ölüm gerçekleşmişti. Ölen hastaların hepsinde rekürens/metastaz gelişmişti. 108 vakanın üçünde nüks veya metastaz durumu bilinmemekteydi. 105 vakanın 10'unda (%9.5) takipte nüks veya metastaz gelişmişti, 95 vaka (%90.5) hastalıksız takip altındaydı.

Vakaların 2 tanesinde tedavi bilgisine erişilememişti. 106 vakanın %51'i (n=54) tedavi almamıştı. 7 vakaya (%6.6) kemoterapi; 27 vakaya (%25.5) radyoterapi; 1 (%0.9) vakaya kemoterapi ve hormon tedavisi; 1 vakaya (%0.9) kemoterapi, radyoterapi ve hormon tedavisi;

16 vakaya (%15.1) kemoterapi ve radyoterapi uygulanmıştı. 104 vakada tedaviye karşı direnç gelişip gelişmediği verisi mevcuttu, sadece 1 hastada tedavi direnci gelişmişti.

Çalışmaya dahil edilen 108 vakadan 106'sında ameliyat materyalinin tespit süresine ulaşılabilmişti (ortalama tespit süresi 2 gün). Laboratuvarımıza ameliyat gününde ulaşması sağlanamadığından ve uygun şekilde açılmadan ameliyathanede beklemiş olduğundan, 17 vakada fiksasyon problemi vardı. Bunların ortalama tespitsiz bekleme süresi 1.65 gün olarak hesaplandı. 17 vakanın 13'ü bir gün boyunca, 4'ü ise bir günden uzun süre boyunca optimal tespit için gereken muameleyi görememişti. Operasyonun gerçekleştiği gün laboratuvarımıza ulaştırılan 87 histerektomi materyalinde uterus, servikal açıklıktan girilerek ön-arka ekseninde açılmış ve en az 24 saat formaldehit solüsyonunda bekletilerek uygun şekilde tespiti sağlanmıştı. Endometrial küretajdan tanı alan ve ameliyat materyali bulunmayan 2 vakada ise formaldehit tespiti ameliyathane koşullarında başlamış ve en az 24 saat süreyle laboratuvarımızda da devam etmişti. Tüm vakaların ortalama toplam tespit süresi 2 gün olarak hesaplanmıştır (Aralık: 1-12). Hastalara ait tariflenen klinik verilerin sonuçları **Tablo.6.2.1**'de özetlenmiştir.

6.2.2. Çalışmaya Dahil Edilen Tüm Vakalara Ait Histopatolojik Deskriptif Veriler

Çalışmaya dahil edilen 108 vakanın 8 tanesinde tümör boyutu bilgisine ulaşılabilirdi ve ortalama tümör boyutu 37.22 milimetreydi (7-160 mm). Vakaların 10'unda tümör boyutu 2 santimetre ve altındaydı, kalan 90 vakada (%90) ise 2 cm'nin üstündeydi.

Çalışma kapsamındaki tüm vakalara yeniden FIGO derecelemesi yapıldı. Vakaların %36.1'i (n=39) derece 1, %54.6'sı (n=59) derece 2, %9.3'ü (n=10) derece 3 özelliğindedi. Derece 1 ve 2 tümörler tek bir grupta ele alındığında vakaların %90.7'sinin düşük dereceli, %9.3'ü yüksek dereceliydi. Vakalardan 34'ünün hem küretaj materyali, hem de histerektomisine bölümümüz arşivinden ulaşılabilirdi. Bu vakaların küretaj materyalleri tekrar değerlendirildi ve 1'inde sadece EIN izlenirken, 17'sinde (%50) FIGO derece 1, 15'inde (%44.1) derece 2, 1'inde (%2.9) derece 3 özellikliydi. Histerektomisi ve preoperatif küretaj materyali arasında FIGO derecesi açısından karşılaştırma yapıldığında 11 vakada (%32.4) uyumsuzluk saptandı. Bunlardan 9'unda (%81.8) biyopsi tümör derecesi, histerektomi derecesinden düşüktü, 2'sinde (%18.2) ise tersi durum söz konusuydu.

106 vakada patolojik T (pT) evrelemesi yapılabilirdi (2 vakanın sadece küretaj materyali olduğundan evreleme yapılamadı). Buna göre, vakaların %56.6'sı (n=60) pT1a, %24.5'i (n=26)

pT1b, %11.3'ü (n=12) pT2, %4.7'si (n=5) pT3a, %2.9'u (n=3) pT3b evresindeydi. T4 evresinde olgu yoktu.

Vakaların 87'sinde lenf nodu diseksiyonu yapılmıştı ve bunlardan 74'ünde (%85.1) lenf nodu metastazı izlenmedi. Metastatik olan 13 vakanın 9 tanesi N1a, 4 tanesi N2a evresindeydi. Sentinel lenf nodu diseksiyonu yapılan 46 vakanın 4'ünde (%8.7) metastaz izlendi. Tanı anında FIGO evresi hesaplanabilen 104 vakanın, %75'i (n=78) evre I, %8.6'sı (n=9) evre II, %16.4'ü (n=17) evre III özellikliydi. Tanı anında evre IV vaka bulunmamaktaydı. FIGO evreleri erken ve ileri evre olarak gruplandığında vakaların %83.6'sının (n=87) erken evrede tanı aldığı görüldü.

Vakaların %55.6'sında (n=60) tümör nekrozu mevcuttu. Nekroz izlenen vakaların 39'unda (%65) nekroz fokal, 17 vakada (%28.3) multifokal, 4 vakada (%6.7) ise yaygın nekroz izlendi. Komedonekroz, 54 vakada (tüm vakaların %50'sinde) görüldü ve nekroz içeren vakaların %90'ında mevcuttu. 72 vakada (%66.7) skuamöz diferansiyasyon izlendi. Skuamöz diferansiyasyon yaygınlığı, 53 vakada (%73.6) fokal, 15 vakada (%20.8) multifokal, 4 vakada (%5.6) yaygındı. Vakaların 55'inde (%50.1) müsinöz diferansiyasyon mevcuttu. Bunların 33'ünde (%30.5) fokal, 18'inde (%16.7) multifokal, 4'ünde ise (%3.7) yaygındı. 108 vakanın 12'sinde (%11.1) psammomatöz kalsifikasyon saptandı (**Tablo.6.2.1**).

Tüm vakaların histopatolojik değerlendirmesinde, 20 (%18.5) vakada farklı morfolojik paternler saptandı. 10 vakada (%50) villoglandüler, 4 vakada (%20) mikroglandüler, 6 vakada (%30) sekretuar patern görüldü.

İnvazyon ilişkili parametreler, sadece küretaj materyali bulunan 2 vaka dışında değerlendirilebildi. MELF invazyon paterni varlığı ve yaygınlığı, myometrium invazyon derinliği yüzdesi, lenfovasküler invazyon (LVI) varlığı ve yaygınlığı belirlendi. Myometrium invazyon derinliği ayrıca “<%50”, “≥%50, <%100” ve “seroza invazyonu (= %100)” şeklinde gruplandı. 106 vakanın 55'inde (%51.9) MELF tipi myometrial invazyon izlendi. 32 vakada (%58.2) yaygın, 23 vakada (%41.8) fokal, 54 vakada (%51) lenfovasküler invazyon tespit edildi. Bunların 30'u (%55.6) yaygın, 24'ü (%44.4) fokal, Myometrium invazyon derinliği ortalaması %36.83'tü (%0-%100). Vakalar myometrium invazyon derinliğine göre gruplandığında, 66 (%62.3) vaka myometrium dış ½'sine ulaşmamıştı, 37 (%34.9) vaka myometrium dış ½'sine ulaşmıştı ve 3 (%2.8) vaka serozaya infiltreydi.

ESGO/ESTRO/ESP rehberlerine göre risk stratifikasyonu yapıldığında (sadece küretaj materyali içeren 2 vaka hariç tutularak), 55 vaka düşük riskli (%51.9), 13 vaka (%12.2) orta riskli, 22 vaka (%20.8) orta-yüksek riskli, 16 vaka (%15.1) yüksek riskli grupta yer aldı.

Tablo 6.2.1. Çalışmaya dahil edilen tüm vakaların klinik ve histolojik verilerinin deskriptif özellikleri

Klinik Özellikler	n	Deskriptif Veriler	
Yaş	108	Ortalama: 61.23 (38-94)	
Takip süresi, ay	104	Ortalama: 13.95 (1-35), Ortanca: 11.00	
Vücut kitle indeksi	105	Ortalama: 33.62 (22.8-62.4), Ortanca: 32.5	
Sigara öyküsü	105	Yok: 92 (%87.6)	Var: 13 (%12.4)
Adjuvan tedavi	106	Yok: 54 (%51) RT: 27 (%25.5) KT: 7 (%6.6)	KT+RT: 16 (%15.1) KT+HT: 1 (%0.9) KT+RT+HT: 1 (%0.9)
Tedavi direnci	104	Yok: 103 (%99.1)	Var: 1 (%0.9)
Spesimen türü	108	Küretaj: 2 (%1.8) Küretaj+TAH:33(%30.6)	TAH: 72 (%66.7) Konsültasyon: 1 (%0.9)
Tespitsiz süre, gün	17	Ortalama: 1.65 (1-6)	
Toplam tespit, gün	106	Ortalama: 2 (1-12)	
Histopatolojik Özellikler	n	Deskriptif Veriler	
Tümör boyutu (mm)	100	Ortalama: 37.22 (7-160)	
Tümör yerleşimi (n, %)	105	Alt uterin segment: 54 (%51.4) Fundus: 43 (%41) Kavitede yaygın: 8 (%7.6)	
FIGO derece (n, %)	108	Derece 1: 39 (%36.1) Derece 2: 59 (%54.6) Derece 3: 10 (%9.3)	
pT evresi (n, %)	106	pT1a: 60 (%56.6) pT1b: 26 (%24.5) pT2: 12 (%11.3)	pT3a: 5 (%4.7) pT3b: 3 (%2.9)
FIGO evresi (n, %)	104	Evre I: 78 (%75) Evre II: 9 (%8.6)	Evre III: 17 (%16.4) Evre IV: 0
MELF (n, %)	106	Yok: 51 (%48.1)	Var: 55 (%51.9)
LVI (n, %)	106	Yok: 52 (%49)	Var: 54 (%51)
LNM (n, %)	87	Yok: 74 (%85.1)	Var: 13 (%14.9)
Nekroz (n, %)	108	Yok: 48 (%44.4)	Var: 60 (%55.6)
Komedonekroz (n, %)	108	Yok: 54 (%50)	Var: 54 (%50)
Müsinöz farklılaşma (n, %)	108	Yok: 53 (%49.1) ≤%30: 33 (%30.5)	%31-60: 18 (%16.7) >%60: 4 (%3.7)
Skuamöz farklılaşma (n, %)	108	Yok: 36 (%33.3) ≤%30: 53 (%49.1)	%31-60: 15 (%13.9) >%60: 4 (%3.7)
Psammom (n, %)	108	Yok: 96 (%88.9)	Var: 12 (%11.1)

LNM, lenf nodu metastazı; LVI, lenfovasküler invazyon; KT, kemoterapi; RT, radyoterapi; HT, hormon tedavisi; TAH, total abdominal histerektomi.

6.2.3. Çalışmaya Dahil Edilen Tüm Vakalara Ait İmmünohistokimyasal Deskriptif Verilerin Sonuçları

Tüm immünohistokimyasal boyalar, çalışmaya dahil edilen vakaların hepsinde eksiksiz değerlendirildi. Tümör hücrelerinde ER ve PR nükleer boyanma yüzdeleri 0-100 arasında değişkenlik gösterdi, ortalama ER boyanması %78.89, ortalama PR boyanması %70.01 olarak hesaplandı. 105 vakada (%97.2) p53 “wild” tipte boyanma gösterirken, 3 vakada (%2.8) mutasyon tipinde ekspresyon görüldü (**Tablo.6.2.2.**).

91 vakada (%84.2) C-erbB2 negatifti (0/+1). Sadece 1 vakada yaygın kuvvetli komplet membranöz (+3) boyanması izlendi, 16 vakada (%14.8) ise “+2” özellikte “equivocal” C-erbB2 boyanması mevcuttu (**Tablo.6.2.2.**). C-erbB2 ile “+3” pozitif olan vaka, p53 immünohistokimyası ile mutant fenotipde ekspresyon göstermekteydi ve NGS ile de *TP53* mutasyonu doğrulanmıştı. Bu vaka; MMRp grupta yer alan *TP53* mutasyonu gösteren, FIGO derece 2 endometrioid tip endometrium karsinomuydu (**Tablo.6.2.9, Vaka numarası:10**).

Vakaların daha önce yapılmış olan MLH1, MSH2, PMS2 ve MSH6 boyalı immün kesitleri tekrar değerlendirildiğinde, 57 vakada (%52.8) bunlardan herhangi biri ile ifade kaybı izlenmedi. 51 vakada (%47.2) en az bir MMR proteininde ifade kaybı (MMRd) bulunmaktaydı. 44 vakada (%86.3) MLH1, 45 vakada (%88.2) PMS2, 6 vakada (%11.8) MSH2, 5 vakada (%9.8) MSH6 ifade kaybı görüldü (**Tablo.6.2.2.**).

Tablo 6.2.2. Tüm vakalara ait immünohistokimyasal analizlerin sonuçları

MMR İmmünohistokimyası (n=108)		Diğer İmmünohistokimya (n=108)	
MLH1 (n, %)	Kayıp yok: 64 (%59.3) Kayıp var: 44 (%40.7)	ER (%) PR (%)	Ortalama: 78.89 (0 – 100) Ortalama: 70.01 (0 – 100)
PMS2 (n, %)	Kayıp yok: 63 (%58.3) Kayıp var: 45 (%41.7)	BRAF-VE1 (n, %)	0: 8 (%7.4) 1: 46 (%42.6) 2: 50 (%46.3) 3: 4 (%3.7)
MSH2 (n, %)	Kayıp yok: 102 (%94.4) Kayıp var: 6 (%5.6)		
MSH6 (n, %)	Kayıp yok: 103 (%95.4) Kayıp var: 5 (%4.6)	C-erbB2 (n, %)	0: 49 (%45.4) +1: 42 (%38.9) +2: 16 (%14.8) +3: 1 (%0.9)
P53 (n, %)	Wild: 105 (%97.2) Mutant: 3 (%2.8)		

Vakaların 4'ünde tek proteinde kayıp izlenirken, 2 vakada 3 proteinde ifade kaybı izlendi (**Tablo.6.2.3**). Heterodimerlerin eşiyile birlikte ifade kaybı gösterdiği MMRd profilde (MSH2-MSH6 veya PMS2-MLH1 birlikte ifade kaybı), heterodimerlerin birlikte kaybolmadığı MMRd profile göre, PCR-MSI testinde MSI-H saptanma oranı anlamlı olarak daha yüksekti (Fischer exact testi, **p=0.011**). Heterodimerlerin birlikte kaybolmadığı 6 MMRd vakadan 5'inde PCR-MSI testinde MSI saptanmadı (**Tablo.6.2.4**).

Tablo 6.2.3. MMR vakaların MMR proteinlerindeki ifade kayıplarının dağılımı ve PCR-MSI testi sonuçları

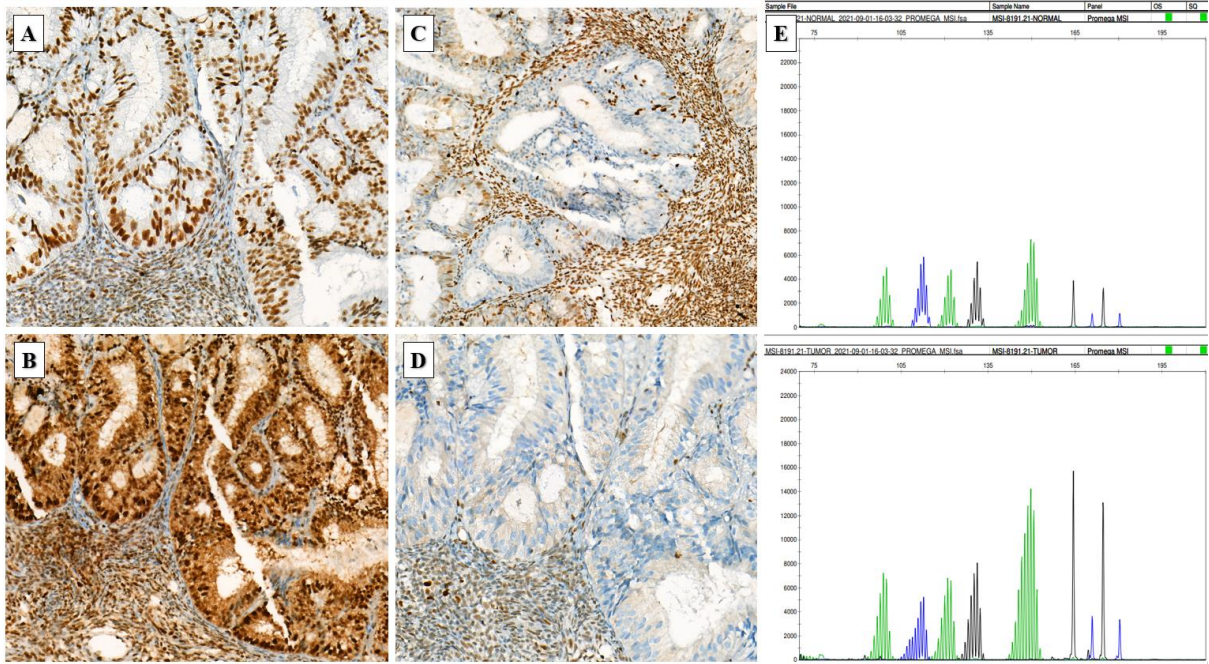
MMRd (n=51)	MLH1	PMS2	MSH2	MSH6	PCR-MSI testi
Tek MMR proteininde kayıp (n)	1	2	1	0	Hepsi MSS
Üç MMR proteininde kayıp (n)	MLH1, MSH2, MSH6 birlikte n=1				MSS
	PMS2, MSH2, MSH6 birlikte n=1				MSI-H
MMR protein heterodimerlerinin birlikte kaybı (n)	42		3		MSI-H: 32* MSS: 11*

(*):Heterodimeri ile birlikte kayıp gösteren 45 vakanın 2'sinin PCR-MSI analizi mevcut değildi, MSS olarak sonuçlanan 11 vakanın tümü MLH1 ve PMS2'nin birlikte kayıp gösterdiği vakalardan oluşmaktaydı.

Tablo 6.2.4. İHK ve PCR-MSI testi sonuçlarının karşılaştırması.

İHK ve PCR-MSI testi karşılaştırması	MSS (n, %)	MSI-H (n, %)	Toplam (n)	P değeri
Heterodimerlerin birlikte kaybolmadığı MMRd profil	5 (%83.3)	1 (%16.7)	6	0.011
Heterodimerlerin birlikte kaybolduğu MMRd profil	11 (%25.6)	32 (%74.4)	43*	

Heterodimeri ile birlikte kayıp bulunduran vakalarda moleküler yöntem ile mikrosatellit instabilitesi saptanma oranı, heterodimeri ile birlikte kayıp profili dışı boyanma paterni gösteren vakalardan anlamlı olarak daha fazla bulundu. (*):Heterodimeri ile birlikte kayıp gösteren 45 vakanın 2'sinin PCR tabanlı fragman analizi mevcut değildi, istatistiksel analizde dışlandı.



Resim 6.2.1. Mikrosatellit instabilitesi gösteren CEE örneği

A. MLH1 kaybı izlenmemiştir (x26.7). **B.** PMS2 kaybı izlenmemiştir (x15.3). **C.** MSH6 kaybı mevcuttur, tümör içerisinde pozitif boyanan intraepitelyal lenfositler izlenmektedir (x13.0). **D.** MSH2 kaybı izlenmiştir (x22.1). **E.** PCR-MSI testi ile vaka MSI-H bulunmuştur. Not: MMR protein kaybı izlenen immün kesitlerde stromal hücrelerdeki ifade kaybının korunduğu, MLH1 ve PMS2 boyalı kesitlerde tümör hücrelerindeki boyanmanın stromadakinden daha koyu olduğuna dikkat ediniz.

BRAF-VE1 antikoruna ile vakaların 8'inde hiç boyanma izlenmezken (0), 46 vakada zayıf (1), 50 vakada orta (2), 4 vakada kuvvetli (3) boyanma saptandı (**Tablo.6.2.2.**).

Tümöre eşlik eden inflamatuvar hücre immünohistokimyasal (IHC) amacıyla intratümöral ve stromal kompartmanlardaki immün hücrelerde CD3, CD4, CD45, CD8 ekspresyonuna bakıldı. CD3, CD4, CD45, CD8 boyalı parafin kesitlerde, intratümöral ve stromal her iki kompartman için de ortalama 1.31-1.44 mm² arasında alan değerlendirildi ve en düşük 5, en yüksek 2832 pozitif hücre sayıldı. Her iki kompartmanda da CD3 pozitif lenfositlerin en yüksek, CD8 pozitif lenfositlerin ise en düşük oranda olduğu görüldü (ortalama ve ortancası en yüksek CD3 pozitif, en düşük CD8 pozitif grupta saptandı). Aynı ayrı değerlendirilen immünohistokimyasal boyamalarda, pozitif boyanan total lenfosit sayısının CD3, CD4, CD8 ve CD45 boyalı parafin kesitlerde, stromal kompartmandaki immün hücre dansitelerinin ortalama ve ortancaları, intratümöral kompartmana göre, dört antikor için de daha fazla hesaplandı. Tariflenen bulgular ve CD3, CD4, CD8 ve CD45 intratümöral ve stromal dansitelerine ait deskriptif veriler tabloda gösterilmiştir (**Tablo.6.2.5** ve **Tablo.6.2.6**).

Tümör sahalarında ortalama 14.38 neoplastik hücre (0-197), stromada ise ortalama 61.86 mononükleer inflamatuvar hücre (0-950), PD-L1 pozitifliği gösterdi. 34 vakada (%31.5) tümör hücreleri PD-L1 ile tamamen negatifti. 64 vakada (%56.5) tümör hücrelerinde %1'in altında, 13 vakada (%12) %1-25 arasında PD-L1 boyanması izlendi. Tümör hücrelerinde %25'nin üzerinde PD-L1 boyanması gösteren vaka yoktu. 50 vakada (%46.3) stromal mononükleer hücrelerde <%1 pozitiflik, 34 vakada (%31.5) %1-25 arasında, 14 vakada (%12.9) ise %25'in üstünde pozitiflik izlendi. 10 vakada (%9.3) stromal mononükleer hücreler PD-L1 ile tamamen negatifti (**Tablo.6.2.7**).

Tablo 6.2.5. CD3 ve CD8 boyalı doku mikrodizinin immün kesitlerine ait deskriptif sonuçlar

Deskriptif – CD3	Ortanca	Ortalama	Aralık	Std.deviasyon
İntratümöral	112.50	163.99	6 - 1172	162.51
Stromal	302.50	448.17	13 - 2566	447.50
Total	454.50	612.19	25 - 2832	539.92
Alan (mm ²)	1.40	1.34	0.32 – 2.73	0.52
İntratümöral dansite	90.81	129.01	3.74 – 669.50	117.97
Stromal dansite	247.85	337.13	14.63 – 1806.13	312.89
Total dansite	365.82	466.17	28.13 – 2013.48	371.15
Deskriptif – CD8	Ortanca	Ortalama	Aralık	Std.deviasyon
İntratümöral	51.50	85.53	0 - 665	99.6
Stromal	84.50	140.69	5 - 1039	173.65
Total	151.0	226.41	5 - 1171	235.76
Alan (mm ²)	1.44	1.38	0.33 – 2.61	0.47
İntratümöral dansite	36.53	65.42	0 – 431.84	76.91
Stromal dansite	59.08	102.40	3.76 – 616.51	112.93
Total dansite	111.48	167.98	3.76 – 771.64	158.41
İmmünskor – CD3	≤25.persentil	26-50.persentil	51-75.persentil	>75.persentil
Intratümöral dansite	≤48.795	50.460-88.809	92.813-167.962	≥173.962
- Ortanca eşik	≤88.809 (düşük tümör yoğunluğu)		≥92.813 (yüksek tümör yoğunluğu)	
Stromal dansite	≤118.010	118.784-247.328	248.366-440.162	≥451.579
- Ortanca eşik	≤247.328 (düşük stroma yoğunluğu)		≥248.366 (yüksek stroma yoğunluğu)	
Total dansite	≤176.784	182.311-361.536	370.099-620.951	≥625.542
- Ortanca eşik	≤361.536 (düşük total CD3 yoğunluğu)		≥370.099 (yüksek total CD3 yoğunluğu)	
İmmünskor – CD8	≤25.persentil	26-50.persentil	51-75.persentil	>75.persentil
Intratümöral dansite	≤17.862	18.035-35.424	37.639-77.287	≥77.576
- Ortanca eşik	≤35.424 (düşük tümör yoğunluğu)		≥37.639 (yüksek tümör yoğunluğu)	
Stromal dansite	≤30.464	31.270-58.624	59.543-136.099	≥136.661
- Ortanca eşik	≤58.624 (düşük stroma yoğunluğu)		≥59.543 (yüksek stroma yoğunluğu)	
Total dansite	≤53.335	56.24-109.861	113.105-213.598	≥213.675
- Ortanca eşik	≤109.861 (düşük total CD8 yoğunluğu)		≥113.105 (yüksek total CD8 yoğunluğu)	

Std.deviasyon, standart deviasyon.

Tablo 6.2.6. CD4 ve CD45 boyalı doku mikrodizin immün kesitlerine ait deskriptif sonuçlar

Deskriptif – CD4	Ortanca	Ortalama	Aralık	Std.deviasyon
İntratümöral	92.00	112.79	0 - 380	89.12
Stromal	249.50	367.04	9 - 1560	325.41
Total	340.50	479.51	9 - 1913	376.13
Alan (mm ²)	1.38	1.34	0.26 – 2.69	0.47
İntratümöral dansite	65.83	85.52	0 – 337.15	65.24
Stromal dansite	210.07	269.14	14.17 – 1164.16	205.07
Total dansite	295.84	354.61	14.17 – 1219.19	231.39
Deskriptif – CD45	Ortanca	Ortalama	Aralık	Std.deviasyon
İntratümöral	48.50	66.23	1 - 368	62.13
Stromal	157.0	242.0	4 - 1836	269.58
Total	213.0	321.26	9 - 1930	307.04
Alan (mm ²)	1.35	1.31	0.37 – 2.62	0.51
İntratümöral dansite	39.0	53.58	0.57 – 368.0	50.46
Stromal dansite	142.55	185.20	9.81 – 1046.74	170.74
Total dansite	192.92	240.38	15.84 – 1100.33	191.58
İmmünskor – CD4	≤25.persentil	26-50.persentil	51-75.persentil	>75.persentil
Intratümöral dansite	≤38.265	38.715-65.293	66.366-120.201	≥125.178
- Ortanca eşik	≤65.293 (düşük tümör yoğunluğu)		66.366≥ (yüksek tümör yoğunluğu)	
Stromal dansite	≤119.969	131.002-209.247	210.892-331.371	≥331.640
- Ortanca eşik	≤209.247 (düşük stroma yoğunluğu)		≥331.371 (yüksek stroma yoğunluğu)	
Total dansite	≤186.821	187.912-292.254	299.431-467.123	≥473.938
- Ortanca eşik	≤292.254 (düşük total CD4 yoğunluğu)		≥299.431 (yüksek total CD4 yoğunluğu)	
İmmünskor – CD45	≤25.persentil	26-50.persentil	51-75.persentil	>75.persentil
Intratümöral dansite	≤22.063	23.084-38.602	39.368-69.938	≥70.549
- Ortanca eşik	≤38.602 (düşük tümör yoğunluğu)		≥39.368 (yüksek tümör yoğunluğu)	
Stromal dansite	≤62.474	63.2-142.443	142.655-249.385	≥251.387
- Ortanca eşik	≤142.443 (düşük stroma yoğunluğu)		≥142.655 (yüksek stroma yoğunluğu)	
Total dansite	≤104.462	108.124-191.75	194.094-349.876	≥351.159
- Ortanca eşik	≤191.75 (düşük total CD45 yoğunluğu)		≥194.094 (yüksek total CD45 yoğunluğu)	

Tablo 6.2.7. PD-L1 boyalı doku mikrodizin immün kesitlerine ait deskriptif sonuçlar

PD-L1 İmmünohistokimyası	Tümör		Stromal TİL
Pozitif Hücre Sayısı	Ortalama: 14.38 Ortanca: 3.0 Aralık: 0 - 197		Ortalama: 61.86 Ortanca: 17.0 Aralık: 0 - 950
Alan (mm²)	Ortalama: 1.31	Ortanca: 1.25	Aralık: 0.38 – 3.08
Negatif (n, %)	34 (%31.5)		10 (%9.3)
<%1 (n, %)	61 (%56.5)		50 (%46.3)
%1-25 (n, %)	13 (%12)		34 (%31.5)
>%25 (n, %)	0		14 (%12.9)

6.2.4. Çalışmaya Dahil Edilen Tüm Vakalara Ait Moleküler Verilerin Sonuçları

Çalışmaya dahil edilen 51 adet MMRd vakasına ait 49 adet PCR tabanlı ProMega kiti kullanarak uygulanmış moleküler mikrosatellit instabilite analizi mevcuttu. İki vakanın birinde tahakkuk sıkıntısı nedeniyle moleküler çalışmanın yapılamadığı anlaşıldı. Diğer vakada ise NGS analizi uygulanmıştı (**Tablo.6.2.9., 6 numaralı vaka**).

Fragman analizi ile değerlendirilen 49 vakanın 16'sında (%32.7) mikrosatellit instabilitesi moleküler yöntem ile gösterilemedi. 33 vakada (%67.3) mikrosatellit instabilitesi yüksek (MSI-H) sonuç elde edildi. Mikrosatellit instabilitesi gösterilemeyen 16 vakanın 9'u (%56.3) MSS, 7'si (%43.7) MSI-L olarak raporlandı. İmmünohistokimyasal ve moleküler olarak uyumsuzluk gösteren 16 vakanın 5'inde heterodimerlerin birlikte kaybolduğu MMRd profili dışında bir immünprofil söz konusuydu (**Tablo.6.2.4**). Kalan 11 vakanın hepsinde immünohistokimyasal olarak MLH1 ve PMS2 proteinlerinde kayıp mevcuttu. MSH2 ve MSH6 nin birlikte kayıp gösterdiği, MLH1 ve PMS2'nin korunduğu 3 vakanın ikisi MSI-H özellikteydi, birinde de NGS ile *MSH6* mutasyonu gösterilmişti, bu vaka da NGS ile MMR geninde mutasyon gösterildiği için MSI-H gruba alındı (**Tablo.6.2.9., 6 numaralı vaka**).

Moleküler olarak her vakada, ProMega mikrosatellit instabilite kiti ile 5 adet bölge (NR-24, NR-21, BAT-25, BAT-26, MONO-27) değerlendirildi, ortalama instabil bölge sayısı 2.48 bulundu (Ortanca:2, Aralık:0-5). En çok instabilite gözlenen bölge BAT-26 idi (n=33).

Tanı aşamasında PCR tabanlı fragman analizi dışında, 11 vakada moleküler olarak NGS çalışılmıştı (**Tablo.6.2.8.**). Bu vakalar retrospektif olarak değerlendirildiğinde;

1. vakada *MSH6* ve *PIK3CA* geninde mutasyon izlendi. İmmünohistokimyasal olarak bu hastada PMS2 ve MLH1 kaybı mevcuttu, fragman analizi sonucu ise MSI-L idi.

2. vakada *MLH1*, *PTEN*, *PIK3CA* genlerinde mutasyon izlendi. İmmünohistokimyasal olarak bu hastada PMS2 ve MLH1 kaybı mevcuttu ve fragman analizi sonucu MSI-H idi.

3. vakada *PTEN* ve *PIK3CA* mutasyonları izlendi. İmmünohistokimyasal olarak bu hastada PMS2 ve MLH1 kaybı mevcuttu ve fragman analizi sonucu MSI-H idi.

4. vakada *PTEN* ve *KRAS* mutasyonları izlendi. İmmünohistokimyasal olarak bu hastada PMS2 kaybı mevcuttu ve fragman analizi sonucu MSS idi.

5. vakada *FGFR*, *PTEN* ve *CTNNB1* mutasyonları izlendi. İmmünohistokimyasal olarak bu hastada PMS2 ve MLH1 kaybı mevcuttu ve fragman analizi sonucu MSS idi.

6. vakada *MSH6*, *PIK3CA* ve *PTEN* mutasyonları izlendi. İmmünohistokimyasal olarak bu hastada MSH2 ve MSH6 kaybı mevcuttu ve fragman analizi sonucu MSI-H idi.

7. vakada *ATM*, *PTEN*, fonksiyonel olmayan ve fonksiyonel olan *POLE* mutasyonları izlendi. İmmünohistokimyasal olarak bu hastada MMR protein kaybı yoktu.

8. vakada *NRAS*, *PIK3CA*, fonksiyonel olmayan *POLE* ve *PTEN* mutasyonları mevcuttu. İmmünohistokimyasal olarak bu hastada PMS2 ve MLH1 kaybı mevcuttu ve fragman analizi sonucu MSI-H idi.

9. vakada *MLH1*, *PMS2* ve *PTEN* mutasyonları mevcuttu. İmmünohistokimyasal olarak bu hastada PMS2 ve MLH1 kaybı mevcuttu ve fragman analizi sonucu MSI-H idi.

10. vakada *TP53* ve fonksiyonel olmayan *POLE* mutasyonu izlendi. İmmünohistokimyasal olarak bu vakada MMR protein kaybı izlenmezken p53 mutant fenotipte boyanmaktaydı. Aynı zamanda c-erbB2 ile (+3) pozitif boyanan tek vaka da bu vakaydı. Tümörün morfolojisi FIGO derece 2 özellikte endometrioid tip endometrium karsinomu ile uyumluydu.

11. vakada *PIK3CA*, *PTEN*, *CTNNB1* mutasyonları mevcuttu. İmmünohistokimyasal olarak bu hastada MMR protein kaybı yoktu.

NGS uygulanan 11 vakanın 3 ünde PCR tabanlı fragman analizi ve NGS sonuçları birbiri ile uyum göstermedi. 1.vakada *MSH6* geninde izlenen mutasyonun allel frekansı %5'in altındaydı. 3. ve 8. vakalarda ise PCR-MSI testi ile yüksek mikrosatellit instabilitesi mevcuttu, NGS ile MMR genlerinde mutasyon gösterilemeyen bu iki vakada *MLH1* hipermetilasyonu bulunma olasılığı düşünüldü ancak metilasyon analizi yapılmadı.

Tablo 6.2.8. NGS uygulanan hastaların analiz sonuçları

Vaka	Gen, Ekzon	Mutasyon	Allel Frk.	Fonksiyon	Aşama
1	<i>MSH6</i> , (5)	c.3261.delC, p.F1088fs*2	%4.2 (1048)	Kayıp	Patojenik/2C
	<i>PIK3CA</i> , (21)	c.3140A>G, p.H1047R	%23 (1006)	Kazanım	Patojenik/2C
2	<i>MLH1</i> , (13)	c.1489delC, p.R497fs*11	%29 (1593)	Kayıp	Patojenik/2C
	<i>PTEN</i> , (5)	c.400delA, p.M134*	%61 (831)	Kayıp	Muhtemel Patojenik/2C
	<i>PIK3CA</i> , (21)	c.3140A>G, p.H1047R	%31 (671)	Kazanım	Patojenik/2C
3	<i>PTEN</i> , (5)	c.473dupT, p.R159fs*21	%23 (181)	Kayıp	Patojenik/2C
	<i>PTEN</i> , (3)	c.209+2T>G	%18 (165)	Kayıp	Patojenik/2C
	<i>PIK3CA</i> , (2)	c.113G>A, p.R38H	%26 (94)	Kazanım	Patojenik/2C
	<i>PIK3CA</i> , (21)	c.3127A>G, p.M1043V	%24 (191)	Kazanım	Patojenik/2C
4	<i>PTEN</i> , (3)	c.209+1_209+2delGT	%24 (469)	Kayıp	Patojenik/2C
	<i>PTEN</i> , (5)	c.305_312delAACCCTTTTGT GAAGAT, p.K102fs*2	%8.25 (423)	Kayıp	Muhtemel Patojenik/2C
	<i>KRAS</i> , (2)	c.35G>A, p.G12D	%17 (305)	Kazanım	Patojenik/2C
5	<i>FGFR</i> , (7)	c.755C>G, p.S252W	%10 (595)	Kazanım	Patojenik/2C
	<i>PTEN</i> , (4)	c.210-1G>T	%20 (497)	Kayıp	Patojenik/2C
	<i>PTEN</i> , (5)	c.276C>G, p.D92E	%8.72 (688)	Kayıp	Patojenik/2C
	<i>CTNNB1</i> , (3)	c.122C>T, p.T41I	%11 (475)	Kazanım	Patojenik/2D
6	<i>MSH6</i> , (4)	c.1618_1620delCTT, p.L540del	%5.1 (1196)	Kayıp	Patojenik/2C
	<i>MSH6</i> , (4)	c.3034_3036delGAA, p.E1012del	%46 (1982)	Kayıp	Muhtemel Patojenik/2C
	<i>PIK3CA</i> , (10)	c.1633G>A, p.E545K	%6.35 (1558)	Kazanım	Patojenik/2C
	<i>PTEN</i> , (2)	c.106G>A, p.G36R	%5.11 (1017)	Kayıp	Patojenik/2C
	<i>PTEN</i> , (7)	c.737C>T, p.P246L	%5.51 (2124)	Kayıp	Patojenik/2C
7	<i>ATM</i> , (7)	c.748C>T, p.R250*	%25 (411)	Kayıp	Patojenik/2C
	<i>POLE</i> , (34)	c.4337_4338delTG, p.V1446fs*3	%4.33 (554)	Kayıp	Patojenik/2C
	<i>POLE</i> , (14)	c.1366G>C, p.A456P	%13 (223)	Kayıp	Patojenik/2C
	<i>PTEN</i> , (5)	c.389G>A, p.R130Q	%21 (602)	Kayıp	Patojenik/2C

8	NRAS , (2)	c.37G>C, p.G13R	%29 (960)	Kazanım	Patojenik/2C
	PIK3CA , (21)	c.3140A>G, p.H1074R	%27 (433)	Kazanım	Patojenik/2C
	POLE , (34)	c.4337_4338delTG, p.V1446fs*3	%2.35 (554)	Kayıp	Patojenik/2C
	PTEN , (7)	c.800dupA, p.D268fs*	%64 (1084)	Kayıp	Patojenik/2C
9	MLH1 , (7)	c.588delA, p.K196fs*6	%14 (1682)	Kayıp	Patojenik/2C
	PMS2 , (5)	c.418A>G, p.N140D	%4.19 (1645)	Kayıp	Muhtemel Patojenik/2C
	PTEN , (1)	c.49C>T, p.Q17*	%24 (403)	Kayıp	Patojenik/2C
	PTEN , (5)	c.389G>C, p.R130P	%24 (711)	Kayıp	Patojenik/2C
10	POLE , (34)	c.4337_4338delTG, p.V1446fs*3	%3.64 (550)	Kayıp	Patojenik/2C
	TP53 , (8)	c.4818G>A, p.R273H	%33 (998)	Kazanım	Patojenik/2C
11	CTNNB1 , (3)	c.134C>T, p.S45F	%19 (553)	Kazanım	Patojenik/2C
	PIK3CA , (10)	c.1633G>A, p.E545K	%38 (1225)	Kazanım	Patojenik/2C
	PIK3CA , (10)	c.1637A>G, p.Q546R	%33 (1269)	Kazanım	Patojenik/2C
	PTEN , (5)	c.328C>T, p.Q110*	%36 (669)	Kayıp	Patojenik/2C
	PTEN , (5)	c.389G>T, p.R130L	%30 (1039)	Kayıp	Patojenik/2C
	PTEN , (5)	c.402G>T, p.M134I	%33 (833)	Kayıp	Muhtemel Patojenik/2C
	CTNNB1 , (3)	c.110C>G, p.S37C	%7.22 (540)	Kazanım	Patojenik/2D

Allel Frk, allel frekansı. Parantez içerisinde okuma sayısı gösterilmiştir. Genin yanında parantez içerisinde bulunduğu ekzon belirtilmiştir.

6.3. MMRd Vakaların Deskriptif Verilerinin Sonuçları

Çalışma kapsamındaki 51 MMRd vakanın, 6'sı (%11.8) 2020 yılına, 27'si (%52.9) 2021 ve 18'i (%35.3) 2022 yıllarına ait primer ve ilk tanı EEK vakasıydı.

MMRd grubun ortalama yaşı 63.35 olarak hesaplandı (38-94). 21 vaka (%41.2) geriatrik yaş grubundaydı, 47 vaka (%92.2) ise 50 yaş ve üstündeydi. Geriatrik yaş grubundaki 32 vakanın 21'i (%65.6) MMRd grupta yer alıyordu. Takip bilgisi mevcut olan 50 hastanın ortalama takip süresi 12 ay idi (1-35). Vücut kitle indeksi verisi mevcut olan 50 hastanın ortalama VKİ değeri 33.44 idi (22.8-62.40). 2 vaka (%4) normal kilolu, 13 vaka (%26) hafif kilolu, 35 vaka (%70) obez kategorisinde yer alıyordu, zayıf grupta yer alan hasta yoktu. VKİ bilinen 50 vakanın 48'i (%96) normalin üstünde vücut kitle indeksine sahipti. Sigara öyküsü bilinen 50 hastanın 7'sinde (%14) sigara öyküsü mevcuttu, 43 hasta (%86) hiç sigara kullanmamıştı. Parite verisine erişilebilen 50 vakanın %8'i (n=4) nullipar, %8'i (n=4) primipar, %84'ü (n=42) multipar grupta yer aldı.

24 vaka (%47.1) adjuvan tedavi almamıştı. 4 vaka (%7.9) kemoterapi; 12 vaka (%23.5) radyoterapi; 1 vaka (%1.9) kemoterapi, radyoterapi ve hormon tedavisi, 10 vaka (%19.6) kemoterapi ve radyoterapi almıştı. Tüm vakalar içerisinde tedavi direnci gelişen tek vaka MMRd gruptaydı. 3 vakada (%5.8) hastalığa bağlı eksitus gerçekleşmişti, 5 vakada (%9.8) takipte nüks veya metastaz gelişmişti, 46 vaka (%90.2) hastalıksız takip altındaydı. Eksitus gelişen vakaların tümü aynı zamanda reküren/metastatikti.

MMRd gruptaki vakaların hepsi hastanemizde histerektomi operasyonu geçirmişti. 16 vakanın (%31.4) arşivimizde preoperatif endometrial küretaj materyali mevcuttu. 24 vakada (%47.1) sentinel lenf nodülü diseksiyonu yapılmıştı, bunların 3'ünde (%12.5) sentinel lenf nodülünde metastaz mevcuttu.

MMRd gruptaki 51 vakanın ortalama tespit süresi 2 gündü. Laboratuara ameliyat günü içerisinde ulaşması sağlanamamış ve uygun histerektomi fiksasyonu sağlanamamış 9 adet vaka bulunmaktaydı. Bunların ortalama tespitsiz bekleme süresi 2 gündü. 9 vakanın 6'sı bir gün boyunca, 3'ü ise bir günden uzun süre boyunca optimal tespit için gerekli muameleye maruz kalamamıştı.

MMRd grupta tümör boyutu bilgisi mevcut olan 49 vakanın ortalama tümör boyutu 41.84 milimetreydi (17-160 mm), 49 vakanın 44'ünde (%89.8) tümör boyutu 2 cm'den fazlaydı.

MMRd grupta, vakaların %17.6'sı (n=9) FIGO derece 1, %66.7'si (n=34) derece 2, %15.7'si (n=8) derece 3 özelliğindeydi. Vakaların %84.3'ünün düşük, %15.7'si yüksek dereceliydi. Preoperatif endometrial küretajı mevcut olan 16 vakanın, 6'sı (%37.5) FIGO derece 1, 9'u (%56.3) derece 2, biri (%6.2) derece 3 özellikliydi. Histerektomi ve preoperatif küretajı arasında derece açısından uyumsuzluk gösteren 6 vaka (%37.5) bulunmaktayken, 10 vakada (%62.5) vakada FIGO dereceleri uyumluydu. Küretaj ve histerektomi derecesi arasında uyumsuzluk bulunan vakaların %83.3'ünde (n=5) küretaj derecesi histerektomi derecesinden düşük raporlanmıştı, birinde ise tersi durum söz konusuydu.

MMRd grupta pT evrelemesi dağılımı; %52.9 (n=27) pT1a, %21.6 (n=11) pT1b, %17.7 (n=9) pT2, %1.9 (n=1) pT3a, %5.9 (n=3) pT3b şeklindeydi. Lenf nodu durumu bilinen 48 vakanın 37'sinde (%77.1) lenf nodu metastazı izlenmedi. Lenf nodu metastazı bulunan 11 vakanın 7'si N1a, 4'ü N2a evresindeydi. FIGO evre dağılımı, %62.8 (n=32) evre I, %13.7 (n=7) evre II, %23.5 (n=12) evre III şeklindeydi. Tanı anında evre 4 vaka bulunmamaktaydı. FIGO

evreleri erken ve ileri evre şeklinde gruplandığında MMRd grubun %76.5'inin (n=39) erken evrede tanı aldığı görüldü.

34 vakaya (%66.7) tümör nekrozu eşlik etmekteydi. Nekroz izlenen vakaların 19'unda (%55.9) fokal, 11'inde (%32.4) multifokal, 4 vakada (%11.7) ise yaygın nekroz izlendi. Tüm vakalar içerisinde, yaygın nekroz içeren vakaların tamamı MMRd grupta yer alıyordu. Komedonekroz (n=33), MMRd grubun %64.7'sinde, nekrozu bulunan MMRd vakaların %97'sinde mevcuttu. 37 vakada (%72.5) skuamöz diferansiyasyon izlendi, bunların %86.5'inde (n=32) fokal, %10.8'inde (n=4) multifokal, %2.7'sinde (n=1) yaygındı. 27 vakada (%52.9) müsinöz diferansiyasyon izlendi, bunların %55.6'sında (n=15) fokal, %40.7'sinde (n=11) multifokal, %3.7'sinde (n=1) yaygın müsinöz diferansiyasyon izlendi. 9 vakada (%17.6) tümörde psammomatöz kalsifikasyon izlendi, tüm vakalar içerisinde psammom izlenen tümörlerin %75'i MMRd gruptaydı (**Tablo.6.3.1**). 12 vakada (%23.5) varyant morfoloji mevcuttu. Bunların %50'si (n=6) villoglandüler, %25'i (n=3) mikroglandüler, %25'i (n=3) sekretuar varyant içeriyordu.

İnvazyon ilişkili parametreler içerisinde, 31 vakada (%60.8) MELF tipte invazyon izlendi. 19 vakada (%61.3) bu durum yaygın iken, 12 vakada fokal idi. 31 vakada (%60.8) LVİ izlendi; bunların %64.5'inde (n=20) yaygın, kalan 11 vakada (%35.5) LVİ fokal idi. Hesaplanan myometriyum invazyon derinliği ortalama %40.55'ti (0-100). Myometriyum invazyon derinliği gruplandığında, 32 (%62.8) vakada tümörün myometriyum iç yarısında (<%50) sınırlı olduğu, 16 (%31.4) vakada dış yarıya infiltrasyon ($\geq$ %50-<%100) gösterdiği, 3 (%2.8) vakada ise seroza ulaştığı (%100) görüldü. Tüm vakalar içerisinde, serozaya ulaşan tümörlerin hepsi MMRd gruptaydı.

Tümör hücrelerinde ER ve PR nükleer boyanma yüzdeleri 0-100 arasında değişkenlik gösterdi, ortalama ER %77.84, ortalama PR %69.92 olarak hesaplandı. MMRd vakaların tümü p53 ile "wild" tipte boyanma gösterdi (**Tablo.6.3.2**). 42 vakada (%82.4) c-erbB2 negatifti (0/+1), kalan 9 vaka "equivocal" özellikliydi, c-erbB2 pozitif (+3) vaka yoktu (**Tablo.6.3.2**).

MLH1, MSH2, PMS2 ve MSH6 boyalı preparatların tekrar değerlendirilmesinde, en çok kayıp izlenen antikorun PMS2, en az kayıp izlenen antikorun MSH6 olduğu görüldü (**Tablo.6.3.2**).

MMRd grupta ESGO/ESTRO/ESP rehberlerine göre prognostik gruplar belirlendiğinde, 23 vaka (%45.1) düşük riskli, 4 vaka (%7.8) orta riskli, 13 vaka (%25.5) orta-yüksek riskli, 11 vaka (%21.6) yüksek riskli prognostik grupta yer alıyordu.

İmmünohistokimya ve moleküler sonuçlar kombine edilerek oluşturulmuş MSI/MMRd grupta 35 vaka mevcuttu ve 19'unda (%54.3) tümöre eşlik eden EİN alanları izlendi. EİN alanı MSH2, MSH6, PMS2 ve MLH1 boyalı immün preparatlarda değerlendirilebilen 7 vaka mevcuttu, bunların 4'ünde, eşlik ettiği kanserin MMR immünohistokimyası ile paralel şekilde MLH1 ve PMS2 de kayıp izlenirken, 3 adet MSI/MMRd vakada EİN odağında MMR proteinlerinde kayıp izlenmedi.

Tablo 6.3.1. MMRd grupta yer alan vakaların klinik ve histopatolojik deskriptif verileri

Klinik Özellikler	n	Deskriptif Veriler	
Yaş	51	Ortalama: 63.35 (38-94)	
Takip süresi, ay	50	Ortalama: 13.26 (1-35), Ortanca: 12.00	
Vücut kitle indeksi	50	Ortalama: 33.44 (22.8-62.4), Ortanca: 32.5	
Sigara öyküsü	50	Yok: 43 (%86)	Var: 7 (%14)
Adjuvan tedavi	51	Yok: 24 (%47.1) RT: 12 (%23.5) KT: 4 (%7.8)	KT+RT: 10 (%19.6) KT+HT: 0 KT+RT+HT: 1 (%1.9)
Tedavi direnci	50	Yok: 49 (%98)	Var: 1 (%2)
Spesimen türü	51	Küretaj+TAH:16(%31.4)	TAH: 35 (%68.6)
Tespitsiz süre, gün	9	Ortalama: 1.65 (1-6)	
Toplam tespit, gün	51	Ortalama: 2 (1-12)	
Histopatolojik Özellikler	N	Deskriptif Veriler	
Tümör boyutu (mm)	49	Ortalama: 37.22 (7-160)	
Tümör yerleşimi (n, %)	51	Alt uterin segment: 31 (%60.8) Fundus: 17 (%33.3) Kavitede yaygın: 3 (%5.9)	
FIGO derece (n, %)	51	Derece 1: 9 (%17.6) Derece 2: 34 (%66.7) Derece 3: 8 (%15.7)	

pT evresi (n, %)	51	pT1a: 27 (%52.9) pT1b: 11 (%21.6) pT2: 9 (%17.7)	pT3a: 1 (%1.9) pT3b: 3 (%5.9)
FIGO evresi (n, %)	51	Evre I: 32 (%62.8) Evre II: 7 (%13.7)	Evre III: 12 (%23.5) Evre IV: 0
MELF (n, %)	51	Yok: 20 (%39.2)	Var: 31 (%60.8)
LVI (n, %)	51	Yok: 20 (%39.2)	Var: 31 (%60.8)
LNm (n, %)	48	Yok: 37 (%77.1)	Var: 11 (%22.9)
Nekroz (n, %)	51	Yok: 17 (%33.3)	Var: 33 (%66.7)
Komedonekroz (n, %)	51	Yok: 18 (%35.3)	Var: 53 (%64.7)
Müsinöz farklılaşma (n, %)	51	Yok: 24 (%47.1) ≤%30: 15 (%29.4)	%31-60: 11 (%21.6) >%60: 1 (%1.9)
Skvamöz farklılaşma (n, %)	51	Yok: 14 (%27.5) ≤%30: 32 (%62.8)	%31-60: 4 (%7.8) >%60: 1 (%1.9)
Psammom (n, %)	51	Yok: 42 (%82.4)	Var: 9 (%17.6)

Tablo 6.3.2. MMRd grupta yer alan vakaların immünohistokimyasal analizlerinin sonuçları

MMRd Vakalar (n=51)		Diğer İmmünohistokimya (n=51)	
MLH1	Kayıp yok: 7 (%13.7) Kayıp var: 44 (%86.3)	ER (%)	Ortalama: 77.84 (0 – 100)
		PR (%)	Ortalama: 69.92 (0 – 100)
PMS2	Kayıp yok: 6 (%11.8) Kayıp var: 45 (%88.2)	BRAF-VE1 (n, %)	0: 2 (%3.9)
MSH2	Kayıp yok: 45 (%88.2) Kayıp var: 6 (%11.8)		1: 24 (%47.1)
			2: 24 (%47.1)
			3: 1 (%1.9)
MSH6	Kayıp yok: 46 (%90.2) Kayıp var: 5 (%9.8)	c-erbB2	0: 23 (%45.1)
P53	Wild: 51 (%100) Mutant: 0		+1: 19 (%37.3)
			+2: 9 (%17.6)
			+3: 0

PD-L1 ile tümör hücrelerinde ortalama 19.43 hücre pozitif boyandı (0-197), stromada ise ortalama 89.02 mononükleer inflamatuvar hücre mevcuttu (0-950). PD-L1 ile tümör hücrelerinde hiç boyanma göstermeyen 9 vaka (%17.6) bulunmaktaydı. Tümör hücrelerinde %1'in altında boyanma gösteren 34 vaka (%66.7), %1-25 arasında pozitif boyanma gösteren 8 vaka (%15.7) izlenirken %25'in üzerinde tümör hücresinde PD-L1 boyanması gösteren vaka yoktu. PD-L1 ile stromadaki mononükleer hücrelerin toplam tümör stroması alanına oranının %1'in altında olduğu 20 vaka (%39.2), %1-25 arasında olduğu 18 vaka (%35.3), %25'in üstünde olduğu 12 vaka (%23.5) izlendi. PD-L1 ile stromada hiç boyanan hücre içermeyen 1 vaka (%2) bulunmaktaydı (**Tablo.6.3.3**). Çalışma kapsamındaki tüm vakalar içerisinde, stromasında %25'in üzerinde PD-L1 pozitif mononükleer hücre bulunduran 14 vakanın 12'si (%85.7) MMRd gruptaydı.

Tüm vakalarda olduğu gibi, MMRd grupta da antikorlar içerisinde pozitif boyanan total lenfosit sayısının ortalama ve ortancası en yüksek CD3 pozitif gruptaydı. En düşük ise tüm vakalardan farklı olarak, MMRd vakalar için CD45 pozitif gruptu. CD3, CD4, CD8, CD45 boyalı parafin kesitlerde iki kompartman için de ortalama 1.25-1.45 mm² arasında alan değerlendirildi ve en düşük 1, en yüksek 2213 hücre sayıldı. MMRd grup için, kohortun tamamında da olduğu gibi, CD3, CD4, CD8 ve CD45 boyalı parafin kesitlerde, stromal kompartmandaki immün hücre dansitelerinin ortalama ve ortancaları, intratümöral kompartmana göre, dört antikor için de daha fazla hesaplandı (**Tablo.6.3.4** ve **Tablo.6.3.5**).

Tablo 6.3.3. MMRd grupta PD-L1 boyalı doku mikrodizin immün kesitlerine ait deskriptif sonuçlar

PD-L1 İmmünohistokimyası	Tümör		Stroma
Pozitif Hücre Sayısı	Ortalama:19.43 Ortanca: 7.0 Aralık: 0 - 197		Ortalama: 89.02 Ortanca: 35.0 Aralık: 0 - 950
Alan (mm²)	Ortalama: 1.25	Ortanca: 1.18	Aralık: 0.53 – 3.08
Negatif (n, %)	9 (%17.6)		1 (%2)
<%1 (n, %)	34 (%66.7)		20 (%39.2)
%1-25 (n, %)	8 (%15.7)		18 (%35.3)
>%25 (n, %)	0		12 (%23.5)

Tablo 6.3.4. MMRd grupta CD3 ve CD8 boyalı doku mikrodizin immün kesitlerine ait deskriptif sonuçlar

Deskriptif – CD3	Ortanca	Ortalama	Aralık	Std.deviasyon
İntratümöral	160.0	182.78	6 - 649	130.32
Stromal	322.0	459.59	28 - 2213	440.01
Total	494.0	642.37	28 - 2401	499.77
Alan (mm ²)	1.25	1.29	0.42 – 2.73	0.55
İntratümöral dansite	131.83	153.9	3.74 – 547.27	114.38
Stromal dansite	260.09	376.26	23.17 – 1806.13	368.40
Total dansite	423.98	530.06	33.01 – 2013.48	412.18
Deskriptif – CD8	Ortanca	Ortalama	Aralık	Std.deviasyon
İntratümöral	86.0	112.45	1 – 429	91.85
Stromal	98.0	167.06	8 – 918	190.78
Total	230.0	279.71	15 – 1149	244.02
Alan (mm ²)	1.45	1.38	0.39 – 2.61	0.51
İntratümöral dansite	64.46	85.19	0.70 – 359.25	74.50
Stromal dansite	67.24	123.45	8.04 – 616.51	131.01
Total dansite	158.96	208.75	10.51 – 771.64	166.85

Tablo.6.3.5. MMRd grupta CD4 ve CD45 boyalı doku mikrodizin immün kesitlerine ait deskriptif sonuçlar

Deskriptif – CD4	Ortanca	Ortalama	Aralık	Std.deviasyon
İntratümöral	90.0	109.69	7 - 325	79.51
Stromal	258.0	393.90	69 - 1267	336.29
Total	387.0	504.69	115 - 1518	368.14
Alan (mm ²)	1.32	1.29	0.44 – 2.69	0.48
İntratümöral dansite	75.32	87.31	7.25 – 286.09	59.98
Stromal dansite	230.11	303.39	68.57 – 1164.16	226.79
Total dansite	391.71	304.18	107.76 – 1219.19	237.39
Deskriptif – CD45	Ortanca	Ortalama	Aralık	Std.deviasyon
İntratümöral	52.0	66.31	1 – 368	65.51
Stromal	156.0	234.92	4 – 843	213.82
Total	218.0	299.27	9 – 908	236.56
Alan (mm ²)	1.28	1.26	0.37 – 2.62	0.52
İntratümöral dansite	38.60	56.03	0.61 – 368.0	58.41
Stromal dansite	142.66	193.26	10.75 – 695.62	165.59
Total dansite	191.75	247.33	15.85 – 730.11	183.62

6.4. MMRp Vakaların Deskriptif Verilerinin Sonuçları

Çalışma kapsamındaki 57 MMRp vakanın, 6'sı (%10.5) 2020 yılına, 23'ü (%40.4) 2021 ve 28'i (%49.1) 2022 yıllarına ait primer ve ilk tanı endometrioid tip endometrium kanseri vakasıydı.

MMRp grubun ortalama yaşı 59.3'tü (39-80). 11 vaka (%19.3) 65 yaş ve üstü hastalardan oluşurken, 8 vaka (%14) 50 yaşın altındaydı. Takip bilgisi mevcut olan 54 hastanın ortanca takip süresi 10 ay idi (1-33). Vücut kitle indeksi verisi mevcut olan 55 vakanın ortalama VKİ değeri 33.78 idi (23.2-56.1). 5 vaka (%9) normal kilolu, 17 vaka (%30.9) hafif kilolu, 33 vaka (%60) obez kategorisinde yer aldı, zayıf grupta yer alan hasta yoktu. VKİ bilgisi bulunan 55 vakanın 50'si (%90.9) normalin üstünde vücut kitle indeksine sahipti. 6 vakada (%10.9) sigara öyküsü mevcuttu, 49 hasta (%89.1) hiç sigara kullanmamıştı. 57 vakanın ikisinde parite bilgisine erişilememişti, kalan 55 vakanın %23.6'sı (n=13) nullipar, %5.5'i primipar (n=3), %70.9'u (n=39) multipar grupta yer almaktaydı.

55 vakada adjuvan tedavi bilgisine erişilebilmişti. Bunların, %54.5'i (n=30) tedavi almamıştı. 3 vaka (%5.5) kemoterapi, 15 vaka (%27.3) radyoterapi almış, 1 vaka (%1.8) kemoterapi ve hormon tedavisi, 6 vaka (%10.9) kemoterapi ve radyoterapi almıştı. Vakalarda tedavi direnci gelişmemişti. 4 vakada (%7.1) hastalığa bağlı eksitus gerçekleşmişti. 54 vakada nüks veya metastaz durumu bilinmekteydi, 5 vakada (%9.3) takipte nüks veya metastaz gelişmiş, bunların 4'ünde takipte eksitus gerçekleşmişti. 49 vaka (%90.7) hastalıksız takip altındaydı.

MMRp gruptaki 57 vakanın 1'i konsültasyon özelliğinde olduğu için operasyon türü bilgisi verilmedi, 2 vakada patoloji arşivimizde sadece küretaj materyali mevcuttu. 54 vaka hastanemizde histerektomi operasyonu olmuştu. Bunların %33.3'ünde (n=18) arşivimizde preoperatif endometrial küretaj materyali bulunmaktaydı. Sadece küretaj materyali bulunan 2 vaka ve konsültasyon niteliğindeki vaka çıkarıldığında, MMRp gruptaki 54 histerektomi materyalinin 22'sinde (%40.7) sentinel lenf nodu diseksiyonu yapılmıştı, bunların birinde (%4.5) sentinel lenf nodülünde metastaz mevcuttu.

MMRp gruptaki 57 vakanın ortalama tespit süresi 2 gündü. Laboratuvarımıza ameliyat günü içerisinde ulaşması sağlanamamış ve uygun histerektomi fiksasyonu sağlanamamış 8 vaka bulunmaktaydı, bunların ortalama tespitsiz bekleme süresi 1.25 gün olarak hesaplandı. 8

vakanın 7'si bir gün boyunca, biri ise üç boyunca optimal tespit için gerekli muameleye maruz kalamamıştı.

MMRp grupta 6 vakada tümör boyutu bilgisi mevcut değildi, bunların 2 si sadece küretajı mevcut olan, biri konsültasyon niteliğinde olan, 3'ü ise histerektomi materyalinde önceki küretajına sekonder makroskopik olarak net kitlesel lezyon seçilemediği için boyutu tariflenemeyen vakalardı. Tümör boyutu bilgisi mevcut olan 51 vakanın ortalama tümör boyutu 32.78 milimetreydi (7-65 mm). Vakaların %74.5'inde (n=38) tümör boyutu 2 cm'den fazlaydı. Vakaların %52.6'sı (n=30) FIGO derece 1, %43.9'u (n=25) derece 2, %3.5'i (n=2) derece 3 özelliğindeydi. Vakaların %96.5'inin düşük, %3.5'inin yüksek dereceli olduğu görüldü. Preoperatif endometrial küretajı değerlendirilen 18 vakanın, 11'i (%61.1) derece 1, 6'sı (%33.3) derece 2 özellikteyken, 1 tanesi sadece EIN içeriyordu. Histerektomisi ve preoperatif küretajı arasında FIGO derecesi açısından uyumsuzluk gösteren 5 vaka (%27.8) bulunmaktayken, %72.2 vakada FIGO dereceleri uyumluydu. Biyopsi ve histerektomi derecesi arasında uyumsuzluk bulunan vakaların %80'inde (n=4) biyopsi derecesi histerektomi derecesinden düşük raporlanmış iken, birinde ise tersi durum söz konusuydu.

MMRp grupta, sadece küretajı mevcut olan 2 vaka çıkarıldığında, pT evrelemesi dağılımı; %60 (n=33) pT1a, %27.3 (n=15) pT1b, %5.5 (n=3) pT2, %7.2 (n=4) pT3a şeklindeydi. Lenf nodülü diseksiyonu yapılan 39 vakanın 37'sinde (%94.9) lenf nodu metastazı mevcut değildi. Lenf nodu metastatik olan 2 vaka N1a evresindeydi. MMRp grupta, MMRd gruptan farklı olarak, N2a ve pT3b evresinde vaka yoktu. FIGO evre dağılımı, %87.1 (n=47) evre I, %3.6 (n=2) evre II, %9.3 (n=5) evre III şeklindeydi. FIGO evreleri erken ve ileri şeklinde gruplandırıldığında MMRp grubun %90.7'sinin (n=49) erken evrede tanı aldığı görüldü.

26 vakada (%45.6) tümör nekrozu eşlik etmekteydi. Nekroz izlenen vakaların 20'sinde (%76.9) fokal, 6 vakada (%23.1) multifokal nekroz bulunmaktaydı. Komedonekroz (n=21), MMRp grubun %36.8'inde, nekrozu bulunan MMRp vakalarının %80.8'inde mevcuttu. 35 vakada (%61.4) skuamöz diferansiyasyon izlendi, bunların %60'ında (n=21) fokal, %31.4'ünde (n=11) multifokal, %8.6'sında (n=3) yaygındı. Vakaların %49.1'inde (n=28) müsinöz diferansiyasyon mevcuttu. Bunlarda müsinöz sahalar, %64.3'ünde (n=18) fokal, %25'inde (n=7) multifokal, %10.7'sinde (n=3) yaygındı. 3 vakada (%5.3) psammom izlendi (**Tablo.6.4.1**). 8 (%14) vakada varyant morfoloji mevcuttu. Bunların %50'si (n=4) villoglandüler, %12.5'i (n=1) mikroglandüler, %37.5'i (n=3) sekretuar varyant içermekteydi.

İnvazyon ilişkili parametreler, MMRp grubta 2 adet sadece küretaj materyali bulunan vaka dışlandıktan sonra değerlendirildi. 55 vakanın, %43.6'sında (n=24) MELF tipte invazyon izlendi. MELF tipte invazyon bulunan vakaların %54.2'sinde (n=13) bu durum yaygın iken, 11 vakada fokaldi. Lenfovasküler invazyon %41.8 vakada (n=23) mevcuttu; bunların %43.5'inde (n=10) yaygın LVI izlenirken, kalan 13 vakada (%56.5) LVI fokaldi. Hesaplanan myometrium invazyon derinliği ortalama %33.38'di (0-93). Myometrium invazyon derinliği gruplandığında, 34 (%61.8) vakada tümörün myometrium iç yarısında sınırlı olduğu, 21 (%31.2) vakada dış yarıya infiltrasyon gösterdiği görüldü, serozaya ulaşan vaka yoktu.

MMRp grupta tümör hücrelerinde ER ve PR nükleer boyanma yüzdeleri 5-100 arasında değişkenlik gösterdi, ortalama ER boyanması %79.82, ortalama PR boyanması %70.09 olarak hesaplandı. MMRp vakaların 54'ü (%94.7) p53 "wild" tipte, 3'ü mutant (%5.3) fenotipte boyanma gösterdi (**Tablo.6.4.1.**). Vakaların %86'sında (n=49) c-erbB2 negatif (0/+1). 7 vaka "equivocal" özellikteydi. 1 adet c-erbB2 ile pozitif (+3) vaka mevcuttu (**Tablo.6.4.1.**).

Tablo 6.4.1. MMRp grupta yer alan vakaların klinik, histopatolojik ve immünohistokimyasal özellikleri

Klinik Özellikler	n	Deskriptif Veriler	
Yaş	57	Ortalama: 59.3 (39-80)	
Takip süresi, ay	54	Ortalama: 11.68 (1-33), Ortanca: 10.00	
Vücut kitle indeksi	55	Ortalama: 33.20 (23.2-56.1), Ortanca: 33.8	
Sigara öyküsü	55	Yok: 49 (%89.1)	Var: 6 (%10.9)
Adjuvan tedavi	55	Yok: 30 (%54.5) RT: 15 (%27.3) KT: 3 (%5.5)	KT+RT: 6 (%10.9) KT+HT: 1 (%1.9) KT+RT+HT: 0
Tedavi direnci	54	Yok: 54 (%100)	Var: 0
Spesimen türü	57	Küretaj: 2 (%3.5) Küretaj+TAH:18(%31.6)	TAH: 36 (%63.2) Konsültasyon: 1 (%1.7)
Tespitsiz süre, gün	8	Ortalama: 1.25 (1-3)	
Toplam tespit, gün	55	Ortalama: 2 (1-12)	
Histopatolojik Özellikler	n	Deskriptif Veriler	
Tümör boyutu (mm)	51	Ortalama: 32.78 (7-65)	
Tümör yerleşimi (n, %)	54	Alt uterin segment: 23 (%42.6) Fundus: 26 (%48.1) Kavitede yaygın: 5 (%9.3)	
FIGO derece (n, %)	57	Derece 1: 30 (%52.6) Derece 2: 25 (%43.9) Derece 3: 2 (%3.5)	
pT evresi (n, %)	51	pT1a: 33 (%60) pT1b: 15 (%27.3)	pT2: 3 (%5.5) pT3a: 4 (%7.3)

FIGO evresi (n, %)	54	Evre I: 47 (%87.1) Evre II: 2 (%3.6)	Evre III: 5 (%9.3) Evre IV: 0
MELF (n, %)	55	Yok: 31 (%56.4)	Var: 24 (%43.6)
LVI (n, %)	55	Yok: 32 (%58.2)	Var: 23 (%41.8)
LNm (n, %)	39	Yok: 37 (%94.9)	Var: 11 2 (%5.1)
Nekroz (n, %)	57	Yok: 31 (%54.4)	Var: 26 (%45.6)
Komedonekroz (n, %)	57	Yok: 36 (%63.2)	Var: 21 (%36.8)
Müsinöz farklılaşma (n, %)	57	Yok: 29 (%50.8) ≤%30: 18 (%31.6)	%31-60: 7 (%12.3) >%60: 3 (%5.3)
Skuamöz farklılaşma (n, %)	51	Yok: 22 (%38.6) ≤%30: 21 (%26.8)	%31-60: 11 (%19.3) >%60: 3 (%5.3)
Psammom (n, %)	51	Yok: 54 (%94.7)	Var: 3 (%5.3)
İHK Özellikleri	n	Deskriptif Veriler	
ER (%)	57	Ortalama: 79.82 (5-100)	
PR (%)	57	Ortalama: 70.09 (5-100)	
P53 (n, %)	57	Yok: 54 (%94.7)	Var: 3 (%5.3)
C-erbB2	57	0: 26 (%45.6) 1: 23 (%40.4)	2: 7 (%12.3) 3: 1 (%1.7)

PD-L1 ile tümör alanlarında ortalama 9.86 hücre pozitif boyandı (0-119), stromada ise ortalama 37.56 mononükleer inflamatuvar hücre mevcuttu (0-477). PD-L1 ile tümör hücrelerinde hiç boyanma göstermeyen 25 vaka (%43.9) bulunmaktaydı. Tümör hücrelerinde %1'in altında pozitif boyanma gösteren vakaların oranı %47.4 (n=27), %1-25 arasında pozitif boyanma gösteren vakaların oranı %8.7 (n=5) olarak hesaplandı. Tümör hücrelerinde %25'in üzerinde PD-L1 boyanması gösteren vaka bulunmamaktaydı. PD-L1 ile stromadaki mononükleer hücrelerin %1'in altında boyandığı 30 vaka (%52.6) mevcuttu Vakaların %28.1'inde (n=16) %1-25 arasında, %3.5'inde (n=2) %25'in üstünde pozitiflik saptandı. PD-L1 ile stromada hiç boyanan hücre içermeyen 9 vaka (%15.8) bulunmaktaydı (**Tablo.6.4.2**).

Tüm vakalarda olduğu gibi, MMRp grupta da antikorlar içerisinde pozitif boyanan total (intratümöral + stromal) lenfosit sayısının ortalama ve ortancası en yüksek CD3 pozitif, en düşük CD8 pozitif grupta izlendi. CD3, CD4, CD8, CD45 boyalı parafin kesitlerde iki kompartman için de ortalama 1.35-1.39 mm² arasında alan değerlendirildi ve her vaka için iki kompartmanda toplam, en düşük 5, en yüksek 2832 hücre sayıldı. MMRp grup için, kohortun tamamında da olduğu gibi, CD3, CD4, CD8 ve CD45 boyalı parafin kesitlerde, stromal kompartmandaki immün hücre dansitelerinin ortalama ve ortancaları, intratümöral kompartmana göre, dört antikor için de daha fazla hesaplandı.

Tablo 6.4.2. MMRp grupta, PD-L1 boyalı doku mikrodizin immün kesitlerine ait deskriptif sonuçlar

PD-L1 İmmünohistokimyası	Tümör	Stroma
Pozitif Hücre Sayısı	Ortalama: 9.86 Ortanca: 1.0 Aralık: 0 - 119	Ortalama: 37.56 Ortanca: 11.0 Aralık: 0 - 477
Alan (mm²)	Ortalama: 1.36	Ortanca: 1.43 Aralık: 0.38 - 2.69
Negatif (n, %)	25 (%43.9)	9 (%15.8)
<%1 (n, %)	27 (%47.4)	30 (%52.6)
%1-25 (n, %)	5 (%8.7)	16 (%28.1)
>%25 (n, %)	0	2 (%3.5)

Tablo 6.4.3. MMRp grupta CD3 ve CD8 boyalı doku mikrodizin immün kesitlerine ait deskriptif sonuçlar

Deskriptif – CD3	Ortanca	Ortalama	Aralık	Std.deviasyon
İntratümöral	86.0	147.18	12 – 1172	186.24
Stromal	265.0	437.95	13 – 2566	457.76
Total	354.0	585.18	25 – 2832	576.55
Alan (mm ²)	1.5	1.39	0.32 – 2.54	0.50
İntratümöral dansite	70.93	106.74	8.38 – 669.5	117.65
Stromal dansite	230.34	302.21	14.63 – 1290.28	251.49
Total dansite	326.57	409.01	28.13 – 1424.03	323.23
Deskriptif – CD8	Ortanca	Ortalama	Aralık	Std.deviasyon
İntratümöral	33.0	61.48	0 – 655	100.84
Stromal	70.0	117.11	5 – 1039	154.65
Total	106.0	178.72	5 – 1171	219.40
Alan (mm ²)	1.43	1.37	0.34 – 2.4	0.43
İntratümöral dansite	27.19	47.73	0 – 431.84	75.30
Stromal dansite	53.80	83.57	3.76 – 536.21	90.98
Total dansite	80.56	131.51	3.76 – 673.14	142.19

Tablo 6.4.4. MMRp grupta, CD4 ve CD45 boyalı doku mikrodizin immün kesitlerine ait deskriptif sonuçlar

Deskriptif – CD4	Ortanca	Ortalama	Aralık	Std.deviasyon
İntratümöral	93.0	115.56	0 – 380	97.54
Stromal	239.0	343.0	9 – 1560	316.29
Total	312.0	456.98	9 – 1913	384.99
Alan (mm ²)	1.49	1.39	0.26 – 2.40	0.47
İntratümöral dansite	64.0	83.92	0 – 337.15	70.10
Stromal dansite	165.54	238.49	14.17 – 826.59	180.0
Total dansite	257.27	321.42	14.17 – 1013.63	222.73
Deskriptif – CD45	Ortanca	Ortalama	Aralık	Std.deviasyon
İntratümöral	40.0	66.16	1 – 254	59.53
Stromal	158.0	248.32	10 – 1836	312.98
Total	191.0	323.88	33 – 1930	360.39
Alan (mm ²)	1.51	1.35	0.41 – 2.50	0.51
İntratümöral dansite	39.37	51.39	0.57 – 175.81	42.54
Stromal dansite	142.44	177.99	9.81 – 1046.74	176.38
Total dansite	198.34	234.15	20.27 – 1100.33	199.85

MMRp grupta ESGO/ESTRO/ESP rehberlerine göre, 2 küretaj materyali çıkarıldıktan sonra 55 vakada prognostik gruplar belirlendiğinde, 32 vaka (%58.2) düşük riskli, 9 vaka orta riskli, 9 vaka orta-yüksek riskli, 5 vaka yüksek riskli prognostik grupta yer aldı.

6.5. MMRd ve MMRp Vakaların Karşılaştırması

MMRd ve MMRp grupları, yaş açısından karşılaştırıldığında, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. MMRd grupta yaş, MMRp gruba göre daha ileriydi (Independent-samples T test, **p=0.024**). Yaş değerleri gruplandığında (>65, ≤65), MMRd grupta geriatric yaş grubu anlamlı olarak daha fazla saptandı (Pearson ki kare, **p=0.013**).

MMRd ve MMRp grupları, tümör boyutu açısından karşılaştırıldığında, MMRd gruptaki ortalama tümör boyutu daha yüksek saptanmış olsa da bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (Mann-Whitney U testi, p=0.054). Boyut verisi gruplandığında (≤2cm, >2cm) MMRd grupta 2 cm'nin üstündeki tümörler anlamlı olarak daha fazla izlendi (Pearson ki kare, **p=0.047**).

MMRd ve MMRp grupları, FIGO dereceleri (1, 2, 3) açısından karşılaştırıldığında, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. MMRp grupta anlamlı olarak derece 1

tümörler daha sık, MMRd grupta derece 2 ve 3 tümörler daha sık izlendi (Mann-Whitney U, **p=0.000**). FIGO dereceleri düşük (derece 1 ve 2) ve yüksek (derece 3) şeklinde gruplanarak, MMRd grupta yüksek dereceli tümörler, MMRp grupta da düşük dereceli tümörler daha sık izlenmişti (Fischer-exact, **p=0.044**).

MMRd ve MMRp grupları, FIGO evreleri, gruplanmadan Ia, Ib, II, IIIa, IIIb, IIIc1, IIIc2 ordinal değerleri kullanılarak karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut değildi (Mann-Whitney U, p=0.058). FIGO evreleri I, II, III, IV şeklinde gruplanarak karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu, MMRd grupta evre II, III tümörler daha sık iken, MMRp grupta evre I tümörler daha sık izlendi (Mann-Whitney U, **p=0.005**). FIGO evreleri erken (evre I, II) ve ileri (evre III ve IV) şeklinde gruplandığında, MMRd grupta ileri evre tümörler, MMRp grupta da erken evre tümörler daha sık bulundu (Pearson Ki Kare, **p=0.047**). Patolojik T (pT) evreleri açısından iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı (Mann-Whitney U, p=0.283). ESGO/ESTRO/ESP rehberlerine göre oluşturulmuş prognostik gruplar karşılaştırıldığında, MMRd grupta orta-yüksek, yüksek ve ileri prognostik gruplar daha sık, MMRp grupta ise düşük riskli grup daha sık izlenmekle beraber, bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (Mann-Whitney U, p=0.054).

MMRd ve MMRp grupları, yüzdece hesaplanmış myometrium invazyon derinliği açısından karşılaştırıldığında, anlamlı fark yoktu (Mann-Whitney U, p=0.182). Myometrium invazyonu “<%50, ≥%50” şeklinde gruplandığında da anlamlı fark elde edilemedi (Mann-Whitney U, p=0.890).

MMRd ve MMRp grupları, skuamöz diferansiyasyon durumlarına göre karşılaştırıldığında, gruplar arasında fark bulunamadı (Pearson ki kare, p=0.22). Skuamöz diferansiyasyon yaygınlığı (fokal, multifokal, yaygın) açısından, MMRd grupta fokal skuamöz diferansiyasyon içeren vakalar MMRp gruptan daha fazla; MMRp grupta ise multifokal vakalar daha fazlaydı (Mann-Whitney U, **p=0.012**). MMRd ve MMRp gruplarında, müsinöz diferansiyasyonun varlığı ve yaygınlığı açısından fark bulunamadı (Pearson ki kare, p=0.692; Mann-Whitney U, p=0.697).

MMRd grupta sayıca daha fazla vakada MELF tipi invazyon izlense de bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (Pearson ki kare, p=0.077). MELF tipi invazyon yaygınlık açısından karşılaştırıldığında da (yok/fokal MELF/yaygın MELF), gruplar arasında fark yoktu (Mann-Whitney U, p=0.067). MMRd ve MMRp grupları, LVI durumlarına göre “yok, fokal,

yaygın” şeklinde karşılaştırıldığında MMRd grupta yaygın LVI daha fazla gözlemlendi (Mann-Whitney U, **p=0.019**).

MMRd grupta nekroz daha fazla saptandı (Pearson ki kare, **p=0.028**). Gruplar komedonekroz içerip içermeme durumlarına göre karşılaştırıldıklarında, yine MMRd grupta komedonekroz daha sıklıkla saptandı (Pearson ki kare, **p=0.004**). Gruplar nekroz yaygınlığı açısından (fokal/multifokal/yaygın) karşılaştırıldığında, nekroz yaygınlığı MMRd grupta artsa da bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (Mann-Whitney U, p=0.062). MMRp grupta psammom cismi MMRd gruba göre daha az gözlemlendi (Pearson ki kare, **p=0.041**).

MMRd ve MMRp grupları arasında sentinel lenf nodülü diseksiyonu yapılması açısından bir fark mevcut değildi (Pearson ki kare, p=0.514). Sentinel lenf nodu metastazı açısından da iki grup arasında fark yoktu (Fischer exact test, p=0.609). Lenf nodu metastazı açısından karşılaştırıldığında ise, MMRd grupta lenf nodu metastazı daha çok saptanmıştı (Pearson ki kare, **p=0.021**). N evresi açısından karşılaştırıldığında da MMRd grupta N2a daha fazla evresi MMRp gruba göre sıklıkla saptandı (Mann-Whitney U, **p=0.019**).

MMRd ve MMRp grupları arasında, sigara öyküsü ve postoperatif hormon tedavisi öyküsü açısından fark yoktu (Pearson ki kare, p=0.631, p=0.946). MMRd ve MMRp vakalar vücut kitle indeksleri açısından karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunamadı (Mann-Whitney U, p=0.847). Vücut kitle indeksi gruplandırıldığında (zayıf, normal, hafif kilolu, obez), yine vakalar arasında anlamlı fark yoktu (Mann-Whitney U, p=0.242). MMRd ve MMRp grupları arasında parite sayıları karşılaştırıldığında anlamlı fark yoktu (Mann-Whitney U, p=0.177). Parite durumu gruplandırıldığında (nullipar, primipar, multipar) da vakalar arasında anlamlı fark izlenmedi (Mann-Whitney U, p=0.080). Parite durumu var/yok şeklinde gruplandırıldığında, MMRp grupta nulliparite daha fazlaydı (Pearson ki kare, **p=0.030**).

MMRd ve MMRp grupları arasında, adjuvan tedavi alıp almama durumları karşılaştırıldığında fark yoktu (Pearson ki kare, p=0.441). Ayrıca tedavi alan hastalar arasında da MMRd ve MMRp grupta, kemoterapi, radyoterapi veya kemoradyoterapi alıp almama durumları açısından fark bulunmamaktaydı (Pearson ki kare, p=0.26, p=0.47, p=0.11). Tedavi direnci olup olmaması açısından da gruplar arasında anlamlı fark yoktu (Fischer exact, p=0.481).

MMRd ve MMRp grupları, tümörlerin immünohistokimyasal özelliklerine göre karşılaştırıldığında, ER (%), PR (%), c-erbB2 (0,1,2,3) ve BRAF-VE1 (0,1,2,3) boyanma

miktarları arasında istatistiksel fark yoktu (Mann-Whitney U, $p=0.659$, $p=832$, $p=838$, $p=0.98$). c-erbB2 gruplandırılarak karşılaştırıldığında (0:1:negatif, 2:equivocal, 3:pozitif), yine gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı (Mann-Whitney U, $p=0.640$). BRAF-VE1 gruplandırılarak karşılaştırıldığında (0:negatif, 1+2+3:pozitif), anlamlı fark saptanmadı (Fischer exact, $p=0.277$). BRAF-VE1 ile zayıf boyanma gösteren vakalar negatif kabul edildiğinde (0+1:negatif, 2+3:pozitif), yine MMRd ve MMRp vakalar arasında anlamlı fark bulunmamaktaydı (Pearson ki kare, $p=0.847$). BRAF-VE1 ile zayıf boyanan vakalar negatif kabul edilip, ordinal değişkenli üçlü grup şeklinde düzenlendiğinde (negatif/zayıf, orta, kuvvetli), yine anlamlı fark elde edilemedi (Mann-Whitney U, $p=0.727$). P53 immünohistokimyasında ise MMRd ve MMRp gruplar arasında, istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut değildi (Fischer exact, $p=0.245$).

MMRd ve MMRp vakalar, operasyon materyallerinin tespit süreleri açısından karşılaştırıldığında, iki grup arasında fark yoktu (Mann-Whitney U, $p=0.458$). Tespitsiz gün sayısı açısından da iki grup arasında fark bulunamadı (Mann-Whitney U, $p=0.481$). Vakaların tespitsiz kalıp kalmama durumları açısından da fark yoktu (Pearson ki kare, $p=0.664$).

MMRd ve MMRp gruptaki tümörlerin internal servikal açıklığa uzaklıkları arasında anlamlı fark yoktu ($p=0.209$). Tümörler uterustaki lokalizasyonlarına göre gruplandırıldıklarında, MMRd gruptaki tümörler alt uterin segmentte daha çok izlenseler de istatistiksel olarak gruplar arasında fark yoktu (Pearson ki kare, $p=0.062$).

Takip süreleri açısından MMRd ve MMRp gruplar arasında fark yoktu (Mann-Whitney U, $p=0.566$). Takipte nüks/metastaz gelişme grubu açısından da gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi (Kaplan Meier, $p=0.873$). Sağkalım açısından da fark mevcut değildi (Kaplan Meier, $p=0.883$).

MMRd ve MMRp vakalar arasında tümör immün mikroçevresi ile ilişkili immünohistokimyasal parametreler, verilerin standart olması açısından hücre dansiteleri kullanılarak karşılaştırılmıştı. CD3, CD4, CD8 ve CD45 dansiteleri, intratümöral ve stromal kompartmanlarda ve ikisinin toplamı ile elde edilen total dansite değerlerinde normal dağılım göstermemekte olup bunlar Mann-Whitney U testi kullanılarak karşılaştırıldı. Buna göre, MMRd grupta CD3 intratümöral dansitesi MMRp gruptan daha fazla bulundu (**$p=0.002$**). Stromal CD3 yoğunluğu ve total CD3 yoğunluğu açısından fark yoktu ($p=0.348$, $p=0.082$). MMRd ve MMRp vakalar CD4 yoğunluğu açısından karşılaştırıldığında, intratümöral, stromal ve total dansite değerleri arasında fark gözlenmedi ($p=0.532$, $p=0.082$, $p=0.056$). CD8

intratümöral dansitesi ve total dansitesi, MMRd grupta anlamlı olarak daha fazlaydı (**p=0.000**, **p=0.002**). Stromal CD8 yoğunluğu açısından iki grup arasında fark yoktu ($p=0.090$). CD45'in intratümöral, stromal ve total dansiteleri açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı ($p=0.827$, $p=0.642$, $p=0.595$).

İmmün mikroçevre ilişkili CD3, CD4, CD8, CD45 dansiteleri ayrıca, persentillerine göre 4'lü (0-25.persentil:hafif, 26-50.persentil:hafif-orta, 51-75.persentil:orta-yoğun, >75.persentil:yoğun) ve 2'li gruplara (≤ 50 .persentil:düşük, ≥ 50 .persentil:yüksek) ayrılarak karşılaştırıldı. CD3 ile intratümöral hafif ve hafif-orta yoğunluktaki vakalar MMRp grupta daha fazlayken, orta-yoğun ve yoğun tümör içi CD3 dansitesi içeren vakalar MMRd grupta daha fazla izlendi (Mann-Whitney U, **p=0.003**). Aynı zamanda, MMRd grupta intratümöral CD3 dansitesi MMRp vakalara göre daha çok ortanca eşğin üzerindeki (yüksek) grupta yer aldı (Pearson ki kare, **p=0.004**). CD3'ün stromal ve total dansiteleri, ortanca değer eşik kabul edilerek ikili gruplandırıldığında, MMRd ve MMRp vakalar arasında fark saptanmadı (Pearson ki kare, $p=0.563$, $p=0.083$). CD3 stromal dansite verisi, persentillerine göre dört grupta kategorize edildiğinde de MMRd ve MMRp vakalar arasında fark saptanmadı (Mann-Whitney U, $p=0.548$) ancak total CD3 yoğunluğu için fark mevcuttu, MMRd grupta, MMRp vakalara göre daha çok, orta-yoğun ve yoğun CD3 total dansitesi izlendi (Mann-Whitney U, **p=0.048**). CD8 de CD3'e paralellik gösteriyordu. Orta-yoğun ve yoğun intratümöral CD8 ve total CD8 yoğunluğu, MMRd grupta daha sık izlendi (Mann-Whitney U, **p=0.000**, **p=0.002**). Stromal dansiteler açısından, persentillerine göre dört gruba ayrıldığında, MMRd ve MMRp vakalar arasında fark saptanmadı (Mann-Whitney U, $p=0.103$). Ortanca değer eşik kabul edilerek, ikili gruplamalar yapıldığında, tümör içi ve total CD8 yoğunluğu, MMRd grupta daha sık olarak ortanca değer üstündeydi (Pearson ki kare, **p=0.000**, **p=0.012**). Stromal CD8 yoğunluğu açısından ikili gruplamada da anlamlı fark elde edilemedi (Pearson ki kare, $p=0.563$).

CD4 yoğunluğu persentillerine göre 4 gruba ayrıldığında, intratümöral, stromal ve total yoğunlukları açısından gruplar arasında fark saptanmadı (Mann-Whitney U, $p=0.548$, $p=0.145$, $p=0.072$). Ortanca değer eşik kabul edilerek ikili gruplama yapıldığında da MMRp ve MMRd vakalar arasında, intratümöral, stromal ve total CD4 yoğunluğu açısından fark saptanmadı (Pearson ki kare, $p=0.563$, $p=0.177$, $p=0.563$). CD45 yoğunluğu persentillerine göre 4 gruba ayrıldığında, intratümöral, stromal ve total yoğunlukları açısından gruplar arasında fark saptanmadı (Mann-Whitney U, $p=0.932$, $p=0.548$, $p=0.668$). Ortanca değer eşik kabul edilerek ikili gruplama yapıldığında da MMRp ve MMRd vakalar arasında, intratümöral, stromal ve total CD45 yoğunluğu açısından fark saptanmadı (Pearson ki kare, üç veri için de $p=0.847$).

PD-L1 antikorunun tümör hücrelerindeki ve stromal mononükleer inflamatuvar hücrelerdeki boyanma miktarı (Negatif, <%1, %1-25, >%25) gruplar arasında karşılaştırıldığında, hem tümör hücrelerindeki boyanma miktarı, hem stromal inflamatuvar hücrelerdeki boyanma miktarı gruplar arasında anlamlı fark gösterdi. Tümör hücrelerinde negatif boyanma sıklığı MMRp grupta daha fazla iken, <%1 ve %1-25 arasında pozitif hücre bulunma sıklığı MMRd grupta daha fazlaydı (Mann-Whitney U, **p=0.005**). Stromal inflamatuvar hücreler için de MMRp grupta negatif veya <%1 kadar boyanma sıklığı daha fazla iken, MMRd grupta %1-25 ve >%25 kadar hücrenin pozitif olma sıklığı daha fazlaydı (Mann-Whitney U, **p=0.000**).

6.6. Nihai olarak MSI/MMRd ve MSS/MMRp Olduğuna Karar Verilen Vakaların Karşılaştırılması

Mikrosatellit instabilitesinin saptanması için güncel olarak belirlenmiş altın standart bir yöntem bulunmamaktadır. İlk basamakta önerilen, basit, ucuz ve ulaşılabilir olduğu için immünohistokimyasal analizdir, aynı zamanda immünohistokimyasal analizin protein ifadesindeki değişikliğe yol açan ilgili gendeki mutasyonu da işaret edebileceği düşünülmektedir (163). PCR tabanlı mikrosatellit instabilite analizi ise hangi gende mutasyon olduğuna dair bir öngörü sağlamaz, ayrıca İHK ile uyumunun endometrial kanserlerde kolorektal kanserlere göre düşük olduğu ve endometrial kanserlerde yanlış negatifliğin daha yüksek olduğu bildirilmiştir (163). İmmünohistokimya ve PCR tabanlı fragman analizi arasında izlenebilen uyumsuzluk, stabil tümörlere nazaran instabil tümörlerde daha sıktır (163). İmmünohistokimya ve NGS arasında da ciddi diskordans bildirilmiştir. Dolayısıyla, mikrosatellit instabilitesinin saptanmasında altın standart bir yöntem mevcut olmadığı için, immünohistokimya sonuçlarımıza göre MMRd ve MMRp gruplar arasında karşılaştırma yaptıktan sonra, vakaların mikrosatellit instabilite durumuna yönelik moleküler yöntemlerle desteklenmiş verilerine dayanarak vaka setimizde nihai bir gruplandırma uygulandı. Buna göre, hem immünohistokimyasal olarak MMRd hem de PCR tabanlı fragman analizi ile MSI-H olduğu saptanmış 33 vaka, immünohistokimyasal olarak MMRd ve NGS ile *MSH6* mutasyonu saptanmış 1 vaka, moleküler analizler uygulanamadığı için sadece immünohistokimyasal sonucuna göre MMRd bulunan 1 vaka birleştirilerek MSI/MMRd grubu oluşturuldu (n=35). İmmünohistokimyasal olarak MMRp bulunan ve PCR tabanlı moleküler fragman analizi uygulanmayan 57 vaka ile fragman analizi sonrası MSI-L/MSS saptanmış 16 vaka birleştirilerek MSS/MMRp kontrol grubu oluşturuldu (n=73).

MSI/MMRd ve MSS/MMRp grupları arasında yaş açısından fark izlenmedi (Independent-samples T test, $p=0.187$). Yaş verisi gruplandığında da (>65 , ≤ 65) anlamlı fark yoktu (Pearson ki kare, $p=0.236$).

MSI/MMRd ve MSS/MMRp gruplar, tümör boyutu açısından karşılaştırıldığında, MSI/MMRd grupta tümör boyutu anlamlı olarak daha yüksekti (Mann-Whitney U, $p=0.000$). Tümör boyutu gruplandığında ($>2\text{cm}$, $\leq 2\text{cm}$), MSI/MMRp grupta 2 cm'den büyük tümörler daha sık yer almaktaydı (Pearson ki kare, $p=0.001$). Hatta MSI/MMRd grupta 2 cm altında hiç tümör yoktu.

MSI/MMRd ve MSS/MMRp gruplar, FIGO dereceleri (1, 2, 3) açısından karşılaştırıldığında, MSS/MMRp grupta anlamlı olarak derece 1 tümörler daha çoktu (Mann-Whitney U, $p=0.000$). FIGO dereceleri düşük ve yüksek şeklinde gruplandığında, anlamlı fark bulunamadı (Fischer exact, $p=0.288$).

MSI/MMRd ve MSS/MMRp gruplar, FIGO evreleri, gruplanmadan Ia, Ib, II, IIIa, IIIb, IIIc1, IIIc2 ordinal değerleri kullanılarak karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmış (Mann-Whitney U, $p=0.001$), MSS/MMRp grupta evre Ia ve Ib daha sık izlenmişti, MSI/MMRd grupta ise tümör evreleri artmaktaydı. FIGO evreleri I, II, III, IV şeklinde gruplanarak karşılaştırıldığında da benzer anlam saptandı (Mann-Whitney U, $p=0.001$). FIGO evreleri erken ve ileri evre tümörler şeklinde gruplandığında da fark devam etti, MSS/MMRp grupta erken evre tümör sıklığı daha fazlaydı (Pearson ki kare, $p=0.015$). Patolojik T (pT) evreleri açısından iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark mevcuttu, MSS/MMRp grupta pT1a daha sık saptandı (Mann-Whitney U, $p=0.020$).

MSI/MMRd ve MSS/MMRp gruplar, hesaplanmış myometrium invazyon derinliği açısından karşılaştırıldığında, MSI/MMRd grupta daha derin invazyon yönünde sınırda bir fark izlendi, (Mann-Whitney U, $p=0.049$). Myometrium invazyonu ($<50\%$, $\geq 50\%-<100\%$, $=100\%$) gruplandığında ise anlamlı fark elde edilemedi (Mann-Whitney U, $p=0.193$).

MSI/MMRd ve MSS/MMRp gruplar, skuamöz diferansiyasyon içerip içermeme durumlarına göre karşılaştırıldığında, MSI/MMRd vakalarda skuamöz diferansiyasyona daha sık rastlandı (Pearson ki kare, $p=0.013$). Skuamöz diferansiyasyon yaygınlığı açısından MSI/MMRd ve MSS/MMRp vakalar arasında fark izlenmedi (Mann-Whitney U, $p=0.052$). MSI/MMRd ve MSS/MMRp vakalar, müsinöz diferansiyasyon içerip içermeme durumlarına

göre karşılaştırıldığında, gruplar arasında fark bulunamadı (Pearson ki kare, $p=0.629$). Müsinöz alanların yaygınlığı açısından da gruplar arasında fark yoktu (Mann-Whitney U, $p=0.519$).

MSI/MMRd ve MSS/MMRp gruplar, MELF tipi invazyon içerip içermeme (var/yok) durumlarına göre karşılaştırıldığında, MSS/MMRp grupta MELF tipi invazyon olmama durumu anlamlı olarak daha fazlaydı (Pearson ki kare, $p=0.000$). Ayrıca, MSI/MMRd vakalarda MELF invazyon yaygınlığı artmaktaydı (Mann-Whitney U, $p=0.001$).

MSI/MMRd ve MSS/MMRp grupları, LVI varlığı ve yaygınlığı açısından karşılaştırıldığında, MSI/MMRd grupta daha fazla ve yaygın LVI izlenmişti (Pearson ki kare, $p=0.000$; Mann-Whitney U, $p=0.000$).

MSI/MMRd ve MSS/MMRp grupları, nekroz açısından karşılaştırıldığında, MSI/MMRd grupta nekroz izlenen vaka oranı daha fazlaydı (Pearson ki kare, $p=0.007$). MSI/MMRd grupta komedonekroz izlenme oranı da daha fazlaydı (Pearson ki kare, $p=0.000$). Gruplar arasında nekroz yaygınlığı açısından istatistiksel anlamlı fark yoktu (Mann-Whitney U, $p=0.093$).

MSI/MMRd grupta, MSS/MMRp gruba göre psammom cismi daha sık izlendi (Fischer exact, $p=0.002$).

MSI/MMRd ve MSS/MMRp grupları arasında sentinel lenf nodülü diseksiyonu yapılması açısından bir fark mevcut değildi (Pearson ki kare, $p=0.781$). Sentinel lenf nodu metastazı açısından da iki grup arasında fark yoktu (Fischer exact test, $p=0.114$). Lenf nodu metastazı açısından karşılaştırıldığında MSI/MMRd grupta lenf nodu metastazı daha fazla izlendi (Pearson ki kare, $p=0.002$). MSI/MMRd vakalarda N evresi de daha ileriye (Mann-Whitney U, $p=0.002$).

MSI/MMRd ve MSS/MMRp gruplar arasında, sigara öyküsü ve postoperatif hormon tedavisi açısından fark yoktu (Fischer exact, $p=0.343$, $p=0.545$). MSI/MMRd ve MSS/MMRp vakalar vücut kitle indeksleri açısından karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunamadı (Mann-Whitney U, $p=0.443$). Vücut kitle indeksi gruplandırıldığında da vakalar arasında anlamlı fark yoktu (Mann-Whitney U, $p=0.074$). MSI/MMRd ve MSS/MMRp grupları arasında parite sayıları açısından fark yoktu (Mann-Whitney U, $p=0.195$). Parite durumu gruplandırıldığında da vakalar arasında anlamlı fark izlenmedi (Mann-Whitney U, $p=0.155$).

MSI/MMRd ve MSS/MMRp grupları arasında, adjuvan tedavi alıp almama durumları arasında istatistiksel anlamlı fark izlendi, MSS/MMRp grupta adjuvan tedavi almayan hasta oranı daha fazlaydı (Pearson ki kare, **p=0.046**). Tedavi alan hastalar arasında da MSI/MMRd ve MSS/MMRp grupta, kemoterapi, radyoterapi alıp almama durumları açısından fark bulunmamaktaydı (Pearson ki kare, p=0.101, p=0.061). MSS/MMRp grupta kemoradyoterapi almayan hastalar sınırda anlamlı olarak daha fazlaydı (Pearson ki kare, **p=0.049**). Tedavi direnci olup olmaması açısından da gruplar arasında anlamlı fark yoktu (Fischer exact, p=0.327).

MSI/MMRd ve MSS/MMRp grupları, tümörlerin immünohistokimyasal özelliklerine göre karşılaştırıldığında, ER (%), PR (%), c-erbB2 (0,1,2,3) ve BRAF-VE1 (0,1,2,3) boyanma miktarları arasında istatistiksel fark yoktu (Mann-Whitney U, p=0.208, p=0.403, p=0.625, p=0.971). C-erbB2 gruplandırılarak karşılaştırıldığında (0,1:negatif, 2:equivocal, 3:pozitif), yine gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı (Mann-Whitney U, p=0.755). BRAF-VE1 gruplandırılarak karşılaştırıldığında (0:negatif, 1+2+3:pozitif), anlamlı fark saptanmadı (Fischer exact, p=0.642). BRAF-VE1 ile zayıf boyanma gösteren vakalar negatif kabul edildiğinde (0+1:negatif, 2+3:pozitif), yine MSI/MMRd ve MSS/MMRp vakalar arasında anlamlı fark bulunmamaktaydı (Pearson ki kare, p=0.837). BRAF-VE1 ile zayıf boyanan vakalar negatif kabul edilip, ordinal değişkenli üçlü grup şeklinde düzenlendiğinde (negatif/zayıf, orta, kuvvetli), yine anlamlı fark elde edilemedi (Mann-Whitney U, p=0.947). P53 immünohistokimyasında açısından da fark saptanmadı (Fischer exact, o=0.549).

MSI/MMRd ve MSS/MMRp vakalar, operasyon materyallerinin tespit süreleri açısından karşılaştırıldığında, iki grup arasında fark yoktu (Mann-Whitney U, p=0.467). Tespitsiz gün sayısı açısından da iki grup arasında fark bulunamadı (Mann-Whitney U, p=0.740). Vakaların tespitsiz kalıp kalmama durumları açısından da fark yoktu (Pearson ki kare, p=0.435).

MSI/MMRd ve MSS/MMRp gruptaki tümörlerin internal servikal açıklığa uzaklıkları arasında anlamlı fark yoktu (Mann-Whitney U, p=0.179). Tümörler uterustaki lokalizasyonlarına göre (alt uterin segment yerleşimliler ve diğerleri) gruplandırıldıklarında vakalar arasında fark mevcuttu, MSI/MMRd vakaların alt uterin segmentte görülme oranları daha fazlaydı (Pearson ki kare, **p=0.038**).

Takip süreleri açısından MSI/MMRd ve MSS/MMRp gruplar arasında fark yoktu (Mann-Whitney U, p=0.198). Takipte nüks/metastaz gelişme grubu açısından da gruplar

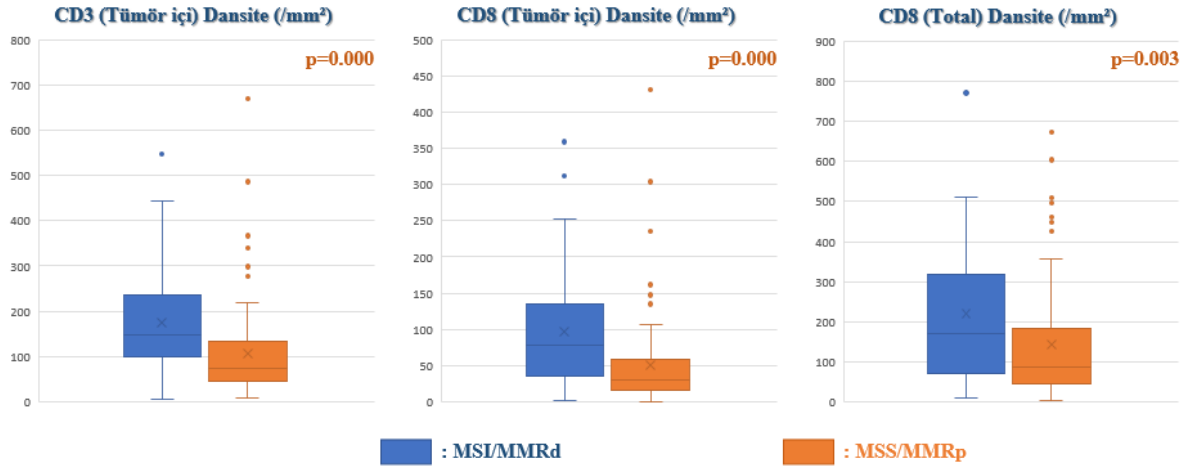
arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi (Kaplan Meier, $p=0.939$). Sağkalım açısından da fark mevcut değildi (Kaplan Meier, $p=0.447$).

ESGO/ESTRO/ESP rehberlerine göre oluşturulmuş prognostik gruplar karşılaştırıldığında, MSI/MMRd grupta orta-yüksek ve yüksek riskli prognostik gruplar, MSS/MMRp grupta ise düşük ve orta riskli grup anlamlı olarak daha fazla saptandı (Mann-Whitney U, $p=0.001$).

MSI/MMRd ve MSS/MMRp vakalar arasında tümör immün mikroçevresi ile ilişkili immünhistokimyasal parametreler, verilerin standart olması açısından hücre dansiteleri kullanılarak karşılaştırılmıştı. CD3, CD4, CD8 ve CD45 dansiteleri, intratümöral ve stromal kompartmanlarda ve ikisinin toplamı ile elde edilen total dansite değerlerinde normal dağılım göstermemekte olup bunlar Mann-Whitney U testi kullanılarak karşılaştırıldı. Buna göre, MSI/MMRd grupta, CD3 intratümöral dansitesi MSS/MMRp gruptan daha fazla bulundu (Mann-Whitney U, $p=0.001$). Stromal CD3 yoğunluğu ve total CD3 yoğunluğu açısından fark yoktu ($p=0.493$, $p=0.094$). MSI/MMRd ve MSS/MMRp vakalar CD4 yoğunluğu açısından karşılaştırıldığında, intratümöral, stromal ve total dansite değerleri arasında fark gözlenmedi ($p=0.505$, $p=0.121$, $p=0.075$). CD8 stromal dansitesi açısından gruplar arasında fark izlenmedi ($p=0.199$). Ancak total ve intratümöral CD8 yoğunluğu MSI/MMRd grupta anlamlı olarak daha fazlaydı (Mann-Whitney U, $p=0.007$, $p=0.000$). CD45'in intratümöral, stromal ve total dansiteleri açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı ($p=0.806$, $p=0.667$, $p=0.593$).

İmmün mikroçevre ilişkili CD3, CD4, CD8, CD45 dansiteleri ayrıca, persentillerine göre 4'lü (0-25.persentil:hafif, 26-50.persentil:hafif-orta, 51-75.persentil:orta-yoğun, >75.persentil:yoğun) ve 2'li gruplara (≤ 50 .persentil:az yoğun, ≥ 50 .persentil:çok yoğun) ayrılarak karşılaştırıldı. CD3 ile intratümöral hafif ve hafif-orta yoğunluktaki vakalar MSS/MMRp grupta daha fazlayken, orta-yoğun ve yoğun tümör içi CD3 dansitesi içeren vakalar MSI/MMRd grupta daha fazla izlendi (Mann-Whitney U, $p=0.000$). Aynı zamanda, MSI/MMRd grupta intratümöral CD3 dansitesi MSS/MMRp vakalara göre daha çok ortanca eşiğin üzerindeki (yoğun) grupta yer aldı (Pearson ki kare, $p=0.000$). CD3'ün stromal ve total dansiteleri, ortanca değer eşik kabul edilerek ikili gruplandırıldığında, MSI/MMRd ve MSS/MMRp vakalar arasında fark saptanmadı (Pearson ki kare, $p=0.537$, $p=0.150$). CD3 stromal ve total dansite verisi, persentillerine göre dört grupta kategorize edildiğinde de gruplar arasında fark saptanmadı (Mann-Whitney U, $p=0.410$, $p=0.082$). CD8 intratümöral, ve total dansiteleri açısından, persentillerine göre dört gruba ayrıldığında da, MSI/MMRd grupta daha yüksek

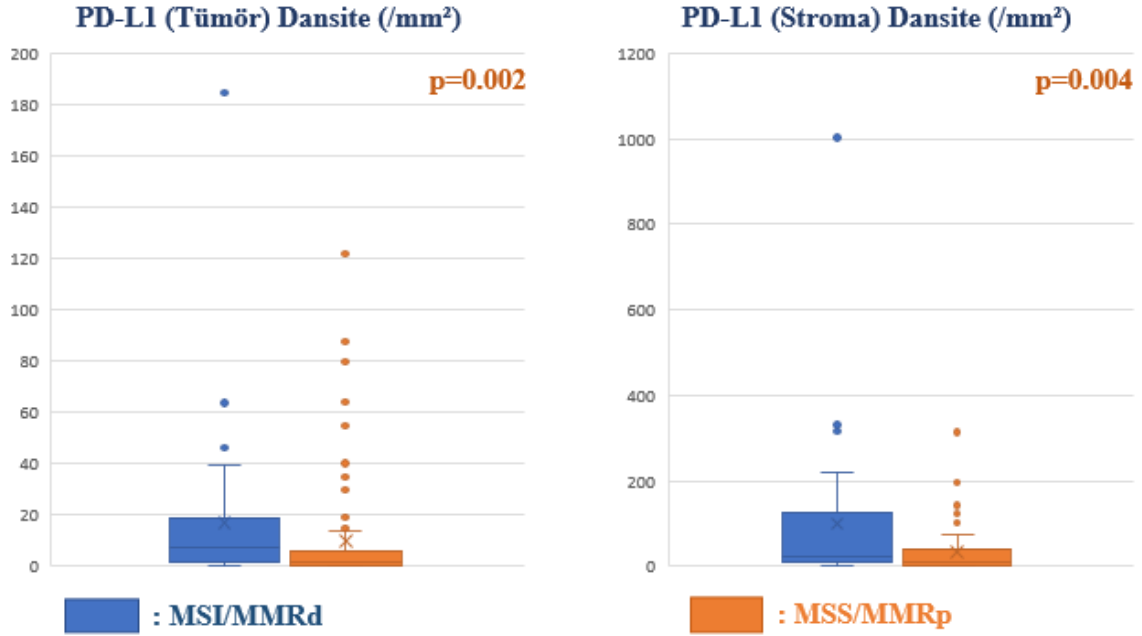
yoğunlukta saptandı (Mann-Whitney U, $p=0.000$, $p=0.003$) (Şekil.6.6.). Persentillere göre ayrıldığında stromal CD8 açısından fark izlenmedi ($p=0.170$). Ortanca değer eşik kabul edilerek ikili gruplamalar yapıldığında da benzer şekilde intratümöral ve total CD8, MSI/MMRd grupta daha çok “yüksek yoğun” sınıfında yer aldı (Pearson ki kare, $p=0.000$, $p=0.008$). Stromal CD8 için gruplarda anlamlı fark bulunmadı (Pearson ki kare, $p=0.537$).



Şekil 6.6.1. MSI/MMRd ve MSS/MMRp grup arasında tümör içi CD3, CD8 ve total CD8 yoğunluklarının karşılaştırması kutu grafiği ile gösterilmiştir

CD4 yoğunluğu persentillerine göre 4 gruba ayrıldığında, intratümöral, stromal ve total yoğunlukları açısından gruplar arasında fark saptanmadı (Mann-Whitney U, $p=0.647$, $p=0.234$, $p=0.055$). Ortanca değer eşik kabul edilerek ikili gruplama yapıldığında da vakalar arasında, intratümöral, stromal ve total CD4 yoğunluğu açısından fark saptanmadı (Pearson ki kare, $p=0.537$, $p=0.150$, $p=0.150$). CD45 yoğunluğu persentillerine göre 4 gruba ayrıldığında, intratümöral, stromal ve total yoğunlukları açısından gruplar arasında fark saptanmadı (Mann-Whitney U, $p=0.927$, $p=0.522$, $p=0.784$). Ortanca değer eşik kabul edilerek ikili gruplama yapıldığında da vakalar arasında, intratümöral, stromal ve total CD45 yoğunluğu açısından fark saptanmadı (Pearson ki kare, $p=0.837$, $p=0.304$, $p=0.837$).

PD-L1 antikorunun tümör hücrelerindeki ve stromal mononükleer inflamatuvar hücrelerdeki boyanma miktarı (Negatif, $<1\%$, $1-25\%$, $>25\%$) gruplar arasında karşılaştırıldığında, tümör hücrelerindeki boyanma yüzdesi gruplar arasında farklı değildi (Mann-Whitney U, $p=0.104$). PD-L1 pozitif tümör hücrelerinin dansitesi, MSI/MMRd grupta anlamlı olarak daha yüksek saptandı (Mann-Whitney U, $p=0.002$). Stromadaki inflamatuvar hücrelerin boyanma yüzdesi de MSI/MMRd vakalarda anlamlı olarak daha fazlaydı (Mann-Whitney U, $p=0.004$).



Şekil 6.6.2. MSI/MMRd ve MSS/MMRp grup arasında tümördeki ve stromadaki PD-L1 dansitelerinin karşılaştırması

6.7. BRAF-VE1 Durumuna Göre Tüm Vakaların Karşılaştırılması:

BRAF-VE1 immünohistokimyası negatif (0) ve pozitif (1,2,3) vakalar arasında yaş, takip süresi, parite, VKİ, hormon tedavisi, sigara kullanım öyküsü, materyallerin tespitsiz kalıp kalmaması, tespitsiz gün sayısı, total tespit süresi, tümörlerin internal servikal osa mesafeleri, tümör lokalizasyonu, lenf nodülü metastazı, lenfovasküler invazyon varlığı/yokluğu, MELF tipi myometrial invazyon varlığı/yokluğu, nekroz varlığı/yokluğu, komedonekroz varlığı/yokluğu, psammom cismi içerip içermemesi, skuamöz veya müsinöz diferansiyasyon olup olmaması, açısından fark yoktu (Mann-Whitney U, Fischer exact ve Pearson ki kare testleri, $p>0.05$). Risk stratifikasyonu uygulandığında da BRAF pozitif ve negatif gruplar arasında risk grupları açısından anlamlı fark izlenmedi (Mann-Whitney U, $p=0.785$).

BRAF-VE1 pozitif ve negatif vakalar arasında, varsa MELF invazyonun yaygınlığı, FIGO derecesi, nekroz yaygınlığı, LVI yaygınlığı, pT, pN evreleri, FIGO evreleri, tümör boyutu, myometrium invazyonu, müsinöz veya skuamöz diferansiyasyon yaygınlığı açısından herhangi bir fark izlenmedi (Mann-Whitney U, $p=0.641$, $p=0.488$, $p=0.837$, $p=0.119$, $p=0.820$, $p=0.946$, $p=0.569$, $p=0.461$, $p=0.429$, $p=0.813$, $p=0.422$).

BRAF-VE1 negatif ve pozitif vakalar karşılaştırıldığında, vakaların CD3 intratümöral, stromal, total dansiteleri sayısal verileri ve persentillerine göre dörtlü gruplamaları değerlendirildiğinde, vakalar arasında fark izlenmedi (Mann-Whitney U, $p=0.673$, $p=0.291$, $p=0.280$, $p=0.513$, $p=0.191$, $p=0.326$). CD8 intratümöral, stromal, total dansiteleri sayısal verileri ve persentillerine göre dörtlü gruplamaları değerlendirildiğinde, gruplar arasında fark izlenmedi (Mann-Whitney U, $p=0.474$, $p=0.170$, $p=0.255$, $p=0.513$, $p=0.102$, $p=0.326$). CD4 intratümöral ve total dansitesi, BRAF-VE1 pozitif vakalarda daha yoğun bulundu, stromal dansite açısından fark izlenmedi (Mann-Whitney U, **$p=0.024$** , **$p=0.033$** , $p=0.054$). CD45 stromal ve total dansitesi, BRAF-VE1 pozitif vakalarda daha yüksek saptanırken, intratümöral dansite açısından fark izlenmedi (Mann-Whitney U, **$p=0.028$** , **$p=0.028$** , $p=0.250$). CD45 stromal dansitesi, ortanca değer eşik kabul edilerek gruplandığında, BRAF-VE1 grupta anlamlı olarak daha yüksek bulundu (Fischer exact, **$p=0.048$**). BRAF-VE1 pozitif ve negatif vakalar arasında, tümör hücrelerindeki ve stromal lenfositlerdeki PD-L1 boyanma kategorileri arasında anlamlı fark saptanmadı (Mann-Whitney U, $p=0.838$, $p=0.801$). BRAF-VE1 pozitif ve negatif vakalar arasında, ER ve PR boyanmaları açısından fark saptanmadı (Mann-Whitney U, $p=0.070$, $p=0.334$). Vakalar arasında p53 immünohistokimyası açısından da fark yoktu (Fischer exact, $p=0.208$). C-erbB2 ile pür negatif sonuç (0), BRAF-VE1 negatif vakalar arasında daha sık izlendi (Mann-Whitney U, **$p=0.021$**). Ancak c-erbB2 ile 0 ve +1 özellikteki vakalar birlikte gruplandığında, fark ortadan kalktı (Mann-Whitney U, $p=0.206$).

BRAF-VE1 pozitif ve negatif vakalar nüks/metastaz durumu açısından karşılaştırıldığında, BRAF-VE1 pozitif vakalarda nüks/metastaz gelişen vaka sayısı daha fazlaydı (Fischer exact **$p=0.027$**). Nüks/metastazı olan 10 vakanın 7'si (%70) BRAF-VE1 pozitif gruptaydı. Nüks/metastaz gerçekleşip gerçekleşmeme durumu Kaplan-Meier analizi kullanılarak karşılaştırıldığında da BRAF-VE1 pozitif grupta daha çok gerçekleşmişti (Kaplan Meier, Log-rank **$p=0.038$**) (Şekil.6.7). Ölüm gerçekleşip gerçekleşmemesi açısından ise, BRAF-VE1 pozitif grupta sayıca daha fazla vakada eksitus gerçekleşmiş olsa da istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi (Kaplan Meier, Log-rank, $p=0.075$).

6.8. Diğer İmmünohistokimyasal Verilere Göre Tüm Vakaların Karşılaştırılması

Intratümöral CD3 yoğunluğu, ortanca değer eşik kabul edilerek 2 grupta kategorize edildiği zaman (düşük/ yüksek) CD3 yoğunluğunun yüksek olduğu vakalarda CD4 ve CD8'in intratümöral, stromal ve total yoğunlukları yanısıra CD45'in intratümöral yoğunluğu da yüksek saptandı (Pearson ki kare, tüm karşılaştırmalar **$p=0.000$**). CD3 intratümöral yoğunluğu yüksek

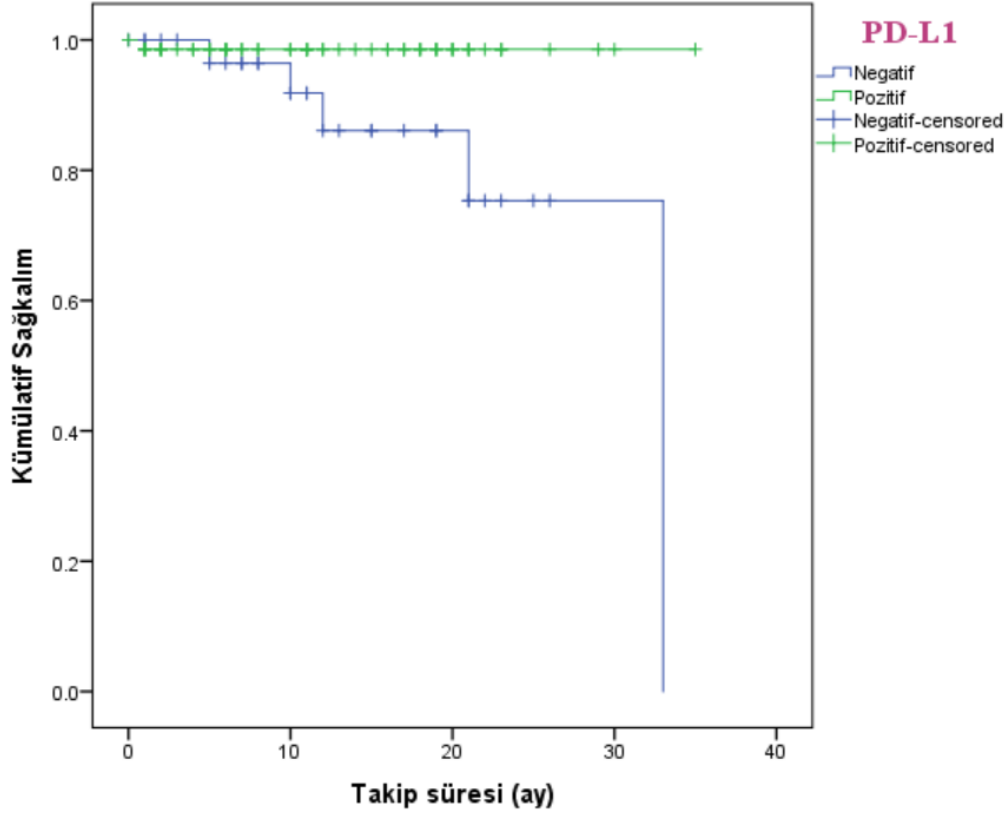
olan grupta CD45 stromal ve total yoğunlukları da aynı şekilde yüksek saptandı (Pearson ki kare, **p=0.007**, **p=0.001**). Intratümöral CD3 yoğunluğu yüksek olan grupta tümör hücrelerindeki ve stromal lenfositlerdeki PD-L1 boyanma yüzdesi de daha yüksek saptandı (Mann-Whitney U, **p=0.000**). Ayrıca, PR boyanma yüzdesi, düşük intratümöral CD3 yoğunluğu bulunan vakalarda daha yüksek saptandı (Mann-Whitney U, **p=0.009**). Diğer hiçbir parametre açısından CD3 intratümöral yoğunluğu düşük ve yüksek gruplar arasında fark saptanmadı ($p>0.05$).

CD4 intratümöral dansitesi düşük ve yüksek gruplar karşılaştırıldığında, CD4 intratümöral dansitesi yüksek olan grupta, CD8 intratümöral dansitesi de yüksek saptandı (Pearson ki kare, **p=0.021**), CD8 stromal ve total yoğunlukları açısından fark yoktu ($p=0.700$, $p=0.124$). CD4 intratümöral dansitesi yüksek grupta CD45 intratümöral ve total dansiteleri de yüksek saptandı (Pearson ki kare, **p=0.000**, **p=0.007**), CD45 stromal yoğunluğu açısından fark yoktu ($p=0.248$). Intratümöral CD4 yoğunluğu yüksek olan grupta tümör hücrelerindeki ve stromal lenfositlerdeki PD-L1 boyanma yüzdesi de daha yüksek saptandı (Mann-Whitney U, **p=0.013**, **p=0.004**). Diğer parametreler açısından CD4 intratümöral yoğunluğu düşük ve yüksek gruplar arasında fark saptanmadı ($p>0.05$).

CD8 intratümöral dansitesi düşük ve yüksek gruplar karşılaştırıldığında, CD8 intratümöral dansitesi yüksek olan grupta, tümör hücrelerindeki ve stromal lenfositlerdeki PD-L1 boyanma yüzdesi de daha yüksek saptandı (Mann-Whitney U, **p=0.004**, **p=0.000**). CD45 total ve intratümöral dansiteleri, CD8 intratümöral dansitenin yüksek olduğu grupta yüksek saptandı (Pearson ki kare, **p=0.002**), CD45'in stromal yoğunluğu açısından fark izlenmedi ($p=0.054$). Ayrıca yaygın MELF invazyon da intratümöral CD8 yoğunluğu yüksek olan grupta daha fazlaydı (Mann-Whitney U, **p=0.035**). Diğer parametreler açısından CD8 intratümöral yoğunluğu düşük ve yüksek gruplar arasında fark saptanmadı ($p>0.05$).

Tümör hücrelerinde, PD-L1 boyanmayan ve boyanan vakalar birlikte gruplandırıldığında (negatif/pozitif), PD-L1 negatif grupta sağkalım anlamlı ölçüde az saptandı (Kaplan-Meier, Log-rank, **p=0.030**) (**Şekil.6.8.**). Nüks/metastaz gerçekleşmesi açısından fark saptanmadı (Kaplan-Meier, Log-rank, $p=0.205$). Stromal lenfositlerdeki PD-L1 boyanması aynı şekilde gruplanarak sağkalım analizi uygulandığında hem eksitus hem nüks/metastaz gerçekleşmesi açısından PD-L1'in stromada pozitif veya negatif olduğu vakalar arasında fark izlenmedi (Kaplan Meier, Logrank, $p=0.939$, $p=0.730$).

Ortanca deęer eřik kabul edilerek oluřturulmuř dūřuk ve yūkek intratūmōral CD3 ve CD8 infiltrasyonu gōsteren gruplar arasında prognostik risk grupları açısından fark saptanmadı. Benzer řekilde tūmōr hūcrelerindeki ve stromal inflamatuvar hūcrelerdeki PD-L1 boyanması pūr negatifler ve dięerleri řeklinde gruplandığında da prognostik risk grupları açısından fark izlenmedi ($p>0.05$).



řekil 6.7. Tūmōr hūcrelerinde PD-L1 boyanma duruma gōre saękalım grafięi gōsterilmiřtir

Yeřil hat, PD-L1 ile %1'in altında veya ūstūnde boyanma gōsteren tūm vakaları temsil etmektedir. Mavi hat, PD-L1 ile hiç boyanmayan vakaları temsil etmektedir.

6.9. Klinik ve Histopatolojik Verilere Gōre Tūm Vakaların Karşılaştırılması

Yař grupları arasında (>65 ve ≤ 65), CD3, CD4, CD8, CD45 intratūmōral, stromal ve total dansitelerinin sūrekli veya kategorize edilmiř verileri açısından herhangi bir fark saptanmadı. Yine yař grupları arasında lokalizasyon, MELF patern varlıęı/yokluęu/ yaygınlıęı, psammom cismi varlıęı/yokluęu, FIGO dereceleri, nekroz/komedonekroz varlıęı/yokluęu, mikrosatellit instabilite durumu, lenfovaskūler invazyon varlıęı/yokluęu/yaygınlıęı, lenf nodu metastazı, FIGO evreleri, tūmōr boyutu, mūsinōz/skuamōz diferansiyasyon, sigara, adjuvan tedaviler, nūks/metastaz durumları açısından fark saptanmadı (Mann-Whitney U, Pearson ki kare, $p>0.05$). Sadece immūnhistokimyasal olarak MMRd olan grupta geriatrik popūlasyon

daha sık izlendi (Pearson ki kare, **p=0.013**). Yaş verisi gruplanmadan değerlendirildiğinde, ilerleyen yaş durumu, FIGO derecesi ($r=0.319$, $p=0.001$), lenfovasküler invazyon ($r=0.278$, $p=0.004$), myometrial invazyon derinliği ($r=0.407$, $p=0.000$) ile korelasyon gösteriyordu.

Tümör boyutu grupları arasında ($>2\text{cm}$, $\leq 2\text{cm}$), CD3, CD4, CD8, CD45 intratümöral, stromal ve total dansitelerinin sürekli veya kategorize edilmiş verileri açısından herhangi bir fark saptanmadı. Boyut grupları arasında, MELF patern yaygınlığı, psammom cismi varlığı/yokluğu, FIGO dereceleri, FIGO evreleri, tümör boyutu, müsinöz diferansiyasyon, sigara, adjuvan tedaviler, nüks/metastaz durumları açısından fark saptanmadı (Mann-Whitney U, Pearson ki kare, $p>0.05$). Alt uterin segment yerleşimli tümörler anlamlı olarak 2 cm'nin üzerinde izlendi (Pearson ki kare, **p=0.003**). 2 cm'nin üzerindeki tümörlerde LVI, MELF patern, komedonekroz ve nekroz daha sık izlendi (Pearson ki kare, **p=0.001**, **p=0.014**, **p=0.030**, **p=0.041**). Fokal LVI, LVI olmayan vakalarla birlikte gruplandığında, 2 cm üzerindeki tümörlerde yaygın lenfovasküler invazyon daha sık izlendi (Pearson ki kare, **p=0.015**). MSI/MMRd olan vakaların tümü 2 cm üzerindeydi, MSS/MMRp vakalara göre anlamlı fark bulunmaktaydı (Pearson ki kare, **p=0.001**). İmmünohistokimyasal olarak MMRd olan vakalarda da 2 cm üzerinde tümör boyutu daha sık izlendi (Pearson ki kare, **p=0.047**). Skuamöz diferansiyasyon 2 cm üzerindeki tümörlerde anlamlı olarak daha fazlaydı (Pearson ki kare, **p=0.005**). 2 cm'nin üzerindeki tümörlerde orta, orta-yüksek ve yüksek prognostik risk gruplarına daha sık rastlanırken, 2 cm altındaki tümörlerde düşük risk grubu daha sıktı (Mann-Whitney U, **p=0.020**). Tümör boyutu gruplanmadan değerlendirildiğinde, artmış tümör boyutu ile lenfovasküler invazyon ($r=0.528$, $p=0.000$), MELF ($r=0.244$, $p=0.014$), yüksek histolojik derece ($r=0.400$, $p=0.000$), ileri FIGO evresi ($r=0.443$, $p=0.000$), derin myometrial invazyon ($r=0.398$, $p=0.000$) ve yüksek prognostik risk grubu ($r=0.494$, $p=0.000$) ile korelasyon izlendi (Spearman korelasyon analizi).

Vakalar derecelerine göre düşük ve yüksek dereceli olarak gruplandıklarında, yaygın LVI, lenf nodu metastazı, ilerlemiş evre, MMRd, komedonekroz yüksek dereceli tümörlerde anlamlı olarak daha sık izlendi (Pearson ki kare, **p=0.001**, **p=0.001**, **p=0.000**, **p=0.044**, **p=0.046**). Yüksek dereceli tümörlerde adjuvan tedavi, kemoterapi, KT+RT, daha sık tercih edildi (Fischer exact, **p=0.007**, **p=0.000**, **p=0.000**). Nüks/metastaz yüksek dereceli tümörlerde daha sıktı (Fischer exact, **p=0.007**). Yüksek dereceli tümörlerde myometrial invazyon derinliği daha sık izlendi (Mann-Whitney U, **p=0.001**). Ayrıca yüksek dereceli tümörlerde PR boyanma yüzdesi anlamlı olarak daha düşüktü (Mann-Whitney U, **p=0.028**).

Vakalar, erken ve ileri evre olarak gruplandırıldığında, tümör boyutu, myometrial invazyon derinliği, LVI yaygınlığı ve MELF yaygınlığı ileri evre tümörlerde artmaktaydı (Mann-Whitney U, $p=0.001$, $p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.021$). İleri evre tümörlerde psammom, komedonekroz, nekroz, LVI, lenf nodu metastazı, MMRd, skuamöz diferansiyasyon daha sık izlendi (Ki kare, $p=0.004$, $p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.047$, $p=0.039$). İleri evre tümörler daha çok adjuvan kemoterapi ve kemoradyoterapi tedavi aldı ($p=0.003$, $p=0.000$). Radyoterapi alma durumu açısından fark yoktu ($p=0.132$). Nüks/metastaz durumu ileri evredeki tümörlerde daha sıklıkla ($p=0.004$).

LVI, 50 yaş üstü popülasyonda daha çok mevcuttu ($p=0.012$). LVI olan vakalarda MELF daha sık ve daha yaygın izlendi ($p=0.000$). Lenfovasküler invazyon ve MELF tipte myometrial invazyon arasında korelasyon mevcuttu ($r=0.523$, $p=0.000$). LVI olan vakalarda daha sık psammom, komedonekroz, nekroz, LNM, 2 cm üzeri tümör boyutu, moleküler olarak yüksek mikrosatellit instabilitesi, skuamöz diferansiyasyon izlendi ($p=0.017$, $p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.001$, $p=0.000$, $p=0.016$). LVI olan hastalar daha çok kemoterapi, radyoterapi veya kemoradyoterapi aldı ($p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.005$) ve nüks/metastaz daha sık gerçekleşti ($p=0.016$). LVI olan grupta FIGO derecesi daha yüksek, evre daha ileri, myometrium invazyonu daha derin, yaş daha ileri, tümör boyutu daha fazla ve PR yüzdesi daha düşüktü (Mann-Whitney U, $p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.001$, $p=0.000$, $p=0.012$). Alt uterin segment yerleşimli tümörlerde daha sık yaygın LVI izlendi ($p=0.000$).

65 yaş üstü vakalar, yüksek dereceli vakalar, ileri evre vakalar, lenfovasküler invazyonu olan vakalar ayrı ayrı daha kötü sağkalım gösterdiler (Kaplan-Meier, $p=0.008$, $p=0.000$, $p=0.002$, $p=0.047$). Tümör boyutu için 2 cm eşik kabul edilerek ikili grupta yapıldığında vakalar arasında sağkalım açısından fark izlenmedi ($p=0.327$).

Yaygın MELF izlenen vakalarda psammom cismi daha fazla izlendi (Fischer exact, $p=0.041$). Yaygın MELF izlenen vakalarda nekroz ve komedonekroz da daha fazla, myometrial invazyon daha derindi (Pearson ki kare, $p=0.020$, $p=0.008$, $p=0.001$). Alt uterin segment yerleşimli tümörlerde daha yaygın MELF izlendi ($p=0.030$). MSI/MMRd tümörlerde MELF tip invazyon daha yaygın izlendi ($p=0.000$). MELF tipi invazyonu yaygın olan vakalarda intratümöral CD8 dansitesi yüksek grup (>50 persentil) daha sık, stromal lenfositlerde ise PD-L1 dansitesi daha fazlaydı ($p=0.034$, $p=0.006$). MELF tipi invazyonun yaygın izlendiği vakalarda tümör çapı daha yüksek, ER ve PR yüzdesi daha düşük izlendi (Mann-Whitney U, $p=0.036$, $p=0.010$, $p=0.002$).

Psammom cismi izlenen vakalarda daha sık lenf nodu metastazı gözlemlendi (Fischer exact, $p=0.002$). Lenf nodu metastazı olan vakalarda nekroz daha sık ve yaygın gözlemlendi ($p=0.000$, $p=0.010$). Lenf nodu metastazı olan vakalarda komedonekroz sıklığı ve derin myometrial invazyon daha fazlaydı ($p=0.000$, $p=0.001$). MMRd vakalarda daha sık lenf nodu metastazı mevcuttu ($p=0.021$). Lenf nodu metastazı olan vakalarda tümör boyutu anlamlı olarak daha fazlaydı (Mann-Whitney U, $p=0.002$).

Alt uterin segmentte yerleşen tümörlerde yaygın LVI, komedonekroz, derin myometrial invazyon, skuamöz diferansiyasyon daha sık, FIGO evresi daha ileri, tümör boyutu daha fazlaydı ($p=0.000$, $p=0.002$, $p=0.005$, $p=0.038$, $p=0.006$, $p=0.000$).

Tablo 6.9. Nekroz ve komedonekrozun diğer histolojik veriler ve mikrosatellit instabilite durumu ile ilişkisi

	Nekroz var (n,%)	Nekroz yok (n,%)	P değeri	Komedonek. Var (n,%)	Komedonek. Yok (n,%)	P değeri
Derece 1, 2	52	46	0.180	46	52	0.046
Derece 3	8	2		8	2	
LVI var	41	13	0.000	39	15	0.000
LVI yok	17	35		13	39	
MELF var	37	30	0.007	36	19	0.000
MELF yok	21	18		19	35	
Myo. Inv. <%50	30	36	0.014	24	42	0.001
Myo. Inv. ≥%50	28	12		28	12	
LNM var	13	0	0.000	13	0	0.000
LNM yok	35	39		33	41	
FIGO evre I/II	41	47	0.000	36	52	0.000
FIGO evre III/IV	16	1		15	2	
Düşük risk grubu	23	32	0.000	18	37	0.000
Orta risk grubu	20	15		20	15	
Yüksek risk grubu	15	1		14	2	
MMRd	34	17	0.028	33	18	0.004
MMRp	26	31		21	36	
MSI/MMRd	26	9	0.007	26	9	0.001
MSS/MMRp	34	39		28	45	

LVI, lenfovasküler invazyon; Myo. İnv, myometrial invazyon; LNM, lenf nodu metastazı; Komedonek, komedonekroz.

6.10. Eksitus Gerçekleşen Vakalara Ait Veriler ve Sağkalım Analizleri

108 hastanın 7'si takipte kaybedilmişti. Tümör boyutu bilinen 6 vakanın hepsinde boyut 2 cm'nin üzerindeydi. Vakaların hepsinde fokal veya yaygın lenfovasküler invazyon izlenmişti. %71.4'ü (n=5) orta veya yüksek riskli prognostik grupta yer aldı. 2 vaka dışında kalan vakalarda, tümör ya alt uterin segment yerleşimliydi ya da kavitede yaygın olarak infiltrasyon göstermekteydi. Tüm vakalar içerisindeki derece 3 özellikteki 10 vakanın 3'ünde eksitus gerçekleşmişti (%30). Vakaların %57.1'i (n=4) ileri evredeki vakalardan oluşmaktaydı. Nekroz 7 vakanın 6'sında değişken miktarda mevcuttu. Myometrium invazyonu %71.4 vakada (n=5) myometriumun yarısını aşmıştı. Vakaların %85.7'sinde (n=6), vakalarda takipte rekürens veya metastaz gelişmişti. Tümör hücrelerinde PD-L1 pozitifliği sadece 1 vakada izlenmişti. Tüm vakalar p53 ile "wild" tipte boyanmıştı. Eksitus gerçekleşen vakaların özellikleri **Tablo.6.10.1**'de özetlenmiştir. Ayrıca **Tablo.6.10.2**'de sağkalım ve nüks/metastaz durumu ile klinik histopatolojik ve immünohistokimyasal veriler karşılaştırılmıştır.

Tablo 6.10.1. Eksitus gerçekleşen vakalara ait seçili klinik, histopatolojik, moleküler ve immünohistokimyasal veriler

	1.vaka	2.vaka	3.vaka	4.vaka	5.vaka	6.vaka	7.vaka
Yaş	83	70	80	80	69	57	61
Lokalizasyon	Alt uterin	Yaygın	Alt uterin	Yaygın	Alt uterin	Fundus	Fundus
FIGO derece	2	3	3	2	3	1	2
FIGO evre	3c2	3c2	3c1	1a	3c1	1a	1b
Risk grubu	Yüksek	Yüksek	Yüksek	Düşük	Yüksek	Düşük	Orta
LNM	Var	Var	Var	Yok	Var	Yok	Yok
LVI	Yaygın	Yaygın	Yaygın	Fokal	Yaygın	Fokal	Fokal
MELF	Yaygın	Yok	Fokal	Yok	Fokal	Yok	Yaygın
Nekroz	Yaygın	Yaygın	Orta	Yok	Hafif	Hafif	Orta
Psammom	Var	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	Yok
Myo.invaz.	%98	%100	%98	%21	%89	%10	%67
ER	%95	%80	%90	%70	%20	%40	%70
PR	%95	%80	%70	%90	%20	%70	%30
C-erbB2	0	0	0	0	0	0	+1
BRAF	Zayıf	Zayıf	Negatif	Negatif	Zayıf	Zayıf	Orta
MMR sistemi	MMRd/MSI	MMRd/MSI	MMRd	MSS	MSS	MSS	MSS
PD-L1 Tm	Negatif	%1-25	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
PD-L1 Str	<%1	%1-25	<%1	Negatif	<%1	Negatif	%1-25
CD3-total d.	<25p	>75p	<25p	26-50p	26-50p	<25p	51-75p
CD8-total d.	<25p	>75p	<25p	<25p	26-50p	<25p	51-75p

Tm, tümör; Myo.invaz., myometrial invazyon; Str, stroma; total d., total dansite; p, persentil; Met, metastaz.

Tablo.6.10.2. Tüm vakalarda, istatistiksel olarak sağkalım ile anlamlı ilişki gösteren parametreler

Tüm Vakalar (n=108)	Sağkalım Analizleri					Nüks/Metastaz Analizleri				
	Tahmini sağkalım süresi	Kaplan Meier P değeri	Tek değişkenli Cox p değeri	HR	Güven Aralığı	Nüks/metastaz gelişene kadar geçen tahmini süre	Kaplan Meier P değeri	Tek değişkenli Cox p değeri	HR	Güven Aralığı
LVİ	Yok/Fokal Yaygın	29.457 32.143	0.056	0.280	55.161 80036.419	28.478 32.143	0.018	0.035	5.920	1.132 – 30.965
LNМ	Yok Var	24.233 32.200	0.004	0.014	8.887 1.559 – 50.665	32.200 24.108	0.004	0.013	9.072	1.590 – 51.770
FIGO Derece	Düşük Yüksek	32.883 17.200	0.000	0.002	18.302 111.716	32.290 14.834	0.000	0.000	22.206	4.032 – 122.285
FIGO Evre	Erken İleri	32.250 25.780	0.005	0.016	8.564 1.500 – 48.905	32.250 25.845	0.005	0.015	8.620	1.509 – 49.250
Myo. İnv.	<%50 ≥%50-<%100 =%100	33.000 30.783 7.667	0.001	0.016	7.193 1.444 – 35.832	33.000 30.837 6.000	0.000	0.002	10.486	2.414 – 45.544
Nekroz	≤%60 >%60	32.542 10.375	0.000	0.001	30.801 221.809	32.213 10.250	0.000	0.001	18.828	3.110 – 113.994
PD-L1 Tümör	Negatif Pozitif	28.447 34.507	0.018	0.049	0.115 0.013 – 0.991	28.488 33.958	0.052	0.075	0.233	0.043 – 1.162

HR, hazard ratio, tehlike oranı; LNМ, lenf nodu metastazi; Myo. İnv, Myometrial İnvazyon.

Tablo.6.10.3. MSI/MMRd vakalarda, istatistiksel olarak sağkalım ile anlamlı ilişki gösteren parametreler.

MSI/MMRd		Sağkalım Analizleri					Nüks/Metastaz Analizleri				
Vakalar (n=35)		Tahmini sağkalım süresi	Kaplan Meier P değeri	Tek değişkenli Cox p değeri	HR	Güven Aralığı	Nüks/metastaz gelişene kadar geçen tahmini süre	Kaplan Meier P değeri	Tek değişkenli Cox p değeri	HR	Güven Aralığı
LVİ	Yok/Fokal Yaygın	-	0.077	0.373	68.342	0.006 – 740697.372	-	0.152	0.469	67.074	0.001 – 5857193.641
LNM	Yok Var	-	0.007	0.351	247.78	0.002 – 26686152.21	-	0.029	0.446	245.14	0 – 340665060.8
FIGO	Düşük	33.913	0.002	0.023	16.604	1.472 – 187.291	35.000	0.000	0.366	618.55	0.001 – 691083603.6
Derece	Yüksek	15.400					15.400				
FIGO	Erken	-	0.006	0.358	284.04	0.002 – 47832299.02	-	0.024	0.452	281.32	0 – 674384563.0
Evre	İleri										
Myo. İnv.	<%50 ≥%50-<%100 =%100	-	0.006	0.028	12.840	1.130 – 125.884	-	0.000	0.331	246.19	0.004 – 16388479.74
Nekroz	≤%60 >%60	33.722 9.333	0.000	0.008	25.745	2.294 – 288.915	33.722 11.667	0.019	0.069	13.416	0.814 – 221.023
PD-L1	Negatif	16.042	0.063	0.110	7.074	0.640 – 78.132	17.250	0.317	0.352	3.732	0.233 – 59.667
Tümör	Pozitif	33.692					33.692				
Tümör içi CD8 dans.	Düşük (≤50p.) Yüksek (>50p.)	19.257 33.583	0.001	0.039	0.238	0.061 – 0.928	20.800 33.583	0.059	0.141	0.349	0.086 – 1.416

HR, hazard ratio, tehlike oranı; LNM, lenf nodu metastazı; Myo. İnv, Myometrial İnvazyon. Tahmini ölüm ve nüks/metastaz süreleri boş olan hastalarda, grupların bir kısmında ölüm veya nüks/metastaz gelişmediği için hesaplanamamıştır.

Tablo.6.10.4. MSS/MMRp vakalarda, istatistiksel olarak sağkalım ile anlamlı ilişki gösteren parametreler.

MSS/MMRp		Sağkalım Analizleri				Nüks/Metastaz Analizleri					
Vakalar (n=73)		Tahmini sağkalım süresi	Kaplan Meier P değeri	Tek değişkenli Cox p değeri	HR	Güven Aralığı	Nüks/metastaz gelişene kadar geçen tahmini süre	Kaplan Meier P değeri	Tek değişkenli Cox p değeri	HR	Güven Aralığı
LVİ	Yok/Fokal	31.909	0.183	0.235	5.359	0.335 – 85.702	31.909	0.001	0.016	16.109	1.672 – 155.190
	Yaygın	20.111					16.573				
LNM	Yok	15.667	0.030	0.086	11.402	0.709 –	31.800	0.000	0.008	26.255	2.351 – 293.184
	Var	31.800				183.376	10.667				
FIGO Derece	Düşük	32.000	0.022	0.074	12.490	0.781 –	31.500	0.000	0.008	14.766	2.041 – 106.835
	Yüksek	17.000				199.795	11.375				
FIGO Evre	Erken	31.909	0.120	0.179	6.770	0.417 –	31.909	0.002	0.024	16.406	1.453 – 185.276
	İleri	25.000				109.868	20.208				
Myo. İnv.	<%50	-	0.110	0.272	90.179	0.001 –	33.000	0.000	0.004	15.494	2.416 – 99.344
	≥%50-<%100 =%100					9908480.124	25.495 6.000				
Nekroz	Yok	33.000	0.215	0.504	55.924	0 –	31.120	0.000	0.006	28.312	2.555 – 313.743
	Var	27.222				7387827.549	6.000				
PD-L1 Tümör	Negatif	-	0.150	0.467	73.004	0.001 –	29.130	0.213	0.245	3.887	0.394 – 38.339
	Pozitif					7697185.805	28.233				
Tümör içi CD8 dans.	Düşük (≤50p.)	-	0.195	0.745	0.810	0.227 – 2.886	29.590 24.889	0.524	0.701	0.833	0.329 – 2.114
	Yüksek (>50p.)										
Stromal CD4 dans.	Düşük	33.000	0.038	0.392	1.838	0.457 – 7.393	32.132	0.050	0.847	1.095	0.435 – 2.757
	(≤50p.) Yüksek (>50p.)	23.900					23.207				

HR, hazard ratio, tehlike oranı; LNM, lenf nodu metastazi; Myo. İnv, Myometrial İnvazyon. Tahmini ölüm ve nüks/metastaz süreleri boş olan hastalarda, grupların bir kısmında ölüm veya nüks/metastaz gelişmediği için hesaplanamamıştır.

7. TARTIŞMA

Endometrium karsinomu; ABD, Avrupa ve Türkiye’de en sık, dünya genelinde ise ikinci en sık jinekolojik kanserdir. Aynı zamanda, kadınlarda kansere bağlı ölüm sebepleri sıralamasında üst sıralarda yer almaktadır. İnsidans ve mortalitesinde, 1990’ların sonuna kadar gözlenen düşünün ardından, 2000’li yılların başlarında durağan bir seyir izlenmiş, ancak son dekada, insidansında belirgin, mortalitesinde ise daha hafif olmak üzere artış dikkati çekmiştir. Önümüzdeki yıllar içerisinde de, artan yaşlı popülasyon ve obezite problemi ile birlikte, insidans oranlarının yükselmeye devam edeceği ön görülmektedir. Dolayısıyla kadınlar için önemli bir sağlık problemi oluşturmaya devam etmektedir (17, 18).

Endometrium karsinomu gelişiminde çeşitli genetik, hormonal, çevresel ve yaşam tarzı ilişkili risk faktörleri tanımlanmıştır. Büyük kısmı (%50’den fazlası) anormal uterin kanama ile erken dönemde tanı alır, düşük risk grubundadır ve sadece cerrahi tedavi bu hastalarda yüksek bir sağkalım oranı sağlar. Ancak önemli bir oranda hastada agresif seyir görülür ve bu hastaların önceden belirlenmesi, cerrahiye ek olarak adjuvan tedavi yaklaşımlarının da gündeme gelmesi açısından önem arz etmektedir. Hasta özelinde belirlenen risk faktörleriyle geliştirilmiş bir risk stratifikasyon modeli ve yeni tanımlanacak prognostik belirleyicilerle, adjuvan tedavinin erken dönemde doğru hastalar için gündeme gelmesi, gerekli olmadığı durumlarda da hastaların fazla tedaviden ve yan etkilerinden korunması mümkün olabilecektir. ESGO/ESTRO/ESP rehberlerine göre, tümör histolojik tipi, histolojik derece, evre, yaygın lenfovasküler invazyon varlığı (≥ 5 damar invazyonu), myometrial invazyon gibi parametrelere göre hastalar 5 prognostik risk grubuna ayrılmakta ve buna göre de adjuvan tedavi kararı verilmektedir. Bu nedenle tümör histolojik tipi, tümör evresi, lenfovasküler invazyon yaygınlığı gibi iyi bilinen prognostik belirleyiciler ve tümör evresini belirleyen myometrial invazyon derinliği, serviks stroma tutulumu, serozal / parametrial invazyon, adneks tutulumu, vajen tutulumu, lenf nodu tutulumu, sentinel lenf nodu tutulumu gibi histopatolojik özelliklerin patoloji raporlarında mutlaka belirtilmesi gerekir (Tablo.4.3.2, Tablo.4.3.3) (101). Özellikle yüksek dereceli endometrium karsinomlarının histolojik tiplendirmesinde yaşanan problemler ve tekrarlanabilirliğin düşük olması nedeniyle, histolojik subtipin önemli olduğu bu risk gruplaması hastaların risk stratifikasyonunda ve tedavi planlamasında sınırlı kalabilmektedir. Bu parametrelerin iyi bilinen ve sık kullanılanlarının bile değerlendirme şeklinde patoloğlar arasında tam bir uzlaşma olmaması ve farklı yaklaşımlar bulunması önemli bir problem olarak ortaya çıkmaktadır. Ayrıca histolojik tipi ve prognostik risk grubu benzer olan hastalar arasında

bile, hasta özelinde prognostik farklılıklarla karşılaşılabilir. Bu nedenle yeni prognostik parametre arayışları devam etmektedir. Literatürde tümör boyutu, tümör lokalizasyonu (korpus/ fundus/ kornu/ alt uterin segment yerleşimi), mutlak myometrial invazyon derinliği, MELF paterninde myometrial invazyon varlığı ve ileri evre/rekürren üzerine çalışmalar bulunmaktadır, ancak bunların endometrium karsinomlarındaki prognostik önemine ilişkin sınırlı yada çelişkili bilgiler bulunmaktadır (164).

Kanser genom atlas projesi (TCGA) kapsamında, 2013 yılında, 373 endometrium karsinomunu içeren kapsamlı genomik analiz gerçekleştirilmiş ve farklı klinik, patolojik ve moleküler özelliklere sahip dört farklı moleküler alt grup tanımlanmıştır (83). Daha sonra, endometrium karsinomlarında TCGA moleküler alt kategorilerini temel alan moleküler sınıflandırma modelleri, klinik uygulamaya uyarlanmak üzere geliştirilmiştir (133). ESGO/ESTRO/ESP rehberinde prognostik risk gruplaması, önceden yer alan histopatolojik parametrelere moleküler sınıfların da entegre edilmesiyle güncellenmiştir (101). Moleküler sınıflama; “POLE/ultramutant (vakaların %7’si)”, “Mikrosatellit instabilitesi gösteren (MSI)/hipermutant (%28)”, “Kopya sayısı yüksek- p53 mutant/seröz benzeri (%26)”, “Spesifik bir moleküler profil içermeyen (NSMP)- Kopya sayısı düşük/ endometrioid (%39)” alt gruplarından oluşmaktadır. Moleküler sınıflama tanısal, prognostik ve terapötik açılardan endometrium karsinomlu hastaların yönetiminde önemli bir gelişme sağlamıştır. Maliyetli testler gerektirmesi nedeniyle, öneriliyor olsa da, tüm endometrium karsinomu hastalarında uygulanabilmesi mümkün olamamaktadır. Ayrıca moleküler klasifikasyonun prognostik önemi ve tedavi yaklaşımını belirlemeye yönelik faydasının prospektif yapılacak çalışmalarla da doğrulanması gerekmektedir. Bu nedenle endometrium karsinomu hastalarının prognostik risk gruplamasında, moleküler alt grubun önemi yanısıra, prognostik klinikopatolojik parametrelerin doğru bir şekilde belirlenmesi ve eklenecek yeni parametrelerle geliştirilmesi hala önemini korumaktadır. Moleküler ve klinikopatolojik parametrelerin birlikte ele alındığı bir yaklaşım daha güvenilir görünmektedir.

Çalışmamızda, “mikrosatellit instabil endometrioid karsinomalar” moleküler alt grubu için prognostik önemi olan kriterleri araştırdık. Mikrosatellit instabil ve stabil endometrioid tip endometrium kanserlerinden oluşan vaka serimizde, yukarıda bahsi geçen genel kabul görmüş prognostik parametrelerden MSI moleküler alt grubu için öne çıkanlarını belirlemeyi ve yeni histopatolojik veya immunfenotipik prognostik parametreler ortaya koymayı amaçladık. Yeni prognostik parametre arayışı ile, endometrium karsinomları için henüz bilinmeyen veya literatürde sadece birkaç çalışmaya konu olmuş ve henüz aydınlatılmamış bazı histopatolojik

parametrelerin (MELF tipte myometrial invazyon varlığı ve yaygınlığı, tümöre eşlik eden psammomatöz kalsifikasyon varlığı, komedonekroz / nekroz varlığı ve yaygınlığı gibi) veya immunohistokimyasal biyobelirteçlerin önemini araştırdık. MSI-H endometrioid karsinomlarda, MSS olanlarla karşılaştırmalı olarak tümör mikroçevresi immünprofilini, PD-L1 ifadesini inceledik ve bunların bilinen prognostik parametrelerle ve klinik gidişle ilişkisini değerlendirdik. Özellikle prognozu net olarak öngörülemez bir moleküler grup olan MSI-H endometrioid tip endometrium karsinomları için bu parametrelerden prediktif, prognostik rolü ile öne çıkanları belirlemeyi ve bu hasta grubunda sağlıklı bir prognostik risk gruplaması yaklaşımına katkı sağlamayı amaçladık.

Endometrioid tip endometrium kanserlerinde yaptığımız mevcut çalışmamızda, nekroz içeren vakalarımızda (n=60, %55.6), nekroz içermeyen vakalarımıza kıyasla, lenfovasküler invazyon varlığı ve yaygınlığı, büyük tümör boyutu (>2 cm), MELF tipi myometrial invazyon varlığı ve yaygınlığı, derin myometrial invazyon, lenf nodu metastazı, psammomatöz kalsifikasyon varlığı, ileri FIGO evresi, yüksek prognostik risk grubu, immunhistokimyasal olarak MMR protein kaybı anlamlı olarak daha sık saptandı (p<0.05). MSI/MMRd grupta, MSS/MMRp gruba göre nekroz daha sık izlendi (p=0.005). Ayrıca MSI/MMRd grupta, nekrozun hem varlığı hem yaygınlığı nüks/metastaz gelişimi ile ilişkili bulundu ve nekrozun %60'un üzerinde, yani yaygın olduğu vakalarda ise sağkalım anlamlı ölçüde azalmış bulundu (p=0.000). Yapılan tek değişkenli Cox analizinde de, nekroz yaygınlığı sağkalımı anlamlı ölçüde azaltıyordu (p=0.001, HR:3.801, Güven aralığı: 4.277 – 221.809). LVI, nekroz, FIGO histolojik derece ve myometrium invazyon derinliği parametreleri kullanılarak uygulanan çok değişkenli Cox analizinde, yüksek histolojik derece ve yaygın nekroz, sağkalım üzerinde bağımsız prognostik etki gösterdi.

Nekroz, yüksek histolojik dereceli tümörlerde daha sık görülen, tümörün hızlı büyümesi ve hipoksik kalması ile ilişkili olarak ortaya çıkan ve solid tümörlerin bir kısmında kötü prognostik parametre olarak değerlendirmeye alınan bir histolojik bulgudur (165, 166). Endometrium karsinomlarında tümör nekrozu endometrioid dışı, yüksek dereceli endometrium karsinomu subtiplerinde daha sık olarak görülen bir histolojik bulgudur ve artmış proliferasyon, ileri evre ve azalmış hastalığa özgü sağkalım ile ilişkili olduğunu belirten çalışmalar mevcuttur (167, 168, 169). Lax ve ark., 2000 yılında, endometrioid tip endometrium karsinomlarında, “%50'nin üzerinde non-skuamoid solid alan bulunması, diffüz infiltratif büyüme paterni ve tümör nekrozu” kriterlerini kullanarak, bu 3 kriterden 2'sinin varlığında tümörün yüksek dereceli olarak sınıflandırılmasını önermiş, bu şekilde yapılan ikili derecelemenin FIGO

derecelemesine göre avantajları olduğunu öne sürmüştür (90). Scholten ve ark., 800 adet evre I-III endometrioid tip endometrium karsinomu ile yaptıkları ve nekrozu da değerlendirdikleri çalışmalarında, prognostik gücü ve tekrarlanabilirliği en yüksek parametrenin solid alan yüzdesi olduğunu öne sürmüştür (167). Bredholt ve ark., nekroz gösteren endometrium karsinomlarında gen ekspresyon patern incelemesi yapmış, hipoksi, angiogenez ve inflamatuvar yanıt ile ilişkili genlerin bu tümörlerde “*upregülasyon*” gösterdiğini saptamış ve bu genlerin nekroz içeren agresif endometrium kanserlerinde potansiyel tedavi hedefi olabileceğini öne sürmüştür (170). Günümüzde de rekürren/metastatik endometrium karsinomlarının tedavisinde anti-angiogenik ajanlar tedavi seçeneği olarak gündemdedir (171).

Sonuç olarak; nekroz endometrium karsinomları için kabul görmüş ve rutin olarak değerlendirilmesi önerilen, klavuzlara girmiş bir parametre değildir. Özellikle de endometrioid dışı endometrium karsinomları özelinde yeterince gündeme alınmamış (geçmişte önemi net kanıtlanamamış, günümüzde ise popülaritesini kaybetmiş) bir histolojik parametredir. Çalışmamızda tümör nekrozunun MMRd endometrioid karsinomalara daha sık olarak eşlik eden bir bulgu olduğu tesbit edilmiş ve hem tüm endometrioid tip endometrium karsinomlarında, hem de MSI/MMRd moleküler alt grup özelinde tümör nekrozu varlığı ve yaygınlığının bağımsız bir prognostik parametre olarak öne çıktığı tesbit edilmiştir.

Tümör nekrozunun, spesifik bir paterni olan komedonekroz, tümörün oluşturduğu solid adalar veya geniş kribriform yapıların santralinde veya lümeninde yer alan nekrotik tümör hücreleri ve/veya karyorektik nukleuslarla karakterizedir. Çalışma grubumuz genelinde tüm vakaların yarısında (n=54) komedonekroz izlenmiş, tümörlerin %90’ında nekroza komedonekrozun da eşlik ettiği görülmüştür. Nekroz ile ilişkili bulunan parametrelerin büyük kısmı (LVI varlığı ve yaygınlığı, büyük tümör boyutu- >2 cm, MELF tipi invazyon varlığı ve yaygınlığı, yüksek prognostik risk grubu, derin myometrial invazyon, lenf nodu metastazı, psammom varlığı, ileri FIGO evresi, immünohistokimya ile MMR protein kaybı) komedonekroz ile de anlamlı ilişki göstermiştir (p<0.05). Komedonekroz ayrıca yüksek dereceli tümörlerde anlamlı olarak daha sık görüldü (p<0.05). Nekroz için saptanan sağkalım, nüks/metastaz durumu ilişkisi komedonekroz için görülmeydi (p>0.05). Komedonekroz varlığı açısından MSS ve MSI tümörler arasında anlamlı bir farklılık görülmeydi, ancak komedonekroz bulunmaması yüksek oranda MSS/MMRp endometrioid karsinomaya işaret etmekteydi (p=0.000). Literatüre bakıldığında endometrium karsinomlarında komedonekrozu ele alan tek bir çalışma görülmektedir (172). De Jonge ve ark., “germline” BRCA mutasyonu taşıyıcısı olan hastalarda görülen endometrium karsinomlarının klinikopatolojik özelliklerini inceledikleri

çalışmalarında, nekroz ve komedonekrozu da ele almış ve “germline” *BRCA* mutasyonu taşıyıcılarında gelişmiş olan endometrium karsinomlarının, diğerlerine kıyasla anlamlı düzeyde daha sık geografik nekroz gösterdiklerini ancak komedonekroz için böyle bir ilişki bulunmadığını raporlamıştır (172). Sonuçta, endometrioid tip endometrium karsinomlarında nekrozun spesifik bir paterni olan komedonekroz varlığının, sağkalım/nüks/metastaz ile ilişkisi gösterilemese de, kötü prognostik bir parametre olarak ele alınabileceğini ve geniş serilerde bu histolojik parametrenin de araştırmaya değer olduğunu düşünüyoruz.

Çalışmamızda ayrıca MELF tipi invazyonun endometrioid karsinomlar için önemini kendi çalışma grubumuzda araştırdık ve MELF tipi invazyon varlığı ve yaygınlığının, tümör boyutunda artış, lenfovasküler invazyon varlığı ve yaygınlığı, nekroz / komedonekroz, psammom varlığı, derin myometrial invazyon, yüksek prognostik risk grubu, ileri FIGO evresi gibi klinikopatolojik parametrelerle anlamlı ilişki gösterdiğini ve MSI-H grupta anlamlı olarak daha sık bir histolojik bulgu olduğunu saptadık. Ayrıca tümörde ER, PR ekspresyon kaybı ve CD8 pozitif intratümöral T lenfosit artışı ile korelasyon gösterdi. Ancak hasta sağkalımı ve tümör nüks/metastaz durumu ile ilişkisi görülmedi. MELF tipi myometrial invazyon, endometrial kanserlerde prognostik faktör olarak önerilmiş ve çeşitli çalışmalarda özellikle lenfovasküler invazyon ve lenf nodu metastazı ile ilişkili bulunmuştur. MELF tipi invazyonun prognostik-prediktif önemi ile ilişkili yayınlanmış tek sistematik derlemede, 588 endometrium karsinomu değerlendirilmiş ve daha büyük tümör boyutu, yüksek histolojik derece, lenf nodu metastazı, LVI ve derin myometrial invazyon gibi kötü prognostik parametrelerle ilişkisi görülürken, bizim çalışmamıza benzer şekilde sağkalım ve rekürrens ile ilişkisi gösterilememiştir (173).

Çalışma grubumuzda endometrioid tip endometrium karsinomları için önemi bilinmeyen bir histolojik parametre olarak psammomatöz kalsifikasyon açısından da değerlendirme yaptık ve vakaların %11,1’inde (n=12) psammom cismi saptadık. Psammom cismi gösteren tümörlerde, yaygın lenfovasküler invazyon, orta-yüksek/yüksek prognostik risk grubu, MELF tipi invazyon, nekroz, komedonekroz ve MSI-H durumu daha sık izlendi. Psammom izlenen vakaların hepsinde tümör boyutu 2 cm üzerindiydi. Kaplan-Meier sağkalım analizinde, psammomatöz kalsifikasyon bulunan vakalarda sağkalım azalmıştı ($p=0.026$), ancak nüks/metastaz gelişimi ile ilişkisi görülmedi. Yapılan tek değişkenli Cox analizinde ise, psammom cismi içeren tümörler ile içermeyen tümörler arasında sağkalım açısından anlamlı fark izlenmedi. Psammom cismi, papiller tiroid kanseri, menenjiom, seröz karsinoma gibi bazı tümör tiplerinde sıkça rastlanan, non-neoplastik lezyonlarda da görülebilen, konsantrik lameller

görünümündeki distrofik kalsifikasyona verilen isimdir. Psammoma cisimciklerinin oluşumundan sorumlu mekanizmalar hakkında çok az şey bilinmektedir. Morfolojik olarak, başlangıçta psammom cisimciklerinin intravasküler veya intralenfatik tümör trombuslarının nekrozu ve kalsifikasyonu ile oluştuğu kabul edildi; ancak sonrasında psammom cisimciklerinin canlı hücrelerde nidus gibi hücre içi kalsifikasyonlar ile oluştuğunu iddia eden başka görüşler ortaya çıktı (174). Mekanizması, ölen veya ölmekte olan hücre / dokunun üzerinde gelişen distrofik kalsifikasyon olarak kabul edilmekle birlikte, tümörün yayılmasını geciktiren, tümör hücrelerinin dejenerasyonu/ölümüne yol açan aktif bir biyolojik süreç olduğunu öne süren yayınlar da mevcuttur (175). Endometrioid tip endometrial kansinomlarda da nadiren psammom cismi izlenebildiği bildirilmiştir (176, 177). Parkash ve ark., endometrioid tip endometrium kansinomlarından psammom cismi içerenlerde tümör evresinin daha ileri olduğunu, LVI ve lenf nodu metastazı sıklığının arttığını belirtmiştir (176). Psammomatöz kalsifikasyon, bizim kohortumuzda tüm endometrioid kansinomlar genelinde kötü prognostik faktörler ve azalmış sağkalım ile ilişkili bulunmuştur, MSS veya MSI alt grupları içinde bakıldığında ise sağkalım veya nüks/metastaz ile ilişki göstermemiştir. Ancak çalışma grubumuzda tümöre psammomatöz kalsifikasyonun eşlik ettiği vaka sayısı az olduğundan, geniş serilerde bu parametrenin tekrar ele alınmasının daha uygun olacağını düşünmekteyiz.

Evrensel kabul görmüş kötü prognostik parametreleri çalışma kohortumuzda da değerlendirdiğimizde, literatür ile uyumlu olarak, derin myometrial invazyon, yüksek derece ve ileri evre, LVI, lenf nodu metastazı, azalmış sağkalım ve artmış nüks/metastaz oranı ile ilişkili bulundu (Kaplan Meier, $p<0.05$). Tüm bu parametrelerin sağkalım ile ilişkisi univariate Cox analizi ile de doğrulandı ($p<0.05$). Ayrıca çalışmamızın literatüre bir katkısı olarak endometrioid tip endometrium kansinomlarında nekroz ve psammomatöz kalsifikasyon gibi sağkalımla ilişkili yeni prognostik histolojik parametreler belirlendi. Multivariate Cox analizinde FIGO histolojik derece (düşük, yüksek) ve yaygın nekroz varlığı sağkalımla ilişkili bağımsız prognostik parametreler olarak öne çıktı. MSI-H/MMRd vaka grubu içinde yapılan sağkalım analizinde derin myometrial invazyon, yüksek derece, ileri evre, LVI, lenf nodu metastazı gibi bilinen prognostik parametrelerin azalmış sağkalımla ilişkili olduğu görülürken, nekroz varlığının bu grup içerisinde de azalmış sağkalım ile anlamlı ilişkisi tesbit edildi. Nekroz ile sağkalım ilişkisinin MSS/MMRp grup içerisinde görülmemesi, özellikle MSI-H/MMRd moleküler alt grubunda nekroz varlığının sağkalım, nüks/metastaz durumunu öngörmede önemli bir histolojik belirleyici olduğunu gösterdi.

Çalışma grubumuzda tümör hücrelerinin ER, PR ifadesi ile nüks/metastaz gelişimi ve sağkalım arasında ilişki görülmedi. PR ifadesi yüksek dereceli tümörlerde anlamlı olarak daha düşük izlenirken, ER açısından böyle bir fark görülmedi. Erken ve ileri evre vakalar arasında da ER, PR ifadesi açısından fark gözlenmedi. Literatürde daha ileri derece ve evredeki tümörlerde hormon reseptör kaybı izlendiğini bildiren yayınlar mevcut olmakla birlikte bizim kohortumuzda, sadece yüksek dereceli tümörlerde PR ifade kaybı mevcuttu.

Çalışmamızda ayrıca tümör mikroçevresi immünprofilini MSI-H/MMRd endometrioid karsinoma ile MSS/MMRp grup arasında karşılaştırmalı olarak inceledik ve prognostik önemini araştırdık. Bu amaçla, tümörü infiltrate eden immün hücrelerin profilini ve PD-L1 ifadesini çalışma grubumuzda yer alan tüm endometrioid karsinomlar genelinde ve sadece MSI/MMRd grup içerisinde, MSS/MMRp grup ile karşılaştırmalı olarak değerlendirdik. İntratümöral CD3, intratümöral CD8 ve total CD8 dansitesi, hem kantitatif hem de semikantitatif değerlendirmelerde, MSI/MMRd grupta, MSS/MMRp gruba göre anlamlı olarak daha fazlaydı. Tüm vaka grubunda bakıldığında, intratümöral CD3 ve CD8 pozitif lenfosit yoğunluğunun sağkalım ve nüks/metastaz oranı ile ilişkisi görülmedi. Ancak MSI/MMRd grup içerisinde intratümöral CD8 pozitif lenfosit artışının sağkalımla anlamlı ilişkisi tesbit edildi. Stromal CD8 pozitif lenfosit oranı ve CD3, CD4 pozitif lenfosit yoğunluğunun sağkalımla ilişkisi görülmedi. Literatüre bakıldığında endometrial kanserlerde geçmişte yapılan çalışmalarda, stromal CD4 ve CD8 miktarındaki artışın uzamış genel sağkalım ile ilişkili olduğu ve mikrosatellit instabil vakalarda stromal CD8 pozitif TIL miktarının anlamlı olarak daha yüksek olduğu raporlanmıştır (178). Kono-Sato ve ark., farklı evrelerdeki endometrioid tip endometrium karsinomlarında, tümör içerisinde ve stromada CD3 ve CD8 pozitif hücre miktarını kantitatif ve semikantitatif olarak değerlendirmiş, intratümöral CD3 ve CD8 pozitif lenfosit miktarının daha az olmasının, hem erken hem de ileri evre kanserlerde kötü prognoz ile korele olduğunu bildirmiştir. CD3 pozitif intratümöral TIL ve CD8 pozitif intratümöral TIL miktarlarındaki artışın, kanserin evresinden bağımsız, iyi prognostik bir parametre olarak kullanılabileceğini öne sürmüştür (179). Workel ve ark., endometrial kanserlerde intraepitelyal CD8 pozitif lenfosit artışının uzamış sağkalım ile ilişkili olduğunu, stromal CD8 pozitif TIL'lerin ise prognostik önemi olmadığını bildirmiştir (180).

Tümör mikroçevresinin değerlendirilmesi kapsamında ayrıca tümör hücrelerinde ve tümöre eşlik eden immün hücrelerde PD-L1 ifadesi araştırıldı. PD-L1 (B7-H1), aktive edilmiş T hücreleri üzerinde ifade edilen bir bağışıklık kontrol noktası reseptörü olan PD-1'in ligandlarından biridir ve vücuttaki normal hücrelerin yüzeyinde bulunur. Fizyolojik koşullar

altında, PD-1/PD-L1 etkileşimi, vücuttaki normal hücelere karşı T hücresi aracılı immün reaksiyonun inhibisyonunu sağlar ve self toleransı artırır. Malignitelere, tümör hücrelerinin de PD-L1'i ifadesi göstererek, bu fizyolojik self tolerans mekanizmasını immün sistem saldırısından kaçmak için kullandığı tesbit edilmiştir (181).

Kohortumuzda PD-L1 ifadesini değerlendirdiğimizde, stromal TIL'lerde 98 vakada (%90,7), tümör hücrelerinde ise 74 vakada (%68,5) değişen miktarlarda PD-L1 ekspresyonu izlendi. Literatürde endometrioid tip endometrium karsinomlarında PD-L1 pozitifliği %40-80 arasında bildirilmektedir, ve çalışmamız bu açıdan literatür ile uyumlu sonuç verdi (182). Yine literatür ile uyumlu olarak MSI-H/MMRd vakalarımızda, MSS/MMRp vakalara göre, hem tümörde hem stromal TIL'lerde artmış PD-L1 ifadesi görüldü (178). Çalışmamızda, PD-L1 ifadesi ile, bilinen kötü prognostik parametreler arasında ilişki izlenmedi. Histolojik parametrelerden yalnızca MELF tipi myometrial invazyon izlenen vakalarda stromal TIL PD-L1 ifadesinin, MELF tipi invazyon içermeyen vakalara göre anlamlı olarak daha fazla olduğu saptandı. Sağkalım ile ilişkisine bakıldığında, çalışmamızda tüm endometrioid karsinomalar genelinde, tümör hücrelerinde PD-L1 ifadesi gösteren vakalarda genel sağkalımın, tümörde PD-L1'in hiç boyanma göstermediği, tümüyle negatif olduğu vakalara göre daha uzun olduğu saptandı. Nüks/metastaz gelişimi ile böyle bir ilişki görülmedi. Stromal PD-L1 pozitif TIL miktarının tüm vakalar genelinde veya MSI/MMRd endometrioid karsinomalar özelinde sağkalımla veya nüks/metastaz gelişimi ile ilişkisi görülmedi. Sonuç olarak, tüm endometrioid karsinomalar için tümör hücrelerinde PD-L1 ifadesi görülmesi uzamış sağkalımla anlamlı ilişki gösterdi. MSI/MMRd endometrioid karsinomalar özelinde bakıldığında ise tümör hücrelerinde yüksek PD-L1 ekspresyonu yanısıra, intratümöral CD8+ T lenfosit artışı uzamış sağkalımla anlamlı ilişkisi olan iyi prognostik parametreler olarak öne çıktı. Literatürde PD-L1 ekspresyonunun endometrium karsinomlarındaki prognostik önemine ilişkin farklı sonuçlar bulunmaktadır. Endometrial kanserlerin prognozu üzerinde etkisi olmadığını, ancak yüksek derece ve evre ile korele olduğunu bildiren yayınlar yanısıra, tümör hücrelerindeki artmış PD-L1 ifadesinin uzamış sağkalım, TIL'de artmış ifadesinin ise azalmış sağkalım ile ilişkili olduğunu bildiren yayınlar mevcuttur (178, 183). Zhang ve ark., tümördeki PD-L1 ifadesini iyi prognostik belirteçler (yüzeyel myometrial invazyon, derece 1 histoloji, LVI yokluğu) ile ilişkili bulmuştur.

Çalışmamızda tümör hücrelerinde PD-L1 ifadesi uzamış sağkalımla ilişki göstermiştir. Bildiğimiz mekanizmadan yola çıktığımızda, tümör hücreleri yüzeyinde eksprese olan PD-L1'in immün hücrelerdeki PD-1 reseptörüne bağlanması ve adaptif immün direnci indüklemesi

ile tümör hücrelerinin immün sistemden kaçışının mümkün olması ve tümör hücrelerinde PD-L1 ekspresyon gösteren vakalarda sağkalımın azalması beklenir. Bu beklenmedik sonuç , tümör hücresi yüzeyinde eksprese olan PD-L1'in bir kısmının immün hücre yüzeyindeki PD-1'e bağlanabilmek için, tümör hücresi ile immün hücre yüzeyi arasında geçiş gösterdiği ve bu şekilde immün sistemden kaçış mekanizmasının aktive olduğu, tümör hücresi yüzeyinde kalan PD-L1'in ise immün sistemden kaçışı sağlamak adına bir etkisinin olmayabileceği şeklinde bir hipotezle açıklanabilir. Bu hipotez, doku PD-L1'i yanı sıra, eksozomal ve çözünebilir PD-L1 şeklinde dolaşan PD-L1'lerin bulunduğu verisiyle desteklenebilir (184, 185). Tümör hücrelerinin PD-L1 ekspresyonu gösterdiği vakalarda anlamlı olarak daha fazla yoğunlukta intratümöral ve stromal CD3, CD4, CD8 ve CD45 pozitif TIL izlendi. Tümör hücrelerinin PD-L1 ifadesi, CD4 ve CD8 pozitif TIL'lerin yüzeyindeki PD-1 reseptörü üzerinden inhibitör etki göstererek, anti-tümör yanıtta azalmaya, yani immün sistemden tümörün kaçışına olanak sağlamaktadır. Kohortumuzda, tümör hücrelerindeki PD-L1 ifadesi ile TIL miktarındaki artış arasında izlenen ilişkinin nedeninin, tümör hücrelerinin immün sistemden kaçış mekanizmasına ikincil gelişen kompensatuar lenfosit artışı olabileceğini düşünüyoruz.

PD-1/PD-L1 etkileşimini bloke eden, tümör hücrelerine karşı T hücre yanıtını yeniden aktive eden ICI immünoterapisi son yıllarda pek çok kanser tipinin tedavisinde giderek daha fazla gündeme gelmektedir. PD-1/PD-L1 ilişkisini hedef alan ICI inhibitör tedavisi, rekürren veya ilerlemiş, başka bir tedavi seçeneği olmayan MMRd endometrium karsinomları için de FDA tarafından onaylanmıştır (186).

Endometrioid karsinomalarda MSI/MMRd alt grubunun saptanmasının bir diğer önemi ise, immünoterapi başarısının bu grupta daha iyi olduğunun gösterilmiş olmasıdır (187). MSI/MMRd ileri evre/rekürren endometrial kanserlerde ICI inhibitör tedavisi seçeneği doğmaktadır ve bu hastalarda dostarlimab ve pembrolizumab gibi ICI inhibitörü yanıt oranları %49 ve %57 olarak bildirilmiştir. Bu oranlar MSI/MMRd grupta, MSS/MMRp vakalara göre daha yüksek bulunmuştur. Ancak, ön hazırlık aşamasında bu verilerin açıklandığı KEYNOTE çalışması tamamlandığında, tedavi yanıtında MSI durumunun etkisi bulunamamış, bunun üzerine FDA 2019 yılında, mikrosatellit instabilitesinden bağımsız, tedavi sonrası progresyon gösteren endometrium kanserleri için lenvatinib ve pembrolizumab kombine tedavisini onaylamıştır (182, 188). Mikrosatellit instabilitesi göstermeyen, düşük mutasyon yüküne sahip hatta PD-1/PD-L1 ifadesinin izlenmediği endometrioid karsinoma vakaları arasında da immünoterapiden ciddi fayda gören hastalar mevcuttur (189, 190). Güncel olarak immünoterapi yanıtını tahmin edebilmek için kullanılan en önemli belirleyicilerin tümör mutasyon yükü,

mikrosatellit instabilitesi ve PD-1/PD-L1 ekspresyonu olması, bunların mükemmel prediktif belirteçler olması anlamına maalesef gelmemektedir. Hala hangi hastanın bu tedavilerden fayda görebileceğini/görmeyeceğini ön görme başarısı düşüktür. Daha faydalı yeni prediktif belirteçlere ve çalışmalara ihtiyaç devam etmektedir (190). Çalışmamızda, immunoterapi almış hastamız bulunmamaktaydı, dolayısıyla tedavi yanıtına ilişkin değerlendirme yapabilmemiz mümkün olamadı.

Endometrial kanserlerde, MMR sistem defektinin ve mikrosatellit instabilitesinin belirlenmesi için altın standart yöntem mevcut değildir. Ucuz, kolay ve ulaşılabilir olması nedeniyle öncelikle immünohistokimyasal analiz önerilmektedir. Optimal yaklaşım, dört MMR proteinin (MLH1, PMS2, MSH2, MSH6) ifadesinin araştırılmasıdır. MMR genlerindeki mutasyon, heterodimerlerin proteolitik yıkımına yol açar. MMR proteinlerinin kaybolması da, DNA replikasyonu sırasındaki baz eşleşme hatalarına karşı savunmasız olan mikrosatellit bölgelerindeki tamir mekanizmasının bozulmasına yol açar. MMR proteinleri heterodimerler halinde işlev gördükleri ve heterodimerin bir elemanı dominant olduğu için, sekonder elemanların (MSH6, PMS2) ilk basamakta araştırılmasının, kayıp olursa MLH1 ve MSH2'nin eklenmesinin yeterli olacağı bildirilmiştir. Sadece PMS2 veya MSH6 kaybı olduğunda, heterodimer stabilitesini korumaya devam edebilir. Çünkü sekonder MMR proteinlerinin kaybının, başka proteinler tarafından kompanse edilebileceği düşünülmektedir. MSH6 kaybını MSH3, PMS2 kaybını MLH3 veya PMS1 telafi edebilir (191). İzole PMS2 kaybının, mikrosatellit instabil tümörlerin %4 kadarında izlenebildiği bildirilmiştir (192). Serimizde, izole PMS2 kaybı olan 2 vaka mevcuttu ve ikisinin de PCR sonucu MSS idi.

İki belirteçli (PMS2, MSH6) MMR immünohistokimya yaklaşımının, sadece MSH2 kaybı gösteren vakaları kaçırabildiği bildirilmiştir (193). Bizim serimizde, sadece MSH2 kaybı gösteren bir adet, sadece MLH1 kaybı gösteren bir adet vakamız bulunmaktaydı ve ikisi de PCR tabanlı fragman analizi sonucunda mikrosatellit stabil olarak raporlanmıştı. MSH6 antikoru, kolorektal kanserlerde özellikle neoadjuvan tedavi sonrası heterojen nükleer boyanabilen, subklonal kayıp bulundurabilen, değerlendirmesi sorun yaratabilen bir antikordur. Heterojen boyanması kayıp olarak değerlendirilmemelidir, ancak subklonal kaybının MMR sistem defekti ile ilişkili olabileceği de belirtilmiştir (194). MSH6 için ayrıca, neoplastik hücreler, nonneoplastik hücrelere göre daha soluk nükleer pozitifken, MSH2 mutasyonları ile ilişkisi bildirilmiştir (193). Bizim serimizde MSH6 ifade kaybı izlediğimiz beş vakanın hepsinde MSH2 kaybı da eşlik ediyordu. Ek olarak MSH2 ve MSH6 kaybına MLH1 kaybının eşlik ettiği bir vaka ve PMS2 kaybının eşlik ettiği bir vaka mevcuttu. MSH6 ve MSH2 kaybı

gösteren 4 vakanın 3'ünde PCR tabanlı mikrosatellit instabilite sonucu MSI-H olarak raporlanmıştı, bir vakada tahakkuk sorunu nedeniyle moleküler analiz yapılamamıştı. MSH6, MSH2, MLH1 kaybı izlenen vaka ise fragman analizi ile mikrosatellit stabil bulunmuştu. Vaka serimizde, MMR sistem defekti gösteren vakaların çoğunluğunu MLH1 ve PMS2 kaybı gösteren vakalar oluşturmaktaydı. MMR sistem defekti gösteren 51 vakaya uygulanan 49 adet PCR tabanlı fragman analizinin 33'ünde mikrosatellit instabilitesi saptanmıştı, fragman analizi uygulanmayan bir vakada da NGS ile *MSH6* mutasyonu izlenmişti. Vaka serimizde, moleküler ve immünohistokimyasal yöntemler arasında, MSI/MMRd durumunun saptanması açısından istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu ve aralarındaki uyum orta düzeydeydi ($p=0.000$, Kappa:0.698). Mikrosatellit instabilitesinin saptanmasında, immünohistokimyasal yöntem ile moleküler yöntem arasındaki uyumu araştıran nispeten daha eski çalışmalarda, kolorektal kanserlerde %5 oranında diskordans bildirilmiş, ardından bu uyumsuzluk daha çok immünohistokimyanın hatalı değerlendirilmesi ile ilişkili bulunmuş, doğru immünohistokimyasal değerlendirme ile %99'dan fazla uyum yakalanabileceği bildirilmiştir (195, 196).

Doğru immünohistokimyasal değerlendirme, tümör tamamen negatifse MMRd, herhangi bir miktarda boyanma varsa MMRp yaklaşımından çok daha komplikedir. İnternal kontrol (nonneoplastik bez, stromal lenfosit) mutlaka olmalı, MMRp vakalarda tümördeki boyanma, internal kontrolden daha güçlü olmalıdır. Dokunun fiksasyonu optimal olmalıdır. Herhangi bir kriterden en ufak bir sapma mevcutsa immünohistokimya anormal olarak değerlendirilmelidir. Aberan sitoplazmik, perinükleer veya "Dot-like" nükleer boyanma, fokal/hafif nükleer boyanma, heterojen/subklonal boyanmalar varsa ya analizler tekrarlanmalı ya da moleküler yöntemlere başvurulmalıdır (196, 197).

Endometrial kanserlerde immünohistokimya ve moleküler sonuçlar arasında, kolorektal kanserlerde olduğundan daha fazla uyumsuzluk bildirilmektedir ve uyumsuzluk iki yönlü de olabilir (198). Kusimanen ve ark., Lynch sendromlu hastalarda, hem endometrium kanseri hem kolon kanseri bulunan kadınlarda, endometrium kanserlerinde MSS/MSI-L moleküler sonucun kolondan daha sık olduğu göstermiş, bunun nedenlerinden birinin Lynch sendromunda, endometrial kanserlerin hormonal etkiler nedeniyle kolona göre daha hızlı gelişmesi olabileceğini öne sürmüştür çünkü endometrial kanserlerdeki allelik kaymaların boyutlarının kolona göre daha kısa, tümör başına düşen instabil belirteç sayısını da daha az saptamıştır (198). Endometrial kanserlerdeki artmış diskordansın bazı sebepleri şunlar olabilir: 1) *POLE* mut vakalarda, mikrosatellit bölgelerinde mutasyon birikimi nedeniyle, immünohistokimya ile protein ifadelerinde kayıp olmazken, moleküler analizlerde instabil görünüm olabilir. 2)

Endometrial kanserlerin %3 kadarında bildirilen subklonal MMR ifade kaybı, uyumsuzlukların bir kısmını oluşturabilir. Subklonal kayıplarda, mikrosatellit bölgelerinde minimal değişiklikler izlenmektedir. 3) İmmünohistokimyasal değerlendirme, gözlemciler arası ve gözlemci içi farklılıklar yanısıra preanalitik sorunlardan ciddi etkilenmektedir (190).

İmmünohistokimyasal değerlendirmedeki preanalitik sorunların büyük çoğunluğunu, genellikle kötü doku fiksasyonu nedeniyle, MMR sistemde aslında bir defekt olmadan, proteinin nükleer ifadesinin izlenememesi oluşturmaktadır (199). Çalışmamızda, preanalitik sorunlardan (geç fiksasyon, fiksatif tipi, fiksasyon süresi, dehidrasyon koşulları, parafinizasyon, parafin kesitlerin kuruma ve saklanma koşulları), geç fiksasyon (var/yok, varsa gün cinsinden süresi) ve toplam fiksasyon süresini değerlendirdik. İmmünohistokimya ve PCR arasında uyumsuzluk izlenen 16 vakanın 2'sinde operasyon materyallerinin laboratuara ulaşımı aynı gün içerisinde sağlanamadığı için histerektomi materyalinde kavitenin fiksasyonu optimal değildi. İkiisi de cuma günü öğleden sonra opere olmuş, haftasonu ameliyathanede beklemiş, laboratuara pazartesi günü iletilmişti. Kalan 14 vakada 1-4 gün arasında fiksasyon süresi mevcuttu (ortalama: 1.87). İHK ve PCR sonuçları uyumlu vakalar ile uyumsuz vakalar arasında, tespitsiz bekleme, tespitsiz kaldıkları süre veya toplam tespit süresi açısından fark izlenmedi ($p>0.05$). Preoperatif küretaj materyalinde daha optimal fiksasyon sağlanabileceği düşünülerek MMR immünohistokimyası küretaj materyalinde değerlendirilmiş olan 15 vakanın %80'inde, yöntemler birbirleriyle uyumluydu ancak, histerektomide immünohistokimya çalışılmış vakalar ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut değildi ($p=0.324$). Preanalitik sorun yaratabilecek diğer koşulları retrospektif değerlendirmemiz mümkün olmadığından, yöntemler arası uyumsuzluğun olası başka preanalitik sebeplerini tespit edemedik.

İmmünohistokimyasal değerlendirmede hataya yol açabilecek biyolojik sorunlar ise kabaca şöyle özetlenebilir: Herhangi bir MMR genindeki “missense” mutasyon sonucunda oluşacak protein disfonksiyonel ancak antijenik olarak intakt olursa, MMR sisteminde gerçek bir defekt olduğu halde, immünohistokimyadaki antikör, mutant proteinin antijenik kısmına bağlanacağı için nükleer boyanma kaybı izlenmeyebilir (196). Serimizde, NGS ile MMR genlerinden en az birinde mutasyon saptanan 4 vakanın 3'ü immünohistokimyasal olarak ilgili proteinde ifade kaybı göstermekteydi. NGS ile İHK arasında uyumsuzluk gösteren tek vakada, *MSH6* geninde mutasyon varken İHK ile *MSH6* ifadesi korunmuştu, ancak *MLH1* ve *PMS2* kaybı mevcuttu, PCR sonucu ise MSI-L idi.

MMR sistem defektinin prognoz üzerindeki etkisi, *POLE* ve *TP53* mutasyonlarının prognoz üzerindeki etkisi kadar belirgin değildir. Orta derecede prognostik etkisi bulunduğu belirtilmektedir ve MMR sistem defektli vakalarda prognoz tayininin güncel rehberlerdeki klinikopatolojik risk stratifikasyonu uygulanarak yapılması önerilmektedir. MSI/MMRd grupta prognozun histolojiden bağımsız olduğunu bildiren yayınlar da mevcuttur ancak; bazı çalışmalarda, erken derece ve evre kanserlerde saptanırsa kötü, ileri evre ve nonendometrioid kanserlerde saptanırsa iyi klinik sonuçla ilişkili olduğu da bildirilmektedir (101). Bir başka çalışmada ise, mikrosatellit instabil endometrial kanserleri ile stabiller arasında genel sağkalımda fark izlenmemiş ancak, azalmış sağkalım ile ilişkili parametreler ile birliktelikten söz edilmiştir (178). Literatürde de hali hazırda tartışmalı olan bu konuyu kendi vaka serimizde araştırdığımızda, MSI/MMRd tümörler ile MSS/MMRp tümörler arasında sağkalım/nüks/metastaz açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptayamadık. Serimizdeki ileri evre kanserler ve erken evre kanserler kendi içlerinde değerlendirildiğinde de MMR sistem defektinin sağkalım/nüks/metastaz üzerindeki etkisini gösteremedik. Ancak serimizde, MMR sistem defekti, büyük tümör boyutu, ileri derece, ileri evre, MELF tipte invazyon, LVI, lenf nodu metastazı gibi kötü prognostik faktörler ile anlamlı ilişki gösterdi. MSS/MMRp vakaları ise düşük prognostik risk grubu içerisinde daha sık saptadık. MMRd/MSI endometrial kanserler, ileri evre, derece ve diğer kötü prognostik faktörler ile ilişkili olduğu halde, yüksek mutasyon ve neoantijen yüküne bağlı indüklenen immünolojik yanıt ve artmış TIL sayesinde, beraberlik gösterdiği kötü prognostik parametreler kadar sağkalıma etki etmemektedir. Sağkalım ile ilişkisinin tartışmalı olmasının ve çalışmalar arasında heterojenite izlenmesinin altında yatan sebep de bu olabilir.

BRAF mutasyonları bir çok kanser tipinde tanımlanmıştır. Mikrosatellit instabilitesi gösteren kolorektal kanserlerde *BRAFV600E* mutasyonu izlendiğinde ve *MLH1* promotor metilasyonu saptandığında hastaların Lynch sendromu açısından genetik taramasına gerek olmadığı, *BRAFV600E* mutasyon analizinin metilasyon analizine yardımcı bir yöntem olarak kullanılabileceği bilinmektedir (200). Parsons ve ark., *MLH1* metilasyonu ve *BRAFV600E* mutasyonunun, MMR genlerinde mutasyon saptanmaması ile güçlü korelasyon gösterdiğini belirtmiştir (201). Ancak endometrial kanserlerde *BRAFV600E* mutasyonunu araştıran çok nadir çalışma mevcuttur (202, 203). Metcalf ve ark., tarafından yayınlanan derlemede, kolorektal kanserlerin aksine, endometrial kanserlerde *BRAFV600E* mutasyonunun çok nadir olduğunu, MMRd endometrial kanserlerde genetik olarak araştırılmasının kullanışlı olmayacağını bildirmiştir (203). Ayrıca, kolorektal ve akciğer kanserlerinde *BRAFV600E* münöz morfoloji ile ilişkilidir, *BRAFV600E* mutasyonu içeren sınırlı sayıdaki endometrial

kanserler vakası ile yapılan bir çalışmada ise vakaların yalnızca %11 kadarında müsinöz morfoloji bildirilmiştir (202). Çalışmamızda biz de BRAF-VE1 immünohistokimyası ile müsinöz diferansiyasyonun varlığı ve yaygınlığı arasında herhangi bir ilişki saptamadık. Literatürde MELF invazyon paterni izlenen vakalarda *BRAF* mutasyonu araştırılmış ancak herhangi bir ilişki izlenmemiştir (204). Çalışmamızda biz de BRAF-VE1 immünohistokimyası ile MELF invazyon varlığı ve yaygınlığı arasında herhangi bir ilişki saptamadık. Bildiğimiz kadarıyla, *BRAFV600E* mutasyonu endometrial kanserlerde şimdiye kadar az sayıda çalışmada araştırılmış olup, çalışmaların hepsinde moleküler yöntemler kullanılmıştır. İmmünohistokimyasal olarak BRAF-VE1 ifadesini endometrial kanserlerde araştıran bir çalışma mevcut değildir. BRAF mutasyonlarının prognostik önemi kanserler arasında farklılık göstermektedir. Papiller tiroid kanseri ve melanomda kötü prognoz ile ilişkiliyken, mikrosatellit instabil kolorektal kanserlerde iyi prognoz ve artmış immünoterapi yanıtı ile ilişkili olduğunu bildiren çalışmalar mevcut olmakla birlikte çoğunlukla tartışmalıdır. *BRAFV600E* mutasyonunun ve BRAF-VE1 immünohistokimyasının endometrial kanserlerdeki prognostik önemi ise bilinmemektedir. Bizim kohortumuzda ise, BRAF-VE1 boyanma durumu ile sağkalım arasında bir ilişki gösterilememiş ancak; immünohistokimyasal olarak BRAF-VE1 ile tamamen negatif olan vakalarda daha sık nüks/metastaz gelişimi izlenmiştir. Ayrıca BRAF-VE1 pozitif tümörler ile azalmış intratümöral CD8 dansitesi arasında korelasyon izlenmiştir ($r=0.277$, $p=0.018$). Kohortumuzdaki MSI/MMRd vakalar içerisinde, yine sağkalım ile BRAF ifadesi arasında ilişki bulunmazken, nüks/metastaz gelişimi ile ilişki saptanmıştır; MSI/MMRd vakalarda içerisinde de BRAF-VE1 pozitifliği gösteren vakalarda daha sık nüks/metastaz gelişimi izlenmiştir. MSS/MMRp vakalarda ise sağkalım/nüks/metastaz ile ilişkili değildir. Sadece doku mikrodizin bloğunda immünohistokimyasal olarak araştırılmış olması, moleküler yöntemler ile desteklenmemesi nedeniyle, BRAF-VE1 antikor pozitifliğinin endometrial kanserlerdeki prognostik etkisine kuşkuyla yaklaşmak, daha geniş serilerde tekrarlamak gerektiğini düşünüyoruz.

8. SONUÇ ve ÖNERİLER

Mikrosatellit stabil ve instabil endometrioid tip endometrium kanserlerinde tümör immün mikroçevresi ve prognostik önemi olan/olabilecek morfolojik verileri birlikte değerlendirdiğimiz çalışmamızda sonuç olarak;

- MSI/MMRd ve MSS/MMRp grubun mikroçevresi birbirinden farklıdır. MSI/MMRd grupta CD3 ve CD8 pozitif intraepitelyal lenfosit ve total CD8 pozitif lenfosit sayısı daha fazladır.
- MSI/MMRd grupta kötü morfolojik prognostik parametreler MSS/MMRp gruptan daha fazla izlenmiştir (büyük tümör boyutu, ileri evre, yüksek derece, MELF tipte invazyon varlığı ve yaygınlığı, LVİ varlığı ve yaygınlığı, nekroz, komedonekroz, psammom, lenf nodu metastazı).
- Tüm vakalarda, lenf nodu metastazı, histolojik derece, evre, myometrial invazyon derinliği, yaygın nekroz ve PD-L1'in tümör hücrelerindeki boyanması ile sağkalım arasında Kaplan-Meier analizleri ile ilişki gösterilmiş, tek değişkenli Cox analizlerinde bu parametrelerin anlamlılığı devam etmiştir. Tehlike oranı en yüksek prognostik faktör yaygın nekroz olmuştur, nekrozu yaygın olan vakalarda ölüm riski, yaygın nekroz olmayan vakalara göre 30.8 kat artmıştır.
- Tüm vakalarda, çok değişkenli Cox analizi sonuçlarına göre yüksek FIGO derecesi ve yaygın nekroz varlığı bağımsız kötü prognostik faktörler olarak bulunmuştur.
- MSI/MMRd grupta, kohortun genelinden farklı olarak intraepitelyal CD8 yoğunluğu yüksek olan vakalarda sağkalım uzamıştır. Tek değişkenli Cox analizinde de istatistiksel olarak anlamlı bulunan intraepitelyal CD8 yoğunluğunun 50 persentilin altında olması ölüm riskini 4.2 kat artırmıştır.

Çalışmanın güçlü yönleri:

Çalışma kapsamına sadece endometrioid tip endometrium kanserleri alındığı için, histolojik ve moleküler farklılıkların minimize edildiği düşünülmektedir.

Dijital preparatlar üzerinde kantitatif immünhistokimyasal analiz yapılması, araştırmacılar arası farklılıkların azaltılması yanısıra daha kesin hesaplamalara olanak sağlamaktadır.

Çalışmanın kısıtlayıcı yönleri:

Tümör boyutunun histerektomi materyalinde hesaplanması nedeniyle ve preoperatif küretaj materyali mevcut olan vakalarda, normalden daha düşük tümör boyutu verisi kullanılmış olma ihtimalimiz yüksektir.

Doku mikrodizin yöntemi ile, tümörlerin tamamı temsil edilememiş, özellikle tümör immün mikroçevresi için tümör heterojenitesi değerlendirilememiştir. Ayrıca korlarımızı invaziv kenar ve tümör santrali olarak ayırmamış olmamız, HE kesitlerdeki iyi tespitli, artefakt açısından fakir, nekroz içermeyen ve inflamatuvar hücreler açısından zengin alanları tercih etmemiz “seçim yanlılığı” olarak değerlendirilebilir.

Tüm vakalarda moleküler analizler eksiksiz olmadığı için, MSS/MMRp grup içerisinde MSI vaka bulunma ihtimali mevcuttur, bu ihtimalin literatürde de düşük bildirildiği için ihmal edilebilir olduğu düşünülmüştür. Ayrıca, tüm vakalarda NGS ile *POLE* mutasyonu araştırılmadığı için, MSS/MMRp grupta değerlendirdiğimiz vakalar içerisinde *POLE* mutasyonu içeren vakalar olabilir ve varsa; PD-L1, TIL ifadesi açısından, MSI/MMRd grup ile MSS/MMRp grubu karşılaştırdığımız analizlerin saflığını etkilemiş olabilir.

Doku mikrodizin bloğunda, muhtemel doku takip ve tespiti ile ilişkili dökülme yaşanan vakalarda, değerlendirilen alan milimetrekaire cinsinden korlar arasında standart olamamıştır. Standardizasyonun artırılması amacıyla hücre dansite hesaplaması yapılmıştır.

PMS2 ve MLH1 boyalı kesitlerde, antikor kalitesi veya laboratuvarımız ile ilişkili olabilecek preanalitik sıkıntılar nedeniyle optimal değerlendirmede bazı vakalarda güçlük yaşanmıştır. Bu nedenle, immünhistokimyasal MMR değerlendirmesi ve moleküler mikrosatellit instabilite analizi arasındaki uyumsuzluk, serimizde literatüre göre daha fazla izlenmiş olabilir. Ayrıca immünohistokimyasal olarak endometrial kanserlerde rutin MMR proteinlerinin ifadesinin araştırılmasına yakın geçmişte başladığımız için vaka sayısının az ve takip süresinin kısa olması çalışmanın kısıtlayıcı bir özelliğidir.

İmmünhistokimyasal olarak değerlendirilen BRAF-VE1 ekspresyonunun araştırılması için moleküler analiz yapılmamış olması, BRAF değerlendirmesi açısından eksiklik oluşturmaktadır.

Çalışmaya dahil edilen vakalarda immünoterapi uygulanmamış olması nedeniyle, tümör immün mikroçevresi ile ilişkili parametrelerin tedavi yanıtı üzerindeki etkisi gözlemlenememiştir.



9. KAYNAKLAR

1. Fluhmann CF. The developmental anatomy of the cervix uteri. *Obstet Gynecol.* 1960;15:62-9.
2. Reich O, Fritsch H. The developmental origin of cervical and vaginal epithelium and their clinical consequences: a systematic review. *J Low Genit Tract Dis.* 2014;18(4):358-60.
3. Lastra RR, McCluggage WG, Hedrick Ellenson L. Benign Diseases of the Endometrium. In: Kurman RJ, Hedrick Ellenson L, Ronnett BM, editors. *Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract.* Cham: Springer International Publishing; 2019. p. 375-437.
4. Bozdogan O, Atasoy P, Erekul S, Bozdogan N, Bayram M. Apoptosis-related proteins and steroid hormone receptors in normal, hyperplastic, and neoplastic endometrium. *Int J Gynecol Pathol.* 2002;21(4):375-82.
5. Crum CP, Hornstein MD, Nucci MR, Mutter GL. Hertig and beyond: a systematic and practical approach to the endometrial biopsy. *Adv Anat Pathol.* 2003;10(6):301-18.
6. Noyes RW, Hertig AT, Rock J. Reprint of: Dating the Endometrial Biopsy. *Fertil Steril.* 2019;112(4 Suppl1):e93-e115.
7. Murray MJ, Meyer WR, Zaino RJ, Lessey BA, Novotny DB, Ireland K, et al. A critical analysis of the accuracy, reproducibility, and clinical utility of histologic endometrial dating in fertile women. *Fertil Steril.* 2004;81(5):1333-43.
8. Quddus MR, Sung CJ, Zheng W, Lauchlan SC. p53 immunoreactivity in endometrial metaplasia with dysfunctional uterine bleeding. *Histopathology.* 1999;35(1):44-9.
9. Crosbie EJ, Kitson SJ, McAlpine JN, Mukhopadhyay A, Powell ME, Singh N. Endometrial cancer. *Lancet.* 2022;399(10333):1412-28.
10. American Cancer Society. Cancer Facts & Figures 2022. 2022 [Available from: <https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/annual-cancer-facts-and-figures/2022/2022-cancer-facts-and-figures.pdf>].
11. World Health Organization (WHO). International Agency for Research on Cancer (IARC). GLOBOCAN 2020 [Internet]. 2020. Available from: <https://gco.iarc.fr/today/home>.
12. TC Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Türkiye Kanser İstatistikleri, Türkiye Birleşik Veri Tabanı, Ankara, 2017. [Internet]. Available from: https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/istatistik/Turkiye_Kanser_Istatistikleri_2017_OZETLI.pdf.
13. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209-49.
14. Weiss NS, Szkely DR, Austin DF. Increasing incidence of endometrial cancer in the United States. *N Engl J Med.* 1976;294(23):1259-62.
15. SEER Cancer Statistics Review [Internet]. National Cancer Institute. Bethesda, MD. Based on November 2020 SEER data submission, posted to the SEER web site, April 2021. 1975-2018. Available from: https://seer.cancer.gov/csr/1975_2018/.
16. Impact of COVID on 2020 SEER Cancer Incidence Data [Internet]. November 2022. Available from: <https://seer.cancer.gov/data/covid-impact.html>.

17. Sheikh MA, Althouse AD, Freese KE, Soisson S, Edwards RP, Welburn S, et al. USA endometrial cancer projections to 2030: should we be concerned? *Future Oncol.* 2014;10(16):2561-8.
18. Rahib L, Smith BD, Aizenberg R, Rosenzweig AB, Fleshman JM, Matrisian LM. Projecting cancer incidence and deaths to 2030: the unexpected burden of thyroid, liver, and pancreas cancers in the United States. *Cancer Res.* 2014;74(11):2913-21.
19. Colombo N, Preti E, Landoni F, Carinelli S, Colombo A, Marini C, et al. Endometrial cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2011;22 Suppl 6:vi35-9.
20. Group SGOCPECW, Burke WM, Orr J, Leitao M, Salom E, Gehrig P, et al. Endometrial cancer: a review and current management strategies: part I. *Gynecol Oncol.* 2014;134(2):385-92.
21. Group SGOCPECW, Burke WM, Orr J, Leitao M, Salom E, Gehrig P, et al. Endometrial cancer: a review and current management strategies: part II. *Gynecol Oncol.* 2014;134(2):393-402.
22. Felix AS, Yang HP, Bell DW, Sherman ME. Epidemiology of Endometrial Carcinoma: Etiologic Importance of Hormonal and Metabolic Influences. *Adv Exp Med Biol.* 2017;943:3-46.
23. Gupta D. Clinical Behavior and Treatment of Endometrial Cancer. *Adv Exp Med Biol.* 2017;943:47-74.
24. Creasman W. Revised FIGO staging for carcinoma of the endometrium. *Int J Gynaecol Obstet.* 2009;105(2):109.
25. Bokhman JV. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol.* 1983;15(1):10-7.
26. Key TJ, Pike MC. The dose-effect relationship between 'unopposed' oestrogens and endometrial mitotic rate: its central role in explaining and predicting endometrial cancer risk. *Br J Cancer.* 1988;57(2):205-12.
27. Kaaks R, Lukanova A, Kurzer MS. Obesity, endogenous hormones, and endometrial cancer risk: a synthetic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002;11(12):1531-43.
28. Lukanova A, Lundin E, Micheli A, Arslan A, Ferrari P, Rinaldi S, et al. Circulating levels of sex steroid hormones and risk of endometrial cancer in postmenopausal women. *Int J Cancer.* 2004;108(3):425-32.
29. Allen NE, Key TJ, Dossus L, Rinaldi S, Cust A, Lukanova A, et al. Endogenous sex hormones and endometrial cancer risk in women in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Endocr Relat Cancer.* 2008;15(2):485-97.
30. Grady D, Gebretsadik T, Kerlikowske K, Ernster V, Petitti D. Hormone replacement therapy and endometrial cancer risk: a meta-analysis. *Obstet Gynecol.* 1995;85(2):304-13.
31. Brinton LA, Felix AS. Menopausal hormone therapy and risk of endometrial cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2014;142:83-9.
32. Braithwaite RS, Chlebowski RT, Lau J, George S, Hess R, Col NF. Meta-analysis of vascular and neoplastic events associated with tamoxifen. *J Gen Intern Med.* 2003;18(11):937-47.

33. Weiss NS, Sayvetz TA. Incidence of endometrial cancer in relation to the use of oral contraceptives. *N Engl J Med*. 1980;302(10):551-4.
34. Henderson BE, Casagrande JT, Pike MC, Mack T, Rosario I, Duke A. The epidemiology of endometrial cancer in young women. *Br J Cancer*. 1983;47(6):749-56.
35. Schlesselman JJ. Risk of endometrial cancer in relation to use of combined oral contraceptives. A practitioner's guide to meta-analysis. *Hum Reprod*. 1997;12(9):1851-63.
36. Renehan AG, Tyson M, Egger M, Heller RF, Zwahlen M. Body-mass index and incidence of cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective observational studies. *Lancet*. 2008;371(9612):569-78.
37. Dossus L, Allen N, Kaaks R, Bakken K, Lund E, Tjønneland A, et al. Reproductive risk factors and endometrial cancer: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Int J Cancer*. 2010;127(2):442-51.
38. Schonfeld SJ, Hartge P, Pfeiffer RM, Freedman DM, Greenlee RT, Linet MS, et al. An aggregated analysis of hormonal factors and endometrial cancer risk by parity. *Cancer*. 2013;119(7):1393-401.
39. Brinton LA, Sakoda LC, Lissowska J, Sherman ME, Chatterjee N, Peplonska B, et al. Reproductive risk factors for endometrial cancer among Polish women. *Br J Cancer*. 2007;96(9):1450-6.
40. Brinton LA, Berman ML, Mortel R, Twiggs LB, Barrett RJ, Wilbanks GD, et al. Reproductive, menstrual, and medical risk factors for endometrial cancer: results from a case-control study. *Am J Obstet Gynecol*. 1992;167(5):1317-25.
41. Salazar-Martinez E, Lazcano-Ponce EC, Gonzalez Lira-Lira G, Escudero-De los Rios P, Salmeron-Castro J, Hernandez-Avila M. Reproductive factors of ovarian and endometrial cancer risk in a high fertility population in Mexico. *Cancer Res*. 1999;59(15):3658-62.
42. Wernli KJ, Ray RM, Gao DL, De Roos AJ, Checkoway H, Thomas DB. Menstrual and reproductive factors in relation to risk of endometrial cancer in Chinese women. *Cancer Causes Control*. 2006;17(7):949-55.
43. Yang HP, Cook LS, Weiderpass E, Adami HO, Anderson KE, Cai H, et al. Infertility and incident endometrial cancer risk: a pooled analysis from the epidemiology of endometrial cancer consortium (E2C2). *Br J Cancer*. 2015;112(5):925-33.
44. Felix AS, Gaudet MM, La Vecchia C, Nagle CM, Shu XO, Weiderpass E, et al. Intrauterine devices and endometrial cancer risk: a pooled analysis of the Epidemiology of Endometrial Cancer Consortium. *Int J Cancer*. 2015;136(5):E410-22.
45. Castellsague X, Thompson WD, Dubrow R. Tubal sterilization and the risk of endometrial cancer. *Int J Cancer*. 1996;65(5):607-12.
46. Voskuil DW, Monninkhof EM, Elias SG, Vlems FA, van Leeuwen FE, Task Force Physical A, et al. Physical activity and endometrial cancer risk, a systematic review of current evidence. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2007;16(4):639-48.
47. Friberg E, Orsini N, Mantzoros CS, Wolk A. Diabetes mellitus and risk of endometrial cancer: a meta-analysis. *Diabetologia*. 2007;50(7):1365-74.
48. Trabert B, Wentzensen N, Felix AS, Yang HP, Sherman ME, Brinton LA. Metabolic syndrome and risk of endometrial cancer in the united states: a study in the SEER-medicare linked database. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2015;24(1):261-7.

49. Newcomb PA, Trentham-Dietz A. Breast feeding practices in relation to endometrial cancer risk, USA. *Cancer Causes Control*. 2000;11(7):663-7.
50. Sugawara Y, Kakizaki M, Nagai M, Tomata Y, Hoshi R, Watanabe I, et al. Lactation pattern and the risk for hormone-related female cancer in Japan: the Ohsaki Cohort Study. *Eur J Cancer Prev*. 2013;22(2):187-92.
51. Okamura C, Tsubono Y, Ito K, Niikura H, Takano T, Nagase S, et al. Lactation and risk of endometrial cancer in Japan: a case-control study. *Tohoku J Exp Med*. 2006;208(2):109-15.
52. Rosenblatt KA, Thomas DB. Prolonged lactation and endometrial cancer. WHO Collaborative Study of Neoplasia and Steroid Contraceptives. *Int J Epidemiol*. 1995;24(3):499-503.
53. Barry JA, Azizia MM, Hardiman PJ. Risk of endometrial, ovarian and breast cancer in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2014;20(5):748-58.
54. Zhou B, Yang L, Sun Q, Cong R, Gu H, Tang N, et al. Cigarette smoking and the risk of endometrial cancer: a meta-analysis. *Am J Med*. 2008;121(6):501-8 e3.
55. Dimou N, Omiyale W, Biessy C, Viallon V, Kaaks R, O'Mara TA, et al. Cigarette Smoking and Endometrial Cancer Risk: Observational and Mendelian Randomization Analyses. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2022;31(9):1839-48.
56. Win AK, Reece JC, Ryan S. Family history and risk of endometrial cancer: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol*. 2015;125(1):89-98.
57. Key TJ, Allen NE, Verkasalo PK, Banks E. Energy balance and cancer: the role of sex hormones. *Proc Nutr Soc*. 2001;60(1):81-9.
58. Gunter MJ, Hoover DR, Yu H, Wassertheil-Smoller S, Manson JE, Li J, et al. A prospective evaluation of insulin and insulin-like growth factor-I as risk factors for endometrial cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2008;17(4):921-9.
59. Cust AE, Allen NE, Rinaldi S, Dossus L, Friedenreich C, Olsen A, et al. Serum levels of C-peptide, IGFBP-1 and IGFBP-2 and endometrial cancer risk; results from the European prospective investigation into cancer and nutrition. *Int J Cancer*. 2007;120(12):2656-64.
60. Cust AE, Armstrong BK, Friedenreich CM, Slimani N, Bauman A. Physical activity and endometrial cancer risk: a review of the current evidence, biologic mechanisms and the quality of physical activity assessment methods. *Cancer Causes Control*. 2007;18(3):243-58.
61. Keum N, Ju W, Lee DH, Ding EL, Hsieh CC, Goodman JE, et al. Leisure-time physical activity and endometrial cancer risk: dose-response meta-analysis of epidemiological studies. *Int J Cancer*. 2014;135(3):682-94.
62. Bjorge T, Stocks T, Lukanova A, Tretli S, Selmer R, Manjer J, et al. Metabolic syndrome and endometrial carcinoma. *Am J Epidemiol*. 2010;171(8):892-902.
63. Giudice LC. Endometrium in PCOS: Implantation and predisposition to endocrine CA. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2006;20(2):235-44.
64. Key TJ, Pike MC, Brown JB, Hermon C, Allen DS, Wang DY. Cigarette smoking and urinary oestrogen excretion in premenopausal and post-menopausal women. *Br J Cancer*. 1996;74(8):1313-6.
65. Key TJ, Pike MC, Baron JA, Moore JW, Wang DY, Thomas BS, et al. Cigarette smoking and steroid hormones in women. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 1991;39(4A):529-34.

66. Yang HP, Gierach GL, Danforth KN, Sherman ME, Park Y, Wentzensen N, et al. Alcohol and endometrial cancer risk in the NIH-AARP diet and health study. *Int J Cancer*. 2011;128(12):2953-61.
67. Neill AS, Nagle CM, Protani MM, Obermair A, Spurdle AB, Webb PM, et al. Aspirin, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, paracetamol and risk of endometrial cancer: a case-control study, systematic review and meta-analysis. *Int J Cancer*. 2013;132(5):1146-55.
68. Rowlands IJ, Nagle CM, Spurdle AB, Webb PM, Australian National Endometrial Cancer Study G, Australian Ovarian Cancer Study G. Gynecological conditions and the risk of endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2011;123(3):537-41.
69. Walker VR, Korach KS. Estrogen receptor knockout mice as a model for endocrine research. *ILAR J*. 2004;45(4):455-61.
70. Thomas C, Gustafsson JA. The different roles of ER subtypes in cancer biology and therapy. *Nat Rev Cancer*. 2011;11(8):597-608.
71. Hapangama DK, Kamal AM, Bulmer JN. Estrogen receptor beta: the guardian of the endometrium. *Hum Reprod Update*. 2015;21(2):174-93.
72. Wu X, Subramaniam M, Negron V, Cicek M, Reynolds C, Lingle WL, et al. Development, characterization, and applications of a novel estrogen receptor beta monoclonal antibody. *J Cell Biochem*. 2012;113(2):711-23.
73. Diep CH, Daniel AR, Mauro LJ, Knutson TP, Lange CA. Progesterone action in breast, uterine, and ovarian cancers. *J Mol Endocrinol*. 2015;54(2):R31-53.
74. Robinson DR, Wu YM, Vats P, Su F, Lonigro RJ, Cao X, et al. Activating ESR1 mutations in hormone-resistant metastatic breast cancer. *Nat Genet*. 2013;45(12):1446-51.
75. Carlson KE, Choi I, Gee A, Katzenellenbogen BS, Katzenellenbogen JA. Altered ligand binding properties and enhanced stability of a constitutively active estrogen receptor: evidence that an open pocket conformation is required for ligand interaction. *Biochemistry*. 1997;36(48):14897-905.
76. Cerami E, Gao J, Dogrusoz U, Gross BE, Sumer SO, Aksoy BA, et al. The cBio cancer genomics portal: an open platform for exploring multidimensional cancer genomics data. *Cancer Discov*. 2012;2(5):401-4.
77. Jeon YT, Park IA, Kim YB, Kim JW, Park NH, Kang SB, et al. Steroid receptor expressions in endometrial cancer: clinical significance and epidemiological implication. *Cancer Lett*. 2006;239(2):198-204.
78. Tangen IL, Werner HM, Berg A, Halle MK, Kusonmano K, Trovik J, et al. Loss of progesterone receptor links to high proliferation and increases from primary to metastatic endometrial cancer lesions. *Eur J Cancer*. 2014;50(17):3003-10.
79. Singh M, Zaino RJ, Filiaci VJ, Leslie KK. Relationship of estrogen and progesterone receptors to clinical outcome in metastatic endometrial carcinoma: a Gynecologic Oncology Group Study. *Gynecol Oncol*. 2007;106(2):325-33.
80. Jongen V, Briet J, de Jong R, ten Hoor K, Boezen M, van der Zee A, et al. Expression of estrogen receptor-alpha and -beta and progesterone receptor-A and -B in a large cohort of patients with endometrioid endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2009;112(3):537-42.
81. Kim JJ, Kurita T, Bulun SE. Progesterone action in endometrial cancer, endometriosis, uterine fibroids, and breast cancer. *Endocr Rev*. 2013;34(1):130-62.

82. Gaudet MM, Falk RT, Stevens RD, Gunter MJ, Bain JR, Pfeiffer RM, et al. Analysis of serum metabolic profiles in women with endometrial cancer and controls in a population-based case-control study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(9):3216-23.
83. Cancer Genome Atlas Research N, Kandoth C, Schultz N, Cherniack AD, Akbani R, Liu Y, et al. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature.* 2013;497(7447):67-73.
84. Bell DW, Ellenson LH. Molecular Genetics of Endometrial Carcinoma. *Annu Rev Pathol.* 2019;14:339-67.
85. Liu Y, Patel L, Mills GB, Lu KH, Sood AK, Ding L, et al. Clinical significance of CTNNB1 mutation and Wnt pathway activation in endometrioid endometrial carcinoma. *J Natl Cancer Inst.* 2014;106(9).
86. Wang C, Mayer JA, Mazumdar A, Fertuck K, Kim H, Brown M, et al. Estrogen induces c-myc gene expression via an upstream enhancer activated by the estrogen receptor and the AP-1 transcription factor. *Mol Endocrinol.* 2011;25(9):1527-38.
87. Hurtado A, Holmes KA, Ross-Innes CS, Schmidt D, Carroll JS. FOXA1 is a key determinant of estrogen receptor function and endocrine response. *Nat Genet.* 2011;43(1):27-33.
88. Kazi AA, Molitoris KH, Koos RD. Estrogen rapidly activates the PI3K/AKT pathway and hypoxia-inducible factor 1 and induces vascular endothelial growth factor A expression in luminal epithelial cells of the rat uterus. *Biol Reprod.* 2009;81(2):378-87.
89. Hedrick Ellenson L, Ronnett BM, Soslow RA, Lastra RR, Kurman RJ. Endometrial Carcinoma. In: Kurman RJ, Hedrick Ellenson L, Ronnett BM, editors. *Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract.* Cham: Springer International Publishing; 2019. p. 473-533.
90. Lax SF, Kurman RJ, Pizer ES, Wu L, Ronnett BM. A binary architectural grading system for uterine endometrial endometrioid carcinoma has superior reproducibility compared with FIGO grading and identifies subsets of advance-stage tumors with favorable and unfavorable prognosis. *Am J Surg Pathol.* 2000;24(9):1201-8.
91. Soslow RA, Tornos C, Park KJ, Malpica A, Matias-Guiu X, Oliva E, et al. Endometrial Carcinoma Diagnosis: Use of FIGO Grading and Genomic Subcategories in Clinical Practice: Recommendations of the International Society of Gynecological Pathologists. *Int J Gynecol Pathol.* 2019;38 Suppl 1(Iss 1 Suppl 1):S64-S74.
92. Kurman RJ, Kaminski PF, Norris HJ. The behavior of endometrial hyperplasia. A long-term study of "untreated" hyperplasia in 170 patients. *Cancer.* 1985;56(2):403-12.
93. Lacey JV, Jr., Ioffe OB, Ronnett BM, Rush BB, Richesson DA, Chatterjee N, et al. Endometrial carcinoma risk among women diagnosed with endometrial hyperplasia: the 34-year experience in a large health plan. *Br J Cancer.* 2008;98(1):45-53.
94. Murray SK, Young RH, Scully RE. Unusual epithelial and stromal changes in myoinvasive endometrioid adenocarcinoma: a study of their frequency, associated diagnostic problems, and prognostic significance. *Int J Gynecol Pathol.* 2003;22(4):324-33.
95. Hall JB, Young RH, Nelson JH, Jr. The prognostic significance of adenomyosis in endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol.* 1984;17(1):32-40.
96. Mittal KR, Barwick KW. Endometrial adenocarcinoma involving adenomyosis without true myometrial invasion is characterized by frequent preceding estrogen therapy, low histologic grades, and excellent prognosis. *Gynecol Oncol.* 1993;49(2):197-201.

97. Mutter GL, Lin MC, Fitzgerald JT, Kum JB, Baak JP, Lees JA, et al. Altered PTEN expression as a diagnostic marker for the earliest endometrial precancers. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92(11):924-30.
98. Hetzel DJ, Wilson TO, Keeney GL, Roche PC, Cha SS, Podratz KC. HER-2/neu expression: a major prognostic factor in endometrial cancer. *Gynecol Oncol.* 1992;47(2):179-85.
99. Taskin M, Lallas TA, Barber HR, Shevchuk MM. bcl-2 and p53 in endometrial adenocarcinoma. *Mod Pathol.* 1997;10(7):728-34.
100. Desouki MM, Li Z, Hameed O, Fadare O. Intraoperative Pathologic Consultation on Hysterectomy Specimens for Endometrial Cancer: An Assessment of the Accuracy of Frozen Sections, "Gross-Only" Evaluations, and Obtaining Random Sections of a Grossly "Normal" Endometrium. *Am J Clin Pathol.* 2017;148(4):345-53.
101. Concin N, Matias-Guiu X, Vergote I, Cibula D, Mirza MR, Marnitz S, et al. ESGO/ESTRO/ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Cancer.* 2021;31(1):12-39.
102. Sherman ME, Bur ME, Kurman RJ. p53 in endometrial cancer and its putative precursors: evidence for diverse pathways of tumorigenesis. *Hum Pathol.* 1995;26(11):1268-74.
103. Tashiro H, Isacson C, Levine R, Kurman RJ, Cho KR, Hedrick L. p53 gene mutations are common in uterine serous carcinoma and occur early in their pathogenesis. *Am J Pathol.* 1997;150(1):177-85.
104. Buza N, Roque DM, Santin AD. HER2/neu in Endometrial Cancer: A Promising Therapeutic Target With Diagnostic Challenges. *Arch Pathol Lab Med.* 2014;138(3):343-50.
105. Tymon-Rosario J, Siegel ER, Bellone S, Harold J, Adjei N, Zeybek B, et al. Trastuzumab tolerability in the treatment of advanced (stage III-IV) or recurrent uterine serous carcinomas that overexpress HER2/neu. *Gynecol Oncol.* 2021;163(1):93-9.
106. Lax SF, Pizer ES, Ronnett BM, Kurman RJ. Clear cell carcinoma of the endometrium is characterized by a distinctive profile of p53, Ki-67, estrogen, and progesterone receptor expression. *Hum Pathol.* 1998;29(6):551-8.
107. Fadare O, Zhao C, Khabele D, Parkash V, Quick CM, Gwin K, et al. Comparative analysis of Napsin A, alpha-methylacyl-coenzyme A racemase (AMACR, P504S), and hepatocyte nuclear factor 1 beta as diagnostic markers of ovarian clear cell carcinoma: an immunohistochemical study of 279 ovarian tumours. *Pathology.* 2015;47(2):105-11.
108. DeLair DF, Burke KA, Selenica P, Lim RS, Scott SN, Middha S, et al. The genetic landscape of endometrial clear cell carcinomas. *J Pathol.* 2017;243(2):230-41.
109. Travaglino A, Raffone A, Mascolo M, Guida M, Insabato L, Zannoni GF, et al. TCGA Molecular Subgroups in Endometrial Undifferentiated/Dedifferentiated Carcinoma. *Pathol Oncol Res.* 2020;26(3):1411-6.
110. Rabban JT, Gilks CB, Malpica A, Matias-Guiu X, Mittal K, Mutter GL, et al. Issues in the Differential Diagnosis of Uterine Low-grade Endometrioid Carcinoma, Including Mixed Endometrial Carcinomas: Recommendations from the International Society of Gynecological Pathologists. *Int J Gynecol Pathol.* 2019;38 Suppl 1(Iss 1 Suppl 1):S25-S39.
111. McCluggage WG. Malignant biphasic uterine tumours: carcinosarcomas or metaplastic carcinomas? *J Clin Pathol.* 2002;55(5):321-5.

112. McConechy MK, Hoang LN, Chui MH, Senz J, Yang W, Rozenberg N, et al. In-depth molecular profiling of the biphasic components of uterine carcinosarcomas. *J Pathol Clin Res*. 2015;1(3):173-85.
113. Zhao S, Bellone S, Lopez S, Thakral D, Schwab C, English DP, et al. Mutational landscape of uterine and ovarian carcinosarcomas implicates histone genes in epithelial-mesenchymal transition. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016;113(43):12238-43.
114. Gilks CB, Oliva E, Soslow RA. Poor interobserver reproducibility in the diagnosis of high-grade endometrial carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2013;37(6):874-81.
115. van den Heerik A, Horeweg N, de Boer SM, Bosse T, Creutzberg CL. Adjuvant therapy for endometrial cancer in the era of molecular classification: radiotherapy, chemoradiation and novel targets for therapy. *Int J Gynecol Cancer*. 2021;31(4):594-604.
116. McGunigal M, Liu J, Kalir T, Chadha M, Gupta V. Survival Differences Among Uterine Papillary Serous, Clear Cell and Grade 3 Endometrioid Adenocarcinoma Endometrial Cancers: A National Cancer Database Analysis. *Int J Gynecol Cancer*. 2017;27(1):85-92.
117. Soslow RA, Bissonnette JP, Wilton A, Ferguson SE, Alektiar KM, Duska LR, et al. Clinicopathologic analysis of 187 high-grade endometrial carcinomas of different histologic subtypes: similar outcomes belie distinctive biologic differences. *Am J Surg Pathol*. 2007;31(7):979-87.
118. Arciuolo D, Travaglino A, Raffone A, Raimondo D, Santoro A, Russo D, et al. TCGA Molecular Prognostic Groups of Endometrial Carcinoma: Current Knowledge and Future Perspectives. *Int J Mol Sci*. 2022;23(19).
119. Billingsley CC, Cohn DE, Mutch DG, Stephens JA, Suarez AA, Goodfellow PJ. Polymerase varepsilon (POLE) mutations in endometrial cancer: clinical outcomes and implications for Lynch syndrome testing. *Cancer*. 2015;121(3):386-94.
120. Leon-Castillo A, Britton H, McConechy MK, McAlpine JN, Nout R, Kommoss S, et al. Interpretation of somatic POLE mutations in endometrial carcinoma. *J Pathol*. 2020;250(3):323-35.
121. Giannakis M, Hodis E, Jasmine Mu X, Yamauchi M, Rosenbluh J, Cibulskis K, et al. RNF43 is frequently mutated in colorectal and endometrial cancers. *Nat Genet*. 2014;46(12):1264-6.
122. Zigelboim I, Mutch DG, Knapp A, Ding L, Xie M, Cohn DE, et al. High frequency strand slippage mutations in CTCF in MSI-positive endometrial cancers. *Hum Mutat*. 2014;35(1):63-5.
123. Novetsky AP, Zigelboim I, Thompson DM, Jr., Powell MA, Mutch DG, Goodfellow PJ. Frequent mutations in the RPL22 gene and its clinical and functional implications. *Gynecol Oncol*. 2013;128(3):470-4.
124. Zigelboim I, Schmidt AP, Gao F, Thaker PH, Powell MA, Rader JS, et al. ATR mutation in endometrioid endometrial cancer is associated with poor clinical outcomes. *J Clin Oncol*. 2009;27(19):3091-6.
125. Kim TM, Laird PW, Park PJ. The landscape of microsatellite instability in colorectal and endometrial cancer genomes. *Cell*. 2013;155(4):858-68.
126. Olave MC, Graham RP. Mismatch repair deficiency: The what, how and why it is important. *Genes Chromosomes Cancer*. 2022;61(6):314-21.
127. Jiricny J. The multifaceted mismatch-repair system. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2006;7(5):335-46.

128. Santoro A, Angelico G, Travaglino A, Inzani F, Arciuolo D, Valente M, et al. New Pathological and Clinical Insights in Endometrial Cancer in View of the Updated ESGO/ESTRO/ESP Guidelines. *Cancers (Basel)*. 2021;13(11).
129. Pasanen A, Loukovaara M, Butzow R. Clinicopathological significance of deficient DNA mismatch repair and MLH1 promoter methylation in endometrioid endometrial carcinoma. *Mod Pathol*. 2020;33(7):1443-52.
130. Moroney MR, Davies KD, Wilberger AC, Sheeder J, Post MD, Berning AA, et al. Molecular markers in recurrent stage I, grade 1 endometrioid endometrial cancers. *Gynecol Oncol*. 2019;153(3):517-20.
131. Segura SE, Pedra Nobre S, Hussein YR, Abu-Rustum NR, Weigelt B, Soslow RA, et al. DNA Mismatch Repair-deficient Endometrial Carcinosarcomas Portend Distinct Clinical, Morphologic, and Molecular Features Compared With Traditional Carcinosarcomas. *Am J Surg Pathol*. 2020;44(11):1573-9.
132. Travaglino A, Raffone A, Santoro A, Raimondo D, Angelico G, Valente M, et al. Clear cell endometrial carcinomas with mismatch repair deficiency have a favorable prognosis: A systematic review and meta-analysis. *Gynecol Oncol*. 2021;162(3):804-8.
133. Stelloo E, Nout RA, Osse EM, Jurgensliemk-Schulz IJ, Jobsen JJ, Lutgens LC, et al. Improved Risk Assessment by Integrating Molecular and Clinicopathological Factors in Early-stage Endometrial Cancer-Combined Analysis of the PORTEC Cohorts. *Clin Cancer Res*. 2016;22(16):4215-24.
134. Reijnen C, Kusters-Vandeveld HVN, Prinsen CF, Massuger L, Snijders M, Kommoss S, et al. Mismatch repair deficiency as a predictive marker for response to adjuvant radiotherapy in endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2019;154(1):124-30.
135. Swift BE, Gien LT. Incorporating Molecular Diagnostics into Treatment Paradigms for Endometrial Cancer. *Curr Treat Options Oncol*. 2022;23(8):1121-34.
136. Le DT, Durham JN, Smith KN, Wang H, Bartlett BR, Aulakh LK, et al. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science*. 2017;357(6349):409-13.
137. Le DT, Uram JN, Wang H, Bartlett BR, Kemberling H, Eyring AD, et al. PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency. *N Engl J Med*. 2015;372(26):2509-20.
138. Ott PA, Bang YJ, Berton-Rigaud D, Elez E, Pishvaian MJ, Rugo HS, et al. Safety and Antitumor Activity of Pembrolizumab in Advanced Programmed Death Ligand 1-Positive Endometrial Cancer: Results From the KEYNOTE-028 Study. *J Clin Oncol*. 2017;35(22):2535-41.
139. Mehnert JM, Panda A, Zhong H, Hirshfield K, Damare S, Lane K, et al. Immune activation and response to pembrolizumab in POLE-mutant endometrial cancer. *J Clin Invest*. 2016;126(6):2334-40.
140. Thiel KW, Devor EJ, Filiaci VL, Mutch D, Moxley K, Alvarez Secord A, et al. TP53 Sequencing and p53 Immunohistochemistry Predict Outcomes When Bevacizumab Is Added to Frontline Chemotherapy in Endometrial Cancer: An NRG Oncology/Gynecologic Oncology Group Study. *J Clin Oncol*. 2022;40(28):3289-300.
141. Moller P, Seppala T, Bernstein I, Holinski-Feder E, Sala P, Evans DG, et al. Cancer incidence and survival in Lynch syndrome patients receiving colonoscopic and gynaecological surveillance: first report from the prospective Lynch syndrome database. *Gut*. 2017;66(3):464-72.

142. Barrow E, Hill J, Evans DG. Cancer risk in Lynch Syndrome. *Fam Cancer*. 2013;12(2):229-40.
143. Bonadona V, Bonaiti B, Olschwang S, Grandjouan S, Huiart L, Longy M, et al. Cancer risks associated with germline mutations in MLH1, MSH2, and MSH6 genes in Lynch syndrome. *JAMA*. 2011;305(22):2304-10.
144. Crosbie EJ, Ryan NAJ, Arends MJ, Bosse T, Burn J, Cornes JM, et al. The Manchester International Consensus Group recommendations for the management of gynecological cancers in Lynch syndrome. *Genet Med*. 2019;21(10):2390-400.
145. Moller P, Seppala T, Bernstein I, Holinski-Feder E, Sala P, Evans DG, et al. Incidence of and survival after subsequent cancers in carriers of pathogenic MMR variants with previous cancer: a report from the prospective Lynch syndrome database. *Gut*. 2017;66(9):1657-64.
146. Latham A, Srinivasan P, Kemel Y, Shia J, Bandlamudi C, Mandelker D, et al. Microsatellite Instability Is Associated With the Presence of Lynch Syndrome Pan-Cancer. *J Clin Oncol*. 2019;37(4):286-95.
147. Pascual-Garcia M, Bertolo C, Nieto JC, Serrat N, Espinosa I, D'Angelo E, et al. CD8 down-regulation on cytotoxic T lymphocytes of patients with endometrioid endometrial carcinomas. *Hum Pathol*. 2016;56:180-8.
148. Kondratiev S, Sabo E, Yakirevich E, Lavie O, Resnick MB. Intratumoral CD8+ T lymphocytes as a prognostic factor of survival in endometrial carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2004;10(13):4450-6.
149. Chang WC, Li CH, Huang SC, Chang DY, Chou LY, Sheu BC. Clinical significance of regulatory T cells and CD8+ effector populations in patients with human endometrial carcinoma. *Cancer*. 2010;116(24):5777-88.
150. Dun EC, Hanley K, Wieser F, Bohman S, Yu J, Taylor RN. Infiltration of tumor-associated macrophages is increased in the epithelial and stromal compartments of endometrial carcinomas. *Int J Gynecol Pathol*. 2013;32(6):576-84.
151. Soeda S, Nakamura N, Ozeki T, Nishiyama H, Hojo H, Yamada H, et al. Tumor-associated macrophages correlate with vascular space invasion and myometrial invasion in endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol*. 2008;109(1):122-8.
152. Ning C, Xie B, Zhang L, Li C, Shan W, Yang B, et al. Infiltrating Macrophages Induce ERalpha Expression through an IL17A-mediated Epigenetic Mechanism to Sensitize Endometrial Cancer Cells to Estrogen. *Cancer Res*. 2016;76(6):1354-66.
153. Garzetti GG, Ciavattini A, Muzzioli M, Goteri G, Fabris N, Valensise H, et al. The relationship of clinical-pathologic status and adjuvant treatment with natural killer cell activity in stage I and II endometrial carcinoma. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1994;73(8):652-7.
154. Garzetti GG, Ciavattini A, Goteri G, Tranquilli AL, Muzzioli M, Fabris N, et al. Natural killer cell activity in stage I endometrial carcinoma: correlation with nuclear grading, myometrial invasion, and immunoreactivity of proliferating cell nuclear antigen. *Gynecol Oncol*. 1994;55(1):111-4.
155. Chen C, Zhu YB, Qu QX, Ge Y, Huang JA, Wang Y, et al. CD40-activated apoptotic tumor cell-pulsed dendritic cell could potentially elicit antitumor immune response: involvement of up-regulation of B7-H3 expression. *J Immunother*. 2009;32(1):29-35.

156. Vanderstraeten A, Luyten C, Verbist G, Tuyaerts S, Amant F. Mapping the immunosuppressive environment in uterine tumors: implications for immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother.* 2014;63(6):545-57.
157. Mo Z, Liu J, Zhang Q, Chen Z, Mei J, Liu L, et al. Expression of PD-1, PD-L1 and PD-L2 is associated with differentiation status and histological type of endometrial cancer. *Oncol Lett.* 2016;12(2):944-50.
158. Kim J, Kim S, Lee HS, Yang W, Cho H, Chay DB, et al. Prognostic implication of programmed cell death 1 protein and its ligand expressions in endometrial cancer. *Gynecol Oncol.* 2018;149(2):381-7.
159. Zhan L, Liu X, Zhang J, Cao Y, Wei B. Immune disorder in endometrial cancer: Immunosuppressive microenvironment, mechanisms of immune evasion and immunotherapy. *Oncol Lett.* 2020;20(3):2075-90.
160. Lugli A, Kirsch R, Ajioka Y, Bosman F, Cathomas G, Dawson H, et al. Recommendations for reporting tumor budding in colorectal cancer based on the International Tumor Budding Consensus Conference (ITBCC) 2016. *Mod Pathol.* 2017;30(9):1299-311.
161. Giannini R, Zucchelli G, Giordano M, Ugolini C, Moretto R, Ambryszewska K, et al. Immune Profiling of Deficient Mismatch Repair Colorectal Cancer Tumor Microenvironment Reveals Different Levels of Immune System Activation. *J Mol Diagn.* 2020;22(5):685-98.
162. Ahn S, Woo JW, Lee K, Park SY. HER2 status in breast cancer: changes in guidelines and complicating factors for interpretation. *J Pathol Transl Med.* 2020;54(1):34-44.
163. Song Y, Gu Y, Hu X, Wang M, He Q, Li Y. Endometrial Tumors with MSI-H and dMMR Share a Similar Tumor Immune Microenvironment. *Onco Targets Ther.* 2021;14:4485-97.
164. Singh N, Hirschowitz L, Zaino R, Alvarado-Cabrero I, Duggan MA, Ali-Fehmi R, et al. Pathologic Prognostic Factors in Endometrial Carcinoma (Other Than Tumor Type and Grade). *Int J Gynecol Pathol.* 2019;38 Suppl 1(Iss 1 Suppl 1):S93-S113.
165. Ito K, Seguchi K, Shimazaki H, Takahashi E, Tasaki S, Kuroda K, et al. Tumor necrosis is a strong predictor for recurrence in patients with pathological T1a renal cell carcinoma. *Oncol Lett.* 2015;9(1):125-30.
166. Gkogkou C, Frangia K, Saif MW, Trigidou R, Syrigos K. Necrosis and apoptotic index as prognostic factors in non-small cell lung carcinoma: a review. *Springerplus.* 2014;3:120.
167. Scholten AN, Smit VT, Beerman H, van Putten WL, Creutzberg CL. Prognostic significance and interobserver variability of histologic grading systems for endometrial carcinoma. *Cancer.* 2004;100(4):764-72.
168. Seeber LM, Horree N, van der Groep P, van der Wall E, Verheijen RH, van Diest PJ. Necrosis related HIF-1alpha expression predicts prognosis in patients with endometrioid endometrial carcinoma. *BMC Cancer.* 2010;10:307.
169. Stefansson IM, Salvesen HB, Immervoll H, Akslen LA. Prognostic impact of histological grade and vascular invasion compared with tumour cell proliferation in endometrial carcinoma of endometrioid type. *Histopathology.* 2004;44(5):472-9.
170. Bredholt G, Mannelqvist M, Stefansson IM, Birkeland E, Bo TH, Oyan AM, et al. Tumor necrosis is an important hallmark of aggressive endometrial cancer and associates with hypoxia, angiogenesis and inflammation responses. *Oncotarget.* 2015;6(37):39676-91.

171. Roskar L, Roskar I, Rizner TL, Smrkolj S. Diagnostic and Therapeutic Values of Angiogenic Factors in Endometrial Cancer. *Biomolecules*. 2021;12(1).
172. de Jonge MM, Ritterhouse LL, de Kroon CD, Vreeswijk MPG, Segal JP, Puranik R, et al. Germline BRCA-Associated Endometrial Carcinoma Is a Distinct Clinicopathologic Entity. *Clin Cancer Res*. 2019;25(24):7517-26.
173. Prodromidou A, Vorgias G, Bakogiannis K, Kalinoglou N, Iavazzo C. MELF pattern of myometrial invasion and role in possible endometrial cancer diagnostic pathway: A systematic review of the literature. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2018;230:147-52.
174. Johannessen JV, Sobrinho-Simoes M. The origin and significance of thyroid psammoma bodies. *Lab Invest*. 1980;43(3):287-96.
175. Das DK. Psammoma body: a product of dystrophic calcification or of a biologically active process that aims at limiting the growth and spread of tumor? *Diagn Cytopathol*. 2009;37(7):534-41.
176. Parkash V, Carcangiu ML. Endometrioid endometrial adenocarcinoma with psammoma bodies. *Am J Surg Pathol*. 1997;21(4):399-406.
177. Sun T, Pitman MB, Torous VF. Determining the significance of psammoma bodies in pelvic washings: A 10-year retrospective review. *Cancer Cytopathol*. 2021;129(1):83-9.
178. Zhang S, Minaguchi T, Xu C, Qi N, Itagaki H, Shikama A, et al. PD-L1 and CD4 are independent prognostic factors for overall survival in endometrial carcinomas. *BMC Cancer*. 2020;20(1):127.
179. 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.
180. Workel HH, Komdeur FL, Wouters MC, Plat A, Klip HG, Eggink FA, et al. CD103 defines intraepithelial CD8+ PD1+ tumour-infiltrating lymphocytes of prognostic significance in endometrial adenocarcinoma. *Eur J Cancer*. 2016;60:1-11.
181. Davarpanah NN, Yuno A, Trepel JB, Apolo AB. Immunotherapy: a new treatment paradigm in bladder cancer. *Curr Opin Oncol*. 2017;29(3):184-95.
182. Green AK, Feinberg J, Makker V. A Review of Immune Checkpoint Blockade Therapy in Endometrial Cancer. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2020;40:1-7.
183. Lu L, Li Y, Luo R, Xu J, Feng J, Wang M. Prognostic and Clinicopathological Role of PD-L1 in Endometrial Cancer: A Meta-Analysis. *Front Oncol*. 2020;10:632.
184. Okuma Y, Wakui H, Utsumi H, Sagawa Y, Hosomi Y, Kuwano K, et al. Soluble Programmed Cell Death Ligand 1 as a Novel Biomarker for Nivolumab Therapy for Non-Small-cell Lung Cancer. *Clin Lung Cancer*. 2018;19(5):410-7 e1.
185. Theodoraki MN, Yerneni SS, Hoffmann TK, Gooding WE, Whiteside TL. Clinical Significance of PD-L1(+) Exosomes in Plasma of Head and Neck Cancer Patients. *Clin Cancer Res*. 2018;24(4):896-905.
186. Arora S, Narayan P, Ison G, Berman T, Suzman DL, Wedam S, et al. U.S. FDA Drug Approvals for Gynecological Malignancies: A Decade in Review. *Clin Cancer Res*. 2022;28(6):1058-71.
187. Puccini A, Battaglin F, Iaia ML, Lenz HJ, Salem ME. Overcoming resistance to anti-PD1 and anti-PD-L1 treatment in gastrointestinal malignancies. *J Immunother Cancer*. 2020;8(1).

188. Marcus L, Lemery SJ, Keegan P, Pazdur R. FDA Approval Summary: Pembrolizumab for the Treatment of Microsatellite Instability-High Solid Tumors. *Clin Cancer Res.* 2019;25(13):3753-8.
189. Crumley S, Kurnit K, Hudgens C, Fellman B, Tetzlaff MT, Broaddus R. Identification of a subset of microsatellite-stable endometrial carcinoma with high PD-L1 and CD8+ lymphocytes. *Mod Pathol.* 2019;32(3):396-404.
190. Luchini C, Bibeau F, Ligtenberg MJL, Singh N, Nottegar A, Bosse T, et al. ESMO recommendations on microsatellite instability testing for immunotherapy in cancer, and its relationship with PD-1/PD-L1 expression and tumour mutational burden: a systematic review-based approach. *Ann Oncol.* 2019;30(8):1232-43.
191. Cristescu R, Lee J, Nebozhyn M, Kim KM, Ting JC, Wong SS, et al. Molecular analysis of gastric cancer identifies subtypes associated with distinct clinical outcomes. *Nat Med.* 2015;21(5):449-56.
192. Alpert L, Pai RK, Srivastava A, McKinnon W, Wilcox R, Yantiss RK, et al. Colorectal Carcinomas With Isolated Loss of PMS2 Staining by Immunohistochemistry. *Arch Pathol Lab Med.* 2018;142(4):523-8.
193. Pearlman R, Markow M, Knight D, Chen W, Arnold CA, Pritchard CC, et al. Two-stain immunohistochemical screening for Lynch syndrome in colorectal cancer may fail to detect mismatch repair deficiency. *Mod Pathol.* 2018;31(12):1891-900.
194. Graham RP, Kerr SE, Butz ML, Thibodeau SN, Halling KC, Smyrk TC, et al. Heterogenous MSH6 loss is a result of microsatellite instability within MSH6 and occurs in sporadic and hereditary colorectal and endometrial carcinomas. *Am J Surg Pathol.* 2015;39(10):1370-6.
195. Hissong E, Crowe EP, Yantiss RK, Chen YT. Assessing colorectal cancer mismatch repair status in the modern era: a survey of current practices and re-evaluation of the role of microsatellite instability testing. *Mod Pathol.* 2018;31(11):1756-66.
196. Shia J. Immunohistochemistry versus microsatellite instability testing for screening colorectal cancer patients at risk for hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. Part I. The utility of immunohistochemistry. *J Mol Diagn.* 2008;10(4):293-300.
197. Singh N, Wong R, Tchrakian N, Allen SG, Clarke B, Gilks CB. Interpretation of mismatch repair protein expression using obsolete criteria results in discrepancies with microsatellite instability and mutational testing results. Comment on Hechtman et al. *Mod Pathol* 2020; 33:871-879. *Mod Pathol.* 2021;34(5):1031-2.
198. Kuismanen SA, Moisio AL, Schweizer P, Truninger K, Salovaara R, Arola J, et al. Endometrial and colorectal tumors from patients with hereditary nonpolyposis colon cancer display different patterns of microsatellite instability. *Am J Pathol.* 2002;160(6):1953-8.
199. Engel KB, Moore HM. Effects of preanalytical variables on the detection of proteins by immunohistochemistry in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. *Arch Pathol Lab Med.* 2011;135(5):537-43.
200. Domingo E, Laiho P, Ollikainen M, Pinto M, Wang L, French AJ, et al. BRAF screening as a low-cost effective strategy for simplifying HNPCC genetic testing. *J Med Genet.* 2004;41(9):664-8.
201. Parsons MT, Buchanan DD, Thompson B, Young JP, Spurdle AB. Correlation of tumour BRAF mutations and MLH1 methylation with germline mismatch repair (MMR) gene mutation status: a literature review assessing utility of tumour features for MMR variant classification. *J Med Genet.* 2012;49(3):151-7.

202. He M, Breese V, Hang S, Zhang C, Xiong J, Jackson C. BRAF V600E Mutations in Endometrial Adenocarcinoma. *Diagn Mol Pathol*. 2013;22(1):35-40.
203. Metcalf AM, Spurdle AB. Endometrial tumour BRAF mutations and MLH1 promoter methylation as predictors of germline mismatch repair gene mutation status: a literature review. *Fam Cancer*. 2014;13(1):1-12.
204. Stewart CJ, Amanuel B, Griez F, Carrello A, Iacopetta B. KRAS mutation and microsatellite instability in endometrial adenocarcinomas showing MELF-type myometrial invasion. *J Clin Pathol*. 2010;63(7):604-8.

