TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

NEOPLAZİ ŞÜPHESİ NEDENİ İLE UYGULANAN ENDOMETRİUM BİYOPSİLERİNDE VE NEOPLAZİ TANISI İLE HİSTEREKTOMİ UYGULANAN OLGULARDA MİKROSATELLİT İNSTABİLİTESİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Cemal EKİCİ

TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Yrd.Doç.Dr. Timur TUNCALI

ANKARA
2013

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

NEOPLAZİ ŞÜPHESİ NEDENİ İLE UYGULANAN ENDOMETRİUM BİYOPSİLERİNDE VE NEOPLAZİ TANISI İLE HİSTEREKTOMİ UYGULANAN OLGULARDA MİKROSATELLİT İNSTABİLİTESİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Cemal EKİCİ

TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Yrd.Doç.Dr. Timur TUNCALI

ANKARA
2013

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN		
Adı, Soyadı	: Cemal Ekici	**Tarih:** 25 / 06 / 2013
Anabilim/Bilim Dalı	: Tıbbi Genetik AD	
Tez Danışmanı	: Yrd.Doç.Dr.Timur Tuncalı	

II. TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER

Tezin Başlığı: Neoplazi Şüphesi Nedeniyle Uygulanan Endometrium Biyopsilerinde ve Neoplazi Tanısı ile Histerektomi Uygulanan Olgularda Mikrosatelit İnstabilitesinin Araştırılması

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

Unvanı, Adı, Soyadı

Prof.Dr.Hatice I.RUHİ
Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

Jüri Üyesi

Unvanı, Adı, Soyadı

Yrd.Doç.Dr.Timur Tuncalı
Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

Jüri Üyesi

Unvanı, Adı, Soyadı

Yrd.doç.Dr.Nüket Y.Kutlay
Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

ÖNSÖZ

Tıbbi genetik eğitimimi, Türkiye'nin en iyi genetik bölümlerinden biri olan ve bir çok konuda ilklere imza atan Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda tamamlamaktan ve bu etiketi ömür boyu taşıyacak olmaktan gurur duymaktayım. Başta anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Hatice I. Ruhi olmak üzere, Prof. Dr. F. Ajlan Tükün'e, Yrd. Doç. Dr. Timur Tuncalı'ya, Yrd. Doç. Dr. Halil G. Karabulut'a ve Yrd. Doç. Dr. Nüket Y. Kutlay'a eğitimimdeki değerli katkılarından dolayı müteşekkirim.

Değerli hocam ve tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Timur Tuncalı'ya, tezimin konusunun belirlenmesinde, materyalin toplanmasında, tezimde kullanacağım kimyasalların temininde ve laboratuvardaki en ufak probleme kadar karşılaştığım tüm sorunları çözmemde bilimsel yaklaşımı, tecrübesi ve her gereksinim duyduğumda katkılarını esirgemediğinden dolayı şükranlarımı sunarım.

Hasta örneklerinin toplanmasında yardımlarından dolayı, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Gülay Kurtay, Prof. Dr. Cem Somer Atabekoğlun'a ve hemşire Hanife Ekiz'e. Etlik Zübeyde Hanım Kadın Hastalıkları ve Doğum Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nden Doç. Dr. Fulya Kayıkçıoğlu'na, Doç. Dr. Gökhan Tulunay'a ve Uzm. Dr. Havva Deniz Çavuşoğlu'na; Ankara'ya geldiğimden beri öz ablam gibi hissettiğim ve gördüğüm tüm sırlarımı paylaştığım Uzm. Dr. Arzu Vicdan'a; Çalışma arkadaşlarım Dr. Sevgi Başer, Dr. Sadiye Ekinci, Dr. M. Burak Mutlu, Dr. Şule Biçer, Dr. Ahmet Tuğrul Su ve önceki mezunlarımız Uzm. Dr. Burcu Sağlam Ada, Uzm. Dr. Vehap Topçu ve Uzm. Dr. Kenan Delil'e; Tezim boyunca bana teknik desteğini esirgemeyen Bio. Beste Tokgöz'e ve bölümün diğer tüm çalışanlarına;

Hayatımın her safhasında yanımda olan ve aldığım her kararda ve her koşulda beni destekleyen rahmetli annem, babam ve kardeşlerime;

Saygı ve sevgi dolu içten teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Cemal Ekici
Ankara- 2013

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	**i**
Önsöz	**ii**
İçindekiler	**iii**
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	**vi**
Şekiller Dizini	**ix**
Tablolar Dizini	**xi**
1. GİRİŞ	**1**
2. GENEL BİLGİLER	**3**
2.1 Uterusun Yapısı ve Beslenmesi	**3**
2.1.1 Uterus	**3**
2.1.1.1 Serviks Uteri	**4**
2.1.1.2 Korpus Uteri	**5**
2.1.2 Uterusun Histolojik Yapısı	**6**
2.1.3 Uterusun Beslenmesi	**7**
2.1.4 Lenfatik Drenajı	**7**
2.2 Endometrium Kanserlerinin Fizyopatolojisi	**7**
2.3 Endometrium Kanserleri İçin Risk Faktörleri	**9**
2.4 Uterus Patolojileri	**10**
2.4.1 Korpus Uterinin Benign Hastalıkları	**10**
2.4.1.1 Endometrial Hiperplazi	**10**
2.4.1.2 Endometrial Polipler	**11**
2.4.1.3 Uterin Leyomiyomlar	**11**
2.4.1.4 Adenomiyosis	**12**
2.4.2 Korpus Uterinin Malign Hastalıkları	**12**
2.4.2.1 Uterin Sarkomlar	**12**
2.4.2.2 Endometrium Karsinomları	**13**

2.4.2.2.1 Endometrioid Adenokarsinom (Tip I) **14**
2.4.2.2.2 Nonendometrioid Adenokarsinom (Tip II) **15**
2.5 Endometrium Kanserlerinin Evrelemesi **16**
2.6 Endometrium Kanserlerinin Tanısı **17**
2.6.1 Klinik Muayene **17**
2.6.2 Smear **18**
2.6.3 Endometrial Biyopsi **18**
2.6.4 Histeroskopi **18**
2.6.5 Vajinal Ultrasonografi **18**
2.6.6 Bilgisayarlı Tomografi (BT), Manyetik Rezonans (MR) **19**
2.7 Endometrium Kanserlerinde Moleküler Yaklaşım **19**
2.7.1 Fosfatidilinositol-3-kinaz (PI3K)/AKT Yolağı ve Tedavi Hedefleri **21**
2.7.2 RAS/RAF/MEK Yolağı Tedavi Hedefleri **22**
2.7.3 E-Kaderin/β-Katenin Yolağı **23**
2.7.4 EGFR Ailesi **23**
2.7.5 Poli (ADP-Riboz) Polimeraz (PARP) Yolağı **24**
2.8 Yanlış Eşleşme Onarımı Sistemi **25**
2.8.1 Prokaryotlarda Yanlış Eşleşme Onarım Mekanizması **27**
2.8.2 Ökaryotlarda Yanlış Eşleşme Onarım Mekanizması **30**
2.8.3 Kalıtsal Polipsiz Kolon Kanserleri **33**
2.8.4 Mikrosatellit İnstabilitesi **36**
2.9 Endometrium Kanserlerinin Tedavisi **37**

3. GEREÇ VE YÖNTEM **38**
3.1 Olgular **38**
3.2 Yöntem **48**
3.2.1 Kullanılan Cihazlar **48**
3.2.2 Kullanılan Kimyasallar **48**
3.2.3 Test Protokolleri **49**
3.2.3.1 DNA Eldesi **49**

3.2.3.1.1 Periferik Kandan DNA Eldesi **49**
3.2.3.1.2 Dokudan DNA Eldesi **49**
3.2.3.2 Polimeraz Zincir Reaksiyonu **50**
3.2.3.3 Polimeraz Zincir Reaksiyonunda Kullanılan Kimyasalların Miktarları **51**
3.2.3.4 Polimeraz Zincir Reaksiyon Koşulları **51**
3.2.4 Fragman Analizi **52**
3.2.5 İstatistiksel Analiz **53**

4.BULGULAR **54**
4.1 Neoplazi Şüphesi Nedeniyle Endometrium Biyopsileri Yapılan Hasta Grubu **54**
4.2 Kanser Tanısı Konulan ve Histerektomi Yapılan Hasta Grubu **55**
4.3 MSI İçin Fragman Analizi ve Sonuçları **56**
4.4 İstatistiksel Analiz Sonuçları **71**

5.TARTIŞMA **73**

6.SONUÇLAR **78**

ÖZET **80**

SUMMARY **82**

KAYNAKLAR **84**

EK 1 **101**

EK 2 **103**

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD : Amerika Birleşik Devletleri

ACA : Amerikan Kanser Derneği

AKT : V-AKT Murine Thymoma Viral Onkogene Homolog

BRAF : Murine Sarkoma Viral Oncogene Homolog B 1

BT : Bilgisayarlı Tomografi

CDKN2A : Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2A

CTNNB1 : Cadherin-Associated Protein Beta 1

Dk : Dakika

DNA : Deoksiribonükleik Asit

EGFR : Epidermal Growth Factor Receptor

EMT : Epithelial-to-Mesenchymal Transition

ER : Estrogen Receptor

ERB : Avian Erythroblastic Leukemia Viral Oncogene Homolog

ErbB2 : Avian Erythroblastic Leukemia Viral Oncogene Homolog 2

ERK : Mitogen Activated Protein Kinase

EXO1 : Exonuclease 1 (S. Cerevisiae homolog 1)

FGFR2 : Fibroblast Growth Factor Receptor 2

FIGO : International Fedaration of Gynecology and Obstetrics

FL : Fluorescein

Gr : Gram

HNPPC : Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer

HPV : Human Papilloma Virüs

IGF : Insulin-Like Growth Factor

IGF-1R : Insuline-like Growth Factor 1 Receptor

ISGP : International Society of Gynecological Pathologist

JOE : 6-carboxy-4′,5′-dichloro-2′,7′-dimethoxyfluorescein

Kb : Kilobaz

KRAS : Kirsten Rat Sarcoma viral Oncogene Homolog

MEK : Mitogen Activated Protein Kinase Kinase

Ml : Mililitre

MLH1 : mutL homolog 1

MLH3 : mutL homolog 3

MMR : Mismatch Repair (Yanlış Eşleşme Onarımı)

MR : Manyetik Rezonans

MSH2 : mutS homolog 2

MSH6 : mutS homolog 6

MSI : Mikrosatellit İnstabilitesi

MSI-H : Microsatellit Instability-High

MSI-L : Microsatellit Instability-Low

MSS : Microsatellit Stable

mTOR : Mammalian Target of Rapamycin

mTORC : Mammalian Target of Rapamycin Complex

mutH :Mutator H (Escherichia coli involves)

mutL : Mutator L (Escherichia coli involves)

mutS : Mutator S (Escherichia coli involves)

NCI : National Cancer Institute

Ng : Nanogram

NRAS : Neuroblastoma Ras Viral Oncogene Homolog

^{o}C : Santigrat Derece

PARP : Poly (ADP-ribose) Polymerase

PgR : Progesterone Receptor

PIK3CA : Phosphatidylinositol 3-Kinaz Catalytic Alfa

PIK3R1 : Phosphatidylinositol 3-Kinaz receptor 1

PIP2 : Phosphatidylinositol 4,5-biphosphate

PIP3 : Phosphatidylinositol 3, 4,5-triphosphate

PMS1 : Postmeiotic Segregation 1

PMS2 : Postmeiotic Segregation 2

PTEN : Phosphatase and Tensin Homolog

PZR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RNA : Ribonükleik Asit

Sn : Saniye

TMR : Carboxy-tetramethylrhodamine

Tp53 : Tumor Protein 53

VEGFR : Vascular Endothelial Growth Factor Receptor

µg : Mikrogram

µl : Mikrolitre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1: Endometrium Kanserlerinde Aktifleşen Yolaklar ve Tedavi Hedefleri- Shannon N. Westin'den uyarlanmıştır. 25

Şekil 2.2: Normal Yanlış Eşleşme Onarım Mekanizması Şeması- Guo-MinLi'den uyarlanmıştır 31

Şekil 2.3: Hücre Ölümü İle Sonuçlanan Yanlış Eşleşme Onarım Mekanizması Şeması- Guo-MinLi'den uyarlanmıştır 33

Şekil 4.1: Endometrium Biyopsisi Endikasyonları ve Oranları 54

Şekil 4.2: Endometrium Biyopsilerinin Patoloji Sonuçları ve Oranları 55

Şekil 4.3: Histerektomi Yapılan Hastaların Patoloji Sonuçları ve Oranları 56

Şekil 4.4: MSI Pozitif Olgularla Normal Olguların Evrelere Göre Dağılımı 58

Şekil 4.5: MSI Analizi için Lokusların Elektroferogram Görüntüsü 58

Şekil 4.6: MSS (A: doku; B: periferik kan) Elektroferogram Görüntüsü 59

Şekil 4.7: Olgu 14*'ün(A: doku; B: periferik kan) elektroferogram görüntüsü okla gösterilen pikler sırasıyla Penta D ve Penta C'de instabiliteye işaret etmektedir 60

Şekil 4.8: Olgu 9'un (A: doku; B: periferik kan) elektroferogram görüntüsü okla gösterilen pikler sırasıyla NR-21, BAT-26, BAT-25 ve MONO-27'de instabiliteyi işaret etmektedir 61

Şekil 4.9: Olgu 11'in (A: doku; B: periferik kan) elektroferogram görüntüsü okla gösterilen pikler sırasıyla BAT-26, BAT-25, NR-24 ve MONO-27'de instabiliteyi işaret etmektedir 62

Şekil 4.10: Olgu 14'ün (A: doku; B: periferik kan) elektroferogram görüntüsü okla gösterilen pikler sırasıyla NR-21, BAT-26, BAT-25 ve MONO-25'de instabiliteyi işaret etmektedir 63

Şekil 4.11: Olgu 15'in (A: doku; B: periferik kan) elektroferogram görüntüsü okla gösterilen pikler sırasıyla NR-21, BAT-26, BAT-25, NR-24, MONO-25 ve PentaD'deinstabiliteyi işaret etmektedir 64

Şekil 4.12: Olgu 25'in(A: doku; B: periferik kan) elektroferogram görüntüsü okla gösterilen pikler sırasıyla NR-21, BAT-26, ve NR-24'de instabiliteyi işaret etmektedir 65
Şekil 4.13: Olgu 26'nın(A: doku) elektroferogram görüntüsü okla gösterilen piklersırasıyla BAT-26, NR-24 ve MONO-27'de instabiliteyi işaret etmektedir 66
Şekil 4.14: Olgu 28'in(A: doku; B: periferik kan) elektroferogram görüntüsü okla gösterilen pikler sırasıyla NR-21, BAT-26 ve BAT-25'de instabiliteyi işaret etmektedir 67
Şekil 4.15: Olgu 32'nin(A: doku; B: periferik kan) elektroferogram görüntüsü okla gösterilen pikler sırasıyla NR-21, BAT-26 ve NR-24'de instabiliteyi işaret etmektedir 68
Şekil 4.16: Olgu 33'ün(A: doku; B: periferik kan) elektroferogram görüntüsü okla gösterilen pikler sırasıyla BAT-26, BAT-25 ve MONO-27'de instabiliteyi işaret etmektedir 69
Şekil 4.17: Olgu 39'un(A: doku; B: periferik kan) elektroferogram görüntüsü okla gösterilen pikler sırasıyla NR-21, BAT-26 ve Penta D'de instabiliteyi işaret etmektedir 70

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 2.1:	Endometrial Hiperplaziler ve Kanserleşme Sıklıkları	9
Tablo 2.2:	Endometrium Kanserinin Risk Faktörleri ve Görece Riskleri	10
Tablo 2.3:	Tip I ve Tip II EndometriumAdenokarsinomlarının Özelikleri	14
Tablo 2.4:	Endometrium Korpus Tömürlerinde Cerahi Evreleme, FİGO, 2009	17
Tablo 2.5:	Tip I ve Tip II Endometrium Kanserlerinde Görülen Genetik Değişiklikler ve Oranları	20
Tablo 2.6:	Prokaryot ve Ökaryotlarda DNA Yanlış Eşleşme Onarımında Yer Alan Proteinler ve Fonksiyonları	30
Tablo 3.1:	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalında Endometrium Biyopsisi Yapılan Hasta Bilgileri	39
Tablo 3.2:	Etlik Zübeyde Hanım Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Jinekolojik Onkoloji Kliniğinde Kanser Tanısı Konulan ve Histerektomi Uygulan Hasta Bilgileri	45
Tablo 3.3:	MSI Fragman Analizi için Hedeflenen Lokuslar ve Dizi Özellikleri	51
Tablo 3.4:	MSI Fragman Analizi için 7 Lokusun Çoğaltılmasında Kullanılan Kimyasallar ve Hacimleri	52
Tablo 3.5:	MSI Fragman Analizi için PZR Koşulları	52
Tablo 4.1:	Olgularda Pozitif Saptanan MSI Lokusları	57
Tablo 4.2:	MSI Pozitif Olgularda Endometrioid Adenokanserler ile Diğer Alt Tiplerin Karşılaştırılması	71
Tablo 4.3:	MSI Pozitif Olgularda Erken ve Geç Evrelerin Karşılaştırılması	72

1. GİRİŞ

Endometrium kanserleri hem ülkemizde hem de dünyada sık görülen bir kanser türü olan, ciddi bir halk sağlığı sorunudur. Son yıllarda özellikle gelişmiş ülkelerde insidansında anlamlı artış görülmektedir. Endometrium kanserleri ile ilgili bilinen başka bir gerçek ise erken evrede tanısı konulan olgularda geç evreye göre prognozunun çok iyi olduğudur. Bu da endometrium kanserinin tanı ve tedavisinde yeni arayışlara zemin hazırlamıştır. Diğer solid tümörlerde olduğu gibi endometrium kanserlerinde de bir çok moleküler genetik çalışma yapılmış ve hala yapılmaktadır. Burada amaç endometrium kanserine neden olabilecek moleküler genetik değişiklikleri erken safhada saptamak ve bu değişikliklerin kanseri tanısı, tedavisi ve ailesel olguların saptanması için kullanılmasını sağlamaktır.

Endometrium kanserlerine yönelik yapılan moleküler çalışmalarda birçok sinyal ileti yolağının aktifleştiği ve bu yolaklarda görev alan birçok gen ve proteinde değişikliğin olduğu bilinmektedir. Endometrium kanserlerinde sıkça karşımıza çıkan bir genetik değişiklik de mikrosatellit instabilitesidir (MSI).

MSI yanlış eşleşme onarımında rol oynayan proteinleri kodlayan genlerden (MLH1, MSH2, MSH6, PMS1, PMS2, MLH3, EXO1) herhangi birinde mutasyon veya epigenetik değişiklik sonucu ilgili proteinlerde işlev yetersizliğine neden olarak ortaya çıkan hücresel bir fenotipe etki eder. Lynch sendromu olarak da bilinen ailesel polipsiz kolon kanseri ilişkili sendromların bir komponenti olan, ailese kolorektal kanserlerin %90-95'i ve endometrium kanserlerinin %75'inde MSI saptanır. MSI varlığında ailesel endometriyum kanserlerinde 10-15 yıl içinde %50 olasılıkla kanserleşme beklenmektedir. Ayrıca, sporadik kolorektal kanserlerinin % 15-20'sinde ve sporadik endometrium kanserlerinin % 20-30'unda da MSI gözlenmektedir.

Bu çalışma ile:

Tarama amacıyla patolojik inceleme yapılan dokulardan eş zamanlı olarak alınan örneklerde MSI analizi ile, özellikle erken yaş olgularında olası endometriyum kanserlerlerinin presemptomatik tanısına tarama testi ile katkıda bulunulması;

MSI saptanan olgularda ailesel endometriyum kanser olasılığının instabilite ile olgulardaki neoplazi gelişim aşamasının ilişkilendirilerek ortaya konması;

Ailedeki diğer bireylerin presemptomatik dönemde genetik danışmanlık endikasyonlarının saptanması, ayrıca kanser tanısı alan veya hiperplazi tespit edilen olgularda izlem ve en uygun tedavi seçimlerinin olanaklı kılınması;

MSI saptanan birey ve ailelere ilgili lokuslardamutasyon araştırması seçeneğinin sunulması ile mutasyon saptanan bireylerde histolojik bir değişiklik olmadan önce presemptomatik cerrahinin seçenek olarak ortaya konması ve etkin klinik izlem ile olası bir hastalığın daha iyi yönetilmesine olanak sağlanması hedeflenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

Endometrium kanserleri dünyada yirminci yüzyılın ikinci yarısından başlayan bir artış eğilimi göstermektedir. Özellikle son 30 yıldaki insidans artışı oldukça dikkat çekicidir (1). Dünyada her yıl 142,000 yeni olgu tanımlanmakta; bu olguların 42,000'i ölümle sonuçlanmaktadır (1, 2). Amerikan Kanser Derneğinin (ACA) 2011 verilerinde göre; ABD'deki yeni olgu sayısı 46,470 ve endometrium kanseri nedeniyle olan ölümlerin sayısı 8,120 olarak bildirilmiştir (1). Gelişmekte olan ülkelerde endometrium kanseri sıklığı az olmakla birlikte ölüm oranı gelişmiş ülkelere göre daha fazladır (1, 2). Son yıllardaki bu artış obezitede de olan epidemik artışa ve yaşlanmaya bağlanmaktadır (3-5). Endometrium kanserleri kadınlarda meme, kolorektal ve akciğer kanserlerinden sonra dördüncü sırada olmakla birlikte kanserden dolayı ölümlerde 8. sıradadır (1). Kadınların yaşam boyunca % 1-3'ünde endometrium kanseri gelişeceği tahmin edilmektedir. Endometrium kanserleri genellikle 50-65 yaş aralığında tespit edilmektedir ve ortalama tanı yaşı 60'dır. Bu hastaların %95'i 40 yaşın üzerindedir. Endometrium kanserlerinde hastaların %75 postmenapozal, %25'i premenapozal dönemde tanı alır.

Endometrium kanserleri tip I ve tip II olarak ikiye ayrılır. Tip I endometrial kanser endometrioid histolojiye sahip olan tip olup tüm endometrium kanserlerinin %75'ten fazlasını oluşturmaktadır. Tip II, berrak hücreli karsinom, müsinöz karsinom gibi endometrioid histoloji içermeyen diğer tüm endometrium kanserlerini içerir. Tip II endometrim kanserleri genellikle geç evrede tanı aldıklarından prognozu tip I'e göre daha kötüdür (6).

2.1 Uterusun Yapısı ve Beslenmesi

2.1.1 Uterus

Uterus pelvik kavitede mesane ile rektum arasında yerleşmiş kalın duvarlı, musküler bir organdır. Uterusun üst kısmına her iki taraftan uterin tüpler açılmaktadır, daha aşağıda

ise uterus kavitesi vajina ile birleşmektedir. Overlerden yumurta atıldığı zaman tüpler aracılığı ile uterus kavitesine taşınmaktadır. Eğer fertilizasyon gerçekleşirse yumurta prenatal gelişim tamamlanana kadar kendisine uterus duvarında yer edinir ve bu sırada uterus kavitesinde hem boy hem de yapı olarak bir değişim gerçekleşir. Doğum sonrasında ise biraz büyüklük farkıyla beraber neredeyse tamamen eski haline döner. Doğum yapmamış kişilerde uterus anterior posterior planda düzdür ve piriform şekillidir. Önde mesane ve arkada sigmoid kolon ve rektum bulunmaktadır ve tamamen pelvis içerisindedir. Bu nedenle uterus tabanı süperior pelvik açıklık seviyesinin altındadır. Uterusun süperior kısmı geniş ve yuvarlak ligamentler ile asılıyken inferior kısmı pelvisin bağ dokusu içerisine gömülüdür.

Uterusun uzun aksı yaklaşık olarak süperior pelvik açıklığın aksıyla aynı hizadadır fakat organ serbest hareket edebildiği için pozisyonu mesane ve rektum distansiyonu olduğu zaman değişmektedir. Uterus 7.5 cm uzunluğunda, 5 cm genişliğindedir, üst kısmı yaklaşık 2.5 cm kalınlığındadır ve ağırlığı yaklaşık olarak 30-40 gr'dır. Kendi içerisinde kısımlara ayrılmaktadır (7).

2.1.1.1 Serviks Uteri

Uterusun kasılabilen, koni şeklindeki alt kısmıdır. Serviksin vajinaya açılan kısmı ekzoserviks veya portio vajinalis olarak isimlendirilmektedir. Bu kısım konveks, yuvarlak yüzeylidir ve endoservikal kanala sirküler veya çizgisel bir açıklığı vardır. Endoservikal kanal 2-3 cm uzunluğunda ve internal os'ta endometrial kaviteye proksimal taraftan açılır.

Servikal mukoza ekzoservikste stratifiye skuamöz epitel içerirken endoservikal kanal mukus sekresyonu yapan kolumnar epitel içermektedir. Ancak bu iki epitelin birleşim noktası "skuamokolumnar birleşke", hormonal uyaranlara göre değişim göstermektedir. Bu bölge transformasyon zonudur ve skuamöz neoplazilere duyarlıdır.

Erken çocukluk döneminde, hamilelik boyunca veya oral kontraseptif kullanımında kolumnar epitel endoservikal kanaldan ekzoserviksin üzerine uzanırve bu durum eversiyon veya ektopi olarak adlandırılır. Menapozdan sonra transformasyonzonu

genellikle tamamen endoservikal kanala geriler. Servikal mukus üretimi hormonal kontrol altındadır. Ovulasyon zamanında mukus miktarı bol ve incedir, ovulasyon sonrasında ise az ve kalındır. Mukoza ve submukozanın derininde serviks fibröz bağ dokusundan ve az miktarda sirküler yerleşimli düz kas dokusundan oluşmuştur (7).

2.1.1.2 Korpus Uteri

Uterus gövdesinin boyut ve şekli hormonal ve doğurganlık durumuna göre değişim göstermektedir. Doğumda serviks ve korpus yaklaşık olarak aynı boydadır; erişkin kadında korpus serviksin 2-3 katına ulaşır. Uterusun diğer pelvik yapılarla olan ilişkisine göre olan pozisyonu değişkendir ve genellikle bu pozisyonlar anterior, median, posterior, fleksiyon ve versiyon olarak isimlendirilmektedir. Fleksiyon, uterusun korpusu ve serviks arasındaki açıdır, versiyon uterus ile üst vajina bölgesi arasındaki açıdır. Nadiren endometriozis veya adezyonlar gibi pelvik patolojilere sekonder olarak anormal pozisyonlar meydana gelebilir.

Uterus korpusu şu bölgelere ayrılmıştır. Endoservikal kanalın açıldığı endometrial kavite istmus veya alt uterin segment adını alır. Üst uterus gövdesinin her iki tarafında tünel şeklindeki bölge fallopian tüplere girişin olduğu bölgedir ve uterin kornu adını alır; bunun üzerinde kalan uterus bölgesi ise fundustur.

Endometrial kavite üçgen şeklindedir ve uterin korpus yüzeyi mukoza ile kaplıdır. Epitel yapısı kolumnardır ve özelleşmiş stromasıyla gland oluşturur. Üreme döneminde bu bölgede düzenli bir şekilde yüzeyel endometriumda dökülme ve bazal tabakadan rejenerasyonla giden yapısal ve fonksiyonel döngüsel değişimler olmaktadır.

Uterusun musküler tabakası miyometriumdur ve 1.5-2.5 cm kalınlığında, düz kas liflerinden oluşmaktadır. Dıştaki bazı fibriller tüp ve ligamentlerle süreklilik gösterir. Posterior serviks ve uterus korpusunun büyük kısmını seroza olarak isimlendirilen periton kaplamaktadır. Laterallerde ‘‘broad’’ ligamentler peritonun ikiye katlanmasıyla oluşmakta ve uterusun nörovasküler yapılarını içermektedir. Anteriorda uterusun istmik ve servikal bölgelerinin üzerinde mesane uzanmaktadır (8).

2.1.2 Uterusun Histolojik Yapısı

Uterus 3 tabakadan oluşmaktadır. Bunlar eksternal veya seröz, orta veya musküler ve internal veya muközdür.

Seröz tabaka (tunika seroza) peritondan meydana gelmektedir, bu tabaka uterin fundusu ve uterusun tüm intestinal kısımlarını sarmaktadır. Gövde ve servikste sadece vezikal yüzeyi kaplamaktadır. Uterusun alt kısmında peritonun uterusa sıkı yapışıklığı yoktur, bu bölgede arada gevşek bağ dokusu ve büyük venler vardır.

Musküler tabaka (tunika muskülaris) uterusun büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Uterus gövdesinde ve fundusta kalınken uterin tüplerin girişlerinde incedir. Bu kas tabakası çizgisiz kas lifi demetlerinden, aradaki bağ dokudan, kan damarlarından, lenfatik damarlardan ve sinirlerden oluşmaktadır. Bu tabakalar 3 kattır: dış, orta ve iç. Dış ve orta tabakalar musküler tabakadan oluşurken, iç tabaka hipertrofiye musküler mukozadan oluşmaktadır. Gebelik boyunca kas dokusu daha da gelişmekte ve lifler çok büyümektedir. Peritonun altında bulunan eksternal tabaka vezikal ve intestinal yüzeylerin altında ince bir tabaka olarak izlenir. Bu tabakada lifler fundusu transvers olarak geçerler ve uterin tüplere, ‘‘broad’’ ligamente ve ‘‘round’’ ligamente devam ederler. Bazı lifler ise arkada serviksin sakrouterin ligamentine doğru ilerler. Uterusun orta tabakasındaki liflerde düzen yoktur, longitudunal, oblik ve transvers olarak yayılırlar. Bu tabakada diğer tabakalara göre daha çok kan damarı bulunmaktadır. İnternal veya derin tabakada sirküler lifler uterin tüplerinin girişlerini oluşturacak yapıyı oluştururlar; tabanları uterus gövdesinin ortasında birleşirler.

Muköz tabaka (tunika mukoza) düz ve alttaki dokuya sıkıca yapışır. Bu tabaka uterin tüplerin uçlarına doğru devamlılık göstermekterir. Uterus gövdesinde muköz membran düz, yumuşak ve soluk kırmızıdır, kolumnar silialı epitel içerir ve bir lensle bakıldığı zaman orifislerde çok sayıda tübüler foliküller içerdiği izlenir. Bu bölgedeki muköz membranlar diğer muköz membranlardan farklılık göstermektedir. Burada büyük lenfatik damarlar ve çok sayıda hücre içeren bağ dokusu bulunmaktadır. Ayrıca tüp benzeri uterin glandlar, silialı kolumnar epitel bulunmaktadır. Doğurganlık durumuna

göre büyüklük ve sayları çok değişmektedir. Servikste muköz membran uterin kavitesindekinden farklıdır (7,8).

2.1.3 Uterusun Beslenmesi

Uterin arter; internal iliak arterden ayrılarak ‘‘round’’ ligamentin tabanından girerek ve üreteri çaprazlar, uterusa internal os ve istmus hizasında ulaşır. Bu yapı ‘‘broad’’ ligamentten ayrı olarak üreteri süperfisial olarak geçen tek yapıdır. Arter daha sonra uterus gövdesi boyunca yükselir ve aortadan renal arterin hemen altından ayrılan ovarian arterlerin uçları ile anastomoz yapar. Uterin arter ayrıca inen bir dal aracılığı ile servikse ve üst vajinaya dallar verir ve bu dallar vajinal arter dalları ile anastomoz yapar. Uterin ven artere eşlik eder ve internal iliak vene drene olur. Bu ven ayrıca ovarian ven, vajina venleri ve mesane venleri ile de ilişkidedir (8).

2.1.4 Lenfatik Drenajı

Uterin fundus, uterin tüpler ve overlerin lenfatik drenajı birlikte ovarian damarlarla birlikte para-aortik lenf nodlarına drene olur. Ek olarak bazı lenfatik kanallar ‘‘round’’ ligament boyunca geçerek inguinal kanaldan inguinal lenf nodlarına drene olur. Uterus gövdesinin drenajı ise ‘‘broad’’ ligamanı aracılığı ile eksternal iliak nodlara drene olur. Serviks ise 3 ayrı yere drene olur: lateralde ‘‘broad’’ ligament aracılığı ile eksternal iliak nodlara; posterolateralde uterin damarlarla internal iliak nodlara; ve posteriorda sakral lenf nodlarına drene olur (8).

2.2 Endometrium Kanserlerinin Fizyopatolojisi

Endometrium kanserlerinin oluşmasında, endometriumun östrojen ve progesteron reseptörlerinin yoğunluğu ve dokunun uzun süre karşılanmamış östrojene maruz kalması önemlidir (9). Normal bir menstrual siklusta overlerde folikül gelişimi ile kandaki östrojen seviyesi yükselir, buda endometriumda proliferasyona neden olur.

Ovulasyon ile birlikte foliküllerin yapısı değişir ve progesteron sentezlenmeye başlanır, bu olay ile endometrium sekretuar faza girer. Eğer bu döngü düzenli olmaz ise progesteron yeterli üretilemez ve östrojenin endometriumdaki etkisini karşılayamaz ve karşılanmamış östrojen etkisi oluşur. Endometrium kanserlerinin hormonterapisine yanıt vermeleri, tümör hücrelerinin reseptör sayıları ve histolojik tipleri ile ilişkilidir. Endometrium dokusu hem östrojen hem de progesteron reseptörü içerirken, kanserli dokuda daha çok östrojen reseptörü bulunmaktadır (10). Progesteronsuz bir ortamda uzun süre östrojenle uyarılan endometriumda prekanseröz lezyonlar gelişebilir. Bunlar basitten komplekse doğru değişik aşamalardaki endometrial hiperpazilerdir. Uluslararası Jinekolojik Patologlar Topluluğu (İnternational Society of Gynecological Pathologist = ISGP), Dünya Sağlık Örgütü organizasyonu altında terminolojide birliği sağlamak amacıyla bir sınıflama yapmıştır. Bu sınıflama ve kanserleşme oranları Tablo 2.1'de gösterilmiştir (11). Ayrıca son yıllarda yapılan bir çok çalışmada endometrium kanserlerin oluşmasına neden olan gen düzeyinde bir çok değişikliğin olduğu ve bu değişikliklerin hem endometrium kanserlerinin oluşmasına neden olduğu hem de kanserin prognozunda hayati rol oynadıkları saptanmıştır.

Tablo 2.1: Endometrial Hiperplaziler ve Kanserleşme Sıklıkları-Kurman ve ark. (11)'dan uyarlanmıştır.

Hiperplazi Tipi	**Kansere Dönüşme Sıklıkları(%)**
Basit hiperplazi	1
Kompleks hiperplazi	3
Basit atipik hiperplazi	8
Kompleks atipik hiperplazi	29

2.3 Endometrium Kanserleri İçin Risk Faktörleri

Endometrium kanserleri için tanımlanmış bir çok risk faktörü bulunmaktadır. Bu risk faktörleri arasında en çok üzerinde durulanlar endojen veya ekzojen progesteron ve karşılanmamış östrojendir. Endometrium kanserlerinin risk faktörleri ve görece riskleri (bir risk etkenine sahip olanların olmayanlara göre hastalık oluşturma oranı) Tablo 2.2'de gösterilmiştir (12).

Tablo 2.2: Endometrium Kanserinin Risk Faktörleri ve Görece Riskleri-Smith ve ark (12)'dan uyarlanmıştır.

Risk Faktörleri	**Görece Risk**
Artan yaş	1,4
Progesteron ile karşılanmamış östrojen	2-10
Geç Menapoz (55 yaşından sonra)	2
Nulliparite	2
Polikistik over sendromu	3
Obezite	2-4
Diyabet	2
Ailesel polipsiz kolon kanseri sendromu	22-50
Tamoksifen	2
HPV	-
Pelvik radyo terapi	-
Erken menarş	-
Diyet ve beslenme tarzı	-
Hipertansiyon	-
Östrojen salgılayan tümör	-
Oral kontraseptif kullanımı	-

2.4 Uterus Patolojileri

2.4.1 Korpus Uterinin Benign Hastalıkları

2.4.1.1 Endometrial Hiperplazi

Endometrial hiperplazi östrojenin etkisine bağlı olarak oluşur. Bu etki endometrium dokusu ve salgı bezlerinde aşırı proliferasyondan başlayan, düzensiz şekil ve büyüklüğe sahip normal histoloji ve karsinoma in situ arasında değişiklik gösteren

biyolojik ve morfolojik farklılaşma spektrumununda olabilir. Klinik olarak ciddi hiperplaziler sıklıkla progesteron yokluğunda, uzun süreli östrojen uyarısı ile, yani karşılanmamış östrojen etkisi ile oluşan proliferatif endometrium zemininde gelişir (13).

Endometrial hiperplazi çoğunlukla perimenapozal dönemde menstrual siklusun dengesiz olduğu dönemlerde ortaya çıkar. En sık gözlenen bulgu vajinal kanamadır. Ön tanısı ultrasonografiile, kesin tanısı biyopsi ile konur. ISGP'nin onayladığı sınıflamaya göre endometrium hiperplazileri basit, kompleks, basit atipik ve kompleks atipik olmak üzere dört gruba ayrılır (11).Endometrium kanserlerinin yaklaşık %80'i endometrioid adenokarsinomlardan oluşur ve endometrioid adenokarsinomlar hiperplazi zemininde gelişirler (26).

Endometrial hiperplazinin en sık gözlendiği durum anovülasyondur,en tipik nedeni de polikistik over sendromudur. Östrojen salgılayan tümörler, obezite, karaciğer hastalığı, östrojen preparatlarının kullanımı ve geç menapoz endometrial hiperplazi nedenleri arasında sayılan diğer faktörlerdir. Endometrial hiperplazilerin tipleri ve kanserleşme oranları Tablo 2.1'de gösterilmiştir (11).

2.4.1.2 Endometrial Polipler

Endometrial polipler saplı veya sapsız endometrium uzantıları olup 25-60 yaş aralığında görülürler. Endometrial polipler intermenstrüel kanama, düzensiz kanama ve ağrılı menstruasyona neden olmaktadır. Leyomiyomalarda olduğu gibi çoğu endometrial polip de asemptomatiktir. Endometrial polip oluşumu doğurganlık çağı boyunca yaş ile beraber artış gösterir (14).

2.4.1.3 Uterin Leyomiyomlar

Uterin leyomiyomlar 35 yaş üstü kadınların yarısına yakınında bulunmaktadır ve genital sistemde en sık rastlanan tümörlerdir. Leyomiyomlar düz kas ve değişik miktarlarda fibröz bağ dokusu içeren benign tümörlerdir (14, 15). Yapılan bir çalışmada siyahi kadınların %80'inden fazlasında ve beyaz kadınların %70'e yakınında

bulunmaktadır. Anormal kanama, leyomiyomalı kadınların en sık rastlanan semptomudur (16).

2.4.1.4 Adenomiyozis

Adenomiyosis endometrial glandların miyometrium içinde, endometriumun bazal tabakasında en az bir büyük büyütme alanı ileride, bulunması olarak tanımlanır. Adenomiyozis sıklıkla semptom vermez ve bir çok hastada endometriyozis ve fibromiyom ile birlikte görülür. Adenomiyozis tanısı ancak histerektomi sonrası patolojik tanı ile kesinleştirilebilir (17).

2.4.2 Korpus Uterinin Malign Hastalıkları

2.4.2.1 Uterin Sarkomlar

Uterusun tüm malign tümörlerinin %2-6'sını oluşturan uterus sarkomları, mezodermden köken alan az rastlanan tümörlerdir. Pelvik bölgeye uygulanan radyasyon sonrasında uterin sarkom görülme riskinde anlamlı artış tesbit edilmiştir (18). Evrelemede endometrium kanserleri için International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) evreleme sistemi kullanılmaktadır (19). Uterus sarkomları hızlı seyir gösteren, genellikle geç evrede tanısı konulan ve prognozu kötü olan tümörlerdir. Histolojik olarak üç alt tipi bulunur; endometrial stromal sarkom (ESS), Leiomiyosarkom ve adenosarkomdur.

Endometrial stromal sarkom; stromal tümörler genellikle 45-50 yaş arasında; perimenapoz döneminde görülürler. Hastalar kliniğe başvurduğunda en sık rastlanan bulgu uterus kanamasıdır. Karın ağrısı ve bası hissine daha az rastlanmaktadır (20).

Leiomiyosarkom; hastalar leiomiyosarkoma 43-53 yaş aralığında yakalanmakta ve menapoz öncesi dönemde tanı alanlarda prognoz çok daha iyidir. İlk semptomlar

genellikle kısa süreli gözlenen vajinal kanama, bası hissi ve pelvik ağrıdır. Sağkalım %20 ile %63 arasında değişmektedir (21).

Adenosarkom; mikst non-epitelyal tümörler arsında yer alan çok nadir rastlanan tümörlerdir. Bu tümörler sarkom ve karsinom karışımı bir histoloji gösterirler. Tamamına yakını postmenopozal olarak ortaya çıkar ve tanıda ortalama hasta yaşı 62'dir. Geliş şikayeti %90 kanamadır. Hastanın prognozunu etkileyen en önemli faktör tedavi anında tümörün boyutudur (22, 23)**.**

2.4.2.2 Endometrium Karsinomları

Endometrium karsinomlarının ortalama görülme yaşı 60'tır. Kadınların %90'ında tek şikayet olarak vajinal kanama veya akıntı vardır. Bu nedenle peri ve postmenopozal kanamalar ne kadar az ve kısa süreli de olsa ciddiye alınmalıdır (24). Tanı alan hastaların %5'inden daha azı asemptomatiktir. Karşılanmamış östrojen alan menapoz sonrasındaki kadınlarda endometrium karsinom riski anlamlı olarak artar (25).

Endometrium karsinomları genellikle adenokarsinom niteliğindedir. Klinik, histolojik ve moleküler genetik olarak iki gruba ayrılırlar. Genel özellikleri Tablo 2.3'te gösterilmiştir.

Tablo 2.3 : Tip I ve Tip II Endometrium Adenokarsinomlarının Özellikleri-Weigelt ve ark.(26)'dan uyarlanmıştır.

Özellik	**Tip I**	**Tip II**
Histoloji	Endometrioid	Nonendometrioid
Sıklık	% 75-80	% 20-25
Geliştiği Zemin	Hiperplazi	Atrofi
Tümör Derecesi	Düşük	Yüksek
Hormon Reseptör	ER/PgR+	ER/PgR-
Myometrium İnvazyonu	Yüzeyel	Derin
Ortalama Tanı Yaşı	60	65
Östrojenle İlişkisi	Var	Yok
Klinik Seyir	Yavaş	Hızlı
Tanı	Erken Evre % 86 FIGO I ve II	Geç Evre % 40 FIGO III ve IV
Prognoz	İyi 5 Yıllık Sağ Kalım FIGO Evre I % 90 Evre II % 80 Evre III % 68 Evre IV % 26	Kötü 5 Yıllık Sağ Kalım FIGO Evre I % 80-85 Evre II % 41-63 Evre III % 38-49 Evre IV % 6-8

2.4.2.2.1 Endometrioid Adenokarsinom (Tip I)

Tip I endometrial adenokarsinomlar genellikle, hiperplazi zemininde gelişirler. Patogenezinde uzun süreli progesteron ile dengelenmemiş endojen veya ekzojen östrojenler sorumlu tutulmaktadır. Tüm endometrium kanserlerinin %75-80'nini oluşturmaktadır. Hücresel dört alt tipi bulunur. Tip I endometrium adenokarsinomların genel özellikleri Tablo 2.3'de gösterilmiştir.

Silyalı adenokarsinom: oldukça nadir görülen hücresel alt tiptir. Nükleer membranı düzensiz olarak izlenen, belirgin nükleollu, kaba kromatinli ve silyalı hücrelerden oluşur, eozinofilik boyanırlar.

Sekretuar adenokarsinom: endometrial karsinomun az rastlanan tiplerinden olup, olguların %1'ini oluşturur, intrastoplazmik vakuollü iyi diferansiye bezlerden oluşur (27).

Papiller veya villoglandüler adenokarsinom: endometrial karsinomların yaklaşık %2'sinde bulunur. Hücreler fibrovasküler uzantılar boyunca papiller görünüm verecek tarzda bulunurlar, buna rağmen endometrioid hücre karekterlerini korurlar. Genellikle iyi diferansiye varyantlar olup, epitelyal metaplastik değişiklikler eşlik eder (28).

Skuamöz diferansiyasyonlu adenokarsinom: endometrial karsinomların %15-25'i skuamöz diferansasyonlu alanlar içerirler. Benign görünüşlü, skuamöz alan içeren tümörler adenoakontoma, malign görünümlü skuazmöz alanlar içeren tümörler adenoskuamöz karsinom olarak adlandırılırlar (39).

2.4.2.2.2 Nonendometrioid Adenokarsinom (Tip II)

Tip II endometrial adenokarsinomlara hiperplazi eşlik etmez. Daha ileri yaşta görülür ve prognozları Tip I adenokarsinomlara göre daha kötüdür. Tüm endometrium kanserlerinin yaklaşık %20-25'ini oluştururlar. Alttiplerinin genel özellikleri aşağıda belirtilmiştir.

Uterin papiller seröz karsinom: bu tümörler her zaman yüksek grade kategorisinde kabul edilirler. Endometrioid karsinomdan daha agresif davranırlar ve over karsinomuna benzer şekilde karın içine metastaz yapma eğilimindedirler (30).

Müsinöz karsinom: endometrial karsinomların yaklaşık %5'i müsinöz karaktere sahiptir. Tümör hücrelerinin %50'den fazlasının sitoplazmalarında müsin içerdiği gözlenir. Bu tümörlerin genellikle iyi diferansiye glandüler yapıya sahip oldukları gözlenir. Prognoz diğer alttiplerle karşılaştırıldığında çok iyidir. Vimentin (ökaryotik hücrelerde mikrotübüller ve aktin mikrofilamanları ile beraber hücre iskeletini oluşturur) perinükleer pozitif boyanmanın olması endometrial orijini düşündürür (31).

Berrak hücreli karsinom: tüm endometrial kanserlerin %5'inden azını oluşturmaktadır. Çoğu mikst histolojik paterne sahiptir. Hücrelerde yüksek atipik patern, bol berrak veya eozinofilik sitoplazmaya sahiptir. Tipik olarak yaşlı kadınlarda görülür ve endometrial kanserin en agresif tiplerinden birisidir (32).

Skuamöz hücreli karsinom: bu tip nadir olarak görülür. Tanı konulduğunda, çoğu zaman servikal stenoz, kronik inflamasyon ve piyometra (uterus iç kavitesinin irin birikimi ile birlikte akut veya kronik enfeksiyonu) ile beraberdir. Evre-1 aşamasındaki hastalarında %36'lık bir sağ kalım oranı vardır (33).

2.5 Endometrium Kanserlerinin Evrelemesi

Endometrium kanserinin evrelendirilmesinde 1988 yılına kadar endoservikal küretaj bulguları, sistoskopi ve rektoskopi sonuçları gözönüne alınarak yapılan FIGO klinik evreleme sistemi kullanılmaktaydı. Bu klinik evreleme sistemi ile miyometrial invazyon derinliği ve lenf nodu metastazı gibi prognostik faktörler belirlenememekte; tümörün evresi ameliyat sırasında ve sonrasında yapılan evrelendirmeye göre daha düşük bulunmaktaydı (34). FIGO, 1988 yılından sonra endometrium kanserinin evreleme sistemini değiştirerek; lenf nodu tutulumu, miyometrial invazyon derinliği, periton sitolojisi, servikal ve adneksiyal yayılım gibi prognostik değeri olan paremetreleri evrelemeye alan cerrahi-patolojik bir sistem önermiştir. Bu evreleme sistemi 2009 yılında revize edilmiştir. FIGO evreleme sisteminin genel özellikleri Tablo 2.4'te gösterilmiştir (35, 36).

Tablo 2.4: Endometrium Korpus Tömürlerinde Cerahi Evreleme-Kim ve ark (36)'dan uyarlanmıştır.

Evre I	Tümör korpus uteri içine sınırlı
IA	Miyometriyal invazyon yok yada yarısından az
IB	Yarısından fazla miyometrial invazyon
Evre II	Servikal stromal invazyon; tümör uterus dışına taşmamış
Evre III	Lokal ve/veya bölgesel yayılım
IIIA	Seroza ve/veya adneks invazyonu
IIIB	Vajinal ve/veya parametriyal tutulum
IIIC	Pelvik/paraaortik lenf nodu metastazı
IIIC1	Pelvik lenf nodu metastazı
IIIC2	Paraaortik lenf nodu metastazı
Evre IV	Mesane ve/veya barsak mukoza invazyonu veya uzak metastaz
IVA	Mesane ve/veya barsak mukoza invazyonu
IVB	Uzak metastaz; intraabdominal metastaz; inguinal lenf nodu metastazı

2.6 Endometrium Kanserlerinin Tanısı

2.6.1 Klinik Muayene

Endometrium kanserinde fizik muayene önemlidir. Metastazların sık rastlandığı bölgeler olan periferik lenf nodları dikkatlice değerlendirilmelidir. Vajen girişi, subüratral alanlar, tüm vajen ve serviksin dikkatli inspeksiyonu ve palpasyonu yapılmalıdır.

2.6.2 Smear

Klasik servikovajinal pap smear incelemesinin endometrium karsinomu için tanısal doğruluk oranı optimum şartlarda dahi %40 civarındadır ve rutinde kullanılmamaktadır (37).

2.6.3 Endometrial Biyopsi

En iyi tanı yöntemi fraksiyonel küretajdır. Poliklinik koşullarında yapılan endometral biyopsinin tanısal doğruluk oranı, ardından yapılan histerektomi sonrası patoloji sonucu ile karşılaştırıldığında %90-95'tir (38).

2.6.4 Histeroskopi

Negatif histolojiye karşın, tekrarlayan postmenapozal kanama varlığında, kanamayı açıklayacak yeterli materyalin alınamadığı durumlarda, servikal stenoz varlığında veya yeterli değerlendirmeyi sağlayacak aspirasyon biyopsisini tolere edemeyen olgularda histeroskopi uygulanır (38).

2.6.5 Vajinal Ultrasonografi

Anormal uterin kanamanın değerlendirilmesinde ve ek inceleme yapılacak hastaların seçiminde, endometriyal biyopsinin yanısıra transvajinal ultrasonografi yararlı olabilir (38).

2.6.6 Bilgisayarlı Tomografi (BT), Manyetik Rezonans (MR)

Endometrium karsinomunda lokal yayılım ve uzak metastazların belirlenmesinde yararlı yöntemlerdir. Nükslerde ve özellikle bölgesel lenf nodlarının değerlendirilmesinde yarar sağlamaktadırlar (38).

2.7 Endometrium Kanserlerinde Moleküler Yaklaşım

Son yıllarda diğer solid kanserlerde olduğu gibi endometrium kanserlerinde de bir çok moleküler genetik çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda amaç endometrium kanserlerinin tanısını erken evrede koymak, tedavi hedefi olabilecek markerleri belirlemek ve ailesel/kalıtsal olguları saptamaktır. Endometrium kanserlerinin fizyopatolojisi genellikle ekzojen veya endojen kaynaklı karşılanmamış östrojene maruziyet ile açıklanmaktadır. Son yapılan çalışmalar endometrium kanserlerinin oluşmasında bir çok genetik neden ve aktifleşmiş hücre proliferasyon yolaklarının varlığını göstermektedir (39). Bu değişiklikler Tablo 2.5'te gösterilmiştir.

Tablo 2.5: Tip I ve Tip II Endometrium Kanserlerinde Görülen Genetik Değişiklikler ve Oranları-Weigelt B. ve ark, Westin SN. ve ark (26, 39)'dan uyarlanmıştır.

Gen	Fonksiyon	Değişiklik	TipI (%)	Tip II (%)
PTEN	Tümör Süpresör	Delesyon, Mutasyon, Metilasyon	57-83	0-11
PIK3CA	Onkogen	Mutasyon	30-40	20
KRAS	Onkogen	Mutasyon	10-30	0-10
PIK3R1	Onkogen	Mutasyon	43	12
AKT	Onkogen	Mutasyon	2-3	0
TP53	Tümör Süpresör	Mutasyon	5-20	80-90
MMR Genleri	DNA Onarımı	Metilasyon, Mutasyon	15-25	0-10
E-Kaderin	Onkogen	Mutasyon, Delesyon	5-50	60-90
β-Katenin	Onkogen	Mutasyon, Delesyon	15-50	0-5
ErbB2	Onkogen	Amplifikasyon	0-2	18-80
BRAF	Onkogen	Mutasyon	0-3	0-2
Stathmin	Onkoprotein	Aşırı ifade	15	14
CDKN2A	Tümör Süpresör	Mutasyon, Metilasyon	10	10-40
IGFIR	Reseptör	Aşırı ifade	78	0
FGFR2	Reseptör	Mutasyon	12-16	1
EGFR	Reseptör	Aşırı ifade	38-46	35-56
EGFR	Reseptör	Mutasyon	0	0
HER-2	Reseptör	Aşırı ifade	3-10	32
HER-2	Reseptör	Amplifikasyon	1	17

2.7.1 Fosfatidilinositol-3-kinaz (PI3K)/AKT Yolağı ve Tedavi Hedefleri

PI3K/AKT yolağının hücre farklılaşması, büyümesi ve bir çok farklı kanser türünde apopitozu engellemede önemli rolü olduğu iyi bilinmektedir (40). PI3K/AKT yolağının uyarılması epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR), insülin benzeri büyüme faktörü 1 reseptörü (IGFIR) ve fibroblast büyüme faktörü reseptörü 2 (FGFR2)'nin de dahil olduğu "myriad" reseptörlerinin aktivasyonu aracılığıyla olmaktadır. Ayrıca, PI3K/AKT yolağının RAS/RAF/MEK yolakları gibi diğer anahtar surviv yolakları ile yakın bağlantısı, tedavi hedefi araştırmaları açısından önem oluşturmaktadır (40, 41).

Endometrium kanserlerindeki PI3K/AKT aktivasyonu genellikle PTEN tümör baskılayıcı gen aktivitesinin kaybolması veya PI3K'nın α katalitik alt ünitesini kodlayan *PIK3CA*'ın fonksiyon kazanan mutasyonlar sonucu olmaktadır. Ayrıca *AKT*'deki fonksiyon kazanan mutasyonlar ve bu yolağı uyaran tirozin kinaz reseptörlerinin aşırı ifadesi, PI3K/AKT disregülasyonunda önemli rol oynar (42, 43). Bir serin/tirozin kinaz olan "mammalian target of rapamycin" (mTOR) proteni PI3K/AKT yolağı, burada kritik bir hedeftir (30). PI3K/AKT yolağı, buradaki moleküler genetik değişikliklerin sıklığı düşünüldüğünde endometrium kanserleri için en umut verici tedavi hedefleri olarak görülmektedir (44). Endometrium kanserleriyle ilişkili moleküler anomalilerin bir çoğu doğrudan veya dolaylı olarak PI3K/AKT yolağıyla ilişkilidir. En önemli değişiklikler (Tablo 2.5) *PIK3CA*, *PTEN* ve *AKT* mutasyonları ile fosforillenmiş mTOR ve fosforillenmiş *AKT (pAKT)*'nin aşırı ifadesidir (45, 46).

Endometrium kanserlerine yönelik henüz rutinde kullanılan hedefe yönelik bir tedavi olmasa da devam etmekte olan bir çok klinik çalışma vardır. Endometrium kanserlerine yönelik yapılan bir klinik çalışmada ilk sonuçlara göre, *PIK3CA* mutasyonu olan hastalara PI3K/AKT/mTOR inhibitörleri ile tek başına veya diğer ajanlarla kombine şekilde tedavi edildiğinde, daha önceden yoğun tedavi görmüş bir grup hastada beklenenden daha yüksek bir cevap oranı (%35) saptanmıştır (47). Janko ve arkadaşları tarafından yapılan retrospektif bir çalışmada, *KRAS* mutasyonlarının varlığı bazı tümör tiplerinde direnci ortaya koymaktadır. *PIK3CA* ve *KRAS* mutasyonları arasındaki olası

etkileşimin önemi in vitro insan kanser hücrelerinde spesifik olarak mTORC1 inhibitörleri kullanıldığında alınan yanıtlarla gösterilmiştir. *PIK3CA* mutasyonu bulunan kanserli hücreler mTORC1 inhibitörüne oldukça duyarlı iken, *PIK3CA* ve *KRAS* mutasyonu birlikte bulunan hücrelerde bu duyarlılık gözlenmemiştir (48).

Bir serin/treonin protein kinaz olan mTOR'un, potansiyel tedavi hedefi olabilecek, yapısına katıldığı mTORC1 ve mTORC2 kompleksleri vardır. Bu komplekslerin yolağın alt basamaklarında efektörleri bulunmaktadır. Şimdiye kadar ileri evre ve reküren endometrium kanserlerinde yapılan çalışmaların büyük çoğunluğu mTORC1'i inhibe etmeye yöneliktir. mTORC2'yi veya her iki kompleksi hedef alan ajanlar daha iyi aktivite gösteriyor gibi durmaktadır fakat bu konu ile ilgili bilgiler henüz yeterli değildir (49).

PI3K/AKT yolağının inhibisyonu ile ilgili mTOR kompleksinin yanında PI3K ve AKT'nin inhibisyonuna yönelik klinik çalışmalar da devam etmektedir. Bu ajanlara yönelik çalışmalar tek başına veya diğer ajanlarla kombine şekilde klinik çalışmalarsürdürülmektedir (50, 51).

2.7.2 RAS/RAF/MEK Yolağı Tedavi Hedefleri

RAS/RAF/MEK yolağının anjiogenez, hücre döngüsünün düzenlenmesi, proliferasyon ve survivinde dahil olduğu önemli tümörojenik fonksiyonda yer almaktadır (52). Tablo 2.5'te de gösterildiği gibi özellikle endometrioid karsinomlarda yüksek prevalansta KRAS mutasyonu saptanmaktadır (53, 54). Bu durum tedavi hedefi olarak kullanılmasında etkili olmuştur. Bu yolağın inhibisyonunda MEK inhibitörleri önemli yer tutmaktadır. MEK inhibitörleri BRAFmutasyonu olan malign melanom ve papiller tiroid karsinomlarında kullanılmakta ve iyi sonuçlar vermektedir (55). Endometrium kanserlerinde ilginç olarak *BRAF* mutasyonları çok az görülür, ancak *BRAF* mutasyonu olan endometrium kanserlerinin MEK inhibitörlerine duyarlı olduğu düşünülmektedir (56, 57). Bu yolakta ilgili *KRAS* ve *NRAS* mutasyonlarının sık görülmesi MEK inhibitörlerine cevabı azaltarak kombine tedavilerin kullanılmasının etkin olacağını düşündürse de konu ile ilgili yeterli veri bulunmamaktadır (58).

2.7.3 E-Kaderin/β-Katenin Yolağı

E-kaderin/β-katenin ünitesi normal hücre iskeleti ve hücre farklılaşmasının devam ettirilmesinden sorumludur (59, 60). E-kaderin ve β-katenin aynı zamanda farklı kanser tiplerinde tümörogenezde etkili olan, wnt sinyal yolağının da elemanıdırlar (61, 62). E-kaderin kaybı ve β-kateninin nükleusa yer değiştirmesi (translokasyonu), epitelden mezenkimal geçişle (EMT) ilişkilidir. EMT hücrelerde artmış motilite, invazyon ve metastaz gibi mezenkimal özelliklerin oluşmasına neden olmaktadır (63). İlginç bir şekilde, EMT kolon kanserlerinde bir antineoplastik ajan olan oxaliplatin'e direnç ve akciğer, kolorektal ve pankreas hücre eşsoylarında EGFR hedefli tedaviye dirençle ilişkili bulunmuştur (64, 65). Endometrium kanserlerinde β-katenin kodlayan gen olan *CTNNB1*'de meydana gelen mutasyonlara sekonder olarak β-kateninin çekirdekte birikmesi ve E-kaderin ekspresyonunun kaybı sık görülen bir olaydır. Ayrıca bu gendeki mutasyonlar endometrium kanserlerinin agresif seyretmesine ve daha hızlı metastaz yapmasına neden olmaktadır. Ancak bu yolağı inhibe edecek herhangi bir ajan bulunmamaktadır (59, 60, 66, 67).

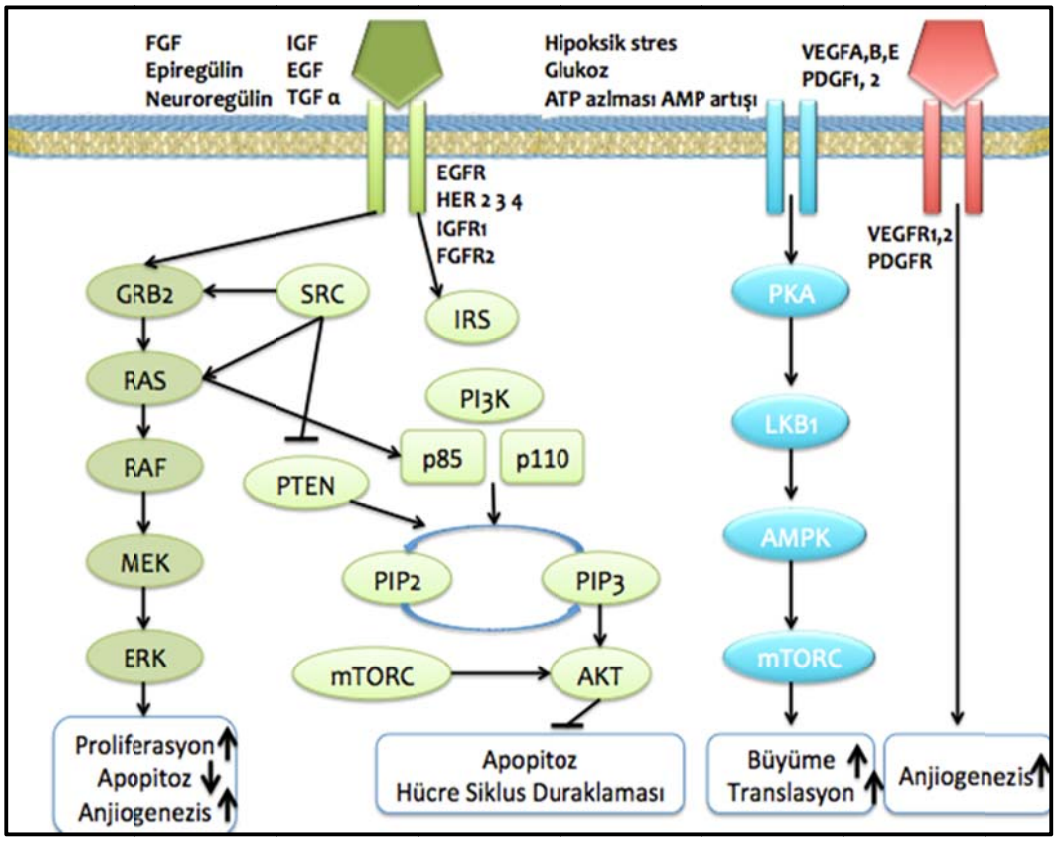
2.7.4 EGFR Ailesi

EGFR ailesi PI3K/AKT ve RAS/RAF/MEK gibi önemli alt yolakları aktive ettiği için bir kanser tedavi hedefi olarak dikkat çekmektedir (68, 69). Bu grubu oluşturan 4 EGFR spesifik hücre yüzey reseptörü bulunmaktadır; EGFR (HER-1, ERBB1), HER-2 (ERBB2), HER-3 (ERBB3), HER-4 (ERBB4). Bu reseptörler tümör mikroçevresindeki endotelyal hücrelerin yüzeyinde yer almaktadır ve aktivasyonları endotelyal hücre proliferasyonu ile anjigenezi artırmaktadır (70). Ayrıca, EGFR aktivasyonunun apopitozu baskılarken kanser hücre invazyonunu uyardığı bilinmektedir (68, 69). EGFR endometrium kanserlerinin büyük bir çoğunluğunda histolojik tipten bağımsız olarak aşırı sentez edilmektedir. EGFR'yi hedef alan çalışmalarda endometrium kanser tedavisinde başarı oranı düşüktür. Bu durumun, *EGFR* aşırı ifadesinin solid tümörlerin tedaviye yanıtından doğrudan sorumlu olmadığı daha çok *EGFR* mutasyonu sonucu

oluşan diğer değişiklikler ile ilşkili olduğunu düşündürmektedir (71, 72). EGFR mutasyonunun oranı endometrium kanserlerinde oldukça düşüktür. Bu mutasyonun prevelansını belirlemek için çalışma sayılarının artması gerekmektedir (73). EGFR hedefli tedaviye cevabın diğer bir değiştiricisi *KRAS* mutasyonudur. *KRAS* mutasyonun varlığı kolorektal kanser hastalarında cevabı negatif olarak etkilemektedir (74).

2.7.5 Poli (ADP-Riboz) Polimeraz (PARP) Yolağı

Hücrede DNA hasarını onarmak için farklı mekanizmalar bulunmaktadır. Bunlar arasında doğrudan onarım, baz eksizyonu, yanlış eşleşme onarımı ve nükleotid eksizyon onarımı yer almaktadır. Sitotoksik kemoterapiye direnç, DNA hasar onarım yolaklarında yüksek aktivite gösteren kanser hücreleri için karakteristiktir. PARP, tek dallı DNA hasar onarımında baz eksizyon yolağı aracılığı ile çalışır (75, 76). PARP inhibisyonu tek dal kesikleri ile meydana gelen DNA hasarının hücresel olarak onarılmamasıyla sonuçlanmaktadır. Ayrıca tek dal kesikleri onarılmadığında çift dal kesiklerine zemin hazırlar. Homolog rekombinasyon; bu çift dal kesiklerinin onarımında yer alan bir mekanizmadır. Homolog rekombinasyon yolağı bozuk olan hastalarda, PARP inhibisyonu, hücrede DNA'yı etkili bir şekilde onarılmaz kılmaktadır. Bu da genetik instabilite ve hücre ölümüne neden olmaktadır. Bu nedenle PARP inhibisyonu özellikle,*BRCA* mutasyonlarının neden olduğu meme ve over kanserli hastalarda DNA onarım mekanizmasında bozukluk olan tümörlerde çalışılmıştır (76-78). Sentetik ölüm olarak bilinen bu yaklaşım şu anda bazı kanser tiplerinde uygulanmaktadır (79,80). İlginç bir şekilde *PTEN* delesyonu disfonksiyonel homolog rekombinasyon ile DNA onarımına yol açmakta, bu da endometrium kanserlerinin de dahil olduğu farklı hücre eşsoylarında invitro ve invivo PARP inhibisyonuna olan hassasiyeti ortaya koymaktadır (79, 80). Endometrium kanserlerinin %15-40'ında MSI saptanmaktadır. Bu çoğunlukla *MLH1* geninin promoter bölgesinin hipermetilasyonu sonucu oluşmakta ve yanlış eşleşme onarımında rol alan bir gen olan *MLH1*'in sessizleşmesine neden olmaktadır (81).



Şekil 2.1: Endometrium Kanserlerinde Aktifleşen Yolaklar ve Tedavi Hedefleri-Shannon N. Westin (39)'den uyarlanmıştır.

2.8 Yanlış Eşleşme Onarımı (Mismatch Repair =MMR) Sistemi

Hücrelerde, ekzojen kimyasal ve fiziksel (sigara, radon, digoksin, benzo(a)piren, poliklorlu bifeniller, asbestoz, ultraviole ışınları) ajanlara maruziyet ile DNA hasarı oluşmakta ve birikmektedir. Yanı sıra, DNA hasarı, DNA metabolizması sırasında meydana gelen hatalar veya DNA replikasyonu, rekombinasyonu ve onarımı sürçleriyle de ortaya çıkabilmektedir. Nükleotid birleşme hatası, DNA sentezi sırasında, spesifik DNA polimerazın da dahil olduğu birçok faktöre bağlı olarak, farklı oranlarda DNA baz-baz yanlış eşleşmelerine yol açar. Genellikle, replikatif DNA polimerazlar kısmen yüksek hatasızlık oranına sahipken, DNA hasarı bölgesini özellikle atlayan (bypass)

“translesion” DNA polimerazları ile replikasyon hatası daha sık oluşabilir. DNA hasar onarımı başarısız olursa, somatik ve germ hücrelerinde klonal veya yapısal mutasyonlar oluşur ve hücresel fenotip etkilenir. Bu zararlı etkileri engellemek ve genomun bütünlüğünü korumak için, hücrelerde DNA hasarını onaran bir çok mekanizma ortaya konmuştur (82);

1. Doğrudan Onarım Mekanizmaları
    - Fotoreaktivasyon
    - O(6)-Metilguanin onarımı
    - Basit tek zincir kesiklerinin ligasyonu
2. Kesme-Çıkarma Onarım Mekanizmaları (Eksizyon)
    - Baz eksizyon onarımı
    - Nükleotid eksizyon onarımı
    - Yanlış eşleşme eksizyon onarımı
3. Rekombinasyon Onarımı
4. SOS Onarımı
5. Çift Zincir Kesiklerinin Onarımı

MMR, replikasyon sırasında meydana gelen DNA yanlış eşleşmelerini düzeltmekte, böylece mutasyonların bölünen hücrelerde kalıcı hale gelmesi engellenmektedir (83). MMR replikasyon sırasında oluşan hataların sayısını azaltır, MMR bozuklukları isespontan mutasyon oranlarını arttırır (84). İnsan hücrelerinde MMR’in inaktivasyonu, herediter ve sporadik kanserler ile ilişkilidir (85). MMR sistemi, belirli bazı DNA hasarlarında hücre siklus aresti ve/veya programlı hücre ölümünün gerçekleşmesi için de gereklidir. MMR,ciddi hasar görmüş hücreleri elimine eden DNA hasar-yanıt yolağında rol oynamakta ve kısa dönemde mutagenezi, uzun dönemde de tümörogenezi engellemektedir (86). Yanlış eşleşme onarım mekanizması,onarabildiği DNA yanlış eşleşmeleri onarmakta onaramayacak kadar büyük olan yanlış eşleşmeleri veya ID bölgeleri var ise hücre apopitoza yönlendirilmektedir, bu mekanizma Şekil 2.2 ve Şekil 2.3’te gösterilmiştir (82).

Escherichia coli'de yapılan çalışmalar ile MMR yolağı, hem biyokimyasal hem de genetik olarak iyi karakterize edilmiştir. E. coli, ökaryotik MMR sistemini anlayabilmek için yararlı ve önemli bir model organizmadır.

2.8.1 Prokaryotlarda (E. coli) Yanlış Eşleşme Onarım Mekanizması

E.coli'de MMR sistemi: MutS, MutL, MutH, DNA helikaz 2 (MutU/UvrD), dört ekzonükleaz (Exo1, Exo7, Exo10 ve RecJ), tek dala bağlanan protein (SSB), DNA polimeraz III holoenzimi ve DNA ligaz komponentlerinden oluşur. MutS, MutL ve MutH, E.coli MMR sisteminde özelleşmiş rollere sahiptirler. Bu proteinler Tablo 2.6'da gösterilmiştir (87).

MutS yanlış baz ve küçük nükleotid insersiyon/delesyon (ID) bölgelerinde yanlış eşleşmelerini tanır, bu nedenle "yanlış eşleşme"tanıma proteini olarak adlandırılır (88). MutS, intrensik ATPaz aktivitesine sahiptir. MutS'nin DNA'ya bağlanan yüksek çözünürlüklü yapıları X-ray kristalografisi ile belirlenmiştir (89). Bu yapılar MutS'nin DNA'ya homodimer olarak bağlandığını ortaya koymaktadır. Yanlış eşleşme bağlanma bölgesi, dizi bazında aynı, fakat yapısal ve fonksiyonel olarak farklı bölgeler (iki altünite) içermektedir. MutS monomerleri yanlış eşleşme bölgesine bağlandığı zaman farklı konformasyonları nedeni ile heterodimer gibi davranır. E.coli'deki MMR, ATP bağımlıdır ve fonksiyonel MutS ATPaz'a ihtiyaç duyar (90).

MutL fiziksel olarak MutS ile etkileşmekte, yanlış tanımayı kolaylaştırmakta ve MutH'i aktive etmektedir. MutL'deki defektler, E.coli'deki MMR'yi tamamen inhibe etmektedir. Fonksiyonel insan MutL homoloğu MutLα, endonükleaz aktivitesine sahip olmasına rağmen (91) MutL'de hidrolitik aktivite bulunmaz. MutL, helikaz 2'nin (veya UvrD) MMR başlatma bölgesine gelmesini ve aktivasyonunu sağlayan MMR kompleksi oluşmunu kolaylaştıran bir moleküler matchmaker (eşleştirici) olarak rol oynar (88, 92, 93). MutS gibi, MutL de homodimer olarak çalışır ve ATPaz aktivitesine sahiptir (94).

ATP bağlanma bölgesindeki mutasyonlar, dominant negatif mutator fenotipine yol açarlar (95). ATP'ye bağlanan ama hidroliz yapamayan MutL mutantları, MutH'i aktive edebilmekte, fakat yanlış eşleşme veya MutS'e cevap olarak MutH'i uyaramamaktadırlar. Bu durum, MutH'ın MutS tarafından aktive edilmesinin düzenlenmesi için MutL tarafından ATP hidrolizinin gerekli olduğunu göstermektedir. Son dönemde yapılan çalışmalar, MutL'nin DNA polimeraz III'ün "clamp loader" altüniteleriyle fiziksel olarak etkileştiğini ve MutL'nin, DNA polimeraz III'ün MMR ara ürünlerine bağlanmasını kolaylaştırdığını göstermektedir. Bu gözlemler, MMR'ın DNA replikasyonuyla eşleştiğini ortaya koymaktadır (93, 96).

E.coli'de DNA, dGATC sekansındaki adeninin N6 pozisyonundan metillenir. Replike olan DNA'da, kardeş dal iki dakika gecikmeli olarak metillenir. Yeni sentezlenmiş DNA dalını kalıp DNA dalından moleküler olarak ayıran, yarı metillenmiş dGATC sekanslarının varlığıdır. MMR'de yarı metillenmiş dGATC bölgeleri, onarımın dal özgüllüğünü belirlemektedir. Yarı metillenmiş dGATC bölgelerini tanıyan MutH, bir monomer olarak çalışır ve bir tip 2 restriksiyon endonükleazdır (97). ATP varlığında, MutS ve MutL tarafından aktivasyonu sonrasında MutH, spesifik olarak yarımetillenmiş dGATC'nin metillenmemiş kardeş dalını çıkarır. Bu dala özgü kesilme yanlış eşleşme ileuyarılmış eksizyon için bir başlangıç bölgesi oluşturur (88).

MMR yolağının ilk basamağı MutS homodimerinin yanlış eşleşme bölgesine bağlanmasıdır. Ardından bu bölgede GATC'nin 5' veya 3' bölgesinde, MutS, MutL, MutH ve ATP birlikte kompleks oluşturur, sonra kompleks ayrılır. MutS aracılı bağlanmanın, yarı metillenmiş dGATC bölgesini nasıl ayırdığına dair 3 model öne sürülmüştür. Yarı metillenmiş dGATC'deki MutH tarafından oluşturulan dal-spesifikkesim, yanlış eşlenmiş bazın eksizyonu için bir başlangıç noktasıdır. MutL varlığında, helikaz 2 (UvrD), kesik üzerine gelmekte ve DNA sarmalını kesikten yanlış eşleşmeye doğru çözmektedir. Bunun sonucunda, SSB ile hızlıca bağlanan tek-dallı DNA oluşmakta ve bu şekilde nükleaz saldırılarından korunmuş olmaktadır (98). Yanlış eşleşme bölgesinde kesilmenin pozisyonuna bağlı olarak, Exo1, Exo10 (3'→5' ekzonükleaz), Exo7 veya RecJ (5'→3' ekzonükleaz), kesik dalı kesik bölgesinden

(dGATC bölgesi) yanlış eşleşme noktasına ya da bu noktayı biraz geçene kadar çıkarır. GATC bölgesi ile hatalı eşleşen bazlar arasındaki bölge en fazla 1000 bç'lik mesafede olabilir. Sonuçta oluşan tek dallı boşluk DNA polimeraz III holoenzimi, SSB ve DNA ligaz tarafından geri sentez edilir ve birleştirilir (88).

E.coli'de MMR üzerindeki çalışmalar, bu önemli yolağın 3 anahtar özelliğini göstermektedir; ilki onarımın dala özgül olduğudur (yeni sentezlenmiş DNA dalına özgü); ikincisi onarım iki yönlüdür, 5'→3' veya 3'→5' yönünde kesikten yanlış eşleşmenin olduğu bölgeye doğrudur; üçüncüsü ise MMR'nin baz-baz yanlış eşleşmeleri ve küçük ID yanlış eşlerinin de dahil olduğu geniş bir substrat spesifitesine sahip olmasıdır. Tüm bu özellikler fonksiyonel MutS, MutL ve MutH'nin varlığını gerektirir. MMR mekanizması evrim süresince çok iyi korunduğundan, E.coli MMR'ı, ökaryotik hücrelerdeki MMR için mükemmel bir modeldir (88, 99).

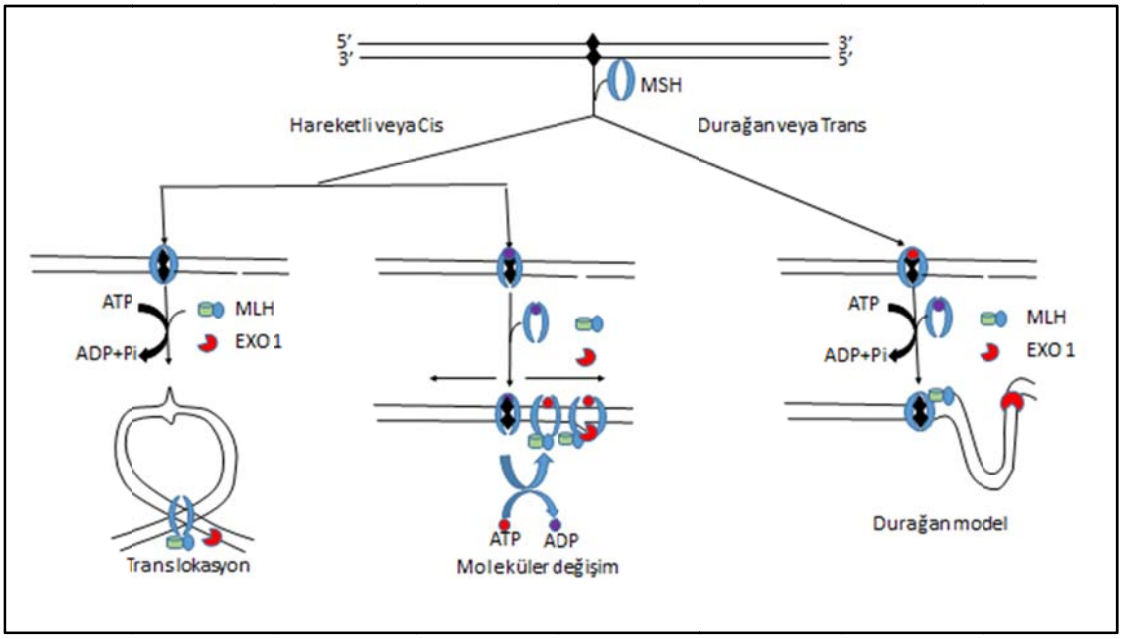
Tablo 2.6: Prokaryot ve Ökaryotlarda DNA Yanlış Eşleşme Onarımında Yer Alan Proteinler ve Fonksiyonları-Guo-min Li. ve ark (82)'dan uyarlanmıştır.

E. coli	**İnsan**	**Fonksiyon**
MutS	hMutSα (MSH2-MSH6) hMutSβ (MSH2-MSH3)	Yanlış eşleşmeyi tanıma ve hasar onarımı
MutL	hMutLα (MLH1-PMS2) hMutLβ (MLH1-PMS1) hMutLγ (MLH1-MLH3)	Endonükleaz, işlemi sonlandırma
MutH	?	DNA temel kalıbını tanıma
UvrD	?	DNA helikaz
Exo1, Exo7, Exo10, RecJ	Exo1	DNA eksizyon
Pol III holoenzim	Polδ, PCNA	DNA yeniden sentezi, yanlış eşleşme onarımının başlatılması
SSB	RPA	DNA bağlanma fonksiyonu
DNA Ligaz	DNA Ligaz I	Kesik zincirin birleştirilmesi

2.8.2 Ökaryotlarda Yanlış Eşleşme Onarımı (MMR) Mekanizması

MMR çok iyi korunmuş biyolojik bir yolaktır ve insan MMR'siyle, prototip E.coli MMR'si arasında güçlü benzerlikler bulunmaktadır(100). Bu benzerlikler arasında, substrat özgünlüğü, iki yönlülük ve kesim-yönlü dal özgünlüğü yer almaktadır. E.coli MMRsistemine özgü olan metilasyon durumuna göre dal seçimi insanda bulunmamaktadır. Fakat, yarı metillenmiş dGATC bölgeleri MutH bağımlı kesimi

yönettiğinden ve insan MMR'si in vivo kesik-yönlü olduğundan, her iki sistemin de yeni ve kalıp DNA dalları, dal-spesifik kesik kullanarak ayırdığı düşünülmektedir.



Şekil 2.2: Normal Yanlış Eşleşme Onarım Mekanizması Şeması Guo-Min Li (82)'den uyarlanmıştır

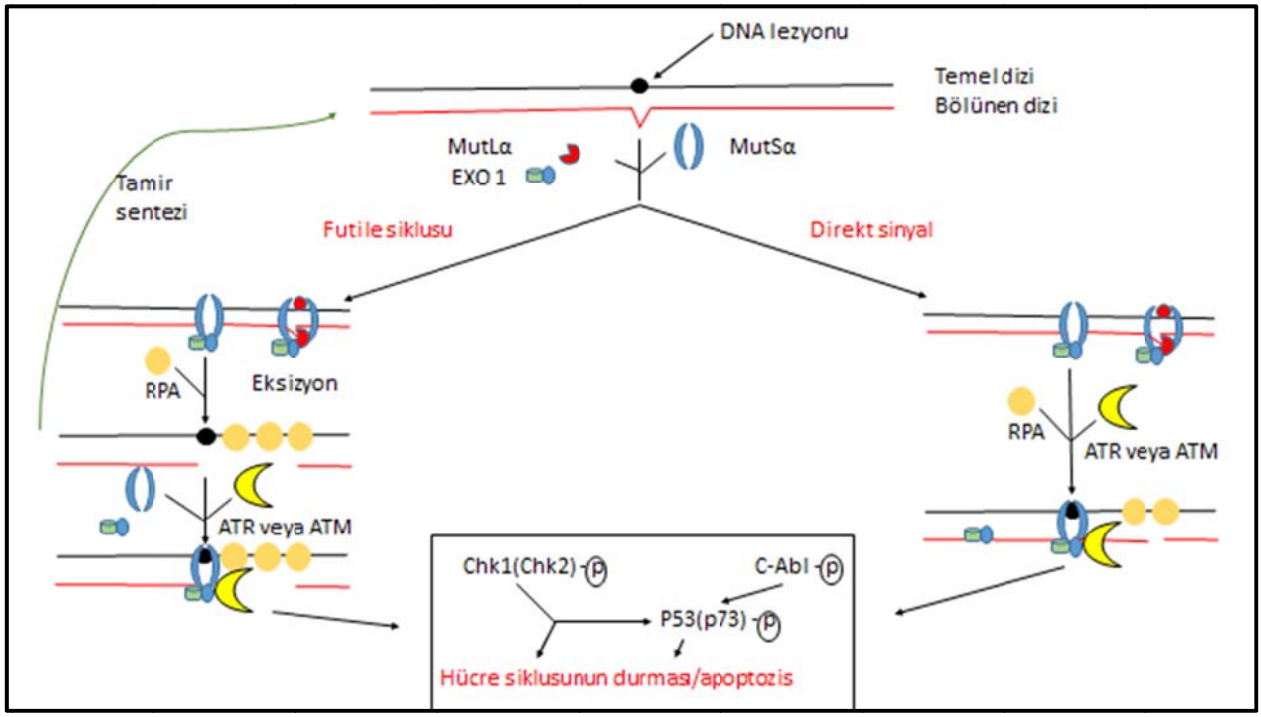
İnsan MMR sistemindeki proteinler E.coli MMR proteinlerine olan homolojileri nedeni ile saptanabilmiştir.Bu proteinler Tablo 2.6'da gösterilmiştir.Bunlar arasında, MutS'nin insan homologları,MutL, EXO1, tek dallı DNA bağlayan protein RPA, prolifere olan hücre nükleer antijeni (PCNA), DNA polimeraz δ (polδ) ve DNA ligaz 1 yer almaktadır (82). E.coli MutS ve MutL proteinleri homodimer, insan MutS ve MutL homologları heterodimer yapısındadır (101). hMSH2, hMSH6 veya hMSH3'le sırasıyla hMutSα veya hMutSβ'yı oluşturmak üzere heterodimerleşir. Bu moleküllerin her ikisi de yanlış eşleşmenin tanınması ve onarımının başlatılmasında kritik rol oynayan

ATPazlardır. hMutSα seçici olarak baz-baz yanlış eşleşmeleri ve 1 veya 2 nükleotidden oluşan ID bölgelerini tanırken, hMutSβ daha büyük ID halkalarını tanımaktadır. İnsanda şimdiye kadar tanımlanmış en az dört MutL homoloğu (hMLH1, hMLH3, hPMS1, hPMS2) vardır (102). hMLH1 sırasıyla hMutLα, hMutLβ veya hMutLγ'yi oluşturmak üzere, hPMS2, hPMS1 veya hMLH3'le heterodimerleşmektedir. hMutLα, MMR için gereklidir, hMutLγ ise mayozda rol oynamaktadır. Ancak hMutLβ'nın herhangi bir biyolojik rolü ortaya konamamıştır (83). hMutLα, ATPaz aktivitesine sahiptir ve bu aktivitedeki kusurlar insan hücrelerindeki MMR'i inaktive eder. Yeniden düzenlenmiş insan MMR sisteminde, hMutLα yanlış eşleşme ile uyarılmış eksizyonun sonlanmasını düzenler. Son yapılan çalışmalar, MutLα'nın PCNA/replikasyon faktör C (RFC) bağımlı endonükleaz aktivitesine sahip olduğunu göstermektedir. Bu aktivite EXO1'i de içeren 3' kesik-yönlü MMR'de kritik bir rol oynamaktadır (91).

PCNA, MSH2 ve MLH1'le etkileşmektedir ve MMR'nin başlatılmasında ve DNA yeniden onarım basamaklarında rol oynadığı düşünülmektedir. PCNA aynı zamanda MSH6 ve MSH3'le, PIP box olarak adlandırılan korunmuş PCNA etkileşim motifi aracılığı ile etkileşmektedir. PCNA'nın, MutSα ve MutSβ'nın yeni replike olmuş DNA'daki yanlış eşlere bağlanmasına yardımcı olabileceği ileri sürülmüştür (103). PCNA'nin varlığı 3' kesik-yönlü MMR'de zorunluyken, 5' kesik-yönlü MMR'de ise gerekli değildir (104). Bu gözlem, bir 5'→3' ekzonükleaz olan EXO1'in hem 5' hem de 3' yönlü MMR'de yer almasıyla açıklanabilir. PCNA gibi EXO1 de MSH2 ve MLH1 ile etkileşmektedir (105). EXO1, MutSα veya MutSβ ve RPA varlığında, 5' yönlü yanlış eşleşme eksizyonu gerçekleştirebilirken, 3' kesik-yönlü eksizyonu katalizlemede, PCNA ve RFC tarafından aktive edilen MutLα endonükleazına ihtiyaç duymaktadır. EXO1'in içsel 3'→5' ekzonükleaz aktivitesi olduğu öne sürülse de gözlemler bu hipotezi desteklememektedir. Bunun yerine, son dönemdeki çalışmalar EXO1 ile katalizlenen 3' kesik-yönlü onarımında şu aşamaların yer aldığını gösterir:

3' kesiğin ve yanlış eşleşmenin tanınması sonrasında, MutLα endonükleaz, yanlış eşleşme bölgesinde, PCNA ve RFC ile birlikte bir 5' insizyonu yapar; EXO1

MutLα-insizyon bölgesinden, yanlış eşleşme bölgesi boyunca ve yanlış eşleşme bölgesinin aşağısına kadar bir 5'→3' eksizyonu gerçekleştirir (106).



Şekil 2.3: Hücre Ölümü İle Sonuçlanan Yanlış Eşleşme Onarım Mekanizması Şeması-Guo-Min Li (82)'den uyarlanmıştır.

2.8.3 Kalıtsal Polipsiz Kolon Kanseri (Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer =HNPCC) Sendromu

HNPCC erken başlangıçlı kolorektal ve endometrium kanserlerinin izole ya da birarada sık görüldüğü otozomal dominant kalıtılan bir yatkınlık sendromudur. Bu

sendromla ilişkili olarak, mide, ince barsak, safra yolları, üriner toplayıcı sistem,ve overleri içeren ekstra-kolonik kanser olgularında artmış risk bulunmaktadır (107). HNPCC'li ailelerde yapılan ilk çalışmalarda yaşam boyu kolorektal kanser riskinin (penetransının=kalıtılmış mutant allel varlığında hastalığın ortaya çıkma olasılığı) yaklaşık kadınlarda %52, erkeklerde %69 ve ortalama tanı yaşının 60 olduğunu göstermiştir (107). HNPCC ilişkili ikinci en sık rastlanan kanser olgusu olan endometrium kanserlerinde ise bu risk yaklaşık %50'dir. Sporadik olgularla karşılaştırıldığında endometrium ve over kanserleri 10 yıl erken ortaya çıkmaktadır (108, 109).

HNPCC, DNA yanlış eşleşme onarım genlerindeki germline mutasyonlar nedeniyle oluşur. MMR proteinleri normalde, çoğunlukla ikili üçlü nükleotid tekrar (mikrosatellit) dizilerinin bulunduğu genom bölgelerinde yanlış eşleşen nükleotidlerin replikasyonu sırasında DNA polimerazın kayması ile meydana gelen insersiyon-delesyon halkalarının tanınması ve onarılmasından sorumludur. HNPCC ile ilgili olduğu saptanmış 7 gen bilinmektedir: *MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, PMS1, MLH3 ve EXO1* (110). Bu genlerden herhangi birindeki mutasyon fenotipe MSI olarak yansımaktadır (108). Bu mutasyonların %90'ı yukarıda sıralanan ilk dört gende gözlenmektedir ve görülme sıklıkları sırası ile %32, %38, %14 ve %15'tir (111).

Lynch Sendromu (LS) ilk defa 1913'de Warthin tarafından polipsiz kolon, mide ve üriner sistem kanserleri olan geniş bir ailede tanımlanmıştır. 1966 yılında Lynch ve arkadaşları tarafından Warthin'in tanımladığı aileye benzer kanserlere sahip olan geniş iki aile tespit edilmiş ve olgular literatüre Lynch sendromu olarak geçmiştir. 1984 yılında başka yazarlar ve 1985 yılında Lynch tarafından bu sendrom HNPCC olarak adlandırılmaya başlanmış. Klinik tanısını koymak için 1991 yılında Amsterdam I ve 1998 yılında Amsterdam II olarak adlandırılan kriterler belirlenmiştir. Bu kriterler 1999 yılında yenilenmiş ve revize Amsterdam kriterleri olarak kullanılaya başlanmıştır. A.B.D Ulusal Sağlık Enstitüsü 1997 yılında, Lynch sendromu ilişkili tümör varlığı nedeniyle moleküler genetik tanı uygulanması gereken bireylerin saptanması için Bethesada ölçütleri olarak adlandırılmış alternatif bir yaklaşım kılavuzu önermiştir (113, 115).

LS'nun klinik tanısında güncel olarak "modifiye Amsterdam" ve "Bethesda" ölçütlerine başvurulur. Bu ölçütler olgunun kalıtsallığı ile ilgili mutasyon saptamaya yönelik genetik test endikasyonu açısından kullanılmaktadır.

Amsterdam I Kriterleri 3-2-1 olarak da bilinen koşullarla betimlenir (112).

- En az 3 akrabada kolorektal kanser
- En az 2 kuşakta birer birinci derece akraba tutulumu
- En az 1 50 yaş altında tanı almış kolorektal kanserli aile bireyi ve ailesel adenomatöz poliplerin dışlanması.

Amsterdam II Kriterleriilk kriterlerde değişiklikle aşağıdaki gibi oluşturulmuştur (112).

- En az 3 akrabada HNPCC sendromu ilişkili kanser varlığı
- En az 2 kuşakta birer birinci derece akrabada tutulum, en az bir tanesi birinci derece akraba
- En az 1 50 yaş altında tanı almış HNPCC ilişkili kanserli aile bireyi
- Ailesel adenomatöz poliplerin dışlanması
- Tümörlerin patolojik inceleme ile doğrulanmış olması

Modifiye Amsterdam kriterleri kapsamı genişletecek şekilde tekrar oluşturulmuştur (114).

- küçük ailelerde, en az iki nesilde birinci derece akrabalarda 2 kolon kanseri olgusu, ve 55 yaş altında tanı almış bir olgu
- kolon kanseri olan iki birinci derece akraba olan ailelerde üçüncü bir akrabada 50 yaş ve altı erken başlangıçlı kanser veya endometrial kanser varlığı

Bethesda kriterleriAmsterdam kriterlerini güncel klinik deneyimlere göre baştan düzenlenerek oluşturulmuştur (115).

- Elli yaşından önce teşhis edilen kolorektal kanser varlığı
- Yaşa bakılmaksızın, aynı anda veya farklı zamanlarda kolorektal kanser veya Lynch sendromu ile ilişkili diğer tümörlerin varlığı

- Altmış yaşından önce teşhis edilen mikrosatellit instabilitesi yüksek histolojili kolorektal kanser varlığı
- Elli yaşından önce en az bir birinci derece akrabada teşhis edilen kolorektal kanser veya sendrom ilişkili tümör varlığı
- Yaşa bakılmaksızın, iki veya daha fazla akrabada herhangi bir yaşta teşhis edilen kolorektal kanser veya sendrom ilişkili tümör varlığı

2.8.4 Mikrosatellit İnstabilitesi

MSI ilk defa 1993 yılında sporadik ve ailesel kolon kanserlerinde saptanmıştır (116, 117). MSI yanlış eşleşme onarımında rol oynayan proteinleri kodlayan genlerden herhangi birinde mutasyon sonucu, ilgili genin kodladığı proteinin işlev yetersizliği ile ortaya çıkan hücresel bir fenotiptir. İnstabillite; hücrede mutasyon birikimine yol açabilecek bir DNA onarım kusurunun belirtecidir (116). HNPCC'de kolorektal kanserlerin %90'ında ve endometrial kanserlerin % 75'inde mikrosatellit instabilitesi gözlenir (118). Bu nedenle MSI testi bu hastalığın taranmasında kullanılan etkin, direkt bir tanısal yöntemdir. NCI (Ulusal Kanser Enstitüsü, A.B.D.), 1997 yılında MSI'nin saptanması için 5 farklı mikrosatellit lokusunun incelenmesini önermiştir. Hastalık ile ilişkili olmamakla birlikte bu genom bölgelerinde MMR enzim işlev bozukluğundan kaynaklanan tekrar sayısı değişiklikleri oluşur. "Bethesda paneli" olarak bilinir ve 2 mononükleotid (BAT25, BAT26) ve 3 dinükleotid (D5S346, D2S123, D17S250) tekrarlarından oluşan bu lokuslar MSI açısından incelenmesi için kullanılır (119). Doku DNA'sında yapılan incelemede bu bölgelerden yalnız birinde instabilite saptanması düşük instabilite (MSI-L = low degree of MSI); ikiden fazla lokusta instabilite saptanması durumunda ise yüksek instabiliteli (MSI-H = high degree of MSI) fenotip olarak değerlendirilir (120, 121). Yüksek instabiliteli tümör dokusu varlığı yanlış eşleşme onarım bozukluğunun işaretidir.

2004 yılında daha etkin instabilite saptama potansiyeli olduğu ileri sürülen 5 mononükleotid (NR-21, BAT 25, BAT 26, NR-24, MONO-27) ve 2 penta nükleotid'li (Penta C ve Penta D) yeni bir panel önerilmiştir (122).

MSI kolorektal ve endometrium kanserlerinin yanı sıra başka bir çok kanserde de gözlenmektedir. MSI'nin MMR yolağında görev alan genlerin mutasyonu olmaksızın epigenetik değişiklikler ile de oluştuğu gösterilmiştir. Özellikle sporadik kolorektal ve endometrium kanserlerinde MLH1 geninin promotor bölgesindeki hipermetilasyon MSI'ye neden olur (123). Ayrıca mikroRNA (miRNA) ile MSI arasında ilişki kuran araştırma sonuçları da vardır. Kolorektal kanserli hücre serilerinde yapılan bir çalışmada miR-155 ifadesi artışının MLH1 ve MSH2 ifadesinde azalmaya neden olduğu ve fenotipe MSI olarak yansıdığı gösterilmiştir (124). Başka bir çalışma miR-21 ifadesinin bir çok kanser tipinde artmış olduğu ve miR21'in özelikle kolorektal kanserlerde MSH2 ve MSH6 ifadelerini bu iki genin 3' translasyonu olmayan bölgelerine (UTR) bağlanarak gerçekleştirdiği gösterilmiştir (125).

Mikrosatellit instabilitesi gösteren veya göstermeyen kanser olguları tedaviye yanıtları açısından karşılaştırıldığında MSI-H olan tümörlerin prognozlarının daha iyi olduğu ayrıca MSI saptanan tümörlerin 5-fluorouracil'e kötü, irinotecan'a iyi yanıt verdikleri gözlenmiştir (126).

2.9 Endometrium Kanserlerinin Tedavisi

Endometrium kanserinde esas tedavi cerrahi rezeksiyondur. Rezeksiyon yöntemleri TAH-BSO (total abdominal histerektomi-bilateral salfingo ooferektomi) ve RPLND'dir (retroperitoneal lenf nodu diseksiyonu). Cerrahi rezeksiyon sonrası erken evrede adjuvan tedavi gereği yoktur. İleri lokal hastalıkta adjuvan radyoterapi ve brakiterapi uygulanmaktadır. İleri evre hastalıkta isepalyatif amaçlı kemoterapi uygulanmaktadır. Cerrahi uygulanamayan hastalara ise küratif radyoterapi ve brakiterapi uygulanır (127, 128).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya Şubat 2012-Mart 2013 tarihleri arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda neoplazi şüphesiyle endometrium biyopsisi uygulanan 100 olgu ve Eylül 2012 – Mart 2013 tarihleri arasında Etlik Zübeyde Hanım Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi,Jinekoloji ve Jinekolojik Onkoloji Kliniklerinde endometium neoplazisi nedeniyle histerektomi uygulanan 43 olgu katılmıştır. Her iki birimde yapılacak çalışma için etik kurul onayı alınmış (EK-1) ve örnekler olguların bilgilendirilmiş onamları (EK-2) ardından çalışılmıştır.

3.1 Olgular

Çalışmaya dahil edilen hastaların bilgileri Tablo 3.1 ve Tablo 3.2'de gösterilmektedir.

Tablo 3.1: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalında Endometrium Biyopsisi Yapılan Hasta Bilgileri

Olgu	**Yaş**	**Biyopsi Endikasyonu**	**Patoloji Sonucu**	**Hastada Kanser Öyküsü**		**Ailede Kanser Öyküsü**		
				Kanser	**Tanı Yaşı**	**Akrabalık**	**Kanser**	**Tanı Yaşı**
1	42	Menoraji	Sekretuar endometrium			Baba Amca	Akciğer Akciğer	68 60
2	37	Menometroraji	Sekretuar endometrium					
3	46	Hiperplazi	Düzensiz proliferatif endometrium			Baba Anne	Akciğer Pankreas	50 62
4	47	Menometroraji	Basit endometrial hiperplazi	Kolon	45	Dede Abla Hala	Kolon Meme Meme	87 43 47
5	44	Menometroraji	Reaktif hücre değişiklikleri			Anne	Endometrium, Pankreas	50
6	49	Menometroraji	Menstürel endometrium			Amca Dayı	Kolon Kolon	75 35
7	49	Menoraji	Menstürel endometrium			Baba Hala	Karaciğer Endometrium	51 40
8	49	Menometroraji	Sekretuar endometrium			Ağabey	Mide	53

9	44	Miyoma uteri	Multiple leiomiyoma nodüller			Teyze	Endometrium	41
10	32	Hiperplazi	Menstürel endometrium					
11	46	Hiperplazi	Sekretuar endometrium			Dayı	Mide	60
12	54	Hiperplazi	Endometrial polip			Hala oğlu Hala kızı	Kolon Kolon	60 57
13	37	Menometroraji	Sekretuar endometrium			Ağabey Teyze	Kolon Endometrium	49 60
14	55	Hiperplazi	Basit endometrial hiperplazi					
15	36	Hiperplazi	Basit endometrial hiperplazi					
16	44	Menoraji	Sekretuar endometrium					
17	50	Hiperplazi	Düzensiz proliferatif endometrium					
18	48	Hiperplazi	Menstürel endometrium					
19	43	Menometroraji	Düzensiz proliferatif endometrium			Amca	Akciğer	62
20	44	Menometroraji	Düzensiz proliferatif endometrium					
21	43	Menoraji	Proliferatif endometrium					
22	43	Hiperplazi	Reaktif hücre değişiklikleri					
23	51	Hiperplazi	Reaktif hücre değişiklikleri					
24	47	Postmenapozal kanama	Proliferatif endometrium					
25	42	Menoraji	Düzensiz proliferatif endometrium			Baba	Kolon, Mide	63
26	52	Hiperplazi	Endometrial polip					
27	45	Hiperplazi	Proliferatif endometrium					
28	44	Hiperplazi	Proliferatif endometrium			Baba	Akciğer	63
29	48	Menometroraji	Proliferatif endometrium					
30	50	Menoraji	Endometrial polip					

31	51	Hiperplazi	Sekretuar endometrium					
32	47	Menometroraji	Reaktif hücre değişiklikleri			Amca Amca kızı	Kolon Endometrium	90 47
33	42	Hiperplazi	Basit endometrial hiperplazi					
34	38	Hiperplazi	Proliferatif endometrium					
35	44	Menometroraji	Basit endometrial hiperplazi			Teyze Amca	Kolon Akciğer	67 67
36	41	Menoraji	Endometrial polip	Meme	35	Hala Hala kızı	Over Mide	65 47
37	53	Menometroraji	Basit endometrial hiperplazi					
38	24	Menometroraji	Basit endometrial hiperplazi					
39	47	Hiperplazi	Endometrial polip					
40	47	Hiperplazi	Sekretuar endometrium					
41	41	Hiperplazi	Sekretuar endometrium					
42	45	Menometroraji	Endometrial polip					
43	43	Menometroraji	Endometrial polip					
44	33	Menometroraji	Endometrial polip					
45	48	Hiperplazi	Menstürel endometrium			Baba	Larinks	57
46	46	Menoraji	Proliferatif endometrium					
47	41	Menoraji	Proliferatif endometrium					
48	47	Hiperplazi	Proliferatif endometrium					
49	42	Hiperplazi	Sekretuar endometrium					
50	31	Menometroraji	Proliferatif endometrium					
51	39	Menometroraji	Basit endometrial hiperplazi					

52	47	Hiperplazi	Proliferatif endometrium					
53	40	Menoraji	Sekretuar endometrium					
54	55	Hiperplazi	Endometrial polip					
55	45	Hiperplazi	Endometrial polip					
56	28	Menometroraji	Sekretuar endometrium					
57	41	Hiperplazi	Proliferatif endometrium					
58	52	Menometroraji	Sekretuar endometrium					
59	40	Miyoma uteri	Menstürel endometrium					
60	35	Menoraji	Düzensiz proliferatif endometrium					
61	48	Menoraji	Menstürel endometrium					
62	76	Postmenapozal kanama						
63	 47	 Menometroraji	 Endometrial polip			Dayı Dayı kızı Teyze	Kolon Kolon, Endometrium Kolon, Endometrium	45 48, 51 30, 50
64	46	Hiperplazi	Basit endometrialhiperplazi			Abla	Meme	48
65	64	Postmenapozal kanama						
66	42	Hiperplazi	Sekretuar endometrium					
67	46	Menometroraji	Sekretuar endometrium					
68	47	Postmenapozal kanama	Kompleks endometrial hiperplazi					
69	47	Hiperplazi	Bazal endometrial doku örnekleri					
70	43	Menoraji	Menstürel endometrium					
71	40	Menoraji	Proliferatif endometrium					
72	30	Menometroraji	Menstürel endometrium					
73	42	Hiperplazi	Endometrial polip			Anne	Karaciğer	?

74	49	Postmenapozal kanama	Basit endometrial hiperplazi					
75	36	Menometroraji	Sekretuar endometrium			Abla	Endometrium	49
76	46	Hiperplazi	Proliferatif endometrium					
77	42	Hiperplazi	Basit endometrial hiperplazi					
78	46	Menometroraji	Proliferatif endometrium					
79	Hasta bilgilerine ulaşılamadı							
80	39	Hiperplazi	Endometrial polip					
81	40	Menoraji	Basit atipik endometrial hiperplazi					
82	51	Hiperplazi	Reaktif hücreli değişiklikleri					
83	35	Menoraji	Reaktif hücre değişiklikleri			Babaanne Hala	Mide Endometrium	58 54
84	61	Postmenapozal kanama	Adenokarsinom					
85	25	Menoraji	Proliferatif endometrium					
86	35	Menometroraji	Proliferatif endometrium					
87	33	Hiperplazi	Sekretuar endometrium					
88	42	Hiperplazi	Sekretuar endometrium					
89	50	Menometroraji	Düzensiz proliferatif endometrium					
90	42	Menometroraji	Endometrial polip					
91	35	Menometroraji	Proliferatif endometrium					
92	Hasta bilgilerine ulaşılamadı							
93	48	Hiperplazi	Düzensiz proliferatif endometrium					
94	46	Menometroraji	Proliferatif endometrium					
95	49	Menometroraji	Endometrial polip					
96	49	Hiperplazi	Sekretuar endometrium					

97	43	Menometroraji	Basit endometrial hiperplazi					
98	46	Hiperplazi	Sekretuar endometrium					
99	34	Hiperplazi	Sekretuar endometrium					
100	48	Hiperplazi	Sekretuar endometrium					

Tablo 3.2: Etlik Zübeyde Hanım Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Jinekolojik Onkoloji Kliniğinde Kanser Tanısı Konulan ve Histerektomi Uygulanan Hasta Bilgileri

Olgu	Tanı Yaşı	Patoloji Sonucu	Evresi	Derecesi (Grade)	Çocuk Sayısı	Hastada Kanser Öyküsü		Ailede Kanser Öyküsü		
						Kanser	Tanı Yaşı	Akrabalık	Kanser	Tanı Yaşı
1	44	Endometrioid adenokarsinom	IA	1	2					
2	52	Kompleks endometrial hiperplazi			4			Baba Anne	Cilt Kolon	72 41
3	42	Endometrioid adenokarsinom	IA		3					
4	67	Endometrioid adenokarsinom	IA	1	6					
5	54	Endometrioid adenokarsinom	IA	3	0					
6	62	Endometrioid adenokarsinom	IA	1	2					
7	64	Seröz adenokarsinom	IIIC	2	3					
8	60	Karsinosarkom	IIIC		2					
9	68	Endometrioid adenokarsinom	IA	1	5			Abla Abla Kardeş Abla Kızı Abla Kızı	Endometrium Endometrium Endometrium Endometrium Endometrium	40 55 45 50 52
10	49	Karsinosarkom	IVB		4					
11	80	Endometrioid adenokarsinom	IB	1	2			Ağabey	Akciğer	73
12	61	Karsinosarkom	IIIC		2					
13	53	Endometrioid adenokarsinom	IB	2	6					

14	47	Endometrioid adenokarsinom	IA	1	0					
15	58	Endometrioid adenokarsinom	IB	3	0					
16	68	Berrak hücreli karsinom	IA		4					
17	43	Endometrioid adenokarsinom	IIIA	1	0					
18	58	Endometrioid adenokarsinom	IA	2	0			Baba Hala Amca Kardeş Yeğen	Kolon Kolon Karaciğer Mesane Kolon	57 47 68 50 20
19	46	Berrak hücreli karsinom	II		2					
20	65	Endometrioid adenokarsinom	IA	1	3					
21	Hasta bilgilerine ulaşılamadı									
22	83	Endometrioid adenokarsinom	IB	1	4			Ağabey Ağabey	Kolon Kolon	? ?
23	60	Endometrioid adenokarsinom	IB	1	3					
24	54	Endometrioid adenokarsinom	IA	1	0					
25	60	Endometrioid adenokarsinom	IA	2						
26	50	Endometrioid adenokarsinom	IA	2						
27	63	Seröz Adenokarsinom	IIIC		4					
28	55	Endometrioid adenokarsinom	IA	1	0					
29	64	Kompleks atipik endometrial hiperplazi								
30	47	Mikst(Musinöz+Endometrioid adenokarsinom)	II	1	4					
31	52	Endometrioid adenokarsinom	IA	1	2					
32	47	Endometrioid adenokarsinom	IA	1	3					

33	60	Endometrioid adenokarsinom	IA	1	2					
34	64	Karsinosarkom	IA		6					
35	69	Berrak hücreli karsinom	IIIC		2					
36	58	Endometrioid adenokarsinom	IA	1	2					
37	57	Karsinosarkom	IA		2					
38	55	Endometrioid adenokarsinom	IIIC	1	5					
39	49	Endometrioid adenokarsinom	IA	1	3					
40	68	Seröz adenokarsinom	IA		2					
41	61	Musinöz adenokarsinom	IA	1	3	Over	61			
42	58	Endometrioid adenokarsinom	IA		2					
43	61	Endometrioid adenokarsinom	IB	1	1					

3.2 Yöntem

3.2.1 Kullanılan Cihazlar

- MagNa Pure LC 2.0 (Roche Applied Science)
- 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystem)
- Mastercycler Gradient (Eppendorf)
- Autovortex Mixer SA2 (Stuart Scientific)
- M-240 R (BOECO Germany)
- Su Banyosu SBS 40 (Stuart)

3.2.2 Kullanılan Kimyasallar

- Promega MSI analiz sistem, versiyon 1.2
  - Gold ST*R 10X Tampon
  - MSI 10X Primer Karışımı
  - Nükleaz İçermeyen Su
  - AmpliTaq Gold® DNA Polimeraz (5u/µl)
  - Hi-Di™ Formamid
  - Internal Line Standard 600
  - K562 High Molecular Weight DNA (10ng/µl)
  - PoverPlex® Matrix Standards, 3100/3130 DG4650
- Etanol
- Proteinaz K
- RNaz A
- Pure Link Genomic/Lysis Binding Buffer
- Pure Link Genomic Digestion Buffer
- Elusyon Tamponu
- Yıkama Tamponu I

- Yıkama Tamponu II

3.2.3 Test Protokolleri

3.2.3.1 DNA Eldesi

3.2.3.1.1 Periferik Kandan DNA Eldesi

1. Periferik kandan DNA eldesi için tam otomatize MagNa Pure LC 2.0 cihazı kullanıldı.
2. Aynı anda 32 örnek çalışıldı.
3. Her olgu için örnek kartuşuna 1 ml periferik kan dolduruldu.
4. Cihazda tanımlı olan bölgelere (32 örnek için) eklenen kapsam aşağıdaki gibidir:
   - Yıkama tamponu I: 89,6 ml
   - Yıkama tamponu II: 52,8 ml
   - Yıkama tamponu III: 29,6 ml
   - ‘‘Lysis/binding buffer’’: 30,4 ml
   - Manyetik partikül: 21,6 ml
   - Elusyon tamponu: 20 ml
   - Proteinaz K: 5,2 ml

3.2.3.1.2 Dokudan DNA Eldesi

1. 50 µg taze doku steril şartlarda parçalandıktan sonra 1,5 ml’lik ependorf tüplerine alındı.

2. 180 µl ‘‘Pure Link Genomic Digestion Buffer’’ ve 20 µl Proteinaz K dokuya eklendikten vorteks ile karıştırıldı.

3. 55 ^{o}C de gece boyunca su banyosunda inkübe edildi.

4. Tüpler 24000 g'de 3 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatan (çözünen kısım) yeni steril 1,5 ml tüpe aktarıldı
5. 20 µl RNase A tüpe eklendi oda sıcaklığında vorteks ile karıştırıldıktan sonra 2 dakika bekletildi.
6. 200 µl ''Pure Link Genomic Lysis/Binding Buffer'' tüplere eklendikten sonra vortek ile karıştırıldı.
7. 200 µl % 96'lık etanol tüplere eklendikten sonra vorteks ile karıştırıldı.
8. Tüpteki karışım spin kolona aktarıldı.
9. Kolon 10000 g'de 1 dakika santrifüj edildi.
10. Toplama tüpleri yenisi ile değiştirildi.
11. 500 µl Yıkama tamponu I spin kolona eklendi ve kolon 10000 g'de 1 dakika santrifüj edildi.
12. 500 µl Yıkama Tamponu II spin kolona eklendi ve kolon 240000 g'de 3 dakika santrifüj edildi.
13. Kolon steril 1,5 ml lik ependorf tüplere yerleştirildi.
14. 200 µl Elusyon tamponu spin kolona aktarıldıktan sonra oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edildi**.**
15. Toplanan DNA örnekleri steril 1,5 ml lik tüplerin içinde -20 ^{o}C'de saklandı.

Doku ve periferik kandan elde edilen DNA örnekleri NanoDrop 1000 Spectrophotometer cihazı saflık ve nicelik açısından ölçüldü; örnekler inceleme aşamasına kadar -20 ^{o}C'de saklandı.

3.2.3.2 Polimeraz Zincir Reaksiyonu

MSI fragman analizi için multipleks polimeraz zincir reaksiyonu uygulanmıştır. Yedi farklı lokusa ait primer çiftleri kullanılarak reaksiyon gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonda çoğaltılan lokusların özelikleri Tablo 3.3'te gösterilmiştir.

3.2.3.3 Polimeraz Zincir Reaksiyonunda Kullanılan Kimyasalların Miktarları

MSI fragman analizi için 7 farklı lokusun çoğaltılması için AmpliTaq Gold® DNA Polimeraz (5u/µl) kullanılmıştır. PZR'de kullanılan kimyasallar ve miktarları Tablo 3.4'te gösterilmiştir.

3.2.3.4 Polimeraz Zincir Reaksiyon Koşulları

MSI fragman analizi için 7 farklı lokus için mültipleks PZR yapılmıştır. Multipleks PZR'nu için uygulanan sıcaklık ve süreleri Tablo 3.5'te gösterilmiştir.

Tablo 3.3: MSI Fragman Analizi için Hedeflenen Lokuslar ve Dizi Özellikleri

Marker Adı	Gen Bank Numarası	Major Tekrar Sekansı	Baz Aralığı(bp)	K562 Alleller(bp)	Primer Boyaları
NR-21	XM_033393	(A)21	94–101	101	JOE
BAT-26	U41210	(A)26	103–115	113	FL
BAT-25	L04143	(A)25	114–124	122	JOE
NR-24	X60152	(A)24	130–133	130	TMR
MONO-27	AC007684	(A)27	142–154	150	JOE
Penta C	AL138752	(AAAAG)3–15	143–194	164, 174	TMR
Penta D	AC000014	(AAAAG)2–17	135–201	168, 187	FL

Tablo 3.4: MSI Fragman Analizi için 7 Lokusun Çoğaltılmasında Kullanılan Kimyasallar ve Hacimleri

Kimyasal	**Hacim (µl)**
AmpliTaq Gold® DNA Polimeraz (5u/µl)	0,15
MSI 10X Primer Karışımı	1
Gold ST*R 10X Tampon	1
Nükleaz İçermeyen Su	5,85
DNA	2(1 ng/ µl)
Toplam	10

Tablo 3.5 : MSI Fragman Analizi İçin PZR Koşulları

		Sıcaklık (^{o}C)	**Süre**
1		95	11 dk
2		96	1 dk
3		94	30 sn
10 Döngü	4	58	30 sn
	5	70	1 dk
20 Döngü	6	90	30 sn
	7	58	30 sn
	8	70	1 dk
9		60	30 dk
10		4	∞

3.2.4 Fragman Analizi

Fragman analizi, Applied Biosystems 3130 Genetic Analyzer cihazı kullanılarak yapıldı. 10 µL'lik PZR üründen 1 µL alınıp 9 µL formamid ve 1 µL ILS (internal line standart 600) 96 kuyulu plaklara eklendi ve karıştırıldı. Ardından 95 ^{o}C'de 3 dakika ve -

20^{o}C'de 3 dakika denatürasyon işlemi gerçekleştirilir. Plakla bileşenleri doğru bir şekilde bir araya getirilerek otomatik örnek toplayıcı üzerine B pozisyonunda yerleştirildi. Elektroforez fragman analizi modunda POP-7 polimeri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Fragman analizi için "Gene Mapper Microsatellite"yazılımı versiyon 4.0 ve 4.1 kullanılmıştır. Tablo 3.3'te dizi özellikleri ve allel sıklıkları baz alınarak yedi MS lokusunun değerlendirmesi gösterilmiştir. Baz aralığı ve allel frekansı beklenen aralıkta çıkmayan örnekler tekrar incelenmeye alınmıştır.

MSI pozitifliği için her lokusun doku ve periferik kan kökenli inceleme sonuçları karşılaştırılmıştır. Doku DNA'larında 3 bç ve üstünde fragman varlığı MSI pozitifliği şeklinde değerlendirilmiştir. Penta C ve Penta D lokusları populasyonda 1-3 arası değişen sayıda pikler şeklinde varyasyon göstermekte olduğundan bu polimorfik özellik, örneklerin kontaminasyon kontrolu olarak da kullanılmıştır.

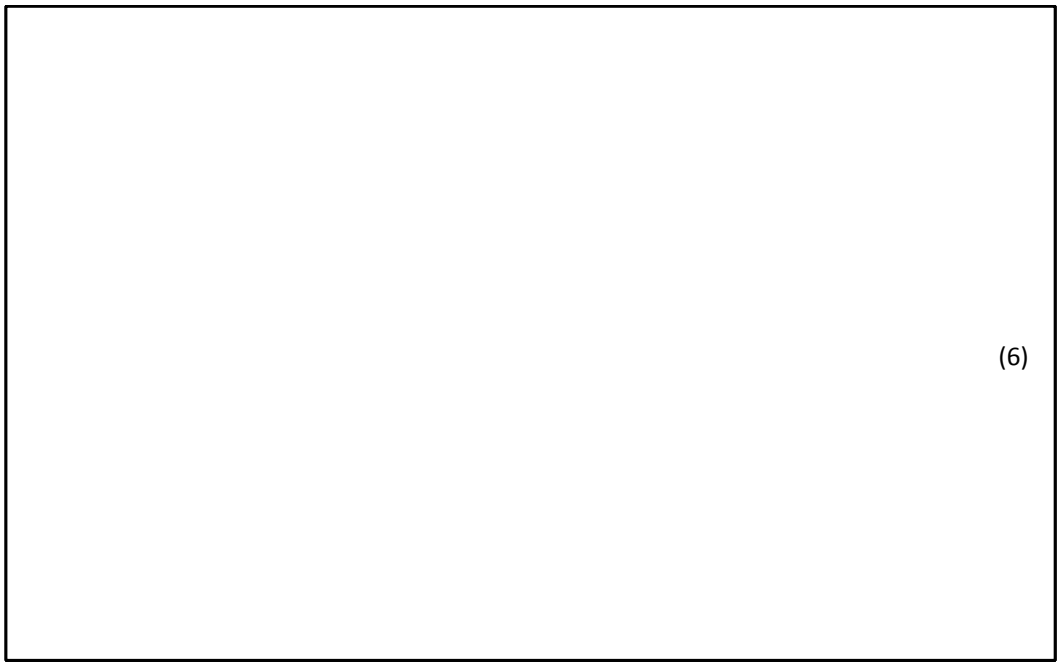
3.2.5 İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 18 paket programı kullanıldı. Elde edilen verilerin tablolaştırılmasının ardından; MSI pozitif olan olgular ile diğer parametrelerin karşılaştırılmasında Fisher'in ekzak testi kullanılmış ve p değeri hesaplanmıştır. Anlamlılık için $p<0,05$ olarak kabul edilmiştir.

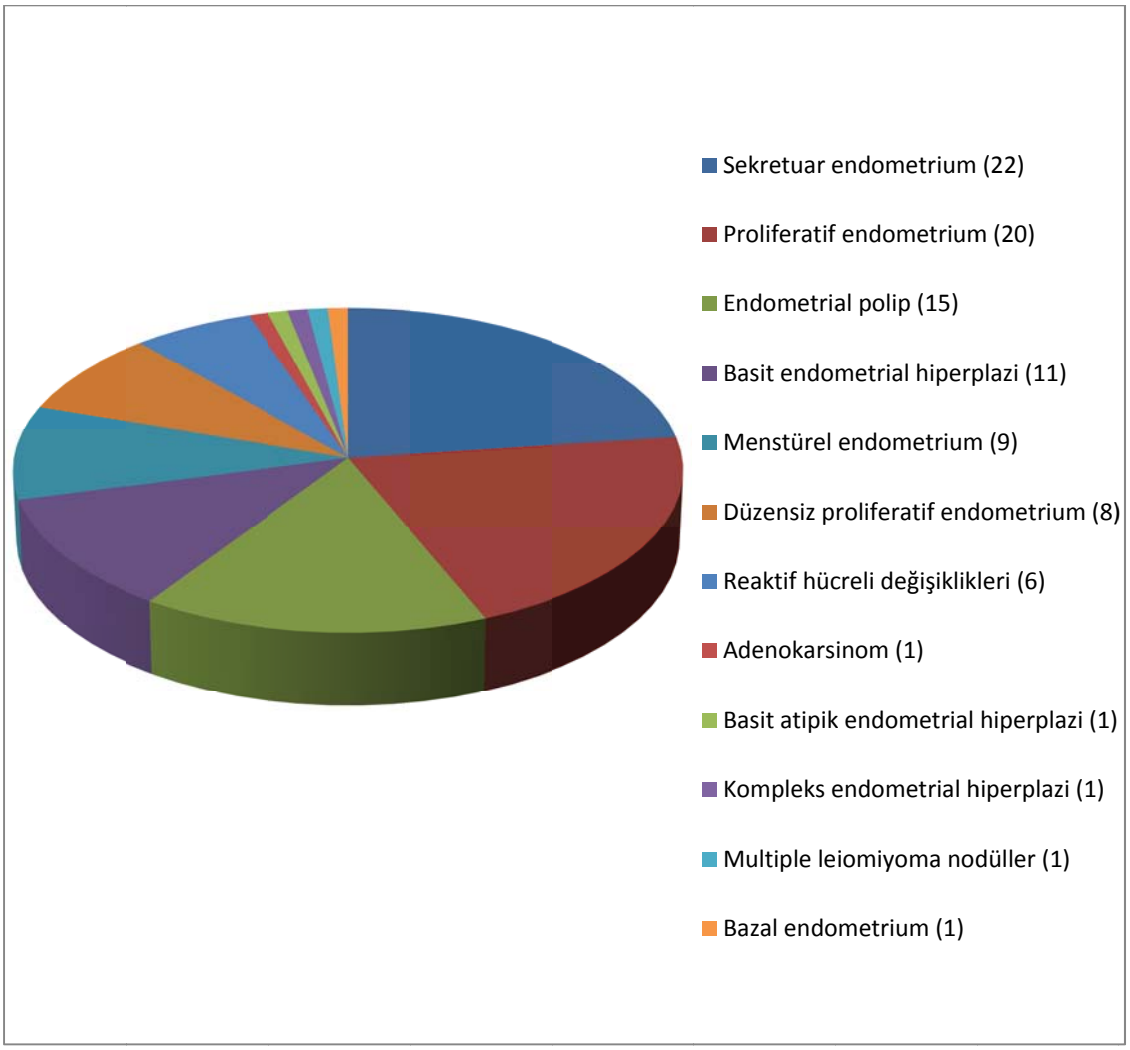
4. BULGULAR

4.1 Neoplazi Şüphesi Nedeniyle Endometrium Biyopsileri Yapılan Hasta Grubu

Neoplazi şüphesi nedeniyle endometrium biyopsileri yapılan 100 olgunun yaşları, biyopsi endikasyonu, patoloji sonucu ve ailelerinde kanser öyküleri Tablo 3.1'de gösterilmiştir. Olgu 79 ve 92'nin bilgilerine ulaşılamamıştır. Hastaların biyopside ortalama yaşı 44,1 (24-76) olarak hesaplanmıştır. Postmenapozal kanama nedeniyle biyopsi yapılan olgu 62 ve 65'in patoloji sonucuna ulaşılamamıştır. Hastaların biyopsi endikasyonları ve patoloji sonuçlarıile oran ilişkisi Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



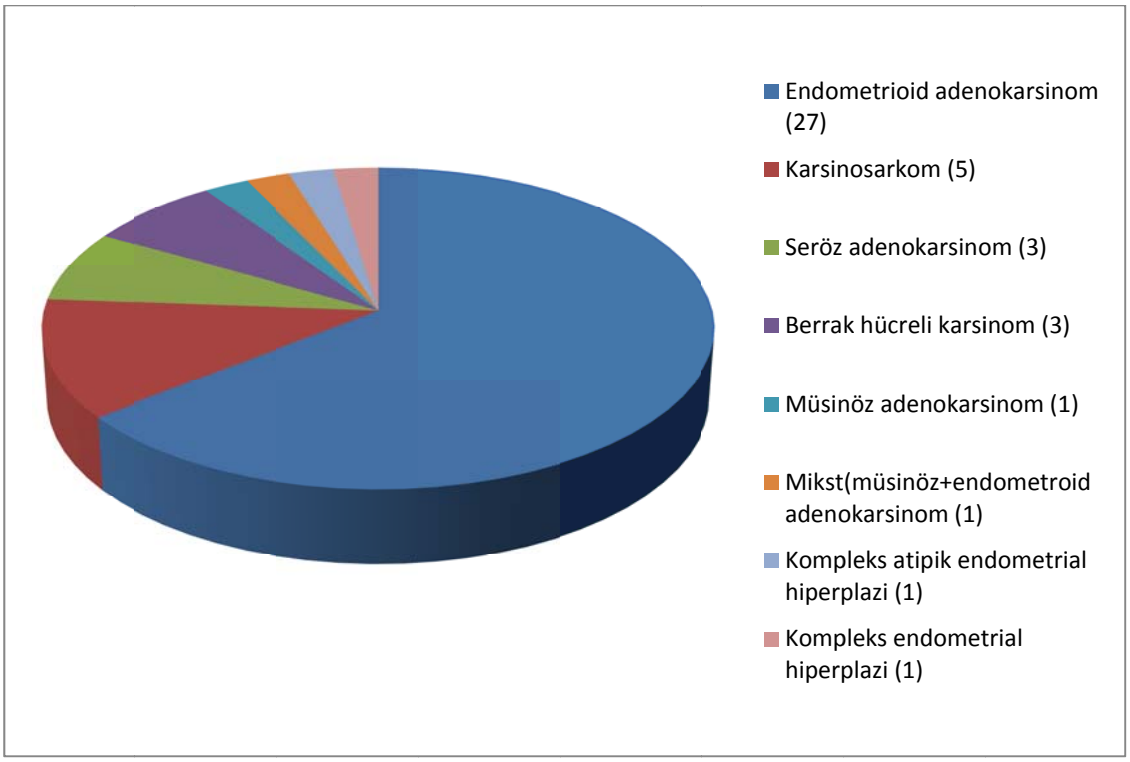
Şekil 4.1: Endometrium Biyopsisi Endikasyonları ve Oranları



Şekil 4.2: Endometrium Biyopsilerinin Patoloji Sonuçları ve Oranları

4.2 Kanser Tanısı Konulan ve Histerektomi Yapılan Hasta Grubu

Kanser tanısı konulan ve histerektomi yapılan 43 olgunun yaşları, patoloji sonuçları, evreleri, dereceleri (grade) ve ailelerinde kanser öyküleri Tablo 3.2'de gösterilmiştir. Olgu 21'in bilgilerine ulaşılamamıştır. Hastaların patolojik alt tipleri ve oranları Şekil4.3'te gösterilmiştir. Bu gruptaki hastaların ortalama tanı yaşı 58 (41-83) olarak hesaplanmıştır.



Şekil4.3: Histerektomi Yapılan Hastaların Patoloji Sonuçları ve Oranları

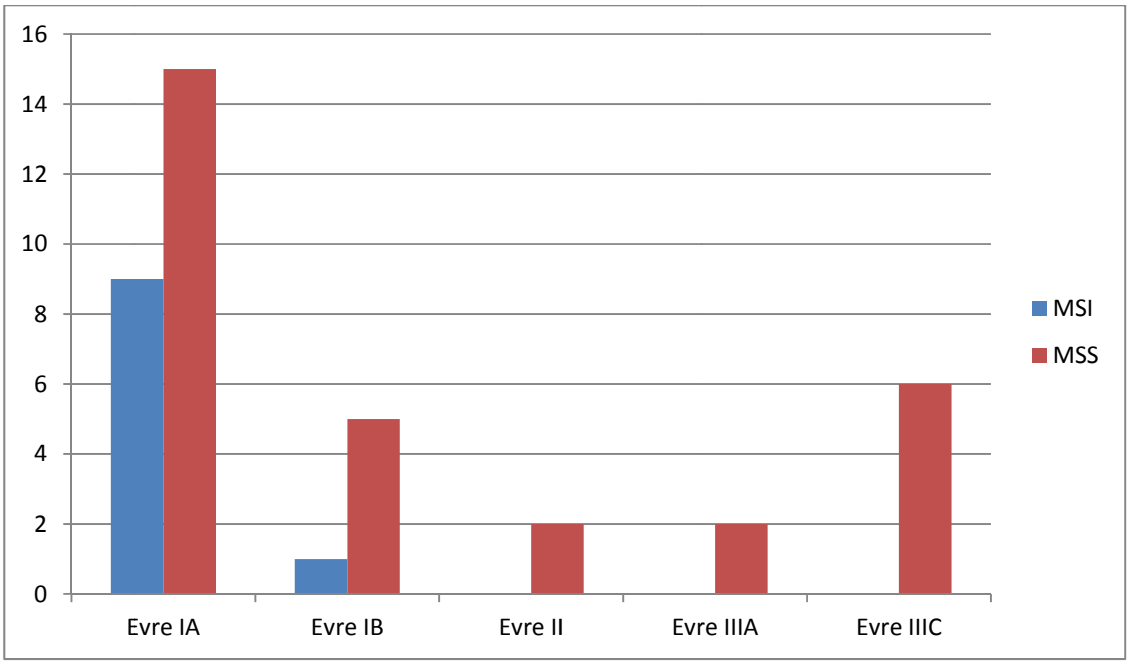
4.3 MSI için Fragman Analizi ve Sonuçları

Endometrium biyopsisi yapılan 100 hastadan birinde (Olgu 14*) ve histerektomi yapılan 43 hastadan 10'unda (Olgu 9, Olgu 11, Olgu 14, Olgu 15, Olgu 25, Olgu 26, Olgu 28, Olgu 32, Olgu 33 ve Olgu 39) MSI saptanmıştır. Bu olgular en az iki lokusta instabilite gösterdiği için MSI-H olarak değerlendirilmiştir. MSI pozitif olgular Tablo 4.1'de gösterilmiştir. Endometrium biyopsili MSI-H pozitifolgunun patoloji sonucu basit endometrial hiperplazi olarak rapor edilmişti. Histerektomi sonucu dokularında MSI-H pozitif olguların tümünün patoloji sonuçları endometrioid adenokarsinom olarak saptanmıştır.

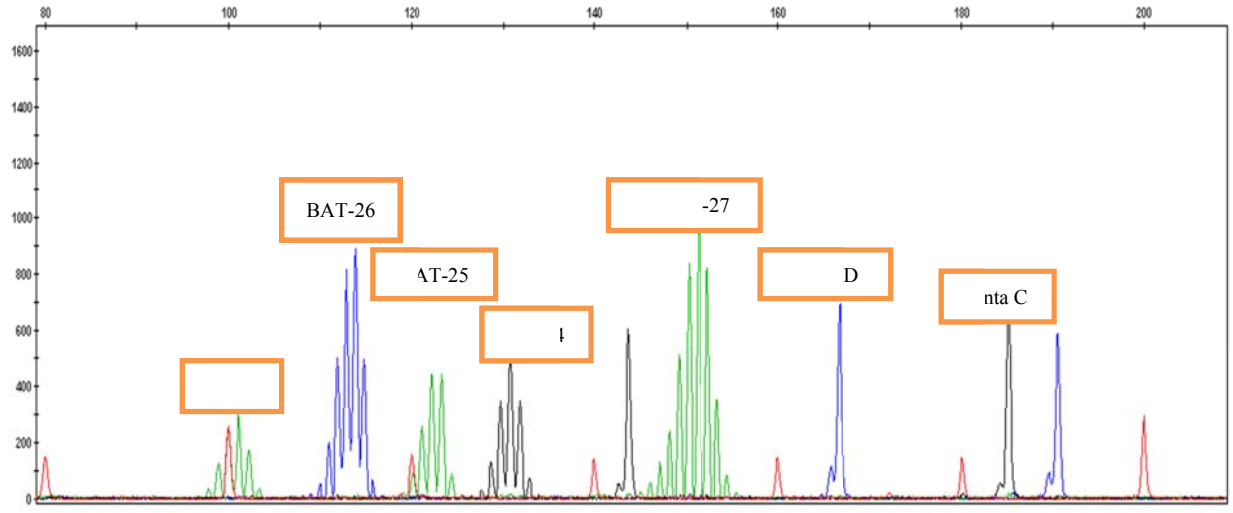
Tablo 4.1: Olgularda Pozitif Saptanan MSI Lokusları

Olgular	MSI Lokusları						
	NR-21	BAT-26	BAT-25	NR-24	MONO-27	Penta-C	Penta-D
Olgu 9	+	+	+		+		
Olgu 11		+	+	+	+		
Olgu 14	+	+	+		+		
Olgu 15	+	+	+	+	+		+
Olgu 25	+	+		+			
Olgu 26		+		+	+		
Olgu 28	+	+	+				
Olgu 32	+	+		+			
Olgu 33		+	+		+		
Olgu 39	+	+					+
Olgu 14*						+	+

(*) Endometrium biyopsisi

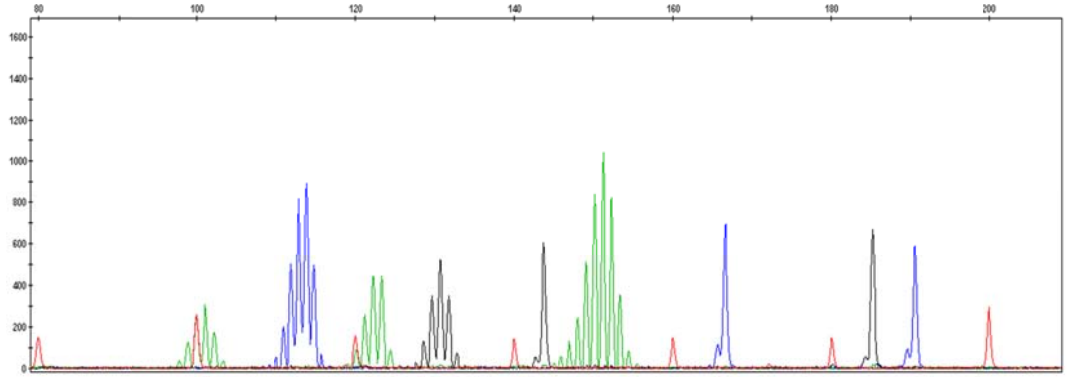


Şekil 4.4: MSI Pozitif Olgularla Normal Olguların Evrelere Göre Dağılımı

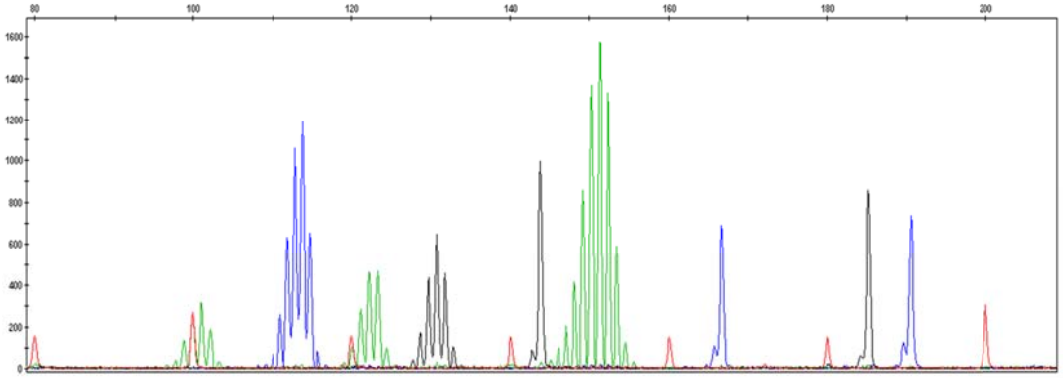


Şekil 4.5: MSI Analizi İçin Lokusların Elektroferogram Görüntüsü

A



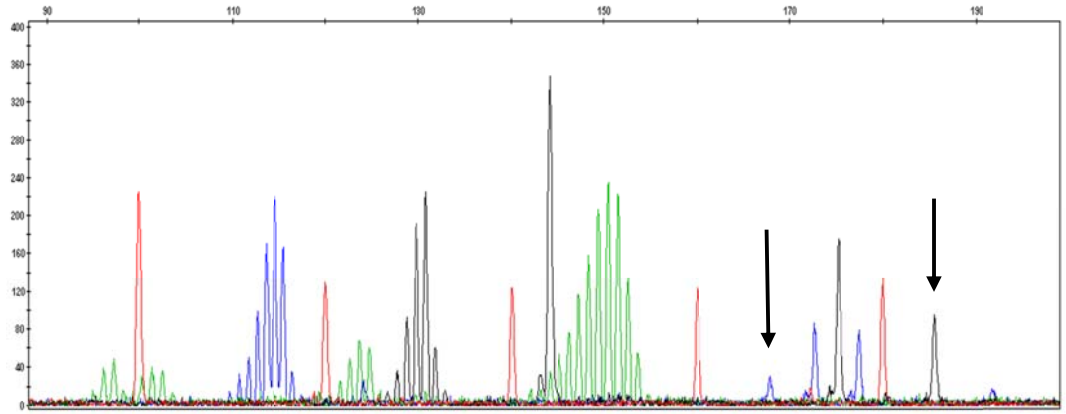
B



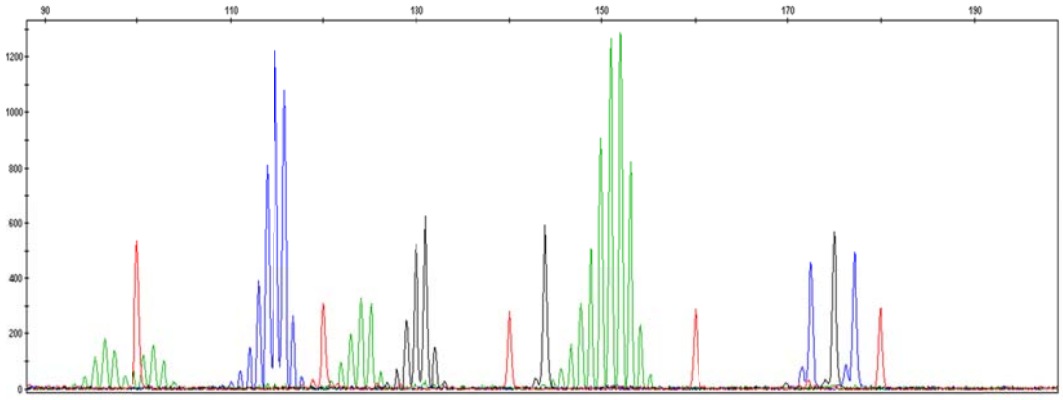
Şekil 4.6: MSS (A: doku; B: periferik kan) Elektroferogram Görüntüsü

Olgu 14*: Basit endometrial hiperplazi patoloji sonuçlu 55 yaşındaki olguda ve akrabalarında herhangi bir kanser öyküsü yoktu. Olgununendometrium dokusu ve periferik kanından elde edilen DNA'larda yapılan MSI lokusları fragman analizinde Penta-C ve Penta-D'de instabilite saptanmıştır (Şekil 4.7).

A

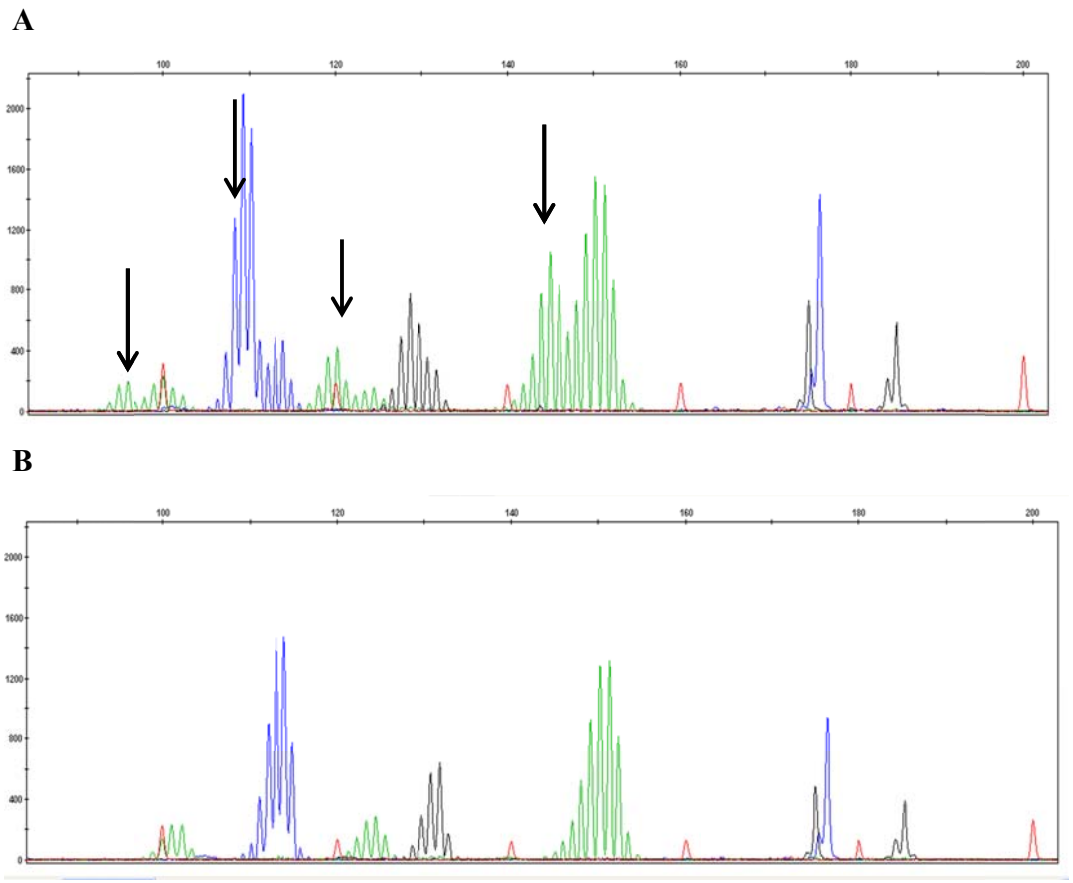


B



Şekil 4.7: Olgu 14*'ün (A: doku; B: periferik kan) elektroferogram görüntüsü okla gösterilen pikler sırasıyla Penta D ve Penta C'de instabiliteye işaret etmektedir.

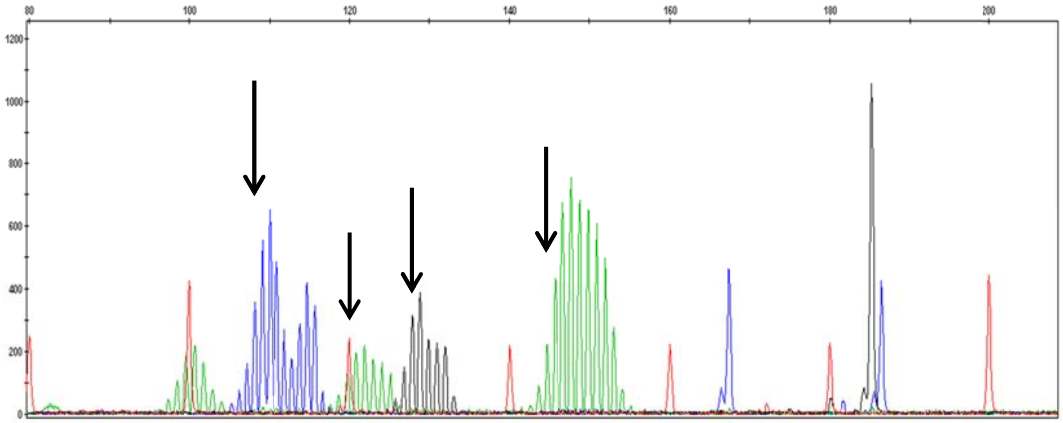
Olgu 9: Kanser tanısı alan histerektomili bu hastanın cerrahi sonrası patoloji raporu endometrioid adenokarsinom, Evre IA ve Grade 1 olarak verilmişti. Beş çocuklu 68 yaşındaki hastanın üç kardeşinde tanı yaşları 40, 45 ve 55 olmak üzere endometrium kanseri öyküsü vardır. Ayrıca bu kardeşlerden ikisinin de birer kızı 50 ve 52 yaşlarında endometrium kanseri tanısı almışlardı. Hastanın kanserli dokusu ve periferik kanında karşılaştırmalı yapılan fragman analizinde NR-21, BAT-26, BAT-25 ve MONO-27 lokuslarında instabilite saptanmıştır (Şekil 4.8).



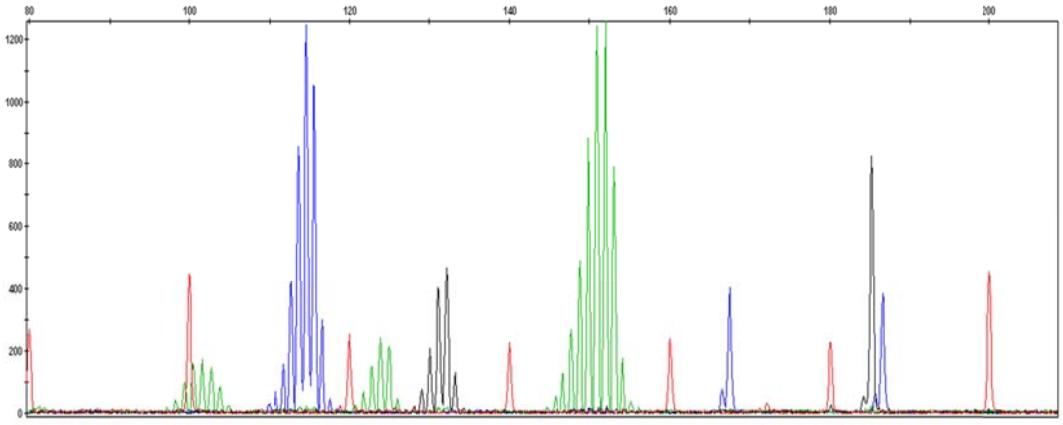
Şekil 4.8: Olgu 9'un(A: doku; B: periferik kan) elektroferogram görüntüsü okla gösterilen pikler sırasıyla NR-21, BAT-26, BAT-25 ve MONO-27'de instabiliteyi işaret etmektedir.

Olgu 11: Kanser tanısı alan histerektomili bu hastanın cerrahi sonrası patoloji raporu endometrioid adenokarsinom, Evre IB ve Grade 1 olarak verilmişti. İki çocuklu 80 yaşındaki hastanın akrabalarında herhangi bir kanser öyküsü yoktu. Hastanın kanserli dokusu ve periferik kanında karşılaştırmalı yapılan fragman analizinde BAT-26, BAT-25, NR-24 ve MONO-27 lokuslarında instabilite saptanmıştır (şekil 4.9).

A

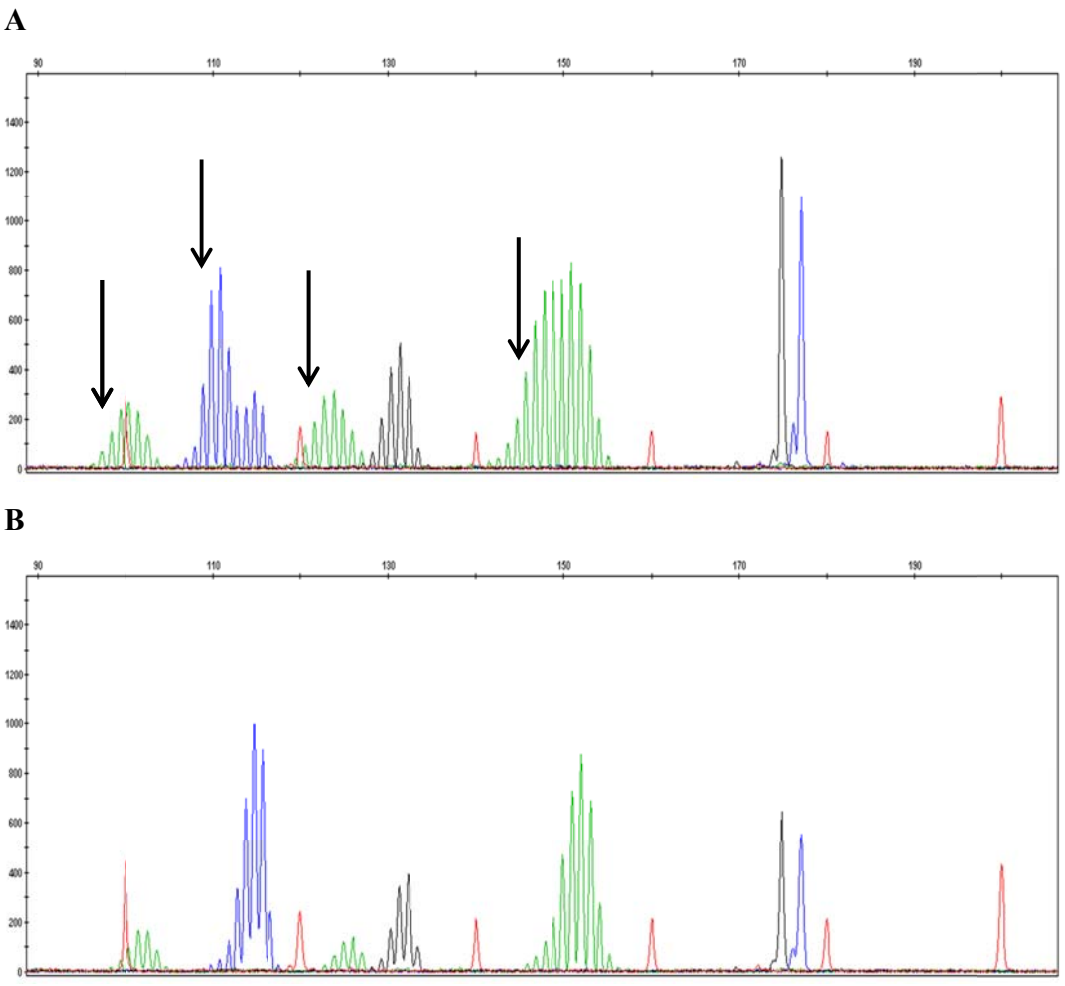


B



Şekil 4.9: Olgu 11'in (A: doku; B: periferik kan) elektroferogram görüntüsü okla gösterilen pikler sırasıyla BAT-26, BAT-25, NR-24 ve MONO-27'de instabiliteyi işaret etmektedir.

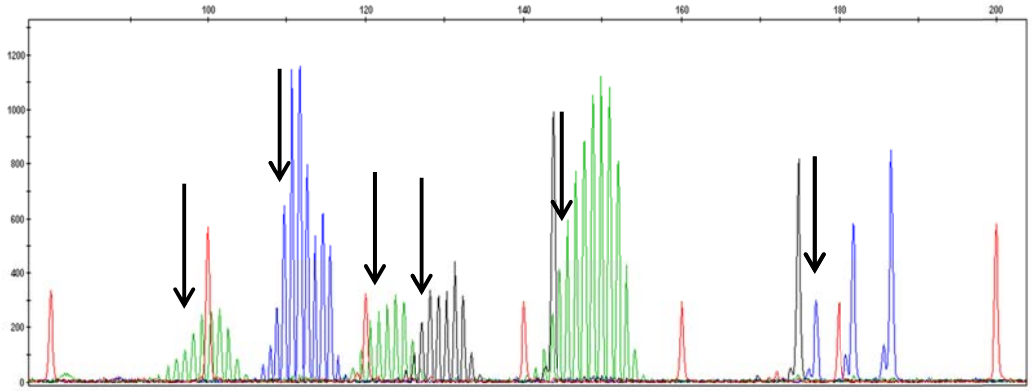
Olgu 14: Kanser tanısı alan ve histerektomili bu hastanın cerrahi sonrası patoloji raporu endometrioid adenokarsinom, Evre IA ve Grade 1 olarak verilmişti. Çocuğu olmayan 47 yaşındaki hastanın akrabalarında herhangi bir kanser öyküsü yoktu. Hastanın kanserli dokusu ve periferik kanında karşılaştırmalı yapılan fragman analizinde NR-21, BAT-26, BAT-25, ve MONO-27 lokuslarında instabilite saptanmıştır (Şekil 4.10).



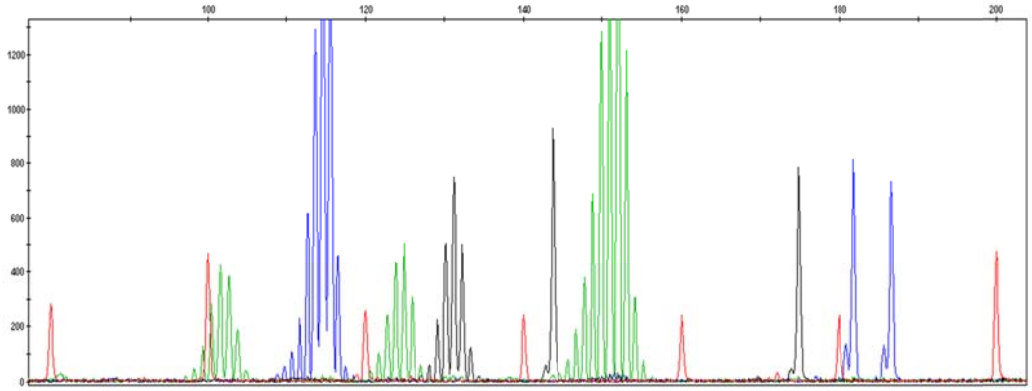
Şekil 4.10: Olgu 14'ün(A: doku; B: periferik kan) elektroferogram görüntüsü okla gösterilen pikler sırasıyla NR-21, BAT-26, BAT-25 ve MONO-25'de instabiliteyi işaret etmektedir.

Olgu 15: Kanser tanısı alan ve histerektomili bu hastanın cerrahi sonrası patoloji raporu endometrioid adenokarsinom, Evre IB ve Grade 3 olarakverilmişti. Çocuğu olmayan 58 yaşındaki hastanın akrabalarında herhangi bir kanser öyküsü yoktu. Hastanın kanserli dokusu ve periferik kanında karşılaştırmalı yapılan fragman analizinde NR-21, BAT-26, BAT-25, NR-24, MONO-27 ve Penta-D lokuslarında instabilite saptanmıştır (Şekil 4.11).

A

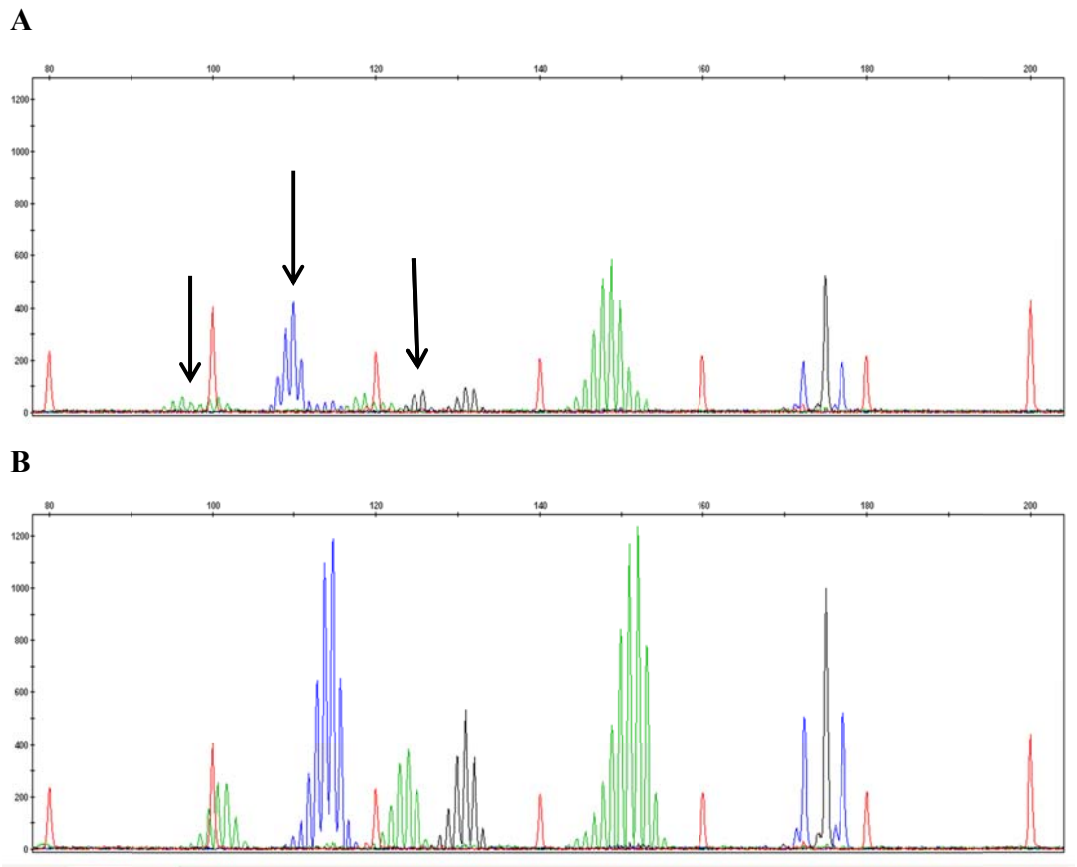


B



Şekil 4.11: Olgu 15'in(A: doku; B: periferik kan) elektroferogram görüntüsü okla gösterilen pikler sırasıyla NR-21, BAT-26, BAT-25, NR-24, MONO-25 ve Penta D'de instabiliteyi işaret etmektedir.

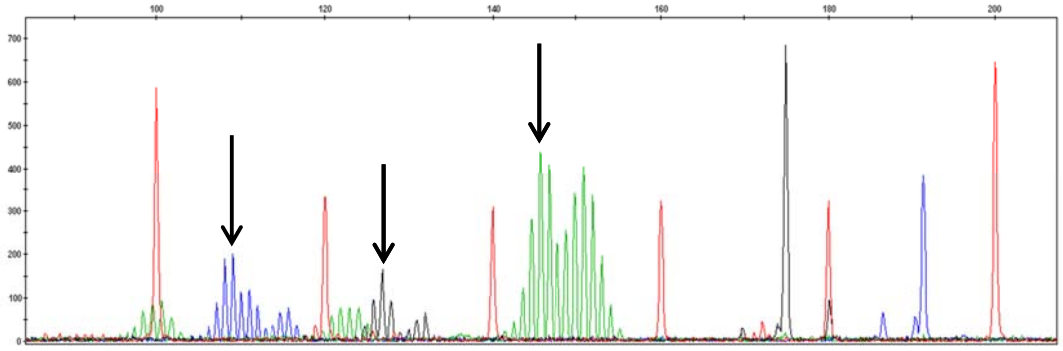
Olgu 25: Kanser tanısı alan ve histerektomili bu hastanın cerrahi sonrası patoloji raporu Endometrioid adenokarsinom, Evresi IA ve Grade 2 olarakverilmişti. 60 yaşındaki hastanın; akrabalarında herhengi bir kanser öyküsü yoktu. Hastanın kanserli dokusu ve periferik kanında karşılaştırmalı yapılan fragman analizinde NR-21, BAT-26 ve NR-24 lokuslarında instabilite saptanmıştır (Şekil 4.12).



Şekil 4.12: Olgu 25'in(A: doku; B: periferik kan) elektroferogram görüntüsü okla gösterilen pikler sırasıyla NR-21, BAT-26, ve NR-24'de instabiliteyi işaret etmektedir.

Olgu 26: Kanser tanısı alan ve histerektomili bu hastanın cerrahi sonrası patoloji raporu endometrioid adenokarsinom, Evresi IA ve Grade 2 olarak verilmişti. 50 yaşındaki hastanın, akrabalarında herhangi bir kanser öyküsü yoktu. Hastanın periferik kanına ulaşamamış, fragman analizi kanserli dokuda yapılmıştır. Bu nedenle karşılaştırma yapılamamış ancak üç lokusta pikler beklenen yerin dışına taşınca (BAT-26, NR-24 ve MONO-27) instabilite olarak değerlendirildi (Şekil 4.13).

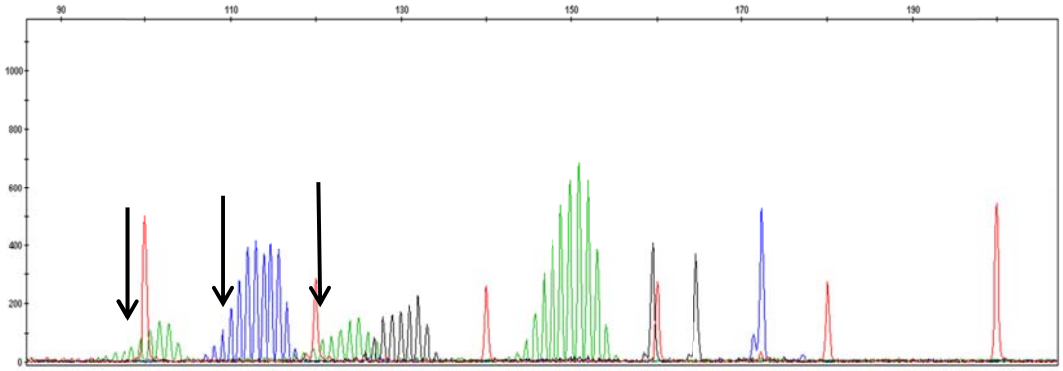
A



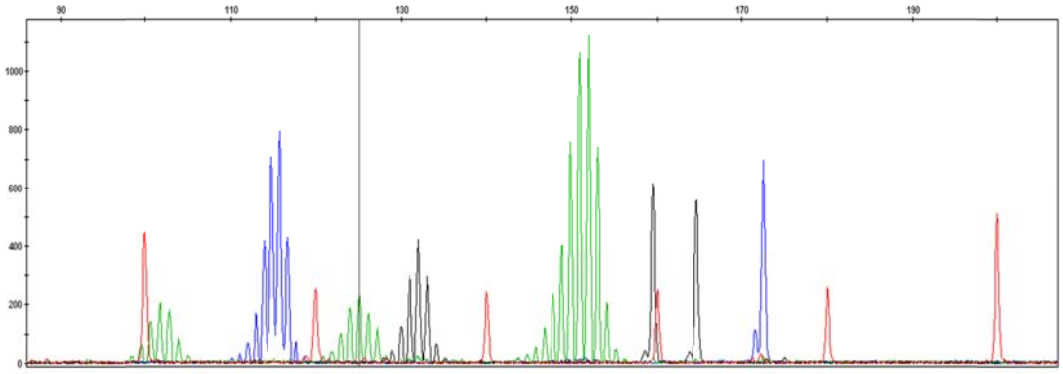
Şekil 4.13: Olgu 26'nın(A: doku) elektroferogram görüntüsü oklagösterilen pikler sırasıyla BAT-26, NR-24 ve MONO-27'de instabiliteyi işaret etmektedir.

Olgu 28: Kanser tanısı alan ve histerektomili bu hastanın cerrahi sonrası patoloji raporu endometrioid adenokarsinom, Evre IA ve Grade 1 olarak verilmişti. 55 yaşındaki çocuksuz hastanın akrabalarında herhangi bir kanser öyküsü yoktu. Hastanın kanserli dokusu ve periferik kanında karşılaştırmalı yapılan fragman analizinde NR-21, BAT-26 ve BAT-25 lokuslarında instabilite saptanmıştır (Şekil 4.14).

A



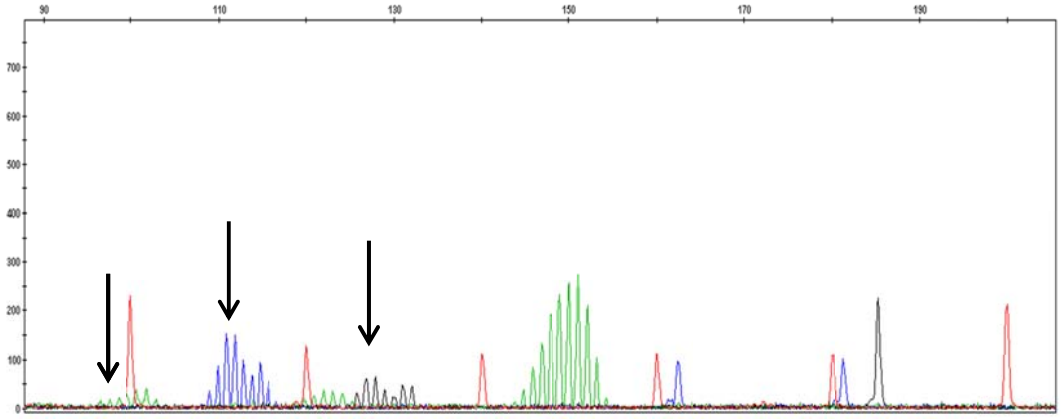
B



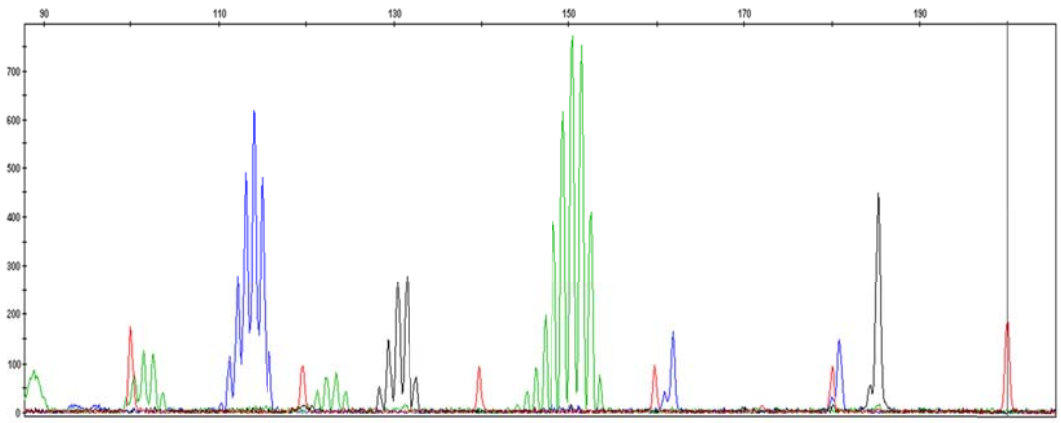
Şekil 4.14: Olgu 28'in(A: doku; B: periferik kan) elektroferogram görüntüsü okla gösterilen pikler sırasıyla NR-21, BAT-26 ve BAT-25'de instabiliteyi işaret etmektedir.

Olgu 32: Kanser tanısı alan ve histerektomili bu hastanın cerrahi sonrası patoloji raporu endometrioid adenokarsinom, Evre IA ve Grade 1 olarak verilmişti. Üç çocuklu 47 yaşındaki hastanın akrabalarında herhangi bir kanser öyküsü yoktu. Hastanın kanserli dokusu ve periferik kanında karşılaştırmalı yapılan fragman analizinde NR-21,BAT-26 ve NR-24 lokuslarında instabilite saptanmıştır (Şekil 4.15).

A



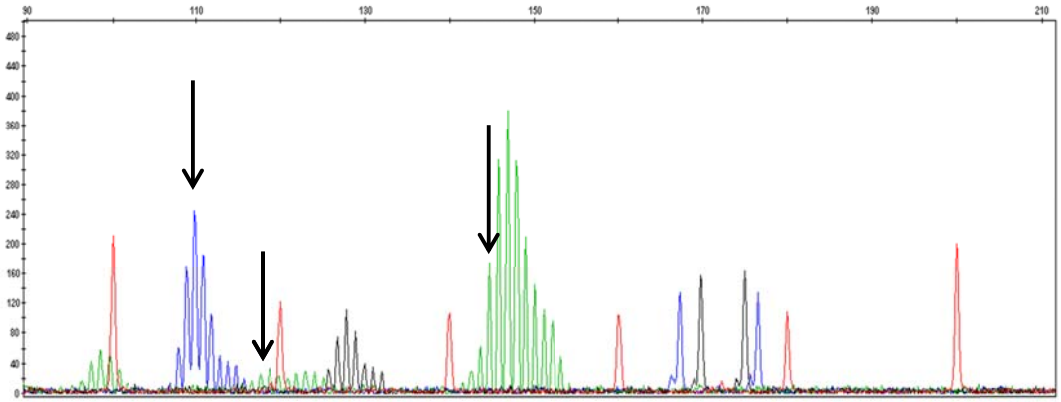
B



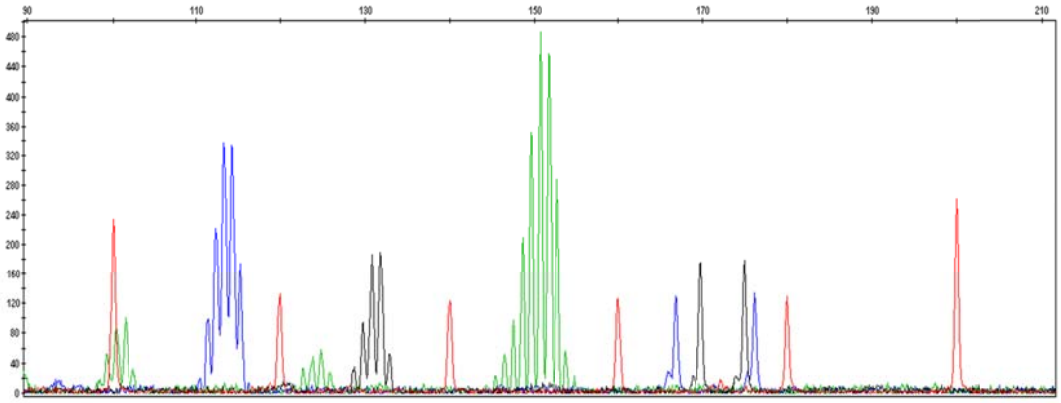
Şekil 4.15: Olgu 32'nin(A: doku; B: periferik kan) elektroferogram görüntüsü okla gösterilen pikler sırasıyla NR-21, BAT-26 ve NR-24'de instabiliteyi işaret etmektedir.

Olgu 33: Kanser tanısı alan ve histerektomili bu hastanın cerrahi sonrası patoloji raporu endometrioid adenokarsinom, Evre IA ve Grade 1 olarak verilmişti. İki çocuklu 60 yaşındaki hastanın akrabalarında herhangi bir kanser öyküsü yoktu. Hastanın kanserli dokusu ve periferik kanında karşılaştırmalı yapılan fragman analizinde BAT-26, BAT-25 ve MONO-27 lokuslarında instabilite saptanmıştır (Şekil 4.16).

A



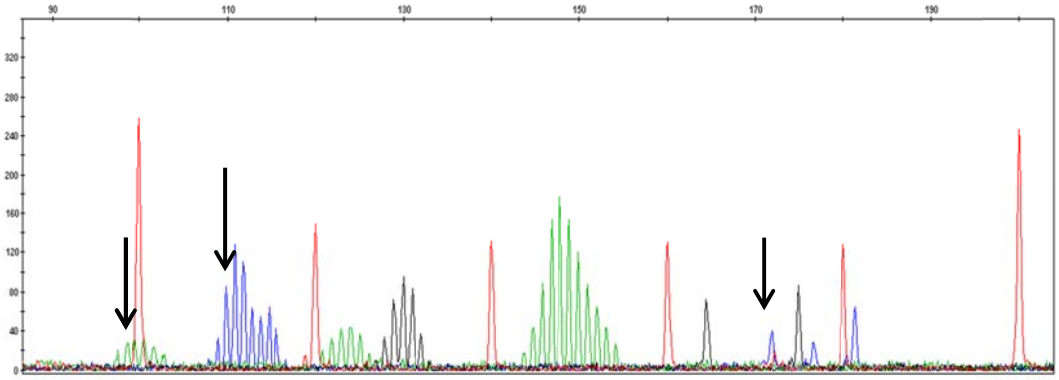
B



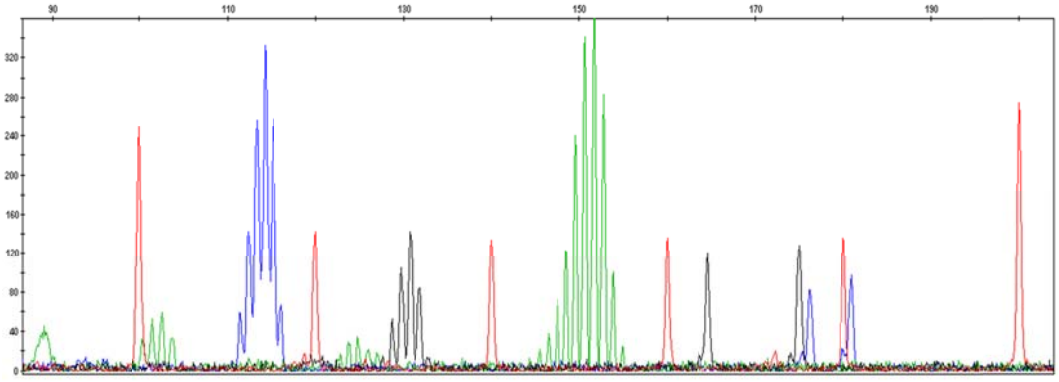
Şekil 4.16: Olgu 33'ün (A: doku; B: periferik kan) elektroferogram görüntüsü okla gösterilen pikler sırasıyla BAT-26, BAT-25 ve MONO-27'de instabiliteyi işaret etmektedir. Periferik kan ile doku arasında NR-21 lokusunda 2 bç lik fark görülmektedir; instabilite olarak değerlendirilmemiştir.

Olgu 39: Kanser tanısı alan ve histerektomili bu hastanın cerrahi sonrası patoloji raporu endometrioid adenokarsinom, Evre IA ve Grade 1 olarak verilmişti. Üç çocuklu 49 yaşındaki hastanın akrabalarında herhangi bir kanser öyküsü yoktu. Hastanın kanserli dokusu ve periferik kanında karşılaştırmalı yapılan fragman analizinde NR-21, BAT-26 ve Penta-D lokuslarında instabilite saptanmıştır (Şekil 4.17).

A



B



Şekil 4.17: Olgu 39'un(A: doku; B: periferik kan) elektroferogram görüntüsü okla gösterilen pikler sırasıyla NR-21, BAT-26 ve Penta D'de instabiliteyi işaret etmektedir.

4.4 İstatistiksel Analiz Sonuçları

Tablo 4.2: MSI Pozitif Kanserli Olgularda Endometrioid Adenokanserler ile Diğer Alt Tiplerin Karşılaştırılması

			Sonuç		
			0 Normal	1 MSI	Total
Tanıgrup1	1 Endometrioid	Count	17	10	27
		% within tanı grup1	63,0%	37,0%	100,0%
	2 Diğer	Count	13	0	13
		% within tanı grup1	100,0%	,0%	100,0%
Total		Count	30	10	40
		% within tanı grup1	75,0%	25,0%	100,0%

Ki-kare testi

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	6,420[a]	1	,011		
Continuity Correction[b]	4,596	1	,032		
Likelihood Ratio	9,393	1	,002		
Fisher's Exact Test				,016	,010
Linear-by-Linear Association	6,259	1	,012		
N of Valid Cases	40				

MSI pozitifliği endometrioid adenokanserlerde, diğer alt tipler: karsinosarkom, seröz adenokarsinom, berrak hücreli karsinom, müsinöz adenokarsinom ve mikst tip adenokarsinomlar ile karşılaştırıldığında ($p<0,016$) istatistiksel olarak anlamlı şekilde fazla bulunmuştur. Histerektomi uygulanan hasta grubunda hiperplazi olarak rapor edilen iki hasta bu analize dahil edilmemiştir.

Tablo 4.3: MSI Pozitif Olgularda Erken (IA ve IB)ve Geç Evrelerin Karşılaştırılması

			Sonuç		
			0 Normal	1 MSI	Total
Evre MSI	1 Erken evre	Count	20	10	30
		% within Evre MSI	66,7%	33,3%	100,0%
	2 Geç evre	Count	10	0	10
		% within Evre MSI	100,0%	,0%	100,0%
Total		Count	30	10	40
		% within Evre MSI	75,0%	25,0%	100,0%

Ki-kare testi

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	4,444[a]	1	,035		
Continuity Correction[b]	2,844	1	,092		
Likelihood Ratio	6,796	1	,009		
Fisher's Exact Test				,043	,035
Linear-by-Linear Association	4,333	1	,037		
N of Valid Cases	40				

Endometrium kanserlerinin evreleri karşılaştırıldığında erken evrelerolan IA ve IB geç evreler olan evre II ve ilerisine göre anlamlı şekilde daha fazla MSI'ne sahiptirler (p< 0,043).

Elli yaşından önce ve elli yaşından sonra tanı alan endometrium kanserleri karşılaştırıldığında MSI pozitifliği açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır (p<0,057).

Çocuğu olan ve olmayan endometrium kanserli olgular MSI pozitifliği açısından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunamamıştır (p<0,358).

Endometrium kanseri tanısı alan olgularda, akrabalarında kanser olanlarla olmayanlar karşılaştırıldığında MSI'si açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır (p<0,348).

5. TARTIŞMA

MSI'si yanlış eşleşme onarımında rol oynayan proteinleri kodlayan genlerden herhangi birinde oluşan mutasyon nedeniyle veya bu genlerde meydana gelen epigenetik değişiklikler ile ilgili genin kodladığı proteinlerin işlev yetersizliği sonucu ortaya çıkan hücresel bir fenotiptir. İnstabilite hücrede mutasyon birikimine yol açabilecek bir DNA onarım kusurunun belirteçidir (116).

HNPCC ilişkili kanser sendromlarında kolorektal kanserlerin %90-95'inde ve endometrium kanserlerinin %65-75'inde MSI gözlenmektedir. MSI 1993 yılında ilk olarak ailesel ve sporadik kolon kanserlerinde saptanmıştır (117).Daha sonraki çalışmalarda, başta HNPCC ve bu sendromla ilişkili kanserler olmak üzere diğer bazı ailesel ve sporadik kanser olgularında da MSI saptanmıştır. Matias-Guiu ve ark. HNPCC sendromu ilişkili endometrium kanserlerinin %75'inde MSI pozitiflik oranı saptarlarken (118), Duggan ve ark. 1994'de yaptıkları bir çalışmada sporadik endometrium kanserlerinde MSI oranını %20-30 arasında bulmuşlardır (131). Bu iki oran arasındaki kalıtsal kanser olgusu lehine olan iki kattan fazla fark, MSI'nin kalıtsal yapısal özellik olarak oluşumunun fenotipik etkisinin daha fazla önemini ikna etmektedir. Kuşkusuz sporadik olgularda saptanan MSI de doku düzeyinde hücreler arasında allelik farklılıklar olduğunun önemli bir göstergesidir. Buna örnek olarak Bossuyt ve ark. tarafından sunulan bir olgu verilebilir; 46 yaşındaki kadın hastada endometrial küretaj sonrası olası polip ve küçük alanlı iyi diferansiye bir adenokanser tespiti yapıldıktan sonra doku kimliğinin saptanması için yapılan test sonucu endometriumda farklı bölgelerde allelik değişiklikler saptanması üzerine bu değişikliklerin MSI ile açıklanabileceği görüşü öne çıkmış ve hastaya MSI testi uygulandığında sonuç pozitif bulunmuştur. Klasik görüşe göre neoplazi gelişimindeki ikili vuruş modelini fenotipik olarak taklit eden bu durum aslında genetik mekanizma olarak alelik kayıp ya da heterozigotluk kayıplarının oluşmasında genomik instabilitenin ne denli önemli olduğunun bir göstergesidir.

MSI, sporadik endometrium kanserli olgularda MMR sisteminde görev alan genlerdeki mutasyonlardan ziyade bu genlerdeki epigenetik değişiklikler ile oluşur. Tanı

yaşı 50'den büyük ve aile öyküsü olmayan olgularda MLH1 genindeki promotor bölgesinin hipermetilasyonu sık tespit edilen bir değişikliktir (133,134). Bu çalışmadaki olgulardan beşi (olgu#11,15, 26, 28, 33) 50 yaşın üzerinde ve aile öyküsü olmayan bireylerdi. Amsterdam II ve Bethesada kriterlerine uymayan bu olgularda saptanan MSI'lerin kökenindeki mekanizmanın epigenetik değişiklikler olma olasılığı yüksektir. HNPCC ilişkili kanserlerin dışlanmasında instabilitenin yalnız yanlış eşleşme onarımı genlerinden kaynaklanmayacağını gözardı etmemek gerekir. Yani, MSI her zaman yapısal kalıtsal bir özelliğin göstergesi olmayabilir.

Yapılan çalışmalar endometrial kanserlerin patolojik alt tipleri arasında MSI görülme sıklıklarında farklılık olduğunu göstermektedir. An ve ark. MSI pozitifliğini endometrioid adekarsinomların %25-40'ında, nonendometrioidlerin ise %0-14'ünde saptamışlardır (135). Bu sonuçlar tez çalışmasında histerektomi dokularında endometrioidlerde saptanan %37'lik ve nonendometrioidlerde saptanan %0'lık MSI oranları ile uyum göstermektedir.

Patoloji sonucu karsinosarkom olarak rapor edilen 5 olguda MSI saptanamamıştır. Literatürdede bu oranın %5'ten az olduğu bildirilmektedir (137). Çalışmadaki olgu sayısının az olması endometrioid adenokarsinom dışındaki patolojik alt tiplerin yeterince temsil edilememesine, dolayısı ile MSI oranın endometrium neoplazileri spektrumunda tespitine olanak tanımamıştır.

Bu çalışmaya biyopsi materyalinde uygulanan MSI analizi ile katılan 14. olgu* vajinal ultrasonografide endometrial hiperplazi ön tanısı ile biyopsi yapılan ve sonucu basit endometrial hiperplazi olarak rapor edilen 55 yaşında, ailesinde kanser öyküsü olmayan bir hastaydı. MSI analizinde Penta C ve Penta D lokuslarında instabilite saptanan bu olgu biyopsi çalışma grubunun tek MSI pozitif olgusudur. Bu düşük gözlem oranı aslında basit endometrial hiperplazili hastalarda yapılan bir başka çalışma ile de desteklenmektedir. Salete ve ark. basit endometrial hiperplazili 20 hastadan 3'ünde %15'lik bir MSI oranı saptamışlardır. (138). Bu çalışmada 11 basit endometrial hiperplazili olgunun yalnız birinde (%9) MSI saptanmıştır. Bu olguya genetik danışmanlık eşliğinde MSI varlığının moleküler etiyolojisinin ortaya konabilmesi ve olası kanser riskinin saptanabilmesi amacıyla yanlış eşleşme onarım genlerinde

mutasyon analizi önerilmiştir. Ayrıca, endometrial hiperplaziler için kanser riskinin litertürde %1 olarak verilmesine karşın (11), olgunun yaşı ve postmenapozal durumu gözönüne alındığında presemptomatik proflaktik cerrahi önerilmeside düşünülmelidir.

Biyopsi yapılan hasta grubunda 13 olguda hiperplazi (%13) ve bir olguda endometrial adenokanser (%1) tespit edildi. Anastasisdis ve ark 2000 yılında yaptıkları bir çalışmada; anormal uterin kanaması olan 1469 kadının 294 (%20) tanesinde hiperplazi ve 4 tanesinde endometrial adenokanser tespit edildiği bildirilmiş (142). Hem bizim çalışmamızda hem de literatürdeki oranları karşılaştırdığımızda tarama amaçlı yapılan endometrium biyopsilerinde kanser saptama oranının %1'in altında olduğu görülmektedir. Çalışmamızda biyopsi yapılan hasta grubunda bir hastada %1 MSI saptandı. Kanser şüphesi nedeniyle biyopsi yapılan endometrium dokusunda kanser ve MSI saptama oranlarının bir birine yakın olması, bu tür olgularda MSI'nin bir tarama testi olarak kullanılmasının yararlı olacağını düşündürmektedir.

Eğer bu çalışma; yalnız endometrium hiperplazisi nedeniyle endometrial biyopsi yapılan olgularda gerçekleştirilseydi MSI saptama oranının daha yüksek olması beklenirdi. Bu görüş daha önce yapılan çalışmalarla desteklenmektedir (138, 141).

Elli yaşından önce ve elli yaşından sonra tanı alan endometrium kanserleri karşılaştırıldığında MSI pozitifliği açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p<0,057$). 50 yaşından önce tanı alan 10 endometrium kanserinden 4 (%40) tanesinde MSI pozitif bulunmuştur. Çalışma sonuçları olgu yaşları dışında değerlendirildiğinde 43 olgudan 10'u (%23) MSI pozitiftir. Aradaki %17'lik farkın olgu sayısının artırılması ile daha anlamlı sonuçlar vereceği düşünülmektedir.

Kanser tanısı nedeniyle histerektomi yapılan 9. ve 18. olgular Amsterdam II ve modifiye Amsterdam kriterlerine uymakla birlikte, yalnız 9. olguda MSI pozitif saptanmıştır. Hastanın cerrahi sonrası patoloji raporu IA evresinde grade 1 endometrioid adenokarsinom olarak belirlenmişti. Beş çocuklu 68 yaşındaki hastanın üç kardeşinde tanı yaşları 40, 45 ve 55 olmak üzere endometrium kanseri öyküsü tanımlanmaktaydı. Ayrıca iki kardeşinin 50 ve 52 yaşlarında endometrium kanseri tanısı almış kızları bulunmaktaydı. Olguda NR-21, BAT-26, BAT-25 ve MONO-27 lokuslarında instabilite saptandı ve MSI-H olarak kabul edildi. HNPCC sendromu ile ilişkili kanserler genellikle

55 yaşından önce tanı alırken bu olguya 68 yaşında tanı konmuştur. Olgunun ailesinde risk altındaki bireyleri saptamak amacıyla genetik danışmanlık eşliğinde MMR ile ilişkisi kurulmuş genlerde mutasyon taraması önerildi.

Diğer bir olgu, olgu 18 histerektomi sonrası patolojik olarak Evre IA ve Grade 2 endometrioid adenokarsinom tanısı almıştır. Bu olgunun aile öyküsünde, 58 yaşındaki hastanın babasına 57 yaşında kolon kanseri tanısı konduğu, halasının 47 yaşında kolon kanseri tanısı aldığı,erkek kardeşinin 50 yaşında mesane kanseri tanısı aldığı ve bu kardeşin 20 yaşındaki oğlundada kolon kanseri olduğu, amcasının 68 yaşında karaciğer kanseri tanısı aldığı öğrenilmiştir. MSI saptanmayan bu olgunun ailesinde HNPCC sendromu ile ilişkili 5 kanser olgusunun görülmesi ve bu kanserlerden 3 tanesinin 50 yaş ve öncesinde tanı alması MMR ilişkili genlerde mutasyon olasılığını güçlü kılmakta ve ailenin moleküler genetik inceleme açısından endikasyonu olduğunu göstermektedir

MSI-H pozitif HNPCC sendromu ile ilişkili kanserlerde ailenin diğer bireylerinin riskinin belirlenmesi açısından MMR genlerindeki mutasyonların taranması önemlidir. Ancak sporadik, aile öyküsü olmayan kısmen daha ileri yaşlarda görülen olgularda MLH1 promotor bölgesindeki hipermetilasyonun incelenmesi daha anlamlı olacaktır.

MSI-H pozitif saptanan endometrium kanserlerinde V600E BRAF mutasyonununsık görüldüğü bildirilmektedir (113). Bu mutasyon özellikle HNPCC'de kemoterapiye yanıtı olumlu şekilde etkilemektedir. Ancak endometrium adenokanserlerinde bu mutasyon ile tedaviye yanıt arasındaki ilişkiyi sorgulayan herhangi bir çalışma yapılmamıştır.

HNPCC sendromu ile ilişkili kanserlerin tanısında ve sporadik kolorektal ve endometrium kanserlerinde tedavi planlamasında MSI testi önemli bir tarama testidir. Aile öyküsü olan olgularda klinik tanının desteklenmesi, sporadik olgularda ise hem tedavinin, hem de ileri moleküler genetik testlerin planlanmasında yol gösterici olacaktır (113, 139).

MSI tarama testi dizi analizine göre daha kolay ve ucuz bir yöntemdir. Endometrium hiperplazisinde özellikle kompleks tip hiperplazilerde yüksek MSI varlığı ve yüksek kanserleşme oranı gözününe alındığında rutin jinekolojik taramalarda bu yöntemin presemptomatik kanser tanısı açısından kullanımının yarar-maliyet açısından

incelenerek değerlendirilmesi düşünülmelidir. HNPCC ilişkili kanserlerin genetik heterojenitesi nedeniyle doğrudan mutasyon saptaması konvansiyonel dizi analiz yöntemleri ile zor olabilir. Yeni nesil dizilemenin yaygınlaşması ile, yakın gelecekte bu çok genli ve çok lokuslu sendromun mutasyonlarının saptanması tanı hızını ve verimini artıracaktır. Ancak MSI saptanmış bir kanser hastasının yakınlarında mutasyon analizinden önce yapılacak instabilite incelemesi mutasyon araştırması endikasyonunun belirlenmesi açısından çok pratik bir yaklaşımdır.

Bu çalışma kapsamında penta C ve penta D mikrosatellit lokusları endometrial hiperplazilerde MSI analizi amacıyla ilk defa kullanılmış olup, çalışmaya katılan üç olguda pozitif saptanmıştır. Olgulardan birinde 7 lokustan sadece bu beşli mikrosatellit lokuslarında instabilite saptanmış olması MSI için kullanılan panellerin duyarlılığının artışı yönünde değerlendirilmiştir.

Yedi lokus ile yaptığımız MSI analizinde MSI pozitif bulduğumuz 11 olgunun 10 tanesinde BAT-26 pozitif bulunmuştur.

6. SONUÇLAR

Bu çalışma ile:

Patolojik inceleme yapılan dokulardan eş zamanlı olarak alınan örneklerde, MSI analizi ile özellikle erken yaş olgularında olası endometriyum kanserlerlerinin presemptomatik tanısına tarama testi ile katkıda bulunulması; klinik endikasyonu nedeni ile biyopsi uygulanan ancak patoloji sonuçları normal olan olgularda, MSI incelemesi ile olası ailesel endometriyum kanser riskinin belirlenmesi. MSI saptanan olguların risk altında olduğu belirlenen aile bireylerine genetik danışmanlık eşliğinde moleküler genetik analiz olanağının tanınması amaçlanmıştır.

Neoplazi şüphesi nedeniyle endometrium biyopsisi uygulanan 100 olguda MSI analizi yapılmıştır. İki olgunun bilgilerine ulaşılamamıştır. Biyopsi uygulanan olguların 15'i polip, 11'i basit endometrial hiperplazi, üç olgu sırasıyla adenokarsinom, basit atipik endometrial hiperplazi ve kompleks hiperplazi olarak rapor edilmiştir. İki hastanın patoloji raporuna ulaşılamamış, diğer olgular normal olarak raporlanmıştır. Bu sonuçlara göre rapor verilen 96 olgunun 1',inde (yaklaşık %1) endometrium kanseri mevcuttur.

Histerektomi uygulanan 43 hastanın 27'sinde endometrioid adenokarsinom, 5'inde karsinosarkom, 3'ünde seröz adenokarsinom, 3'ünde berrak hücreli karsinom, 1'inde müsinöz adenokarsinom, 1'inde mikst (müsinöz+endometrioid adenokarsinom), 1'inde kompleks atipik endometrial hiperplazi ve 1'inde de kompleks endometrial hiperplazi saptanmış, hastalardan birinin patoloji raporuna ulaşılamamıştır.

Toplam 143 olgunun 11'inde MSI pozitif olarak saptanmıştır. Bu olgularda en az iki lokusta instabilite saptandığı için tümü H-MSI olarak kabul edilmiştir. MSI pozitif saptanan olguların biri neoplazi şüphesi nedeniyle biyopsi sonucunda kanser tanısı almıştır (%1). Diğer 43 olgunun tamamına kanser tanısı nedeniyle histerektomi uygulanmıştır ve bu olgularda %23,2 oranında MSI pozitif olarak bulunmuştur.

MSI pozitif olan kanserli olguların tümünün patoloji sonucu erken evre (9'u Evre IA ve 1'i Evre IB) endometrioid adenokarsinom olarak rapor edilmiştir. Biyopsi uygulanan MSI' li olgunun patoloji sonucu ise basit endometrial hiperplazi olarak rapor

edilmiştir. Endometrioid adenokarsinomların %37'sinde, basit endometrial hiperplazilerin ise %9'unda MSI pozitif bulunmuştur.

Çalışmada, Amsterdam II ve/veya modifiye Amsterdam kriterlerine uyan bireylere sahip iki aile tespit edilmiştir. Risk altındaki aile bireylerine genetik danışmanlık planlanmış ve uygulanmaya başlanmıştır.

ÖZET

Neoplazi Şüphesi Nedeniyle Uygulanan Endometrium Biyopsilerinde ve Neoplazi Tanısı ile Histerektomi Uygulanan Olgularda Mikrosatellit İnstabilitesinin Araştırılması

Endometrium kanserleri hem ülkemizde hem de dünyada sık görülen bir kanser olup önemli bir halk sağlığı sorunudur. Özellikle 20. yüzyılın ikinci yarısından sonra insidansında artış görülmektedir. Bu artışa paralel olarak bilinen başka bir gerçek ise erken evrede tanı alan olguların prognozunun çok iyi olduğu ve tedavi maliyetinin düştüğüdür. Bu nedenle son yıllarda hem tanı amaçlı hem de tedaviye yönelik bir çok moleküler genetik çalışma yapılmaktadır, bunlardan biri de mikrosatellit instabilitesi (MSİ) incelemesidir.

MSI başta kalıtsal polipsiz kolon kanseri (HNPCC) ve bu sendromla ilişkili kanserlerde olmak üzere diğer bazı ailesel ve sporadik kanser olgularında gözlenir. MSI, hücrede mutasyon birikimine yol açan bir DNA onarım defektidir. MSI ailesel ve sporadik kanser olgularının tanı, tedavisi ve hastalığın yönetimi için önemli bir tarama yöntemidir.

Çalışmamıza neoplazi şüphesi nedeniyle biyopsi yapılan 100 olgu ile kanser tanısı alan ve ardından histerektomi yapılan 43 hasta katılmıştır. Çalışmaya katılan olguların tümünden bilgilendirilmiş onamları alınmıştır. Hasta bilgileri hasta dosyalarından, yüz yüze ve/veya telefonla görüşülerek elde edilmiştir. Hastaların doku ve periferik kanlarından DNA izolasyonu sonrası aynı anda 7 lokusa ait primer çiftleri PZR ile çoğaltılarak fragman analizi yapılmıştır. Toplam 143 olgunun 11'inde MSI analiz sonucu pozitif bulunmuştur. Bütün olgularda en az iki lokusta instabilite saptandığı için tümü yüksek-MSI (MSI-H) olarak değerlendirilmiştir. Endometrium biyopsi örneklerinde MSI pozitif olguların oranı %1, kanser tanısı alan ve histerektomi yapılan olgulardaki oran ise %23,2 olarak saptanmıştır.

MSI pozitif kanserli olguların tümünün patoloji sonucu erken evre (IA veya IB) endometrioid adenokarsinom'dur. MSI pozitif biyopsi materyalli olgunun patoloji

sonucu ise basit endometrial hiperplazi olarak rapor edilmişti. Endometrioid adenokarsinomların %37'sinde, basit endometrial hiperplazilerin ise %9'unda MSI pozitif saptandı.

Amsterdam II ve/veya modifiye Amsterdam kriterlerine göre iki aile HNPCC kriterlerini karşılamaktaydı. Bu ailelerden biri MSI pozitif, diğer negatif olarak saptanmıştır.

Çalışma sonunda MSI pozitif saptanan olgulara ve risk altındaki kan bağı olan yakınlarına genetik danışmanlık verilmesi planlanmıştır.

MSI, ailesel veya sporadik kanser olgularında tanı ve tedavinin planlanması, ileri moleküler genetik testlerin kararı ve ailesel olgularda risk altındaki bireylere danışmanlık verilmesi amacıyla faydalı ve kolay uygulanabilir bir tarama testidir.

Anahtar Sözcükler: Mikrosatellit instabilitesi, endometrium kanseri, endometrial biyopsi, DNA yanlış eşleşme onarımı, ailesel polipsiz kolon kanseri, fragman analizi

SUMMARY

Investigation of Microsatellite Instability in Endometrium Biopsies Performed for Neoplasia Suspicion and in Neoplasia Patients Underwent Histerectomy

Endometrium cancer, a frequently seen cancer type in both our country and the world, is an important public health issue**.** Its incidence rates have overall increased particularly since the second half of the twentieth century. Prognosis of patients diagnosed in early stages of the cancer is excellent and the cost of treatment declines with early detection. For this reason, various molecular genetic studies for the purpose of both diagnosis and treatment were done in recent years and investigation of microsatellite instabilty (MSI) is one of them.

MSI, majorly seen in hereditery nonpolyposis colon cancer (HNPCC) and cancers associated with this syndrome. It's also seen in some familial and sporadic cancer cases. MSI is a DNA repair defect which causes mutation accumulation in cells. It is an important screening method for the diagnosis, treatment and disease management of familial and sporadic cancer cases.

One hundred patients who had biopsy for suspicion of cancer and 43 patiens who had hysterectomy after the diagnosis of cancer, participated in our study. An informed constent was taken from all the patients participated in the study. Patients' informations were obtained from files, face to face and/or phone interviews. After DNA isolation from tissue and peripheral blood samples of patients, primer pairs belonging to seven locuses were amplified simultaneously with PCR and fragment analysis was performed. Eleven of 143 cases were found as positive after MSI analysis. Since instability was detected in at least two locuses of all the cases, all of them were evaluated as high-MSI (MSI-H). In our study %1 of the patients who had biopsy for suspicion of cancer and %23,2 of the patients who had hysterectomy after cancer diagnosis, were found as MSI positive.

Pathology results of all MSI positive cancer cases were early stage (IA or IB) endometrioid adenocarcinoma. On the other hand, patholgy result of the case with MSI positive biopsy material was reported as simple endometrial hyperplasia. 37% of endometrioid adenocarcinomas and 9% of simple endometrial hyperplasias were found to be MSI positive. Two families met the HNPCC criteria, mentioned in Amsterdam 2 or modified Amsterdam criteria. One of these families was found as MSI positive, the other as MSI negative. After the completion of the study, genetic counseling sessions are planned for the MSI positive cases and for their relatives under risk.

MSI is an useful and a relatively simple screening test, which is used for planning of diagnosis and treatment of familial and sporadic cancer cases, determination of advanced genetic molecular tests and giving counseling to individuals under risk in familial cases.

Key Words: Microsatellite instability, endometrium cancer, endometrial biopsy, DNA mismatch repair, hereditary nonpolyposis colorectal cancer, fragment analysis

KAYNAKLAR

1. Siegel R, Ward E, Brawley O, Jemal A. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. CA: a cancer journal for clinicians. 2011 Jul-Aug;61(4):212-36. PubMed PMID: 21685461.

2. Jass JR. Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical, morphological and molecular features. Histopathology. 2007 Jan;50(1):113-30. PubMed PMID: 17204026.

3. Mackintosh M, Crosbie E. Obesity-driven endometrial cancer: is weight loss the answer? BJOG. 2013 Jun;120(7):791-4. PubMed PMID: 23659328.

4. Zamani F, Goodarzi S, Hallaji F, Zamiri A, Deilami T, Malek M, et al. Diagnostic Value of Pelvic MRI for Assessment of the Depth of Myometrial Invasion and Cervical Involvement in Endometrial Cancer: Comparison of New Versus Old FIGO Staging. Iranian Journal of Radiology : a quarterly journal published by the Iranian Radiological Society. 2012 Nov;9(4):202-8. PubMed PMID: 23407805. Pubmed Central PMCID: 3569552.

5. Madison T, Schottenfeld D, James SA, Schwartz AG, Gruber SB. Endometrial cancer: socioeconomic status and racial/ethnic differences in stage at diagnosis, treatment, and survival. American journal of public health. 2004 Dec;94(12):2104-11. PubMed PMID: 15569961. Pubmed Central PMCID: 1448599.

6. Felix AS, Weissfeld JL, Stone RA, Bowser R, Chivukula M, Edwards RP, et al. Factors associated with Type I and Type II endometrial cancer. Cancer Causes Control. 2010 Nov;21(11):1851-6. PubMed PMID: 20628804. Pubmed Central PMCID: 2962676.

7. James R. Md. Scott Ronalds S Danforth's Obstetrics and Gynecology, 9th edition 2003

8. Gray H. Gray’s Anatomy. London:Churchill Livingston, 40. Baskı, 2008

9. Lee WL, Lee FK, Su WH, Tsui KH, Kuo CD, Hsieh SL, et al. Hormone therapy for younger patients with endometrial cancer. Taiwanese journal of obstetrics & gynecology. 2012 Dec;51(4):495-505. PubMed PMID: 23276551.

10. Benraad TJ, Friberg LG, Koenders AJ, Kullander S. Do estrogen and progesterone receptors (E2R and PR) in metastasizing endometrial cancers predict the response to gestagen therapy? Acta Obstet Gynecol Scand. 1980;59(2):155-9. PubMed PMID: 7405552.

11. Kurman RJ, Kaminski PF, Norris HJ. The behavior of endometrial hyperplasia. A long-term study of "untreated" hyperplasia in 170 patients. Cancer. 1985 Jul 15;56(2):403-12. PubMed PMID: 4005805.

12. Smith RA, von Eschenbach AC, Wender R, Levin B, Byers T, Rothenberger D, et al. American Cancer Society guidelines for the early detection of cancer: update of early detection guidelines for prostate, colorectal, and endometrial cancers. Also: update 2001--testing for early lung cancer detection. CA: a cancer journal for clinicians. 2001 Jan-Feb;51(1):38-75; quiz 7-80. PubMed PMID: 11577479.

13. Hunter JE, Tritz DE, Howell MG, DePriest PD, Gallion HH, Andrews SJ, et al. The prognostic and therapeutic implications of cytologic atypia in patients with endometrial hyperplasia. Gynecol Oncol. 1994 Oct;55(1):66-71. PubMed PMID: 7959270.

14. Ryan GL, Syrop CH, Van Voorhis BJ. Role, epidemiology, and natural history of benign uterine mass lesions. Clinical obstetrics and gynecology. 2005 Jun;48(2):312-24. PubMed PMID: 15805789.

15. Nowak RA. Fibroids: pathophysiology and current medical treatment. Bailliere's best practice & research Clinical obstetrics &Gynaecology. 1999 Jun;13(2):223-38. PubMed PMID: 10755039.

16. Baird DD, Dunson DB, Hill MC, Cousins D, Schectman JM. High cumulative incidence of uterine leiomyoma in black and white women: ultrasound evidence. Am J Obstet Gynecol. 2003 Jan;188(1):100-7. PubMed PMID: 12548202.

17. Vercellini P, Parazzini F, Oldani S, Panazza S, Bramante T, Crosignani PG. Adenomyosis at hysterectomy: a study on frequency distribution and patient characteristics. Hum Reprod. 1995 May;10(5):1160-2. PubMed PMID: 7657758.

18. Brooks SE, Zhan M, Cote T, Baquet CR. Surveillance, epidemiology, and end results analysis of 2677 cases of uterine sarcoma 1989-1999. Gynecol Oncol. 2004 Apr;93(1):204-8. PubMed PMID: 15047237.

19. Lewin SN. Revised FIGO staging system for endometrial cancer. Clinical obstetrics and gynecology. 2011 Jun;54(2):215-8. PubMed PMID: 21508690.

20. Kempson RL, Bari W. Uterine sarcomas. Classification, diagnosis, and prognosis. Hum Pathol. 1970 Sep;1(3):331-49. PubMed PMID: 4330001.

21. Giuntoli RL, 2nd, Metzinger DS, DiMarco CS, Cha SS, Sloan JA, Keeney GL, et al. Retrospective review of 208 patients with leiomyosarcoma of the uterus: prognostic indicators, surgical management, and adjuvant therapy. Gynecol Oncol. 2003 Jun;89(3):460-9. PubMed PMID: 12798712.

22. Silverberg SG, Major FJ, Blessing JA, Fetter B, Askin FB, Liao SY, et al. Carcinosarcoma (malignant mixed mesodermal tumor) of the uterus. A Gynecologic Oncology Group pathologic study of 203 cases. International journal of gynecological pathology : official journal of the International Society of Gynecological Pathologists. 1990;9(1):1-19. PubMed PMID: 2152890.

23. Inthasorn P, Carter J, Valmadre S, Beale P, Russell P, Dalrymple C. Analysis of clinicopathologic factors in malignant mixed Mullerian tumors of the uterine corpus. Int J Gynecol Cancer. 2002 Jul-Aug;12(4):348-53. PubMed PMID: 12144682.

24. Choo YC, Mak KC, Hsu C, Wong TS, Ma HK. Postmenopausal uterine bleeding of nonorganic cause. Obstet Gynecol. 1985 Aug;66(2):225-8. PubMed PMID: 4022485.

25. Smith M, McCartney AJ. Occult, high-risk endometrial cancer. Gynecol Oncol. 1985 Oct;22(2):154-61. PubMed PMID: 4054714.

26. Weigelt B, Banerjee S. Molecular targets and targeted therapeutics in endometrial cancer. Curr Opin Oncol. 2012 Sep;24(5):554-63. PubMed PMID: 22581357.

27. Tobon H, Watkins GJ. Secretory adenocarcinoma of the endometrium. International journal of gynecological pathology : official journal of the International Society of Gynecological Pathologists. 1985;4(4):328-35. PubMed PMID: 4086159.

28. Sutton GP, Brill L, Michael H, Stehman FB, Ehrlich CE. Malignant papillary lesions of the endometrium. Gynecol Oncol. 1987 Jul;27(3):294-304. PubMed PMID: 3623228.

29. Zaino RJ, Kurman RJ. Squamous differentiation in carcinoma of the endometrium: a critical appraisal of adenoacanthoma and adenosquamous carcinoma. Seminars in diagnostic pathology. 1988 May;5(2):154-71. PubMed PMID: 3041509.

30. Goff BA, Kato D, Schmidt RA, Ek M, Ferry JA, Muntz HG, et al. Uterine papillary serous carcinoma: patterns of metastatic spread. Gynecol Oncol. 1994 Sep;54(3):264-8. PubMed PMID: 8088602.

31. Melhem MF, Tobon H. Mucinous adenocarcinoma of the endometrium: a clinico-pathological review of 18 cases. International journal of gynecological pathology : official journal of the International Society of Gynecological Pathologists. 1987;6(4):347-55. PubMed PMID: 2826354.

32. Karlsson B, Granberg S, Wikland M, Ylostalo P, Torvid K, Marsal K, et al. Transvaginal ultrasonography of the endometrium in women with postmenopausal bleeding--a Nordic multicenter study. Am J Obstet Gynecol. 1995 May;172(5):1488-94. PubMed PMID: 7755059.

33. Abeler V, Kjorstad KE. Endometrial squamous cell carcinoma: report of three cases and review of the literature. Gynecol Oncol. 1990 Mar;36(3):321-6. PubMed PMID: 2180795.

34. Hricak H, Rubinstein LV, Gherman GM, Karstaedt N. MR imaging evaluation of endometrial carcinoma: results of an NCI cooperative study. Radiology. 1991 Jun;179(3):829-32. PubMed PMID: 2028000.

35. Abu-Rustum NR, Zhou Q, Iasonos A, Alektiar KM, Leitao MM, Jr., Chi DS, et al. The revised 2009 FIGO staging system for endometrial cancer: should the 1988 FIGO stages IA and IB be altered? Int J Gynecol Cancer. 2011 Apr;21(3):511-6. PubMed PMID: 21436699.

36. Kim HS, Song YS. International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) staging system revised: what should be considered critically for gynecologic

cancer? Journal of gynecologic oncology. 2009 Sep;20(3):135-6. PubMed PMID: 19809545. Pubmed Central PMCID: 2757555.

37. Zucker PK, Kasdon EJ, Feldstein ML. The validity of Pap smear parameters as predictors of endometrial pathology in menopausal women. Cancer. 1985 Nov 1;56(9):2256-63. PubMed PMID: 4052970.

38. Ortoft G, Dueholm M, Mathiesen O, Hansen ES, Lundorf E, Moller C, et al. Preoperative staging of endometrial cancer using TVS, MRI, and hysteroscopy. Acta Obstet Gynecol Scand. 2013 Feb 9. PubMed PMID: 23398280.

39. Westin SN, Broaddus RR. Personalized therapy in endometrial cancer: challenges and opportunities. Cancer biology & therapy. 2012 Jan 1;13(1):1-13. PubMed PMID: 22198566. Pubmed Central PMCID: 3335980.

40. Hennessy BT, Smith DL, Ram PT, Lu Y, Mills GB. Exploiting the PI3K/AKT pathway for cancer drug discovery. Nature reviews Drug discovery. 2005 Dec;4(12):988-1004. PubMed PMID: 16341064.

41. Meric-Bernstam F, Gonzalez-Angulo AM. Targeting the mTOR signaling network for cancer therapy. Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology. 2009 May 1;27(13):2278-87. PubMed PMID: 19332717. Pubmed Central PMCID: 2738634.

42. Bigsby RM, Li AX, Bomalaski J, Stehman FB, Look KY, Sutton GP. Immunohistochemical study of HER-2/neu, epidermal growth factor receptor, and steroid receptor expression in normal and malignant endometrium. Obstet Gynecol. 1992 Jan;79(1):95-100. PubMed PMID: 1345772.

43. Hayes MP, Wang H, Espinal-Witter R, Douglas W, Solomon GJ, Baker SJ, et al. PIK3CA and PTEN mutations in uterine endometrioid carcinoma and complex atypical hyperplasia. Clin Cancer Res. 2006 Oct 15;12(20 Pt 1):5932-5. PubMed PMID: 17062663.

44. O'Reilly KE, Rojo F, She QB, Solit D, Mills GB, Smith D, et al. mTOR inhibition induces upstream receptor tyrosine kinase signaling and activates Akt. Cancer research. 2006 Feb 1;66(3):1500-8. PubMed PMID: 16452206. Pubmed Central PMCID: 3193604.

45. Samuels Y, Wang Z, Bardelli A, Silliman N, Ptak J, Szabo S, et al. High frequency of mutations of the PIK3CA gene in human cancers. Science. 2004 Apr 23;304(5670):554. PubMed PMID: 15016963.

46. Oda K, Stokoe D, Taketani Y, McCormick F. High frequency of coexistent mutations of PIK3CA and PTEN genes in endometrial carcinoma. Cancer research. 2005 Dec 1;65(23):10669-73. PubMed PMID: 16322209.

47. Janku F, Tsimberidou AM, Garrido-Laguna I, Wang X, Luthra R, Hong DS, et al. PIK3CA mutations in patients with advanced cancers treated with PI3K/AKT/mTOR axis inhibitors. Mol Cancer Ther. 2011 Mar;10(3):558-65. PubMed PMID: 21216929. Pubmed Central PMCID: 3072168.

48. Di Nicolantonio F, Arena S, Tabernero J, Grosso S, Molinari F, Macarulla T, et al. Deregulation of the PI3K and KRAS signaling pathways in human cancer cells determines their response to everolimus. J Clin Invest. 2010 Aug;120(8):2858-66. PubMed PMID: 20664172. Pubmed Central PMCID: 2912177.

49. Watanabe R, Wei L, Huang J. mTOR signaling, function, novel inhibitors, and therapeutic targets. Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine. 2011 Apr;52(4):497-500. PubMed PMID: 21421716.

50. Pal SK, Reckamp K, Yu H, Figlin RA. Akt inhibitors in clinical development for the treatment of cancer. Expert opinion on investigational drugs. 2010 Nov;19(11):1355-66. PubMed PMID: 20846000. Pubmed Central PMCID: 3244346.

51. Ciraolo E, Morello F, Hirsch E. Present and future of PI3K pathway inhibition in cancer: perspectives and limitations. Current medicinal chemistry. 2011;18(18):2674-85. PubMed PMID: 21649577.

52. Montagut C, Settleman J. Targeting the RAF-MEK-ERK pathway in cancer therapy. Cancer Lett. 2009 Oct 8;283(2):125-34. PubMed PMID: 19217204.

53. Koul A, Willen R, Bendahl PO, Nilbert M, Borg A. Distinct sets of gene alterations in endometrial carcinoma implicate alternate modes of tumorigenesis. Cancer. 2002 May 1;94(9):2369-79. PubMed PMID: 12015762.

54. Duggan BD, Felix JC, Muderspach LI, Tsao JL, Shibata DK. Early mutational activation of the c-Ki-ras oncogene in endometrial carcinoma. Cancer research. 1994 Mar 15;54(6):1604-7. PubMed PMID: 8137266.

55. Roberts PJ, Der CJ. Targeting the Raf-MEK-ERK mitogen-activated protein kinase cascade for the treatment of cancer. Oncogene. 2007 May 14;26(22):3291-310. PubMed PMID: 17496923.

56. Salvesen HB, Kumar R, Stefansson I, Angelini S, MacDonald N, Smeds J, et al. Low frequency of BRAF and CDKN2A mutations in endometrial cancer. Int J Cancer. 2005 Jul 20;115(6):930-4. PubMed PMID: 15723290.

57. Kang S, Lee JM, Jeon ES, Lee S, Kim H, Kim HS, et al. RASSF1A hypermethylation and its inverse correlation with BRAF and/or KRAS mutations in MSI-associated endometrial carcinoma. Int J Cancer. 2006 Sep 15;119(6):1316-21. PubMed PMID: 16619251.

58. Chapman MS, Miner JN. Novel mitogen-activated protein kinase kinase inhibitors. Expert opinion on investigational drugs. 2011 Feb;20(2):209-20. PubMed PMID: 21235429.

59. Holcomb K, Delatorre R, Pedemonte B, McLeod C, Anderson L, Chambers J. E-cadherin expression in endometrioid, papillary serous, and clear cell carcinoma of the endometrium. Obstet Gynecol. 2002 Dec;100(6):1290-5. PubMed PMID: 12468176.

60. Moreno-Bueno G, Hardisson D, Sarrio D, Sanchez C, Cassia R, Prat J, et al. Abnormalities of E- and P-cadherin and catenin (beta-, gamma-catenin, and p120ctn) expression in endometrial cancer and endometrial atypical hyperplasia. The Journal of pathology. 2003 Apr;199(4):471-8. PubMed PMID: 12635138.

61. Polakis P. Wnt signaling and cancer. Genes Dev. 2000 Aug 1;14(15):1837-51. PubMed PMID: 10921899.

62. Schlosshauer PW, Ellenson LH, Soslow RA. Beta-catenin and E-cadherin expression patterns in high-grade endometrial carcinoma are associated with histological subtype. Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc. 2002 Oct;15(10):1032-7. PubMed PMID: 12379748.

63. Yang AD, Fan F, Camp ER, van Buren G, Liu W, Somcio R, et al. Chronic oxaliplatin resistance induces epithelial-to-mesenchymal transition in colorectal cancer cell lines. Clin Cancer Res. 2006 Jul 15;12(14 Pt 1):4147-53. PubMed PMID: 16857785.

64. Witta SE, Gemmill RM, Hirsch FR, Coldren CD, Hedman K, Ravdel L, et al. Restoring E-cadherin expression increases sensitivity to epidermal growth factor receptor inhibitors in lung cancer cell lines. Cancer research. 2006 Jan 15;66(2):944-50. PubMed PMID: 16424029.

65. Buck E, Eyzaguirre A, Barr S, Thompson S, Sennello R, Young D, et al. Loss of homotypic cell adhesion by epithelial-mesenchymal transition or mutation limits sensitivity to epidermal growth factor receptor inhibition. Mol Cancer Ther. 2007 Feb;6(2):532-41. PubMed PMID: 17308052.

66. Schlosshauer PW, Pirog EC, Levine RL, Ellenson LH. Mutational analysis of the CTNNB1 and APC genes in uterine endometrioid carcinoma. Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc. 2000 Oct;13(10):1066-71. PubMed PMID: 11048799.

67. Moreno-Bueno G, Hardisson D, Sanchez C, Sarrio D, Cassia R, Garcia-Rostan G, et al. Abnormalities of the APC/beta-catenin pathway in endometrial cancer. Oncogene. 2002 Nov 14;21(52):7981-90. PubMed PMID: 12439748.

68. Mendelsohn J, Baselga J. The EGF receptor family as targets for cancer therapy. Oncogene. 2000 Dec 27;19(56):6550-65. PubMed PMID: 11426640.

69. Normanno N, De Luca A, Bianco C, Strizzi L, Mancino M, Maiello MR, et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling in cancer. Gene. 2006 Jan 17;366(1):2-16. PubMed PMID: 16377102.

70. De Luca A, Carotenuto A, Rachiglio A, Gallo M, Maiello MR, Aldinucci D, et al. The role of the EGFR signaling in tumor microenvironment. J Cell Physiol. 2008 Mar;214(3):559-67. PubMed PMID: 17894407.

71. Khalifa MA, Mannel RS, Haraway SD, Walker J, Min KW. Expression of EGFR, HER-2/neu, P53, and PCNA in endometrioid, serous papillary, and clear cell endometrial adenocarcinomas. Gynecol Oncol. 1994 Apr;53(1):84-92. PubMed PMID: 7909788.

72. Cheng L, Zhang S, Alexander R, Yao Y, MacLennan GT, Pan CX, et al. The landscape of EGFR pathways and personalized management of non-small-cell lung cancer. Future oncology. 2011 Apr;7(4):519-41. PubMed PMID: 21463141.

73. Hayes MP, Douglas W, Ellenson LH. Molecular alterations of EGFR and PIK3CA in uterine serous carcinoma. Gynecol Oncol. 2009 Jun;113(3):370-3. PubMed PMID: 19272638. Pubmed Central PMCID: 2745284.

74. Allegra CJ, Jessup JM, Somerfield MR, Hamilton SR, Hammond EH, Hayes DF, et al. American Society of Clinical Oncology provisional clinical opinion: testing for KRAS gene mutations in patients with metastatic colorectal carcinoma to predict response to anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody therapy. Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology. 2009 Apr 20;27(12):2091-6. PubMed PMID: 19188670.

75. Gien LT, Mackay HJ. The Emerging Role of PARP Inhibitors in the Treatment of Epithelial Ovarian Cancer. J Oncol. 2010;2010:151750. PubMed PMID: 20049345. Pubmed Central PMCID: 2798102.

76. Dedes KJ, Wilkerson PM, Wetterskog D, Weigelt B, Ashworth A, Reis-Filho JS. Synthetic lethality of PARP inhibition in cancers lacking BRCA1 and BRCA2 mutations. Cell Cycle. 2011 Apr 15;10(8):1192-9. PubMed PMID: 21487248. Pubmed Central PMCID: 3117132.

77. Fong PC, Boss DS, Yap TA, Tutt A, Wu P, Mergui-Roelvink M, et al. Inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase in tumors from BRCA mutation carriers. The New England journal of medicine. 2009 Jul 9;361(2):123-34. PubMed PMID: 19553641.

78. Madhusudan S, Middleton MR. The emerging role of DNA repair proteins as predictive, prognostic and therapeutic targets in cancer. Cancer treatment reviews. 2005 Dec;31(8):603-17. PubMed PMID: 16298073.

79. Dedes KJ, Wetterskog D, Mendes-Pereira AM, Natrajan R, Lambros MB, Geyer FC, et al. PTEN deficiency in endometrioid endometrial adenocarcinomas predicts sensitivity to PARP inhibitors. Science translational medicine. 2010 Oct 13;2(53):53ra75. PubMed PMID: 20944090.

80. McEllin B, Camacho CV, Mukherjee B, Hahm B, Tomimatsu N, Bachoo RM, et al. PTEN loss compromises homologous recombination repair in astrocytes: implications for glioblastoma therapy with temozolomide or poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors. Cancer research. 2010 Jul 1;70(13):5457-64. PubMed PMID: 20530668. Pubmed Central PMCID: 2896430.

81. Mendes-Pereira AM, Martin SA, Brough R, McCarthy A, Taylor JR, Kim JS, et al. Synthetic lethal targeting of PTEN mutant cells with PARP inhibitors. EMBO molecular medicine. 2009 Sep;1(6-7):315-22. PubMed PMID: 20049735. Pubmed Central PMCID: 3378149.

82. Li GM. Mechanisms and functions of DNA mismatch repair. Cell research. 2008 Jan;18(1):85-98. PubMed PMID: 18157157.

83. Kolodner RD, Marsischky GT. Eukaryotic DNA mismatch repair. Current opinion in genetics & development. 1999 Feb;9(1):89-96. PubMed PMID: 10072354.

84. Tiraby JG, Fox MS. Marker discrimination in transformation and mutation of pneumococcus. Proc Natl Acad Sci U S A. 1973 Dec;70(12):3541-5. PubMed PMID: 4148702. Pubmed Central PMCID: 427276.

85. Lynch HT, de la Chapelle A. Genetic susceptibility to non-polyposis colorectal cancer. Journal of medical genetics. 1999 Nov;36(11):801-18. PubMed PMID: 10544223. Pubmed Central PMCID: 1734258.

86. Stojic L, Brun R, Jiricny J. Mismatch repair and DNA damage signalling. DNA repair. 2004 Aug-Sep;3(8-9):1091-101. PubMed PMID: 15279797.

87. Burdett V, Baitinger C, Viswanathan M, Lovett ST, Modrich P. In vivo requirement for RecJ, ExoVII, ExoI, and ExoX in methyl-directed mismatch repair. Proc Natl Acad Sci U S A. 2001 Jun 5;98(12):6765-70. PubMed PMID: 11381137. Pubmed Central PMCID: 34427.

88. Modrich P, Lahue R. Mismatch repair in replication fidelity, genetic recombination, and cancer biology. Annual review of biochemistry. 1996;65:101-33. PubMed PMID: 8811176.

89. Obmolova G, Ban C, Hsieh P, Yang W. Crystal structures of mismatch repair protein MutS and its complex with a substrate DNA. Nature. 2000 Oct 12;407(6805):703-10. PubMed PMID: 11048710.

90. Lamers MH, Perrakis A, Enzlin JH, Winterwerp HH, de Wind N, Sixma TK. The crystal structure of DNA mismatch repair protein MutS binding to a G x T mismatch. Nature. 2000 Oct 12;407(6805):711-7. PubMed PMID: 11048711.

91. Kadyrov FA, Dzantiev L, Constantin N, Modrich P. Endonucleolytic function of MutLalpha in human mismatch repair. Cell. 2006 Jul 28;126(2):297-308. PubMed PMID: 16873062.

92. Guarne A, Ramon-Maiques S, Wolff EM, Ghirlando R, Hu X, Miller JH, et al. Structure of the MutL C-terminal domain: a model of intact MutL and its roles in mismatch repair. The EMBO journal. 2004 Oct 27;23(21):4134-45. PubMed PMID: 15470502. Pubmed Central PMCID: 524388.

93. Sancar A, Hearst JE. Molecular matchmakers. Science. 1993 Mar 5;259(5100):1415-20. PubMed PMID: 8451638.

94. Ban C, Yang W. Crystal structure and ATPase activity of MutL: implications for DNA repair and mutagenesis. Cell. 1998 Nov 13;95(4):541-52. PubMed PMID: 9827806.

95. Aronshtam A, Marinus MG. Dominant negative mutator mutations in the mutL gene of Escherichia coli. Nucleic acids research. 1996 Jul 1;24(13):2498-504. PubMed PMID: 8692687. Pubmed Central PMCID: 145974.

96. Li F, Liu Q, Chen YY, Yu ZN, Zhang ZP, Zhou YF, et al. Escherichia coli mismatch repair protein MutL interacts with the clamp loader subunits of DNA polymerase III. Mutation research. 2008 Jan 1;637(1-2):101-10. PubMed PMID: 17765269.

97. Lee JY, Chang J, Joseph N, Ghirlando R, Rao DN, Yang W. MutH complexed with hemi- and unmethylated DNAs: coupling base recognition and DNA cleavage. Mol Cell. 2005 Oct 7;20(1):155-66. PubMed PMID: 16209953.

98. Ramilo C, Gu L, Guo S, Zhang X, Patrick SM, Turchi JJ, et al. Partial reconstitution of human DNA mismatch repair in vitro: characterization of the role of

human replication protein A. Mol Cell Biol. 2002 Apr;22(7):2037-46. PubMed PMID: 11884592. Pubmed Central PMCID: 133689.

99. Modrich P. Strand-specific mismatch repair in mammalian cells. J Biol Chem. 1997 Oct 3;272(40):24727-30. PubMed PMID: 9312062.

100. Kunkel TA, Erie DA. DNA mismatch repair. Annual review of biochemistry. 2005;74:681-710. PubMed PMID: 15952900.

101. Drummond JT, Li GM, Longley MJ, Modrich P. Isolation of an hMSH2-p160 heterodimer that restores DNA mismatch repair to tumor cells. Science. 1995 Jun 30;268(5219):1909-12. PubMed PMID: 7604264.

102. Bronner CE, Baker SM, Morrison PT, Warren G, Smith LG, Lescoe MK, et al. Mutation in the DNA mismatch repair gene homologue hMLH1 is associated with hereditary non-polyposis colon cancer. Nature. 1994 Mar 17;368(6468):258-61. PubMed PMID: 8145827.

103. Shell SS, Putnam CD, Kolodner RD. The N terminus of Saccharomyces cerevisiae Msh6 is an unstructured tether to PCNA. Mol Cell. 2007 May 25;26(4):565-78. PubMed PMID: 17531814. Pubmed Central PMCID: 2001284.

104. Guo S, Presnell SR, Yuan F, Zhang Y, Gu L, Li GM. Differential requirement for proliferating cell nuclear antigen in 5' and 3' nick-directed excision in human mismatch repair. J Biol Chem. 2004 Apr 23;279(17):16912-7. PubMed PMID: 14871894.

105. Amin NS, Nguyen MN, Oh S, Kolodner RD. exo1-Dependent mutator mutations: model system for studying functional interactions in mismatch repair. Mol Cell Biol. 2001 Aug;21(15):5142-55. PubMed PMID: 11438669. Pubmed Central PMCID: 87239.

106. Dzantiev L, Constantin N, Genschel J, Iyer RR, Burgers PM, Modrich P. A defined human system that supports bidirectional mismatch-provoked excision. Mol Cell. 2004 Jul 2;15(1):31-41. PubMed PMID: 15225546.

107. Pino MS, Chung DC. Application of molecular diagnostics for the detection of Lynch syndrome. Expert review of molecular diagnostics. 2010 Jul;10(5):651-65. PubMed PMID: 20629513. Pubmed Central PMCID: 2929365.

108. Vasen HF, Moslein G, Alonso A, Bernstein I, Bertario L, Blanco I, et al. Guidelines for the clinical management of Lynch syndrome (hereditary non-polyposis cancer). Journal of medical genetics. 2007 Jun;44(6):353-62. PubMed PMID: 17327285. Pubmed Central PMCID: 2740877.

109. Senter L, Clendenning M, Sotamaa K, Hampel H, Green J, Potter JD, et al. The clinical phenotype of Lynch syndrome due to germ-line PMS2 mutations. Gastroenterology. 2008 Aug;135(2):419-28. PubMed PMID: 18602922. Pubmed Central PMCID: 2759321.

110. Schneider JC. Can microparticles contribute to inflammatory bowel disease: innocuous or inflammatory? Experimental biology and medicine. 2007 Jan;232(1):1-2. PubMed PMID: 17202580.

111. Wu Y, Berends MJ, Post JG, Mensink RG, Verlind E, Van Der Sluis T, et al. Germline mutations of EXO1 gene in patients with hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC) and atypical HNPCC forms. Gastroenterology. 2001 Jun;120(7):1580-7. PubMed PMID: 11375940.

112. Vasen HF, Mecklin JP, Khan PM, Lynch HT. The International Collaborative Group on Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer (ICG-HNPCC). Diseases of the colon and rectum. 1991 May;34(5):424-5. PubMed PMID: 2022152.

113. Lynch HT, Lynch PM, Lanspa SJ, Snyder CL, Lynch JF, Boland CR. Review of the Lynch syndrome: history, molecular genetics, screening, differential diagnosis, and medicolegal ramifications. Clin Genet. 2009 Jul;76(1):1-18. PubMed PMID: 19659756. Pubmed Central PMCID: 2846640.

114. Vasen HF, Watson P, Mecklin JP, Lynch HT. New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative group on HNPCC. Gastroenterology. 1999 Jun;116(6):1453-6. PubMed PMID: 10348829.

115. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, Syngal S, de la Chapelle A, Ruschoff J, et al. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. J Natl Cancer Inst. 2004 Feb 18;96(4):261-8. PubMed PMID: 14970275. Pubmed Central PMCID: 2933058.

116. Ionov Y, Peinado MA, Malkhosyan S, Shibata D, Perucho M. Ubiquitous somatic mutations in simple repeated sequences reveal a new mechanism for colonic carcinogenesis. Nature. 1993 Jun 10;363(6429):558-61. PubMed PMID: 8505985.

117. Thibodeau SN, Bren G, Schaid D. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. Science. 1993 May 7;260(5109):816-9. PubMed PMID: 8484122.

118. Matias-Guiu X, Prat J. Molecular pathology of endometrial carcinoma. Histopathology. 2013 Jan;62(1):111-23. PubMed PMID: 23240673.

119. Loukola A, Eklin K, Laiho P, Salovaara R, Kristo P, Jarvinen H, et al. Microsatellite marker analysis in screening for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC). Cancer research. 2001 Jun 1;61(11):4545-9. PubMed PMID: 11389088.

120. Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, Sidransky D, Eshleman JR, Burt RW, et al. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. Cancer research. 1998 Nov 15;58(22):5248-57. PubMed PMID: 9823339.

121. Ogino S, Goel A. Molecular classification and correlates in colorectal cancer. The Journal of molecular diagnostics : JMD. 2008 Jan;10(1):13-27. PubMed PMID: 18165277. Pubmed Central PMCID: 2175539.

122. Bacher JW, Flanagan LA, Smalley RL, Nassif NA, Burgart LJ, Halberg RB, et al. Development of a fluorescent multiplex assay for detection of MSI-High tumors. Dis Markers. 2004;20(4-5):237-50. PubMed PMID: 15528789.

123. Li X, Yao X, Wang Y, Hu F, Wang F, Jiang L, et al. MLH1 Promoter Methylation Frequency in Colorectal Cancer Patients and Related Clinicopathological and Molecular Features. PLoS One. 2013;8(3):e59064. PubMed PMID: 23555617. Pubmed Central PMCID: 3612054.

124. Valeri N, Gasparini P, Fabbri M, Braconi C, Veronese A, Lovat F, et al. Modulation of mismatch repair and genomic stability by miR-155. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010 Apr 13;107(15):6982-7. PubMed PMID: 20351277. Pubmed Central PMCID: 2872463.

125. Valeri N, Gasparini P, Braconi C, Paone A, Lovat F, Fabbri M, et al. MicroRNA-21 induces resistance to 5-fluorouracil by down-regulating human DNA MutS homolog 2 (hMSH2). Proc Natl Acad Sci U S A. 2010 Dec 7;107(49):21098-103. PubMed PMID: 21078976. Pubmed Central PMCID: 3000294.

126. Buecher B, Cacheux W, Rouleau E, Dieumegard B, Mitry E, Lievre A. Role of microsatellite instability in the management of colorectal cancers. Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver. 2012 Nov 26. PubMed PMID: 23195666.

127. Benedetti Panici P, Basile S, Maneschi F, Alberto Lissoni A, Signorelli M, Scambia G, et al. Systematic pelvic lymphadenectomy vs. no lymphadenectomy in early-stage endometrial carcinoma: randomized clinical trial. J Natl Cancer Inst. 2008 Dec 3;100(23):1707-16. PubMed PMID: 19033573.

128. Cozad SC. Stage II adenocarcinoma of the endometrium: adjuvant radiotherapy and recurrence patterns. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2008 May 1;71(1):205-12. PubMed PMID: 18164851.

129. Vasen HF, Wijnen JT, Menko FH, Kleibeuker JH, Taal BG, Griffioen G, et al. Cancer risk in families with hereditary nonpolyposis colorectal cancer diagnosed by mutation analysis. Gastroenterology. 1996 Apr;110(4):1020-7. PubMed PMID: 8612988.

130. Hampel H, Stephens JA, Pukkala E, Sankila R, Aaltonen LA, Mecklin JP, et al. Cancer risk in hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome: later age of onset. Gastroenterology. 2005 Aug;129(2):415-21. PubMed PMID: 16083698.

131. Duggan BD, Felix JC, Muderspach LI, Tourgeman D, Zheng J, Shibata D. Microsatellite instability in sporadic endometrial carcinoma. J Natl Cancer Inst. 1994 Aug 17;86(16):1216-21. PubMed PMID: 8040889.

132. Palomaki GE, McClain MR, Melillo S, Hampel HL, Thibodeau SN. EGAPP supplementary evidence review: DNA testing strategies aimed at reducing morbidity and mortality from Lynch syndrome. Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics. 2009 Jan;11(1):42-65. PubMed PMID: 19125127. Pubmed Central PMCID: 2743613.

133. Bischoff J, Ignatov A, Semczuk A, Schwarzenau C, Ignatov T, Krebs T, et al. hMLH1 promoter hypermethylation and MSI status in human endometrial carcinomas with and without metastases. Clinical & experimental metastasis. 2012 Dec;29(8):889-900. PubMed PMID: 22552371.

134. Banno K, Kisu I, Yanokura M, Masuda K, Ueki A, Kobayashi Y, et al. Epigenetics and genetics in endometrial cancer: new carcinogenic mechanisms and relationship with clinical practice. Epigenomics. 2012 Apr;4(2):147-62. PubMed PMID: 22449187.

135. An HJ, Logani S, Isacson C, Ellenson LH. Molecular characterization of uterine clear cell carcinoma. Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc. 2004 May;17(5):530-7. PubMed PMID: 14976538.

136. Ribic CM, Sargent DJ, Moore MJ, Thibodeau SN, French AJ, Goldberg RM, et al. Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. The New England journal of medicine. 2003 Jul 17;349(3):247-57. PubMed PMID: 12867608. Pubmed Central PMCID: 3584639.

137. Amant F, Dorfling CM, Dreyer L, Vergote I, Lindeque BG, Van Rensburg EJ. Microsatellite instability in uterine sarcomas. Int J Gynecol Cancer. 2001 May-Jun;11(3):218-23. PubMed PMID: 11437928.

138. Rios SS, Andrade RV, Pereira RW, Wall NR, Bahjri K, Caldas E, et al. Microsatellite instability in endometrial polyps. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2010 Dec;153(2):193-7. PubMed PMID: 20705379. Pubmed Central PMCID: 3184144.

139. Sutter C, Dallenbach-Hellweg G, Schmidt D, Baehring J, Bielau S, von Knebel Doeberitz M, et al. Molecular analysis of endometrial hyperplasia in HNPCC-suspicious patients may predict progression to endometrial carcinoma. International journal of gynecological pathology : official journal of the International Society of Gynecological Pathologists. 2004 Jan;23(1):18-25. PubMed PMID: 14668545.

140. Nieminen TT, Gylling A, Abdel-Rahman WM, Nuorva K, Aarnio M, Renkonen-Sinisalo L, et al. Molecular analysis of endometrial tumorigenesis: importance of

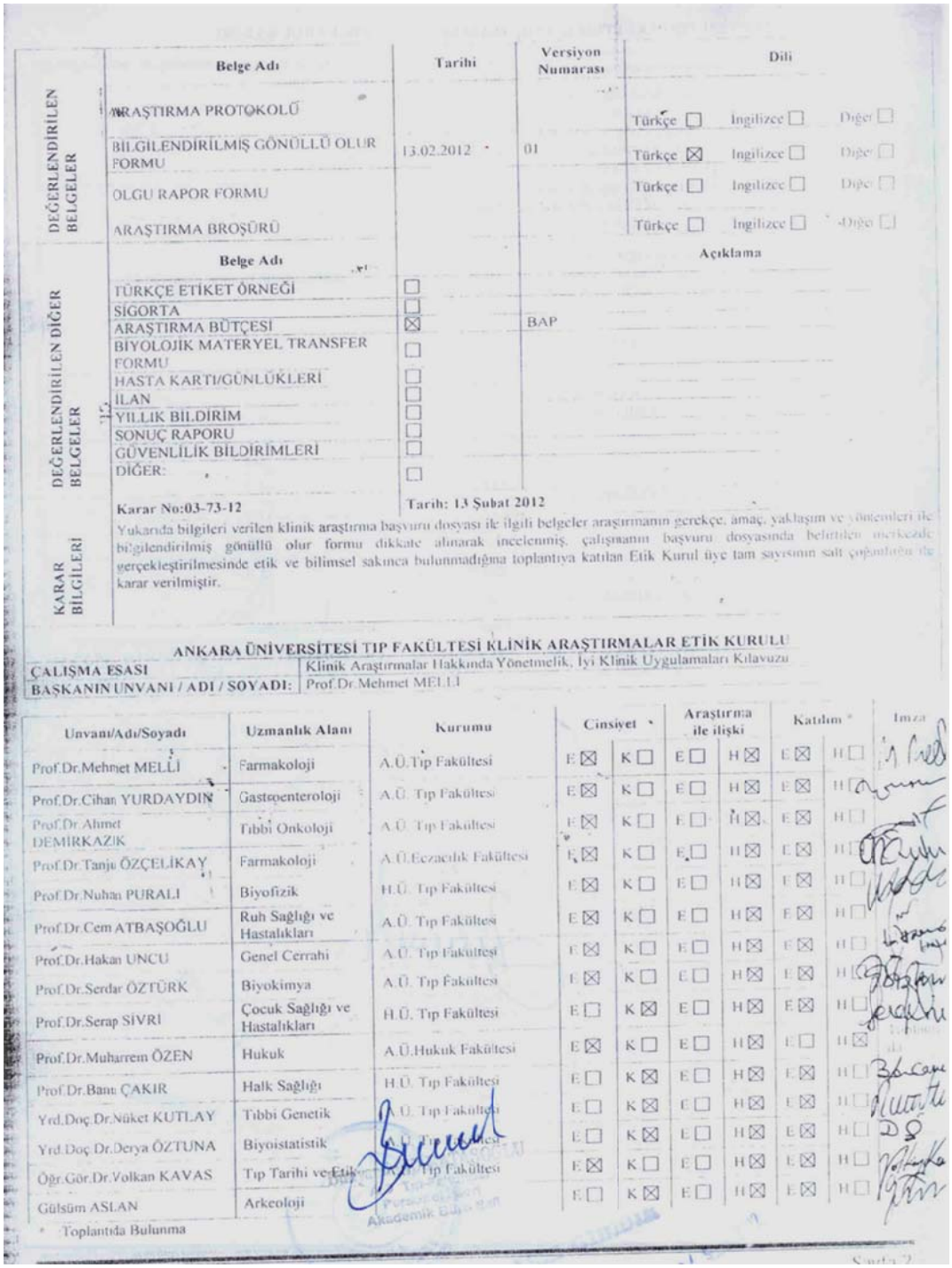
complex hyperplasia regardless of atypia. Clin Cancer Res. 2009 Sep 15;15(18):5772-83. PubMed PMID: 19723644.

141. Schneider R, Schneider C, Kloor M, Furst A, Moslein G. Lynch syndrome: clinical, pathological, and genetic insights. Langenbeck's archives of surgery / Deutsche Gesellschaft fur Chirurgie. 2012 Apr;397(4):513-25. PubMed PMID: 22362054.

142. Anastasiadis PG, Skaphida PG, Koutlaki NG, Galazios GC, Tsikouras PN, Liberis VA. Descriptive epidemiology of endometrial hyperplasia in patients with abnormal uterine bleeding. Eur J Gynaecol Oncol. 2000;21(2):131-4. PubMed PMID: 10843470.

EK. 1

ETİK KURUL KARARI



	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	13.02.2012	01	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐

	Belge Adı		Açıklama
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	☐	
	SİGORTA	☐	
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒	BAP
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐	
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	☐	
	İLAN	☐	
	YILLIK BİLDİRİM	☐	
	SONUÇ RAPORU	☐	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐	
	DİĞER:	☐	

KARAR BİLGİLERİ

Karar No:03-73-12 **Tarih: 13 Şubat 2012**

Yukarıda bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri ile bilgilendirilmiş gönüllü olur formu dikkate alınarak incelenmiş, çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.

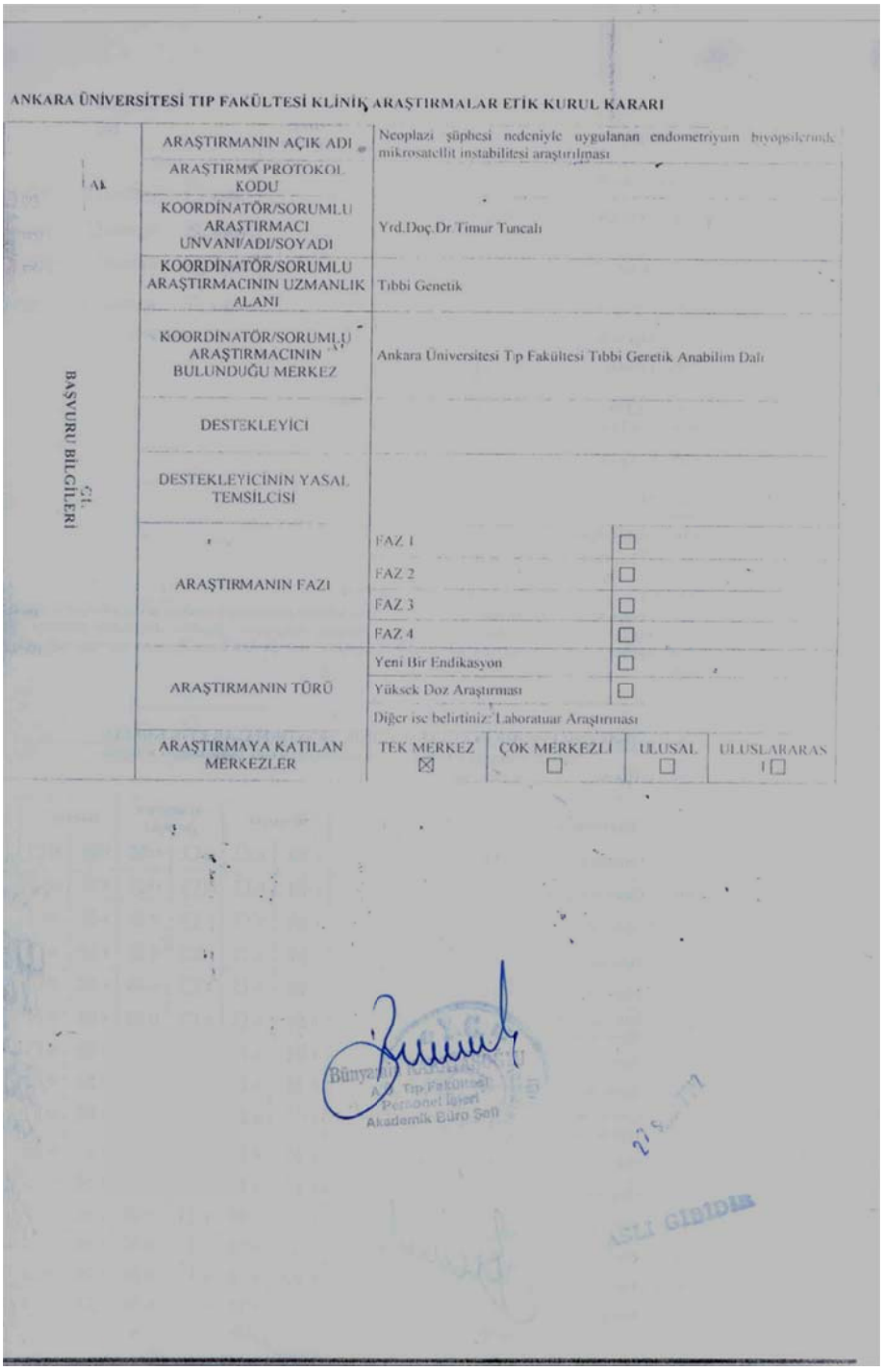
ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof.Dr.Mehmet MELLİ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet *		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof.Dr.Mehmet MELLİ	Farmakoloji	A.Ü.Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Cihan YURDAYDIN	Gastroenteroloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Ahmet DEMİRKAZIK	Tıbbi Onkoloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Tanju ÖZÇELİKAY	Farmakoloji	A.Ü.Eczacılık Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Nuhan PURALI	Biyofizik	H.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Cem ATBAŞOĞLU	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Hakan UNCU	Genel Cerrahi	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Serdar ÖZTÜRK	Biyokimya	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Serap SİVRİ	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	H.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Muharrem ÖZEN	Hukuk	A.Ü.Hukuk Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Banu ÇAKIR	Halk Sağlığı	H.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Yrd.Doç.Dr.Nüket KUTLAY	Tıbbi Genetik	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Yrd.Doç.Dr.Derya ÖZTUNA	Biyoistatistik	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Öğr.Gör.Dr.Volkan KAVAS	Tıp Tarihi ve Etik	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Gülsüm ASLAN	Arkeoloji		E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	

* Toplantıda Bulunma

ETİK KURUL KARARI



ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL KARARI

A. BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Neoplazi şüphesi nedeniyle uygulanan endometriyum biyopsilerinde mikrosatellit instabilitesi araştırılması			
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Yrd.Doç.Dr Timur Tuncalı			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Genetik			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Geretik Anabilim Dalı			
	DESTEKLEYİCİ				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZI	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
		FAZ 4	☐		
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon	☐		
		Yüksek Doz Araştırması	☐		
		Diğer ise belirtiniz: Laboratuar Araştırması			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☐	ULUSLARARAS ☐

EK 2

BİLGİLENDİRİLMİŞ HASTA ONAM FORMLARI

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Araştırmanın Adı: Neoplazi Şüphesi Nedeniyle Uygulanan Endometriyum Biyopsilerinde ve Neoplazi Tanısı ile Histerektomi Uygulanan Olgularda Mikrosatellit İnstabilitesinin Araştırılması

Araştırmanın Kolay Anlaşılır Adı: Kanser Şüphesiyle Nedeniyle Rahimde Alınan Parçadan ve Kanser Nedeniyle Amaliyat Olan Hastalarda Mikrosatellit İnstabilitesinin Araştırılması

Sorumlu Araştırıcı: Yrd.Doç.Dr. Timur TUNCALI

Mikrosatellit instabilitesi (MSI) DNA (kalıtsal genetik materyal) yanlış eşleşme onarım genlerinden birinde germline mutasyonları sonucu oluşur. DNA yanlış eşleşme onarım genlerindeki mutasyon bazı kanserlerde risk artışına yol açmaktadır. Özelikle ailesel kolon (kalın barsak) ve endometriyum (rahim) kanserleri ile birlikte mide, ince barsak, safra kesesi, üriner toplayıcı sistem ve kadın üreme organlarında kansere yakalanma riski artmakta ve daha erken yaşlarda görülmektedir.

Bu çalışmamızda amaç MSI testi ile bireylerde hastalık belirtileri görülmeden önce ya da erken hastalık evrelerinde söz konusu riski saptamaktır. Risk altındaki bireylerin özellikle yakın akrabalarında da bu riskin söz konusu olması aile bireylerine genetik danışmanlık ve klinik gözlem hizmetinin verilmesini gerektirebilir.

Çalışmaya kanser şüphesi nedeniyle endometriyum dokusunda parça alınan kişiler alınacaktır. Bu kişilerden tanı amaçlı alınan biyopsi örneğin den toplam örnek miktarının yaklaşık onda biri (0.1-0.2 gr) çalışmamızı sağlayacak doku olarak ayrılacaktır. Ek bir doku alımı olmayacaktır. Normal ve hastalıklı dokunun karşılaştırmak amacıyla kolunuzdan az miktarda (2 ml) kan alınacaktır. Bu dokulardan elde edilecek DNA'lar MSI yönünden incelemeye alınacak sonuçları kaydedilek ve bilimsel veri olarak kullanılacaktır.

Çalışma kapsamında gönüllülere herhangi bir ilaç verilmiyecektir. Bu çalışmaya katılan gönüllülerin tedavi ya da izlenimine müdahale edilmeksizin, doku örneklerinde çalışma yapılacaktır ve incelemelerin sonuçları kaydedilecektir. Bu bilgi bilimsel amaçlarla kullanılacaktır. Bu çalışmaya katılan gönüllülerin sonuçları gerek görüldüğünde kendileri ve ilgili hekimler ile paylaşılacaktır. Planlanan çalışmanın örnek eldesi aşamasının 12 ay, örneklerin test aşamasının 4-8 ay örtüşümlü olarak 12 ay içerisinde tamamlanması hedeflenmektedir.

Bu çalışma sırasında size yapılacak muayene, laboratuvar tetkiki vs. gibi işlemler **ÜCRETSİZ OLUP SİZDEN VEYA BAĞLI BULUNDUĞUNUZ SİGORTA KURUMUNDAN HİÇBİR ÜCRET TALEP EDİLMEYECEKTİR.**

Çalışmaya yalnız bilgilendirilmesi ardından, olur veren kişiler dahil edilecektir. Çalışmaya katıldığınız takdirde herhangi bir zamanda hiçbir mazeret bildirmeden olurunuzu geri alma hakkına sahipsiniz. Bundan dolayı sonraki tıbbi takip ve tedavi esnasında mevcut haklardan herhangi bir kayba uğramanız söz konusu değildir.

Kaydedeceğimiz size ait veriler gizlilik kurallarına uygun olarak saklanacak ve sonuçlar yayınlandığında kimlik bilgileriniz ve isminiz gizli tutulacaktır. Bu belgeyi imzalayarak tıbbi bilgilerinizin bu şartlar altında kullanılmasına izin vermektesiniz.

Eğer çalışma ile ilgili daha detaylı bilgi almak isterseniz veya çalışma süresince aklınıza takılan bir soru olursa, çalışmanın sorumlu yürütücüsü/yardımcı araştırıcısı olan olan **Yrd. Doç. Dr. Timur Tuncalı ya da Dr. Cemal Ekici'**ye danışabilirsiniz.

Tel : (0 312) 595 81 63, 595 81 27, 595 81 92

Gönüllü Oluru

Bu sayfayı imzalamakla gönüllü olarak Neoplazi Şüphesi Nedeniyle Uygulanan Endometriyum Biyopsilerinde Mikrosatellit İnstabilitesinin Araştırılması adlı çalışmaya katılmayı kabul etmiş olacağım konusunda bilgilendirildim. Yukarıdaki bilgileri okudum. Aynı zamanda bana sözlü açıklama da yapıldı. Bu koşullar altında, kendi rızam ile bu çalışmaya katılmayı kabul ediyorum.Bana ait tıbbi kayıtların sağlık otoritelerince incelenebileceğini anladım ve bu kişilere izin veriyorum.

Alınan doku örneğimin aşağıdaki koşullarda kullanılmasına izin veriyorum. (Aşağıdaki şıklardan yalnız birini seçiniz)

☐ Tarafımdan alınan doku örneğinin yalnızca bu çalışma için kullanılmasını onaylıyorum. İleride yapılması olası diğer çalışmalar için onay vermiyorum.

☐ Tarafımdan alınan doku örneğinin önerilen çalışma için kullanılmasını onaylıyorum. Gelecekte yapılması olası her türlü çalışmada da isimsizleştirilerek kullanılmasını onaylıyorum.

☐ Tarafımdan alınan doku örneğinin araştırma konusu ile bağlantılı diğer çalışmalarda kullanımını onaylıyorum. Ancak, farklı çalışmalar için tekrar bilgilendirilmek ve yeni onay vermek istiyorum.

Gönüllünün adı soyadı:	Tarih:…../……/……
……	
Adresi : ……	İmza:

…… Tel : ……	
Gönüllünün yasal temsilcisinin adı soyadı: (gerekli ise) …… Adresi : …… …… Tel : ……	Tarih:…../……/…… İmza:
Açıklama yapan araştırıcının adı soyadı: ……	Tarih:…../……/…… İmza:

Bu formun imzalı bir kopyası gönüllüye verilecek, bir kopyası araştırıcıda kalacaktır.

T.C.
Sağlık Bakanlığı
ETLİK ZÜBEYDE HANIM KADIN HASTALIKLARI EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ

GÖNÜLLÜ DENEK BİLGİLENDİRME VE ONAY KAĞIDI

Araştırmanın konusu	:	Başlığı: Neoplazi veya şüphesi nedeniyle uygulanan endometriyum biyopsilerinde ve neoplazi tanısı ile histerektomi uygulanan olgularda mikrosatellit instabilitesinin araştırılması
Araştırmanın amacı	:	Hastalık belirtileri görülmeden önce ya da erken hastalık evresinde söz konusu riski saptamak
Araştırmaya katılma süresi	:	6 ay
Araştırmaya katılacak yaklaşık gönüllü sayısı	:	200

Mikrosatellit instabilitesi (MSI) DNA (kalıtsal genetik materyal) yanlış eşleşme onarım genlerinden birinde germline mutasyonları sonucu oluşur. DNA yanlış eşleşme onarım genlerindeki mutasyon bazı kanserlerde risk artışına yol açmaktadır. Özelikle ailesel kolon (kalın barsak) ve endometriyum (rahim) kanserleri ile birlikte mide, ince barsak, safra kesesi, üriner toplayıcı sistem ve kadın üreme organlarında kansere yakalanma riski artmakta ve daha erken yaşlarda görülmektedir.

Bu çalışmamızda amaç MSI testi ile bireylerde hastalık belirtileri görülmeden önce ya da erken hastalık evrelerinde söz konusu riski saptamaktır. Risk altındaki bireylerin özellikle yakın akrabalarında da bu riskin söz konusu olması aile bireylerine genetik danışmanlık ve klinik gözlem hizmetinin verilmesini gerektirebilir.

Çalışmaya endometrium dokusunda biyopsi yapılan kişiler alınacaktır. Bu kişilerden tanı amaçlı alınan biyopsi örneğinden toplam örnek miktarının yaklaşık onda biri (0.1-0.2 gr) çalışmamızı sağlayacak doku olarak ayrılacaktır. Ek bir doku alımı olmayacaktır. Ayrıca kontrol amaçlı her hastadan 2 ml periferik kan alınacak. Bu doku ve kandan elde edilecek DNA'lar MSI yönünden incelemeye alınacak sonuçları kaydedilec ve bilimsel veri olarak kullanılacaktır.

Çalışma kapsamında gönüllülere herhangi bir ilaç verilmiyecektir. Bu çalışmaya katılan gönüllülerin tedavi ya da izlenimine müdahale edilmeksizin, doku örneklerinde çalışma yapılacaktır ve incelemelerin sonuçları kaydedilecektir. Bu bilgi bilimsel amaçlarla kullanılacaktır. Bu çalışmaya katılan gönüllülerin sonuçları gerek görüldüğünde kendileri ve ilgili hekimler ile paylaşılacaktır. Planlanan çalışmanın örnek eldesi aşamasının 4 ay, örneklerin test aşamasının 2 ay örtüşümlü olarak 6 ay içerisinde tamamlanması hedeflenmektedir.

Bu çalışma sırasında size yapılacak muayene, laboratuvar tetkiki vs. gibi işlemler **ÜCRETSİZ OLUP SİZDEN VEYA BAĞLI BULUNDUĞUNUZ SİGORTA KURUMUNDAN HİÇBİR ÜCRET TALEP EDİLMEYECEKTİR.**

Çalışmaya yalnız bilgilendirilmesi ardından, olur veren kişiler dahil edilecektir. Çalışmaya katıldığınız takdirde herhangi bir zamanda hiçbir mazeret bildirmeden olurunuzu geri alma

hakkına sahipsiniz. Bundan dolayı sonraki tıbbi takip ve tedavi esnasında mevcut haklardan herhangi bir kayba uğramanız söz konusu değildir.

Kaydedeceğimiz size ait veriler gizlilik kurallarına uygun olarak saklanacak ve sonuçlar yayınlandığında kimlik bilgileriniz ve isminiz gizli tutulacaktır. Bu belgeyi imzalayarak tıbbi bilgilerinizin bu şartlar altında kullanılmasına izin vermektesiniz.

Eğer çalışma ile ilgili daha detaylı bilgi almak isterseniz veya çalışma süresince aklınıza takılan bir soru olursa, çalışmanın sorumlu yürütücüsü/yardımcı araştırıcısı olan olan **Yrd. Doç. Dr. Timur Tuncalı ya da Dr. Cemal Ekici'**ye danışabilirsiniz.

Yukarıdaki, araştırmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri içeren metni okudum. Bana, tanık huzurunda, aşağıda konusu belirtilen araştırmayla ilgili yazılı ve sözlü açıklama yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı ve katılmama hakkımın olduğunu, araştırma başladıktan sonra devam etmeyi istememe hakkına sahip olduğum gibi, kendi isteğime bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma dışı bırakılabileceğimi biliyorum. Bu koşullarda söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın, kendi rızam ile katılmayı kabul ediyorum.

GÖNÜLLÜ	
Adı Soyadı: Adresi:	Telefon : (0) Faks : (0) İmza
Bilgi verebilecek kişi:	
VELİ ,VASİ VEYA VEKİL	
Adı Soyadı: Adresi:	Telefon : (0) Faks : (0) İmza
Yakınlığı:	
ARAŞTIRMACI	
Adı Soyadı: Adresi:	Telefon : (0) Faks : (0)
GEREKTİĞİNDE GÖNÜLLÜ VEYA YAKININ BILGI IÇIN BAŞVURABILECEĞI KIŞI	
Adı Soyadı: Adresi:	Telefon : (0) Faks : (0)
TANIK	
Adı Soyadı: Görevi: Adresi:	Telefon : (0) Faks : (0) İmza
TANIK	
Adı Soyadı:	Telefon : (0)

Görevi: Adresi:	Faks : (0) İmza

Not. Bu belge dört örnek halinde hazırlanacak birer örnek araştırmacı, gönüllü, tanık ve kurum tarafından saklanacaktır.