TC. SAĞLIK BİLİMLERİ
ÜNİVERSİTESİ
ANKARA BİLKENT ŞEHİR HASTANESİ
TIBBİ PATOLOJİ KLİNİĞİ

ENDOMETRIAL KARSINOMLARDA DNA TAMIR MEKANIZMASI HOMOLOG REKOMBINASYON (HR) YETERSIZLIĞININ GÖRÜLME SIKLIĞI VE HR ANAHTAR PROTEINLERINDEN RAD51 EKSPRESYONUNUN KLINIKOPATOLOJIK PARAMETRELERLE KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. Elif Kara

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

ANKARA/2024

TC. SAĞLIK BİLİMLERİ
ÜNİVERSİTESİ
ANKARA BİLKENT ŞEHİR HASTANESİ
TIBBİ PATOLOJİ KLİNİĞİ

ENDOMETRIAL KARSINOMLARDA DNA TAMIR MEKANIZMASI HOMOLOG REKOMBINASYON (HR) YETERSIZLIĞININ GÖRÜLME SIKLIĞI VE HR ANAHTAR PROTEINLERINDEN RAD51 EKSPRESYONUNUN KLINIKOPATOLOJIK PARAMETRELERLE KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. Elif Kara

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Aylin Yazgan

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

ANKARA/2024

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın hazırlanması esnasında bana yol gösterici ve destek olan, sevgili danışman hocam Prof. Dr. Aylin Yazgan'a ve her konuda bizleri yönlendiren ve eğiten, hoşgörüsünü ve desteğini bizlerden esirgemeyen Prof. Dr. Fazlı Erdoğan'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini özveriyle aktaran, patoloji bölümünü sevmemde büyük katkı ve emekleri olan, sabır ve hoşgörü ile beni daima iyi bir hekim olmaya teşvik eden, uzmanlık eğitimimde büyük desteğini gördüğüm Ankara Bilkent Şehir Hastanesi'nin tüm saygıdeğer hocaları ve uzmanlarına,

Çalışmamın arşiv basamağında her daim özveri ile çalışan ve yardımcı olan İzzet Özmen'e,

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum canım asistan arkadaşlarıma ve tüm laboratuvar teknisyenlerimize ve çalışma arkadaşlarımıza teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan, beni her koşulda destekleyen ve şu an kanserle savaşan anneme, canım babama ve en büyük destekçim eşim Berkay Dağlı'ya teşekkür ederim.

Tez çalışmam, Sağlık Bilimleri Üniversitesi BAP koordinatörlüğü tarafından 007/2024 proje numarası ile desteklenmektedir.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR i
İÇİNDEKİLER ii
KISALTMALAR iv
RESİMLER vii
TABLOLAR viii
ŞEKİLLER ix
ÖZET x
ABSTRACT xii
1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 2
2.1. EMBRİYOLOJİ 3
2.2. ANATOMİ 3
2.3. HİSTOPATOLOJİ 4
2.3.1. Proliferatif Faz 5
2.3.2. Sekretuar Faz 5
2.3.3.Menstruel Faz 6
2.4. ENDOMETRİAL KANSERLER 6
2.4.1. Endometrioid Karsinom 8
2.4.2. Seröz Karsinom 11
2.4.3. Berrak Hücreli Karsinom 12
2.4.4. Undifferansiye ve dedifferansiye karsinom 13
2.4.5. Mikst karsinom 15
2.4.6. Karsinosarkom 15
2.5. ENDOMETRIAL KARSINOMLARDA PROGNOSTIK PARAMETRELER 16
2.6. ENDOMETRİAL KANSERİNDEKİ GENETİK MEKANİZMALAR VE PATOGENEZ 18
2.6.1. Ultramutasyonel Subtip 18

2.6.2. Mikrosatellit İnstabil Olan Grup 19
2.6.3. Düşük Kopya Sayısı Değişiklikleri Gösteren Grup (NSMP) 19
2.6.4. Yüksek Kopya Sayısı Değişiklikleri ve TP53 Mutasyonları Olan Grup .. 19
2.7. ENDOMETRIAL KARSINOMLARDA FIGO EVRELEMESI 20
2.8. DNA TAMİR MEKANİZMASI 23
2.9. HOMOLOG REKOMBINASYON TAMIR MEKANIZMASI VE RAD51'IN KANSER MEKANIZMASINDAKI ROLÜ 23
2.10. P53 32
3. GEREÇ VE YÖNTEM 36
3.1. P53 38
3.2. RAD51 38
3.3. İMMÜNHISTOKIMYASAL ÇALIŞMANIN DEĞERLENDIRILMESI 39
3.4. İSTATISTIKSEL YÖNTEMLER 41
4. BULGULAR 42
4.1. TÜMÖR TIPI ILE H-SKOR DÜZEYI ARASINDAKI İLIŞKI 60
4.2. LENFOVASKÜLER INVAZYON (LVI) ILE H-SKOR DÜZEYI ARASINDAKI İLIŞKI 61
4.3. MMR PROTEIN EKSPRESYON DURUMU ILE H-SKOR DÜZEYI ARASINDAKI İLIŞKI: 61
4.4. İKI YIL İÇINDE REKÜRRENS DURUMU ILE H-SKOR DÜZEYI ARASINDAKI İLIŞKI 61
5. TARTIŞMA 64
6. SONUÇ 73
7. KAYNAKÇA 75

KISALTMALAR

ATP: Adenosine Triphosphate

ATM: Ataxia Telangiectasia Mutated

ARID1A: AT zengin interaktif domain içeren protein 1A

ATRX: alpha thalassemia/mental retardation

BAX: BCL2 Associated X

BRCA: Breast Cancer Susceptibility Gene

BER: Base eksizyon repair

BIR: Break induced repair

CDKN1A: Cyclin-dependent kinase inhibitor 1a

CMG: Cdc45-MCM-GINS

Cerb-B2 (ERBB2, HER2): İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2

CHEK2: Checkpoint kinase 2

DNA: Deoksiribonükleik Asit

D-loop: Yer değiştirme D döngüsü

Ds-DNA: çift sarmalli DNA

DSB: Double strand break

RNA: Ribo Nükleik Asit

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

EGFR: Epidermal büyüme faktörü reseptörü

EMT: Epitelyal mezenkimal transizyon

ERCC1: excision repair cross-complementation group 1

ER: Östrojen reseptörü

PR: Progesteron reseptörü

FANCD2: The Fanconi anemia complementation group d2

FIGO: International Federation of Gynecology and Obstetrics

H&E: Hematoksilen ve Eozin

HMGA2: high mobility group AT-hook 2

HR: Homolog rekombinasyon

HRR: Homolog rekombinasyon repair

IMP3: IMP U3 small nucleolar ribonucleoprotein 3

İHK: immünhistokimya

KRAS: Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog

LVI: Lenfovasküler invazyon

L1CAM: L1 Cell Adhesion Molecule

LOH: loss of heterozygosity

MLH1: Mut L Homolog 1

MMR: Mismatch Repair

mRNA: mesajcı ribonükleik asit

MSH2: Mut L Homolog 2

MSH6: Mut S Homolog 6

MSI: Mikrosatellit instabilite

MSS: Mikrosatellit stabil

MTA: mutT-homolog 1

Myc: myelocytomatosis gene

muREC2/RAD51L1: mutant recombination-repair/RAD51L1

NHEJ: Non-homolog end-joining

NOS: Not otherwisw spesified

NSMP: Nonspesifik moleküler profil

PCR: Polymerase Chain Reaction

PD-L1: Programmed Cell Death Ligand 1

POLE: DNA polymerase epsilon, catalytic subunit

PTEN: Phosphatase and Tensin Homolog

PMS2: PMS 1 Homolog 2

PUMA: BCL2 binding component 3

RAD51: Bakteriyel RecA ve Maya Rad51 homologu

RDR: rekombinasyona bağlı replikasyon

RPA: replikasyon protein A

ROS: Reactive Oxygen Species

ssDNA: single stranded DNA

SIM2s: Single-minded homolog 2

TCGA: The Cancer Genome Atlas

TMA: Tissue microarray

TP53 (p53): tümör protein 53

TLS: translezyonel sentezlenme

TIL: tümör infiltre eden lenfositler

SCNA: somatic copy-number alterations

SMARCA4: SWI/SNF Related, Matrix Associated, Actin Dependent Regulator Of Chromatin, Subfamily A, Member 4

PARP1: Poly-ADP ribose polymerase

PI3K: Fosfotidil inositol 3 Kinaz Yolu

pRB: protein retinoblastoma-1

UV: ultraviolet

ɣH2AX: minor histone H2A variant

RESİMLER

Resim 1: Endometrioid karsinom, FIGO derece 3 (H&E, x100) 9
Resim 2: Seröz karsinom papiller pattern (H&E x100), B. Belirgin nükleol sergileyen pleomorfik hücreler (H&E x200) 11
Resim 3. Berrak hücreli karsinom, şeffaf hücreler sergileyen (H&E x100), B. Eozinofil hücrelerden oluşan tubuler yapılar (H&E x100) 13
Resim 4: Dediferansiye karsinom (H&E, x40) 14
Resim 5: Karsinosarkom, homolog sarkom komponentli (H&E x100), B. Karsinosarkom, kondrosarkom alanları (H&E x100) 16
Resim 6: Olgulardan örnekler, p53 wild tip ekspresyon (IHK x200), B. p53 mutant-null tipte ekspresyon (IHK x200), p53 mutant-yaygın nükleer tipte ekspresyon (IHK x200), p53 mutant-sitoplazmik tipte ekspresyon (IHK x200) 33
Resim 7: TMA blok ve H&E boyalı kesit örnekleri 37
Resim 8: Karsinosarkom, RAD51 ekspresyonu skor: 0 (IHK x200), Endometrioid karsinom RAD51 ekspresyonu skor: 1 (IHK x200), Seröz karsinom RAD51 ekspresyonu skor: 2 (IHK x200), Dediferansiye karsinom RAD51 ekspresyonu skor: 3 (IHK x200) 40
Resim 9: Seröz karsinom (HE x200), B. Aynı olguda p53 mutant ekspresyon (IHK x200), C. Aynı olguda RAD51 ifadesi skor: 3 (IHK x200), D: Karsinosarkom (HE x200), E. Aynı olguda p53 wild ekspresyon (IHK x200), F. Aynı olguda RAD51 ifadesi skor: 0 (IHK x200) 53

TABLOLAR

Tablo 1: MELF, mikrokistik, elonge ve fragmente; MMR, mismatch repair; NSMP, spesifik moleküler profili olmayan; TIL, tümör infiltre eden lenfositler. (2) 10
Tablo 2: FIGO evrelemesi, 2023 22
Tablo 3: Olguların Klinik ve Patolojik Özellikleri 43
Tablo 4: Ölçümlere Ait Betimsel İstatistikler 46
Tablo 5: H-SKOR ile Klinik ve Patolojik Özellikler Arasındaki İlişki 49
Tablo 6: RAD51 ekspresyon durumuna göre p53 mutasyon dağılımı 54
Tablo 7: Ölçümlerin, H-SKOR Açısından İncelenmesi 55
Tablo 8: H-skor Düzeyine Göre Sağkalımın İncelenmesi 57
Tablo 9: Evre Ayrımında H-skor Düzeyine Göre Sağkalımın İncelenmesi 58
Tablo 10: Evre Ayrımında H-skor ile 2 Yıl İçinde Rekürrens Durumu Arasındaki ilişkinin İncelenmesi 58
Tablo 11: P53 ekspresyonu İçin H-skor Düzeyine Göre Sağkalımın İncelenmesi 59
Tablo 12: H-skor ile Klinik ve Patolojik Özellikler Arasındaki İlişki 59
Tablo 13: Olguların histolojik tipi ve p53 mutasyon durumunun, RAD51 H-skor sıralamasına göre dağılımı 63

ŞEKİLLER

Şekil 1: DNA hasar cevap biomarkerları, (3) numaralı kaynaktan (Aurelie A, Catherine G.) aynen alınmıştır 23
Şekil 2: Homolog rekombinasyon gösteren DSB modeli, (32) numaralı kaynaktan (Gelot C, Magdalou I) aynen alınmıştır. 26
Şekil 3: Homolog rekombinasyon gösteren DSB modeli devamı, (32) numaralı kaynaktan (Gelot C, Magdalou I) aynen alınmıştır 28
Şekil 4: Olguların histolojik tiplerine göre dağılımı..... 44
Şekil 5: H-skor seviyelerine gore genel sağkalım eğrileri 58
Şekil 6: Endometrioid karsinomlu hastalarda RAD51 H-skor dağılımı..... .60

ÖZET

Amaç: Endometrial kanserler Türkiye'de ve dünyada kadınlarda sıklıkla görülen kanserlerdir ve endometrial kanserlere bağlı ölümlerin çoğu yüksek dereceli endometrial kanserler sebep olur. Homolog rekombinasyon DNA çift zincir kırıklarında kardeş kromatidin baz alınarak tamir edilmesini sağlar. RAD51 DNA çift zincir kırıklarının tamir mekanizmasında önemli rol alan homolog rekombinasyonda kritik bir yardımcıdır. Homolog rekombinasyon hatası bulunan tümörlerin platinum bazlı kemoterapötiklere ve PARP1 inhibitörlerine duyarlı olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmamızda homolog rekombinasyon DNA tamir yetersizliğini belirlemeye yönelik RAD51 ekspresyonu ve p53 mutasyon durumunu immünohistokimyasal yöntemle saptamak ve bu parametreleri birbirleriyle ve patolojik parametreler ile karşılaştırarak HR yetersizliğinin görülme sıklığı ile hedef tedavilere yanıt verebilecek grubun klinikopatolojik özelliklerini saptamak amaçlandı.

Gereç ve yöntem: 2019-2024 yılları arasında Ankara Şehir Hastanesi Tıbbi Patoloji Bölümü'nde TAH+BSO spesmenleri arasından seröz karsinom tanılı 19, endometrioid karsinom tanılı 12, berrak hücreli karsinom tanılı 3, dediferansiye karsinom tanılı 4, mikst karsinom tanılı 3, yüksek dereceli endometrial karsinom tanılı 2 ve karsinosarkom tanılı 20 tümör örneklerine immünhistokimyasal yöntemle RAD51 ve p53 antikorları uygulanmıştır. RAD51 protein ekspresyon değerlendirmesinde, yoğunluk sınıflamasına göre hesaplanan, proteinler ve tümörler arasında bağlantı kurmak için yaygın olarak kullanılan H-skoru kullanılmıştır. RAD51 ifadesi p53 ekspresyonu birbiriyle, RAD51 ekspresyonu tümör histolojik tipleri, FİGO evresi gibi patolojik parametreler ve adjuvant tedavi durumu, 2 yıl içinde rekürrens, genel sağkalım gibi klinik parametreler ile karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Mutant p53 ekspresyonu olan hastaların %36,1'i düşük ekspresör, %63,9'u yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Wild tip p53 ekspresyonu olan hastaların %63'ü düşük ekspresör, %37'si yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, P53 mutasyonu durumu ile H-skor düzeyi arasında istatistiksel olarak

anlamlı bir ilişki olduğunu göstermektedir (p = 0,044). Buna göre mutant olanların wild olanlara göre daha yüksek ekspresör olduğu görülmektedir.

Endometrioid karsinom, Figo Grade 3 olan hastalar ile diğer histolojik tipte tümörlerin ile H-skor düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmaktadır (p = 0,035). Endometrioid karsinom, Figo Grade 3 olan hastaların H-skor düzeyinin, diğer tümör tiplerine sahip hastalardan anlamlı derecede düşük olduğu saptanmıştır.

Sonuç: Çalışmamızda P53 mutant olan tümörlerin, wild olanlara göre daha yüksek H-skora sahip olduğu bulunmuş; histolojik alt tipler incelendiğinde endometrioid karsinom, Figo derece 3 olan hastaların RAD51 H-skorları, ile diğer histolojik tipte tümörlerin ile H-skorlarına göre anlamlı olarak düşük saptanmıştır. Dolayısıyla bu gruptaki immünhistokimyasal sonuçlar, HR eksikliği için gen değerlendirmesi yapılmasına elverişli olabilir ve immünhistokimyasal yöntem HR eksikliğine yönelik yapılabilecek gen analizinden önce, için daha ekonomik ve kolay bir ön tarama testi olarak gündeme gelmektedir. Yüksek dereceli endometrial karsinomlu hastalarda RAD51 ekspresyonun değerlendirilmesi, HR yetersizliği hedef alacak tedavilerden fayda görecek hasta grubunu seçmede yardımcı olması açısından umut vadedebilir. Bu çalışma, Türkiye popülasyonuna ait yüksek dereceli endometrial karsinomlarda, doku mikroarray yöntemi ile RAD51 ve p53 biyobelirteçlerin immünhistokimyasal olarak araştırıldığı ilk çalışma olması açısından önem taşımaktadır.

Anahtar kelimeler: immünhistokimya, RAD51, p53, endometrial kanserler

ABSTRACT

Objectives: Endometrial cancers are the most common cancers in women in Turkey and worldwide and most of the deaths due to endometrial cancers are caused by high-grade endometrial cancers. Homologous recombination allows DNA double-strand breaks to be repaired based on the sister chromatid. Rad51 is a critical helper in homologous recombination, which plays an important role in the repair mechanism of DNA double-strand breaks. It has been observed that tumors with homologous recombination defects are sensitive to platinum-based chemotherapeutics and PARP1 inhibitors. In our study, we aimed to determine RAD51 expression and p53 mutation status by immunohistochemistry to determine homologous recombination DNA repair deficiency and to compare these parameters with each other and with pathologic parameters to determine the incidence of HR deficiency and the clinicopathologic characteristics of the group that may respond to target therapies.

Materials and methods: RAD51 and p53 antibodies were investigated by immunhistochemistry in 19 tumor specimens diagnosed with serous carcinoma, 12 with endometrioid carcinoma, 3 with clear cell carcinoma, 4 with dedifferentiated carcinoma, 3 with mixed carcinoma, 2 with high-grade endometrial carcinoma and 20 with carcinosarcoma among TAH+BSO specimens in the Medical Pathology Department of Ankara City Hospital between 2019-2024. For RAD51 protein expression assessment, we used the H-score, which is widely used to link proteins and tumors, calculated according to intensity classification. RAD51 expression was compared with p53 expression, RAD51 expression was compared with pathological parameters such as tumour histological types, FIGO stage and clinical parameters such as adjuvant treatment status, recurrence within 2 years and overall survival.

Results: Among patients with mutant p53 expression, 36.1% were low expressers and 63.9% were high expressers. In patients with wild-type p53 expression, 63% were low expressors and 37% were high expressors. These results show that there is a statistically significant relationship between p53 mutation status and H-score level ($p = 0.044$). Accordingly, mutant patients were found to be higher expressors than wild type patients.

There is a statistically significant correlation between patients with endometrioid carcinoma, Figo Grade 3 and other histologic types of tumors and H-score level ($p = 0.035$). This finding indicates that patients with Endometrioid carcinoma, Figo Grade 3 are significantly different from patients with other tumor types in terms of H-score level.

Conclusion: In our study, p53 mutant tumors were found to have higher H-scores than wild-type tumors. When histological subtypes were analyzed, RAD51 H-scores of patients with endometrioid carcinoma, Figo grade 3 were significantly lower than those of patients with other histological types. Therefore, immunohistochemical results in this group may be suitable for gene evaluation for HR deficiency and the immunohistochemical method comes to the fore as a more economical and easier preliminary screening test before gene analysis for HR deficiency. Evaluation of RAD51 expression in patients with high-grade endometrial carcinoma may be promising in terms of helping to select the patient group that will benefit from therapies targeting HR deficiency. This study is important as it is the first study in which RAD51 and p53 biomarkers were investigated immunohistochemically by tissue microarray method in high-grade endometrial carcinomas from the Turkish population.

Keywords: immunohistochemistry, RAD51, p53, endometrial cancers

1. GİRİŞ

Endometrial karsinomlar dünya genelinde kadınlarda 6.sıklıkla, Türkiye'de insidansı 100.000'de 14.3 sıklıkta olan tümörlerdir(1). Yüksek gelirli ülkelerde 5 yıllık sağkalım %80 civarındayken, dünya genelinde kadınlarda kanser ilişkili ölümlerde 14. sırada yer almaktadır(2). Primer tedavi cerrahi olmakla birlikte adjuvan kemo-radyoterapi kararı, klinikopatolojik parametrelere göre yapılan risk sınıflandırılmasına göre verilmektedir. Çoğu düşük dereceli olmakla birlikte hormon reseptörü eksprese etme eğilimindedirler. Ancak endometrial karsinomların (EK) bir kısmı (%15-20) kötü prognozlu olup, bu olgular derece 3 endometrioid karsinom ya da non-endometrioid (seröz karsinom, berrak hücreli karsinom, karsinosarkom, undiferansiye karsinom, mikst endometrial karsinomlar) histolojide, lenfovasküler invazyonu pozitif veya ileri evrede saptanmıştır. Relaps riski yüksek EK'lerde adjuvan kemoterapi hastalıksız sağkalımını arttıran ya da azaltan yönde etkilerini bildiren çalışmalar sınırlı sayıdadır.

2013 yılında TGCA histolojik sınıflandırmaya ek olarak EK'lerde moleküler prognostik sınıflama oluşturarak 4 grup tanımlamıştır: "POLE mutant'' endometrioid tümörler, "microsatellite unstable'' tümörler, "microsatellite stable copy number-low'' and "copy number-high serous-like'' EK'ler (ağırlıklı tp53 mutant seröz histoloji ile ilişkili). Sınıflamada tanımlanan SCNA-hi/p53 mutant grupta seröz karsinomlar, karsinosarkomlar, berrak hücreli karsinomlar ve derece 3 endometrioid karsinomlar sıkça görülür.

TGCA ağırlıklı olarak düşük riskli endometrial tümörleri analiz etmiş olup, yüksek riskli grupta prognostik sınıflama ihtiyacı, adjuvant tedavi kararını verebilmek ve hedefe yönelik stratejiler geliştirmek açısından daha fazladır. TransPORTEC konsorsiyumu yüksek riskli EK'lerde moleküler sınıflandırma tanımlamıştır. Araştırmada gösterilmişki "p53 mutant grup" ile "spesifik moleküler profili olmayan" grubun hastalıksız sağkalım eğrileri örtüşmektedir. Bu da non-endometrioid kanserlerin fazlalığıyla açıklanabilir(3).

SCNA-hi/p53 mutant olan hastalarda, homolog rekombinasyon (HR) yetersizliğinin daha sık görüldüğünü belirten yayınlar bulunmaktadır. RAD51 ekspresyonun değerlendirmesi ile bu grupta yaklaşık %46 oranda HR eksikliği bildirilmiştir(4). HR çift zincir kırıklarında kardeş kromatidin baz alınarak tamir

edilmesini sağlar. Rad51 nükleazları, helikazları, DNA translokazları ve sinyal proteinlerini regüle edebilen DNA bağlayıcı proteindir. RAD51 rekombinaz ise DNA çift zincir kırıklarının tamir mekanizmasında önemli rol alan homolog rekombinasyonda kritik bir yardımcıdır.

HR eksikliğinde RAD51 proteini, HR rekombinasyon hatası olan tümörleri saptamada son dönemlerde önemli faktör olarak ortaya çıkmıştır. HR hatası bulunan tümörlerin platinum bazlı kemoterapötiklere ve PARP1 inhibitörlerine duyarlı olduğu gözlemlenmiştir. Tedavi modalitelerinin de gelişmesiyle birlikte son yapılan moleküler sınıflamayı bir adım ileri taşıyabilecek, özellikle yüksek dereceli gruplar içerisinde genetik ve prognostik özelliklere göre ileri sınıflandırma önem kazanmaktadır. Bu çalışmanın en önemli hedeflerinden biri yüksek riskli EK'lerde DNA hasar cevabı potansiyel biyobelirteçlerinden RAD51'in, özellikle SCNA-hi/p53 mutant grupta moleküler alt sınıflandırmaya katkı sağlayıp sağlayamayacağını araştırmaktır. Diğer bir hedef de RAD51 proteinini ve tp53 mutasyonunu birbirleriyle ve patolojik parametreler ile karşılaştırarak HR yetersizliği için potansiyel bir belirteç olabilecek RAD51'in görülme sıklığını ile hedef tedavilere yanıt verebilecek grubun klinikopatolojik özelliklerini saptamaktır. Kemoterapötik ajanlara dirençli hastalar içerisinde sıklıkla yer alan, kötü prognozlu bu tümör grubunda RAD51 ekspresyonun değerlendirilmesi bu yetersizliği hedef alacak tedavilerden fayda görecek hasta grubunu seçmede yardımcı olması açısından umut vaat etmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. EMBRİYOLOJİ

Reproduktif sisteminin gelişimi, hem ürezis hem de gamet taşınmasını sağlayan benzer ortak tübüler yapıları paylaştıklarından, hem erkek hem de kadınlardaki ilkel üriner system ile yakından bütünleşmiştir. Altıncı haftada yolk sac kesesinden göç eden germ hücreleri vücut duvarının mezenkimine ulaşmaya başlar. Germ hücrelerinin 10. torasik segmentte mezonefroi'nin hemen medialindeki alana gelişi, çölomik epitelin somatik destek hücreleri ve interstisyel stromal hücreler üretmesine neden olur. Somatik destek hücreleri overin primordial foliküllerini oluşturmak üzere germ hücrelerini çevreleyen folikül hücrelerine farklılaşır. Mezonefrik kanallar dejenere olur ve paramezonefrik kanallar genital kanallara dönüşür. Paramezonefrik kanalların proksimal kısımları tuba uterina (Fallop tüpleri) haline gelir. Kanalların distal kısımlarının birleşmesi ile uterus meydana gelmiş olur(1).

2.2. ANATOMİ

Uterus, mesane ve rektum arasında orta hatta yer alan kalın duvarlı kaslı bir organdır. Bir gövde ve bir serviksten oluşur ve altta vajinayla birleşir. Üstte, uterus tüpleri uterustan lateral olarak çıkıntı yapar ve yumurtalıkların hemen bitişiğindeki periton boşluğuna açılır .

Uterusun gövdesi ön-arka yönde yassılaşmıştır ve uterus tüplerinin çıkış seviyesinin üzerinde, yuvarlak bir üst uca (uterusun fundusu) sahiptir. Uterus gövdesinin boşluğu lateralden bakıldığında dar bir yarıktır ve anteriordan bakıldığında ters üçgen şeklindedir. Boşluğun üst köşelerinin her biri uterus tüpünün lümeni ile, alt köşesi ise serviksin merkezi kanalı ile devamlılık gösterir(5).

Pelvisin arteriyel beslenmesi, pelvis ile birlikte aynı zamanda perine, gluteal bölge ve medial uyluğa dallar gönderen çift internal iliak arterlerden kaynaklanır. Uterin, vajinal ve ovaryan dallar besledikleri yapıya göre adlandırılır ve bu arter dallarının her biriyle birlikte seyreden ve genellikle birden fazla sayıda olan ilgili venler, doğrudan internal iliak venlere veya diğer daha büyük venlere drene olur.

Uterusun olağan pozisyonu antefleks pozisyondadır ve neredeyse yatay düzlemde uzanır. Broad ligament adı verilen çift periton tabakası (aslında mezenter) overleri, tuba uterinaları ve uterusu sarar. Embriyonik gelişim sırasında yumurtalıklar

fibromusküler bir bant tarafından pelvise çekilir. Bu over ligamenti overin inferomedial kutbunu uterusa bağlar, daha sonra uterusun yuvarlak ligamenti olarak uterustan anterolateral olarak yansır, derin inguinal halkaya girer, inguinal kanaldan aşağı doğru ilerler ve perineumun labium majusunda kabarıklık olarak sonlanır.

Pelvisin lenfatik drenajının çoğu venöz drenajla parallel ilerleme gösterir ve internal iliak damarlar boyunca lenf düğümlerine drene olur. Bunun başlıca istisnası, overlerden ve tuba uterinalardan ve üst uterustan, gelen drenajdır; bu drenaj doğrudan midabdomen aortik (lomber) düğümlerine geri akar. Uterustan gelen bazı lenfler uterusun round ligamenti boyunca pelvik düğümlere akabileceğinden, bu rejyondaki kanserler bu düğümlere ve dış iliak düğümlere yayılabilir(6).

2.3. HİSTOPATOLOJİ

Uterus duvarının büyük kısmını, iç içe geçmiş düz kas hücreleri demetlerinden ve destekleyici yoğun bağ dokusundan oluşan kalın bir tabaka olan myometriyum oluşturur. Myometriyum, uterusun mukoza membranını oluşturan endometriyum ile kaplıdır; dış perimetrium ise, mezotelyal hücreler ve alttaki gevşek bağ dokusu tabakasından oluşan bir periton kaplaması olan tunika serozadır. Uterin serviks seroza yerine gevşek bağ dokusundan oluşan tunica adventisya ile kaplıdır. Endometriyum bir yüzey epiteli ve bunun altında fonksiyonalis ve bazalis olarak adlandırılan iki tabakadan oluşur. Fonksiyonel tabakadaki (stratum spongiosum) glandlar siliyer basit kolumnar epitelden oluşur. Endometrum maksimum kalınlığına, fonksiyonel tabakanın (stratum fuctionale) döküldüğü ve sadece bazal tabakanın kaldığı menstrüel fazın takip ettiği sekretuar fazında ulaşır. Glandların rejenerasyonu stratum bazaleden başlar ve önce yüzey epiteli, ardından glandlarla birlikte lamina propria onarılır. Bu glandlar başlangıçta dar ve düzken, hafif dalgalı lümene sahiptirler. Glandlar arasındaki stromal hücreler proliferatif fazda glikojen biriktirir ve implantasyondan sonra aşırı glikojen içeriğine sahip büyük, soluk renkli desidual hücrelere dönüşürler(7).

Endometrium ovulatuar siklusta farklı fazlara göre pattern morfolojisi gösterir. Birincisi, esas olarak ovulatuar foliküllerindeki granüloza hücreleri tarafından üretilen östradiolden etkilenen glandların, stromanın ve damarların proliferasyonu ile karakterize edilen proliferatif (foliküler veya preovulatuvar) fazdır. Ovulasyonu

takiben sekretuar (luteal veya postovulatuar) faz, korpus luteumun luteinize granüloza ve teka hücreleri tarafından progesteron ve östradiolün birlikte üretiminin etkisini yansıtır.

2.3.1. Proliferatif Faz

Proliferatif faz sırasında glandlar ve stroma belirgin mitotik aktivite gösterir. Özellikle orta- geç proliferatif faza doğru glandlar stromaya göre orantısız büyüme gösterirken uzar ve kıvrımlı hale gelir. Belirgin tortuöz morfolojiye rağmen glandlar birbiriyle eşit mesafede yerleşirler. Proliferatif faz boyunca glanduler epitel psödostratifikasyon gösteren oval nükleuslu, dens bazofilik sitoplazmalıdır.

Proliferatif fazda, fonksiyonel tabakada stromal hücreler birbirlerinden ayrık dururlar. Bunlar küçük, oval, dens nükleuslu, dar sitoplazmalıdır. Orta proliferatif fazda hafif stromal ödem ve dağınık lenfositler izlenebilir. Küçük spiral arterler ve ince duvarlı venüller mevcuttur.

2.3.2. Sekretuar Faz

Sekretuar fazda glandular ve stroma (ovulasyon sonrası) sekretuar aktivitesinin histolojik özelliklerini sergileyen, oldukça düzenli bir sırayla gelişir. Sekretuar fazın ilk yarısı öncelikle glandüler değişikliklerle karakterize iken, ikinci yarısında stromal değişiklikler daha belirgin hale gelir. Sekretuar fazın morfolojik özellikleri ovulasyondan 48 saat sonra ortaya çıkmaya başlar. Ancak bu aralık kadınlar arasında ve aynı kadında siklüsten siklüse farklılık gösterir. Erken sekretuar endometriyum sırasında subnükleer vakuoller çok sayıda izlenirken, zamanla bazalden supranükleer konuma doğru ilerlerler. Eş zamanlı olarak nükleuslar da bazale yönlenir ve bazal membrana dik tek bir tabaka halinde sıralanır. Daha sonra sitoplazmik içerik, gland lümenine atılan müsin oluşur. Mid luteal faz sırasında stromada belirgin ödem oluşur. Ödem nedeniyle stromal hücreler çıplak nükleus benzeri görünüme sahip olur. Geç sekretuar dönemde ödem devam eder, glandlar giderek artan kıvrımlanma gösterir ve değişen miktarlarda luminal sekresyonlar menstrüasyondan hemen öncesine kadar devam eder. Luminal yüzey boyunca sitoplazmik sınır, gland "testere dişli" luminal kenar ile düzensiz hale gelir ve luminal sekresyonlar, her zaman olmasa da genellikle mevcuttur. Mid sekretuar fazda belirginleşmeye başlayan spiral arterioller, artık geniş

sitoplazmalı, predesidualize stromal hücrelerle çevrelenmiştir. Geç sekretuar fazın temel özelliği olan presidual değişiklik, damar duvarlarının daha kalın görünmesine ve bunların belirginleşmesine neden olur. Glandüler hücreler, salgılama fazının geri kalanı boyunca değişken derecelerde vakuolizasyon göstermeye devam edebilir. Salgı fazının sonuna doğru, apopitozis artarak belirgin hale gelir.

Sekretuar evresinin en sonunda endometriyum menstruasyon öncesidir. Predesidua, çok sayıda dağınık lökosit içeren tabakalar halinde bulunur. Glandlar oldukça kıvrımlı ve testere dişlidir. Bezler tabanlarında nükleer debri ile apopitoz göstermeye başlar. Fibrin trombüsleri küçük damarlarda oluşmaya başlar ve bunu eritrositlerin stromaya sızmasıyla kanama takip eder.

2.3.3.Menstruel Faz

Menstrüel endometriyum, tüm fonksiyonel tabakayı etkileyen glandüler ve stromal yıkımı gösterir. Bu aşamada küçük damarlarda fibrin trombüsleri, yoğunlaşmış, çökmüş bir stroma ve nekrotik debriler vardır. Bu nekrozla birlikte gerçekleşen nötrofilik infiltrasyon fizyolojik sürecin bir parçası haline gelir. Kanama çok fazla olduğunda glandların veya stromanın gelişimini veya dokunun "normalliğini" değerlendirmek mümkün olmayabilir. Dökülme başladığında stromal hücreler, genellikle çok az sitoplazma gösteren kümeler ve agregatlar halinde birleşir. Menstruasyon sırasında geniş stromal kollaps ile stromal hücrelerdeki presidual değişiklik belirsiz hale gelir(8).

2.4. ENDOMETRİAL KANSERLER

EK'lerde dünya genelinde kadınlarda 6.sıklıkla, Türkiye'de insidansı 100.000'de 14.3 sıklıkta olan tümörlerdir(1). Yüksek gelirli ülkelerde 5 yıllık sağkalım %80 civarındayken, dünya genelinde kadınlarda kanser ilişkili ölümlerde 14. sırada yer almaktadır(2).

Etyolojide en önemli faktörün karşılanmamış östrojen artışı, (anovulatuar sikluslar, östrojen uygulaması), obezite, tamoksifen tedavisi veya insülin direnci bildirilmiştir(2,9).

Özellikle, yüksek östrojen ve albümine bağlı estradiol seviyeleri, menopoz sonrası kadınlarda artan risk ile ilişkili bulunurken, toplam, serbest ve albümine bağlı

estradiol seviyelerindeki yüksekliğin, menopoz öncesi kadınlarda artan riskle ilişkili olmadığı saptanmıştır. Ayrıca dolaşımdaki yüksek androstenedion düzeylerinin hem menopoz öncesi hem de menopoz sonrası kadınlarda bir risk faktörü olduğu belirlenmiştir. Hormon replasman rejimlerine progestin eklenmesi, oral kontraseptif kullanımı, ve sigaranın EK riskini azaltan faktörler arasındadır(10).

Tüm bu etyolojik faktörler endometrioid endometrial karsinom(EEK) ile ilişkili olarak bildirilirken, uterin korpustan gelişen seröz karsinom, berrak hücreli karsinom, indiferansiye ve dediferansiye karsinom ve mikst karsinomlarda etyoloji hala belirsizdir(2).

Karsinosarkomların etyolojisi ile ilgili yapılan çalışmalarda, karsinosarkomlu kadınların yaklaşık %6'sında tamoksifen kullanım öyküsü vardır(11). Karsinosarkomlar ayrıca pelvik radyoterapinin uzun süreli bir komplikasyonu olarak da ortaya çıkabilir ve ışınlamadan itibaren 5-20 yıllık bir zaman aralığına sahiptir(12).

EK'lerde primer tedavi cerrahi olmakla birlikte adjuvan kemo-radyoterapi kararı, klinikopatolojik parametrelere göre yapılan risk sınıflandırılmasına göre verilmektedir. EK'lu hastaların prognozu genel anlamda iyi olurken, rekürren/metastatik hastalığa sahip olanlarda prognoz kötüdür(2).

EK morfolojiye göre teşhis edilmektedir. Bokhman'a göre iki patojenik tip tanınmıştır. Tip I tümörler düşük dereceli, östrojenle ilişkili, sıklıkla klinik olarak sessiz, EEK'lardır. Tip II tümörler, endometrioid olmayan, klinik olarak agresif, östrojen uyarımı ile ilgisi olmayan, seröz ve berrak hücreli karsinomları içeren karsinomlardır(13). Tip I ve tip II sınıflandırması klinik, patolojik ve moleküler düzeylerde önemli ölçüde örtüşen özellikler olduğundan tümör sınıflandırması için yararlı bulunmamıştır(14).

EK'larda şu histolojik tipler tanımlanmıştır; Endometrioid karsinom, seröz karsinom, berrak hücreli karsinom, mikst karsinom, indiferansiye karsinom, karsinosarkom ve gastrointestinal tip müsinöz ile mezonefrik benzeri karsinom gibi diğer tipler sınıfında bulunanlar. Bu farklı histolojik tipler farklı moleküler özelliklere, mikroskobik görünüme ve öncü lezyonlara sahiptir. Histolojik tiplendirme evrelemede de önemli yer almaktadır(15).

Revize edilmiş son FIGO evrelemesinde düşük dereceli endometrial tümörler EEK derece 1 ve 2 olanlar, yüksek dereceli tümörler ise EEK derece 3 ve seröz

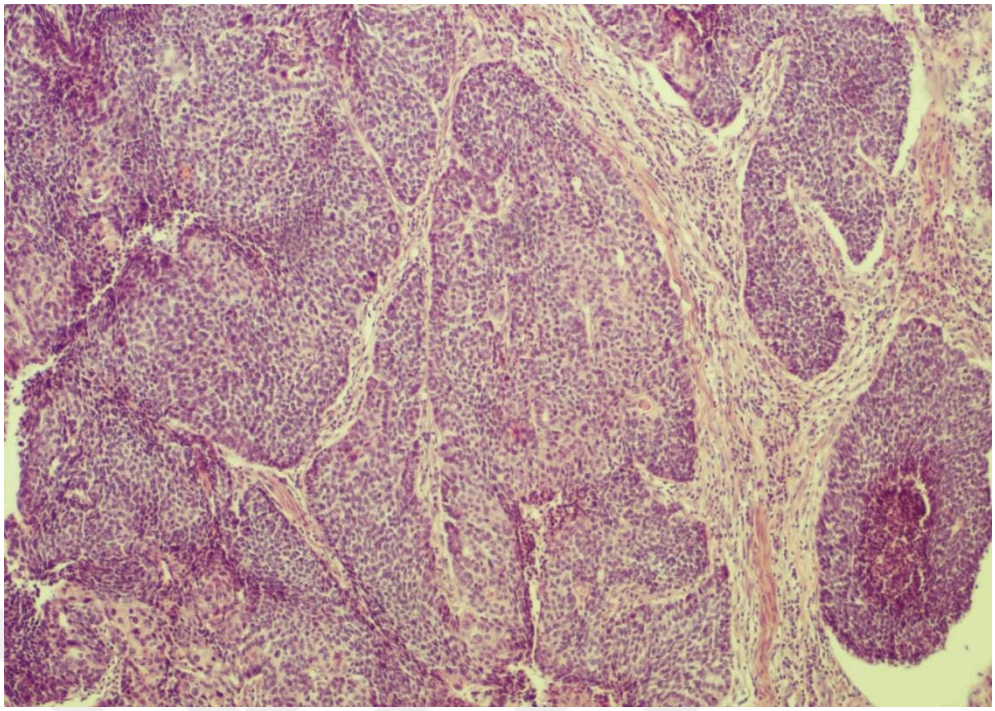
karsinom, berrak hücreli karsinom, mikst karsinom, indiferansiye karsinom, karsinosarkom olarak sınıflandırılırlar. Bu sınıflama moleküler çalışmalarla birlikte immünohistokimya, prognoz, risk stratifikasyonu ve tedaviyi yönlendirmek için geleneksel morfolojik sınıflandırmayla entegre edilmiş bir sınıflamadır. Bu çalışmada yüksek dereceli endometrial karsinomlar incelenecektir.

2.4.1. Endometrioid Karsinom

EEK, EK'lerde en sık gözlenen, endometrioid farklılaşma gösteren neoplastik hücreler ile değişen oranlarda glandüler, papiller ve solid arkitektür gösteren malign bir epitelyal neoplazmdır.

EEK tipik olarak, psödostratifiye nükleuslu, kolumnar hücrelerden oluşan villoglandüler yapı sergiler. Bu villoglandüler yapılar genellikle düzgün sınır gösterirler. Neoplastik hücreler eozinofilik ve granüler sitoplazmalıdır. Nükleer atipi, yüksek dereceli EEK hariç, belirsiz nükleollerle birlikte hafif ila orta derecededir. Mitoz değişken olarak Vakaların %10-25'inde, morüller veya eozinofilik hücrelerden oluşan solid tabakalar şeklinde ve bazen keratinizasyon ile kendini gösteren skuamöz farklılaşma izlenir. Histolojik paternler arasında sekretuar paternler (erken sekretuar endometriumunkine benzeyen, fokal veya diffüz, berrak hücreli karsinomu taklit eden), küçük non-villöz papillalar, mikroglandüler patern, iğsi hücre paterni, sertoliform patern benzeri oluşumlar ve hyalinizasyon yer alır. Değişen derecelerde müsinöz patern mevcut olabilir.(2)

EEK, FIGO derecelendirme kriterleri kullanılarak derecelendirilir: Derece 1, 2 ve 3 tümörler sırasıyla ≤ %5, %6-50 ve > %50 solid non-glandüler, non-skuamöz büyüme gösterir. Hücrelerin çoğunda (>%50) ciddi sitolojik atipi varlığı dereceyi bir seviye artırır. Bu değerlendirme yapılırken yapısal özellikler ile orantısız nükleer atipi olan vakalarda seröz karsinom dışlanmalıdır. (16)



Resim 1: Endometrioid karsinom, FIGO derece 3 (H&E, x100)

Düşük dereceli EEK, ER/PR için yaygın güçlü immünoreaktivite ve p16 için yamasal pozitiflik gösterir. ARID1A, PTEN veya MMR proteinlerinden biri için immünoreaktivite kaybı yüksek dereceli EEK'ı telkin eder. Düşük dereceli EEK'lerin %2-5'inde ve yüksek dereceli EEK'lerin %20'sinde mutant p53 ekspresyonu bildirilmiştir.(2)

EEK moleküler subtipleri şunlardır: POLE-ultramutant endometrioid karsinoma, MMR-hatalı endometrioid karsinoma, p53-mutant endometrioid karsinoma, spesifik moleküler profili olmayan (NSMP) endometrioid karsinoma.

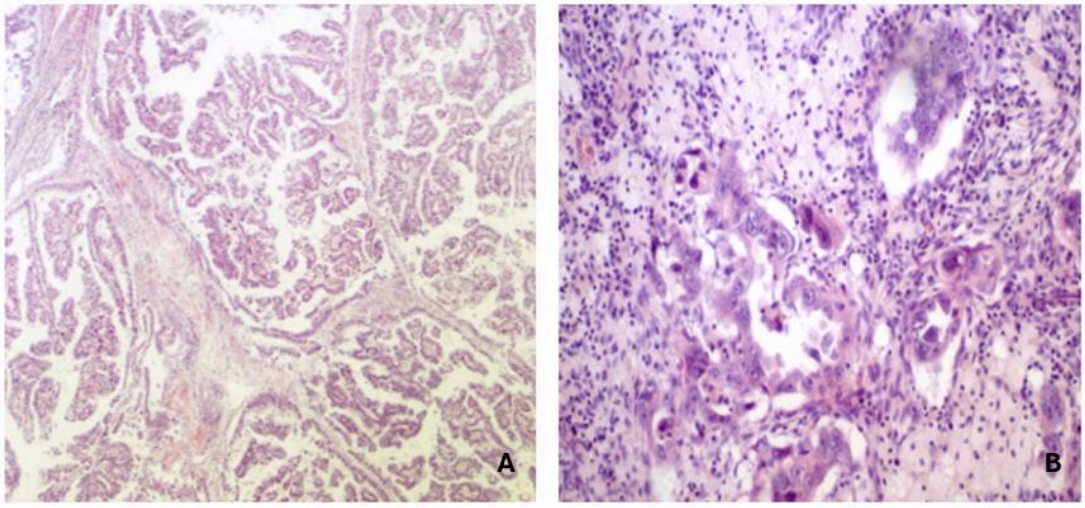
	POLE-ultramutant	**MMR-hatalı**	**p53-mutant**	**NSMP**
İlişkili histolojik özellikler	Genellikle yüksek dereceli, dağınık halde dev tümör hücrelerinden oluşan belirsiz morfoloji, belirgin TIL'ler	Genellikle yüksek dereceli, belirgin TIL'ler, müsinöz farklılaşma, MELF tipi invazyon, LVI	Çoğunlukla yaygın sitonükleer atipi ile yüksek dereceli; glandüler ve solid formlar mevcut	Sık skuamöz farklılaşma veya morül yapısı, çoğunlukla düşük dereceli, TIL izlenmez
İlişkili klinik özellikler	Daha genç yaşta prezente	Lynch sendromu ile ilişki olabilir	İleri evrede semptom verir	Vücut kitle indeksi yüksek hastalar
Prognoz	Çok iyi	Orta	Kötü	Orta ila Çok iyi

Tablo 1: MELF, mikrokistik, elonge ve fragmente; MMR, mismatch repair; NSMP, spesifik moleküler profili olmayan; TIL, tümör infiltre eden lenfositler. (2)

2.4.2. Seröz Karsinom

Seröz karsinom, tipik olarak papiller ve/veya glandüler büyüme paternleri sergileyen, yaygın, belirgin nükleer pleomorfizme sahip bir karsinomdur. Vakaların %40-50'sinde ekstrauterin metastaz mevcuttur, en sık lenf nodları veya peritoneal bölgeler ve omentumu tutar. Etkilenen kadınlar daha sıklıkla multipar olup meme karsinomu ve/veya tamoksifen kullanım öyküsüne sahiptir ve obezite ile ilişkili göreceli risk EEK'dan daha azdır. Bazı vakalar önceden pelvik ışınlama ile ilişkilidir. Germline ve somatik BRCA mutasyonları ile bağlantılı olduğu bildirilmiştir.

Seröz karsinom tipik olarak atrofik endometrium zemininde veya bir endometriyal polipte ortaya çıkar. Kompleks papiller ve/veya glandüler arkitektürel özellikler gösterir. Glandlar tipik olarak yarık benzeri düzensiz yapı oluşturur. Daha az oranda düzgün sınırlı glandüler yapıların solid bir büyüme paterni de mevcut olabilir. Artmış nükleer pleomorfizm seröz karsinomun en belirgin özelliklerinden biridir. Makronükleoller, belirgin mitotik aktivite ve lenfovasküler invazyon izlenir. Eşlik eden seröz endometriyal intraepitelyal karsinom mevcut olabilir. Aşikar invazyon saptanmasa da, intraepitelyal lezyonlar malign hücreleri dökebilir ve ekstrauterin bölgelere metastaz yapabilir ve potansiyel olarak metastatik olarak düşünülmelidir.



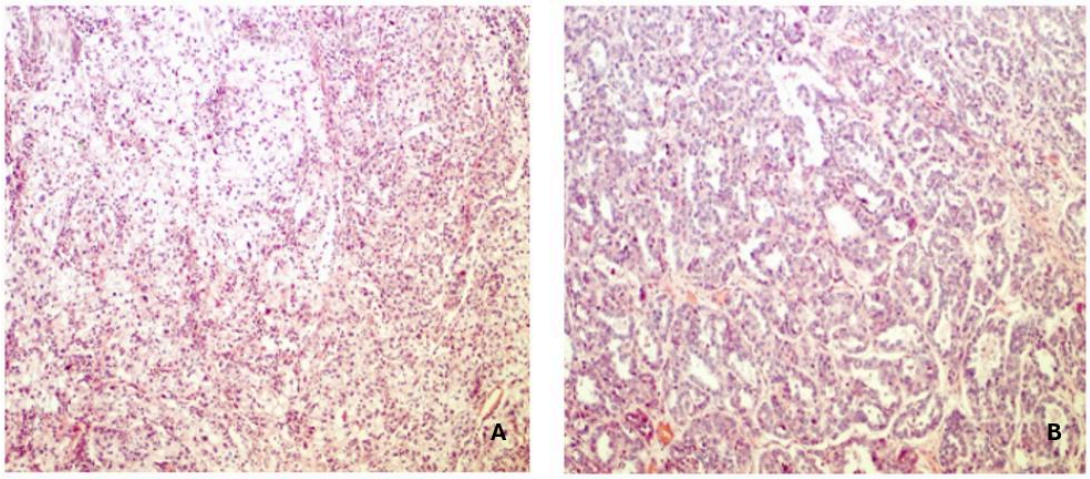
Resim 2: Seröz karsinom papiller pattern (H&E x100), B. Belirgin nükleol sergileyen pleomorfik hücreler (H&E x200)

Yüksek dereceli EEK'ı seröz endometriyal karsinomdan ayırt etmek zor olabilir, ancak seröz karsinomlara göre bu tümörler genellikle soliddir ve daha az

belirgin nükleer pleomorfizm gösterir._Seröz karsinomlar neredeyse değişmez bir şekilde p53 mutant immün boyaması gösterir ve tipik olarak p16, IMP3 ve HMGA2'nin yaygın ekspresyonu vardır. ERBB2 (HER2) aşırı ekspresyonu bazen mevcuttur ve ER/PR boyanması değişkendir. Derece 3 EEK'dan farklı olarak PTEN, β-katenin, ARID1A ve MMR hatası çok azdır. Bazen POLE mutasyonlu tümörlerde seröz benzeri özellikler bulunabilir. (2,17)

2.4.3. Berrak Hücreli Karsinom

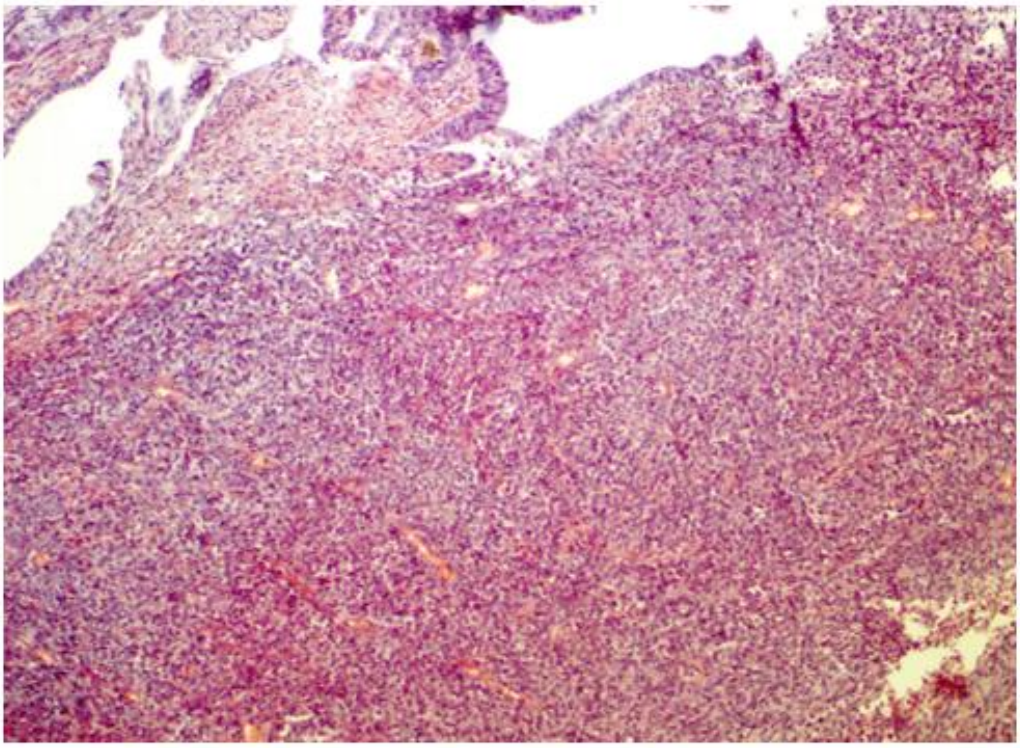
Berrak hücreli karsinom, papiller, tübülokistik ve/veya solid paternler gösteren ve berrak veya eozinofilik sitoplazmalı değişken pleomorfik poligonal, küboidal, yassı veya hobnail hücreler içeren bir karsinomdur. Nadir izlenen bu tümör endometrial karsinomların %10'unu oluşturur. Papillalar tipik olarak kısa ve yuvarlaktır ve sıklıkla hiyalinize stromaya sahiptir. Tubulokistik alanlar değişken oranda konfluent glandlar ve kistler ile karakterizedir. Tümör hücreleri berrak veya eozinofilik sitoplazma ile küboidal, poligonal, hobnail veya yassı görünüm sergilerler. Berrak sitoplazma, PAS-D ile gösterilen glikojen varlığından kaynaklanır. Glikojenini boşaltmış ve sitoplazmasının çoğunu kaybetmiş hücreler, hobnail hücresi olarak adlandırılan çıplak bir çekirdek ile karakterize edilir. Tanı için sitoplazmik berraklık ve hobnail hücrelerin varlığı kural değildir. Uzun kolumnar hücreler, intraglandüler tufting ve ayrık tomurcuklanma ya yoktur ya da sadece fokal olarak mevcuttur; skuamöz farklılaşma yoktur. Fokal orta ila şiddetli atipi tipik olarak mevcuttur. İmmünohistokimyasal olarak, tümörler vakaların sırasıyla %67-100'ünde, %56-93'ünde ve %75-88'inde HNF1β, napsin A ve AMACR (P504S) için pozitiftir. ER ve PR genellikle negatif veya sadece fokal olarak pozitif olup vakaların %22-72'sinde p53 mutant saptanmıştır.(2,17)



Resim 3. Berrak hücreli karsinom, şeffaf hücreler sergileyen (H&E x100), B. Eozinofil hücrelerden oluşan tubuler yapılar (H&E x100)

2.4.4. Undifferansiye ve dedifferansiye karsinom

Endometriyumun belirgin bir hücre farklılaşması göstermeyen malign bir epitelyal neoplazmdır. Bu tümör, lenfoma, yüksek dereceli endometriyal stromal sarkom veya küçük hücreli karsinomu andıran belirgin bir iç içe geçmiş veya halinde düzenlenmiş nispeten tek tip boyutta küçük ila orta büyüklükte, disheziv hücrelerden oluşur. Undiferansiye bileşenler içeren birçok endometriyal karsinom aynı zamanda iyi veya orta derecede farklılaşmış EEK odakları içerir. Bu tümörler "dediferansiye endometriyal karsinom" olarak adlandırılmıştır. Bu tümörlerde, glanda oluşturan veya farklılaşmış bileşenler yüzeyseldir ve endometriyal kaviteye bitişiktir; undiferansiye alanlar ise endometrium ve myometriyumda daha derindedir ve farklılaşmış alanlardan keskin bir şekilde ayrılmıştır. Nükleer kromatin genellikle yoğunlaşmıştır ve mitotik figürler sıklıkla tanımlanır (> 25 mitoz/2 mm2, 0,55 mm çapında ve 0,24 mm2 alanda > 30 mitoz/10 HPF'ye eşittir). Nadiren tümörler rabdoid morfolojiye sahip olabilir. Stroma genellikle belirgin olmasa da bazı tümörler miksoid matrikse sahiptir. Tümörü infiltre eden lenfositler genellikle çok sayıdadır. Coğrafi nekroz sıklıkla görülür.



Resim 4: Dediferansiye karsinom (H&E, x40)

Normalde monomorfik olan undiferansiye karsinomların yaklaşık %40'ı, nadiren yüksek dereceli karsinom (örn. FIGO derece 3 EEK ve seröz karsinom) ile birliktelik bildirilmiş olsa da, çoğunlukla FIGO derece 1 veya 2 EEK olan ikinci bir farklılaşmış karsinom bileşeni içerir. İki bileşen değişken oranda, karışık veya bifazik görünümü veren kesin sınırla ayrılmış olabilir.

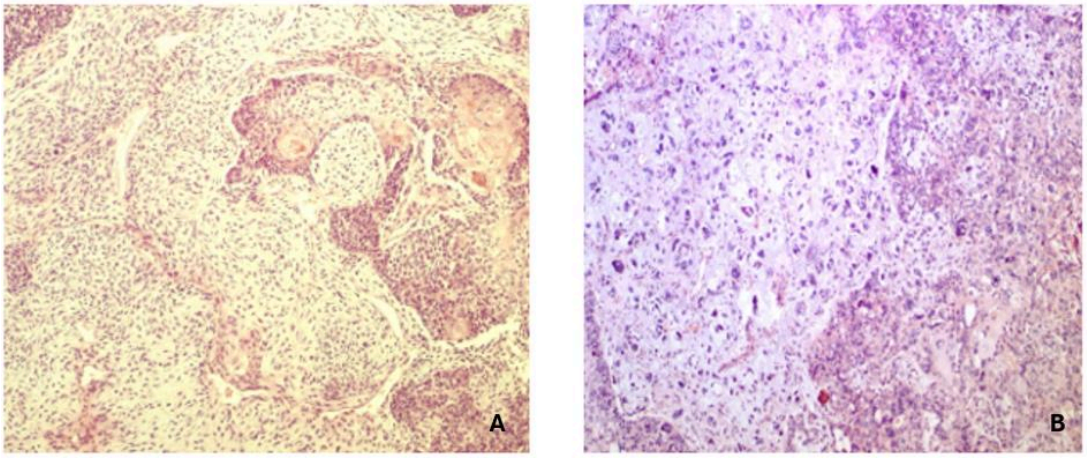
Undiferansiye karsinomlar, tipik olarak EMA ve keratin için çok fokal ancak yoğun ve genellikle perinükleer nokta benzeri boyanma ile sadece nadir tümör hücrelerinde epitelyal farklılaşma kanıtı gösterir. Pankeratin yamasal ekspresyonu izlenebileceği gibi, genellikle tamamen negatif olabileceğinden, epitelyal kökeni doğrulamak için birden fazla epitelyal belirteç kullanılması önerilir. Epitelyal farklılaşma belirteçleri arasında CK8/18 ve EMA'nın pozitif olma olasılığı daha yüksektir. Tümör hücreleri vimentin eksprese eder ancak ER, PR veya E-cadherin eksprese etmez. Kromogranin ve/veya sinaptofizin boyanması tümör hücrelerinin az bir kısmında, genellikle <%10'unda mevcut olabilir. SMARCA4 (BRG1) ekspresyon kaybı endometriyal farklılaşmamış karsinomların yaklaşık üçte birinde görülür.(2,17)

2.4.5. Mikst karsinom

Bu tümörlerin davranışı en yüksek dereceli bileşen tarafından belirlenir. Bu nedenle, bu tümörler mevcut seröz veya berrak hücreli karsinomun göreceli yüzdelerine bakılmaksızın yüksek dereceli karsinom olarak derecelendirilir. En sık endometrioid ve seröz karsinom birlikteliği görülür. Morfolojik ve immünhistokimyasal olarak tanımlanmış yüksek dereceli karsinom hangi yüzdede olursa olsun, tümörü mikst karsinom tanı vermek için yeterlidir. Çünkü küçük bir seröz veya berrak hücreli karsinom komponenti bile olumsuz bir prognoz ve sonuç sağlayabilir.(2,17)

2.4.6. Karsinosarkom

Karsinosarkom, yüksek dereceli karsinomatöz ve sarkomatöz bileşenlerden oluşan bifazik bir tümördür. Vakaların yaklaşık %45'i tanı anında evre III veya IV'tür. Karsinosarkomlar, pelvik radyoterapinin uzun vadeli bir komplikasyonu olarak da ortaya çıkabilir. Güncel çalışmalar mezenkimal ve epitelyal bileşenin klonal olduğunu, karsinosarkomların aslında epitelyal bileşenlerinden köken aldığını doğrulamaktadır. Çoğu vakada, TP53 mutasyonu yaygın(%90) moleküler değişikliktir. Karsinomatöz bileşen çoğunlukla endometrioid veya seröz farklılaşma gösterir, ancak berrak hücreli ve undiferansiye karsinom da rastlanabilir. Mezenkimal komponent en sık yüksek dereceli sarkom NOS'dan oluşur, ancak heterolog elementler (rabdomyosarkom, kondrosarkom ve nadiren osteosarkom dahil) görülebilir. Karsinosarkomlardan kaynaklanan metastazların morfolojisi değişkendir, ancak metastazların çoğu (~%90) karsinomatöz bileşen içerir. Tipik olarak karsinosarkomların %60-78'i kopya sayısı yüksek ve %22-38'i kopya sayısı düşük olarak sınıflandırılır; endometriyal karsinosarkomların <%5'i ultramutasyonlu (POLE-mutasyonlu) veya MMR hatası gösteren gruplara aittir.(2,18)



Resim 5: Karsinosarkom, homolog sarkom komponentli (H&E x100), B. Karsinosarkom, kondrosarkom alanları (H&E x100)

2.5. ENDOMETRIAL KARSINOMLARDA PROGNOSTIK PARAMETRELER

Revize edilmiş FIGO evrelemesi histolojik tip (agresif olan ve olmayan olarak 2 gruba ayırmaktadır) myometrial invazyon derinliğine (<%50 veya ≥%50), servikal stromal, adneksal ve lenf nodu tutulumuna dayanmaktadır. Lenfovasküler invazyon durumunu fokal ya da yaygın olarak sınıflamak özellikle agresif olmayan histolojik grupta önem kazanır.(19) Endometriuma sınırlı karsinom daha iyi bir prognoza sahiptir, ekstrauterin yayılımı olan hastaların sonuçları kötüdür. Daha da önemlisi, yüksek dereceli EEK (derece 3) prognostik, klinik ve moleküler olarak heterojen bir hastalıktır ve moleküler sınıflandırma uygulamasından en çok yararlanan tümör tipidir. Bu yüksek dereceli EEK grubundaki moleküler profilleme, mükemmel prognoz grubunu (erken evre hastalıkta POLEmut) kötü prognoz grubundan (p53 anormal) ayırt edebilmektedir. Özellikle ER negatif olduğunda, spesifik olmayan moleküler profil (NSMP) grubuna giren yüksek dereceli EEK'lerin de kötü bir prognoza sahip olduğunu gösteren yayınlar mevcuttur. (20,21)Ayrıca, MMR eksikliği olan moleküler alt tipinde derecelendirmenin önemli olmadığı iyi bilinmektedir. Dolayısıyla, moleküler sınıflandırma olmadan, yüksek dereceli EEC'ler uygun şekilde bir risk grubuna ayrılamaz (16)

Seröz endometriyal intraepitelyal karsinom ve minimal invaziv hastalığı olan hastalar dahil olmak üzere ekstrauterin yayılımı olan hastaların sonuçları kötüyken, endometriuma sınırlı seröz karsinomların prognozu daha iyidir. HER2 aşırı

ekspresyonu ve/veya gen amplifikasyonu endometriyal seröz karsinomların >%30'unda görülür.(22) Tekrarlayan veya ileri evre HER2-pozitif endometriyal seröz karsinomu olan hastaların karboplatin ve paklitaksel rejimine trastuzumab eklenmesinden fayda gördüğü gösterilmiştir.(23)

Berrak hücreli karsinomların genel 5 yıllık sağkalım oranı %55-78'dir. Nükslerin çoğu pelvis dışında meydana gelir. İleri hasta yaşı ve tümör evresi kötü prognostik faktörler olarak kabul edilmektedir. Hala tartışılmakta olan veya çelişkili diğer olası prognostik faktörler arasında TCGA alt gruplandırmaları (özellikle POLE mutasyonlarının varlığı); yüksek L1CAM, IMP3 ve cyclin E ekspresyonu; ARID1A ekspresyon kaybı; anormal p53 fenotipi; aksi takdirde erken evre hastalıkta pozitif peritoneal sitoloji, ırk, adjuvan tedavi yöntemleri, tümör boyutu ve lenfovasküler invazyon bulunmaktadır. (2)

Undiferansiye ve dediferansiye karsinomlar genellikle oldukça agresiftir ve vakaların %55-95'inde rekürrens veya hastalıktan ölüm meydana gelir. Yüzdeye bakılmaksızın undiferansiye karsinom bileşeninin varlığı daha kötü bir prognoza işaret edebilir; bununla birlikte, POLE ekzonükleaz domain mutasyonunun varlığı olumlu bir prognozla ilişkilidir. MMR protein eksikliğinin varlığı prognostik görünmemektedir, ancak uygun hastalarda ek tedavi seçeneklerini (örn. immünoterapi) tetikleyebilir, ancak MMR eksikliği olan dediferansiye/undiferansiye endometriyal kanserde immünoterapinin klinik etkinliği henüz spesifik olarak gösterilmemiştir.(2)

Mikst karsinomların davranışı en yüksek dereceli bileşen tarafından belirlenir. Bu nedenle, bu tümörler mevcut seröz veya berrak hücreli karsinomun göreceli yüzdelerine bakılmaksızın yüksek dereceli karsinom olarak derecelendirilir.

FIGO evre I-II hastalığı olan karsinosarkom hastalarında 5 yıllık hastalığa özgü sağkalım oranı %60 iken, evre III ve IV hastalığı olan hastalarda bu oranlar sırasıyla %25 ve %10'dur(24). İleri evreye ek olarak, kötü prognozla ilişkili diğer bağımsız faktörler boyut > 5 cm, myometrial invazyon > %50, lenfovasküler invazyon ve sarkom predominansıdır. Bazı büyük yeni seriler seröz histoloji ve heterolog rabdomyoblastik farklılaşmanın daha kötü sağkalım ile anlamlı şekilde ilişkili olduğunu göstermektedir.(25)

2.6. ENDOMETRİAL KANSERİNDEKİ GENETİK MEKANİZMALAR VE PATOGENEZ

Yukarda belirtilen Bokhman sınıflamasına göre Tip I endometriyal kanserli kadınlar klasik risk faktörleri sergilerler ve düşük dereceli endometrioid histoloji sergileyen tümörlere sahiptirler ve tipik olarak erken evre hastalıkla ortaya çıkar. Tip I endometrial kanserlerde önemli olan moleküler özellikler arasında ER ve PR reseptörlerinin varlığı, mikrosatellit instabilite (MSI), PTEN mutasyonları, KRAS mutasyonları ve CTNNB1 (β-katenin kodlayan) mutasyonları bulunur. Tip II endometriyal kanserli kadınlar genellikle obez olmayan daha yaşlı hastalar olup, seröz ve berrak hücreli histolojiye sahip tümörlerin yanı sıra yüksek dereceli endometrioid histolojiye sahiptir ve daha ileri evre hastalıkla ortaya çıkabilir. Genel olarak tip II tümörler, kısmen minimal myometrial invazyonla bile metastaz yapma eğilimleri nedeniyle, daha kötü bir klinik prognoza sahiptir. Tip II kanserlerde yaygın olarak görülen moleküler değişiklikler arasında p53 mutasyonları ve kromozomal anöploidi bulunur(9).

Ulusal Kanser Enstitüsü tarafından yürütülen büyük ölçekli bir yeni nesil sekanslama çalışması, TCGA, 2013 tarihinde EK'leri genomik karakterine göre, kanser tanısında, risk stratifikasyonunda ve tedavide kritik rol oynayan moleküler sınıflama olan, dört karsinom grubunu tanımlamıştır ve bu sınıflandırma halen kullanılmaktadır:

2.6.1. Ultramutasyonel Subtip

Karsinomun bu alt tipi, herhangi bir tümör tipi için bildirilen en yüksek oranlar arasında, 10.000'den fazla mutasyon gösteren, son derece yüksek bir mutasyon oranıyla tanımlanır. Yüksek mutasyon oranına, DNA polimeraz epsilon'un merkezi katalitik alt birimini kodlayan POLE geninin ekzonükleaz alanındaki mutasyonlar neden olur. Mutasyonlar, replikasyon sırasında DNA onarım defektine neden olan işlevsiz bir holoenzime yol açar. POLE'deki mutasyonlar endometriyal karsinomların yaklaşık %5,6-6,5'inde tanımlanmıştır. POLE mutasyonları sergileyen EK'lerin çoğunluğu endometrioid morfolojisi gösterse de, mutasyonlar indiferansiye ve dediferansiye karsinomlarda ve belirsiz morfolojiye sahip tümörlerde bulunmuştur(26) Birçok çalışma, bu moleküler alt tipin, sağkalım oranının artmasıyla ilişkisini

göstermektedir(27). Spesifik bir morfoloji ile açık bir ilişkinin olmadığı göz önüne alındığında, POLE mutasyonlu tümörlerin tanımlanması moleküler analiz gerektirir ve hasta yönetimini değiştirmeye yönelik kesin öneriler daha büyük çalışmaları beklemektedir(17).

2.6.2. Mikrosatellit İnstabil Olan Grup

Ultramutasyona uğramış alt tipteki kadar yüksek olmasa da mutasyon oranı bu grupta da yüksektir. Başlangıçta mikrosatellit DNA dizilerinin uzunluğundaki değişikliklerin varlığı nedeniyle tespit edildiğinden, MSI alt tipi olarak adlandırılmıştır. Altta yatan moleküler anormallik, nükleotid tekrarlarının olduğu alanlarda zincir kaymasına bağlı olarak uyumsuz baz çiftlerini ağırlıklı olarak onaran bir replikasyon sonrası onarım mekanizması olan DNA MMR kaybıdır. Bu onarım mekanizmasının kaybı, DNA MMR kaybının karakteristiği olan baz çifti yer değiştirmelerine, küçük insersiyon ve delesyonlara neden olur. Bu alt tip EEK'u oluşturur ve sporadik vakaların yaklaşık %20-25'inde bulunur. Ayrıca Lynch Sendromunda ortaya çıkan tümörlerde bulunan moleküler bir fenotiptir.

2.6.3. Düşük Kopya Sayısı Değişiklikleri Gösteren Grup (NSMP)

Kopya sayısı düşük EK'ler, düşük kopya sayısı veya mikrosatellit stabil (MSS) karsinomların bir parçasıdır. MSI tümörleri gibi artan bir mutasyon oranı veya kopya sayısında alterasyon göstermezler, ancak diğer yaygın anormallikler arasında PTEN, ARID1A ve CTNNB1 mutasyonları bulunabilir. Bu tümörlerin büyük çoğunluğu EEK'lerdir. Bu grup tümörler, patojenik POLE ekzonükleaz alanı mutasyonlarının yokluğu, MMR yeterliliği ve p53 wild tip boyaması ile tanımlanır. Başka bir deyişle, NSMP EK'lerinin ayrı bir moleküler özelliği yoktur, ancak heterojen bir moleküler yapıya ve dolayısıyla prognostik değeri olan potansiyel biyobelirteçler ile birlikte heterojen bir klinik gidişe sahiptir(28).

2.6.4. Yüksek Kopya Sayısı Değişiklikleri ve TP53 Mutasyonları Olan Grup

Kopya sayısı yüksek veya seröz benzeri karsinomlar, geniş kopya sayısı değişiklikleriyle, en sık olarak da TP53 mutasyonlarıyla (>%90) karakterize edilir.

Beklendiği gibi bu grup ağırlıklı olarak seröz tümörlerden oluşur. Ayrıca derece 3 EEK'lar, berrak hücreli karsinomların %50'si ve karsinosarkomları da içerdiği saptanmıştır(4,17). Bu grup esas olarak hastalığın erken yayılması ve agresif büyüme nedeniyle kötü prognoza sahip yüksek dereceli kanserlerden oluşur. Yüksek dereceli EEK'lar moleküler olarak sınıflandırıldığında benzer şekilde kötü prognoza sahip olan TP53 mutasyonları (derece 3 EK'ların yaklaşık %61'inde bulunur) yine bu gruba dahil edilmiştir(4).

2.7. ENDOMETRIAL KARSINOMLARDA FIGO EVRELEMESI

FIGO evrelemesinin en son 2009 yılında güncellenmesinden bu yana çeşitli histolojik tiplere ilişkin çok daha fazla sonuç ve biyolojik davranış verisi bulunması ile EK'in patolojik ve moleküler özelliklerinin anlaşılmasında birçok ilerleme kaydedilmiştir. 2023 yılında yapılan son güncellenme ile FİGO evrelemesi histolojik tip, tümör derecesi, myometrial invazyon, lenfovasküler boşluk invazyonu, servikal stroma invazyon, adneksiyal tutulum, uterin seroza tutulumu, lenf nodu metastazı ve moleküler klasifikasyon kriterleri ana başlık olarak yer almaktadır.

Histolojik tip tayini Dünya sağlık örgütü'nün (DSÖ) klasifikasyonuna göre yapılmalıdır. Son çalışmalarda anlaşıldığı üzere bu evrelemede düşük dereceli EEK, (derece 1 ve 2) agresif olmayan histolojik tipler, yüksek dereceli EEK, seröz karsinom, berrak hücreli karsinom, mikst karsinom, undiferansiye karsinom, karsinosarkom, mezonefrik benzeri karsinom ve gastrointestinal müsinöz tip karsinomlar agresif histolojik tipler olarak sınıflandırılmıştır.

Lenfovasküler boşluk invazyonun "yaygın" ve "fokal" olma durumunun ayrımı bu güncellemede önem kazanmaktadır. Belirlenen değerin daha çok kanıt gerektiği savunulsa da WHO önerisi olan ≥5 vasküler bu ayrımda kullanılmalıdır.

Servikal stromanın benign endoservikal gland seviyesinde veya daha derinde tespit edilen herhangi bir invazyonu servikal stromal invazyon olarak kabul edilmelidir. Servikal glandüler uzanım evreleme için dikkate alınmamalıdır.

Adneksiyal tutulum sağkalım ile ilişkilidir. Yüksek dereceli tümörlerde over tutulumu her zaman metastatik kabul edilmelidir. Düşük dereceli tümörlerde belli kriterlere sadık kalınarak over tutulumu evre IA3 olarak belirlenmiştir. Bu kriterler şöyle tanımlanır: (1) yüzeyel myometriyal invazyon (<%50); (2) yaygın LVI

olmaması; (3) ek metastaz yokluğu ve (4) over tümörü tek taraflı, overe sınırlı olup kapsül invazyonu yokluğu. Bu hastalar için endometrium ve overin eşzamanlı düşük dereceli karsinomları olarak kabul edilip konservatif yönetim (iki bağımsız prime odak olarak) önerilmektedir. Bu kriterleri karşılamayan vakalar EK'un overe yaygın yayılımı olarak yorumlanmalıdır (Evre IIIA1).

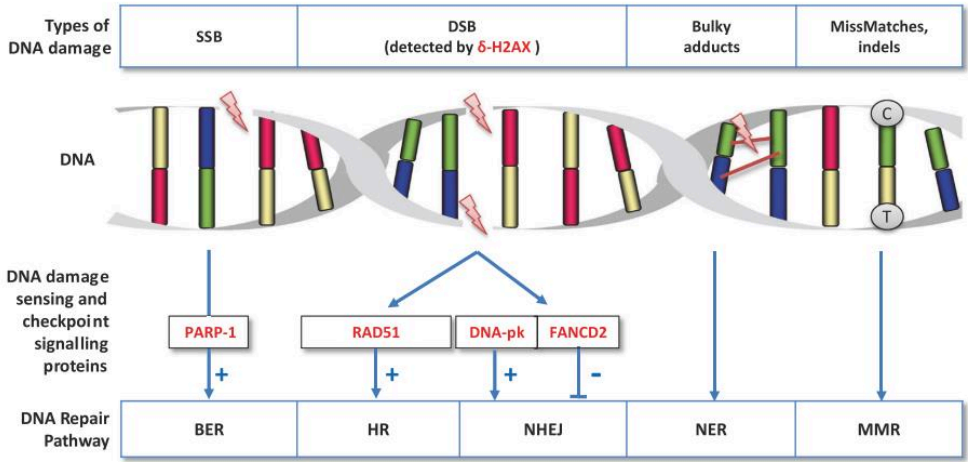
Evre	**Tanım**
Evre I	Uterin korpusa ve overe sınırlı
IA	Endometriuma sınırlı hastalık VEYA agresif olmayan histolojik tip, myometriumun yarısından azının invazyonu ile birlikte lenfovasküler alan tutulumu yok veya fokal (LVI) VEYA iyi prognozlu hastalık. IA1 Endometrial polip ile sınırlı veya endometrium ile sınırlı agresif olmayan histolojik tip IA2 Myometriumun yarısından azına invaze olan, LVI yok ya da fokal agresif olmayan histolojik tip IA3 Endometriuma ya da overe sınırlı düşük dereceli endometrioid karsinom
IB	Myometriumun yarısına veya daha fazlasının invaze olan ve LVI yok ya da fokal agresif olmayan histolojik tip
IC	Endometrial polip veya endometriuma sınırlı agresif histolojik tip
EVRE II	Ekstrauterin uzanım olmadan servikal stroma invazyonu VEYA yaygın LVI ile VEYA myometrial invazyon gösteren agresif histolojik tip
IIA	Servikal stroma invazyonu gösteren agresif olmayan histolojik tip
IIB	Yaygın LVI gösteren agresif olmayan histolojik tip
IIC	Herhangi bir myometrial tutulum gösteren agresif histolojik tip
EVRE III	Herhangi bir histolojik alt tipteki tümörün lokal ve/veya bölgesel yayılımı
IIIA	Uterus serozaya, adnekse veya her ikisine doğrudan veya metastaz yoluyla invazyon

	IIIA1 Over veya tuba uterineya yayılım (IA3 kriterlerini karşılayanlar hariç) IIIA2 Uterin seroza tutulumu veya uterin seroza yoluyla yayılım
IIIB	Metastaz veya vajinaya ve/veya parametriuma veya pelvik peritona doğrudan yayılım IIIB1 Metastaz veya vajinaya ve/veya parametriuma doğrudan yayılım IIIB2 Pelvik periton metastazı
IIIC	Pelvik ve/veya paraaortik lenf noduna metastaz IIIC1 Pelvik lenf noduna metastaz IIIC1i Mikrometastaz IIICii Makrometastaz IIIC2 Pelvik lenf nodu metastazına bakılmaksızın, renal damarlara kadar para- aortik lenf nodlarına metastaz IIIC2i Mikrometastaz IIIC2ii Makrometastaz
EVRE IV	Mesane mukozasına ve/veya bağırsak mukozasına yayılım ve/veya uzak metastaz
IVA	Mesane mukozasına ve/veya bağırsak mukozasına yayılım
IVB	Pelvis dışındaki abdominal periton metastazı
IVC	Böbrek damarları, akciğer, karaciğer, beyin veya kemik üzerindeki herhangi bir ekstra veya intra abdominal lenf nodu metastazı dahil olmak üzere uzak metastaz

Tablo 2: FIGO evrelemesi, 2023

2.8. DNA TAMİR MEKANİZMASI

İnsan genomik DNA'sının bütünlüğü endojen ve ekzojen faktörlerin etkisi ile sürekli olarak tehdit altındadır. İnsanda her gün yaklaşık 10000'den fazla DNA hasarının ortaya çıktığı tahmin edilmektedir. DNA'daki hasarlar tek baz değişimi deaminasyonu, depürinasyon, baz alkilasyonu, delesyon, insersiyon vs tek veya çift zincir kırıkları, aynı veya farklı DNA zincirleri arasında çapraz bağlanma gibi çeşitli şekillerde olabilmektedir. Hücreler bu hasarlara karşı genomik bütünlüğü korumak amacıyla doğrudan ve dolaylı DNA onarım mekanizmalarına sahiptirler. Dolaylı DNA tamir mekanizmaları temel olarak eksizyon onarımı ve MMR, DNA çift sarmallı hasar onarım olarak üçe ayrılabilir. DNA çift sarmallı hasar tamiri, homolog rekombinasyonel onarım, NHEJ ve MMR mekanizmaları ile meydana gelmektedir (3,29)



Şekil 1: DNA hasar cevap biomarkerları, (3) numaralı kaynaktan (Aurelie A, Catherine G.) aynen alınmıştır

2.9. HOMOLOG REKOMBINASYON TAMIR MEKANIZMASI VE RAD51'IN KANSER MEKANIZMASINDAKI ROLÜ

HR, ekzojen kaynaklı veya programlanmış çift sarmal kırılmalarının düzeltilmesinde rol oynayan bir DNA onarım yoludur.

HR tipik olarak tek sarmallı bir kırılma veya replikasyon çatalının çökmesine neden olan başka bir onarılmamış lezyon nedeniyle DNA replikasyonu

durdurulduğunda, şablon olarak sağlam ve homolog DNA dizisi kullanan onarım sürecidir.

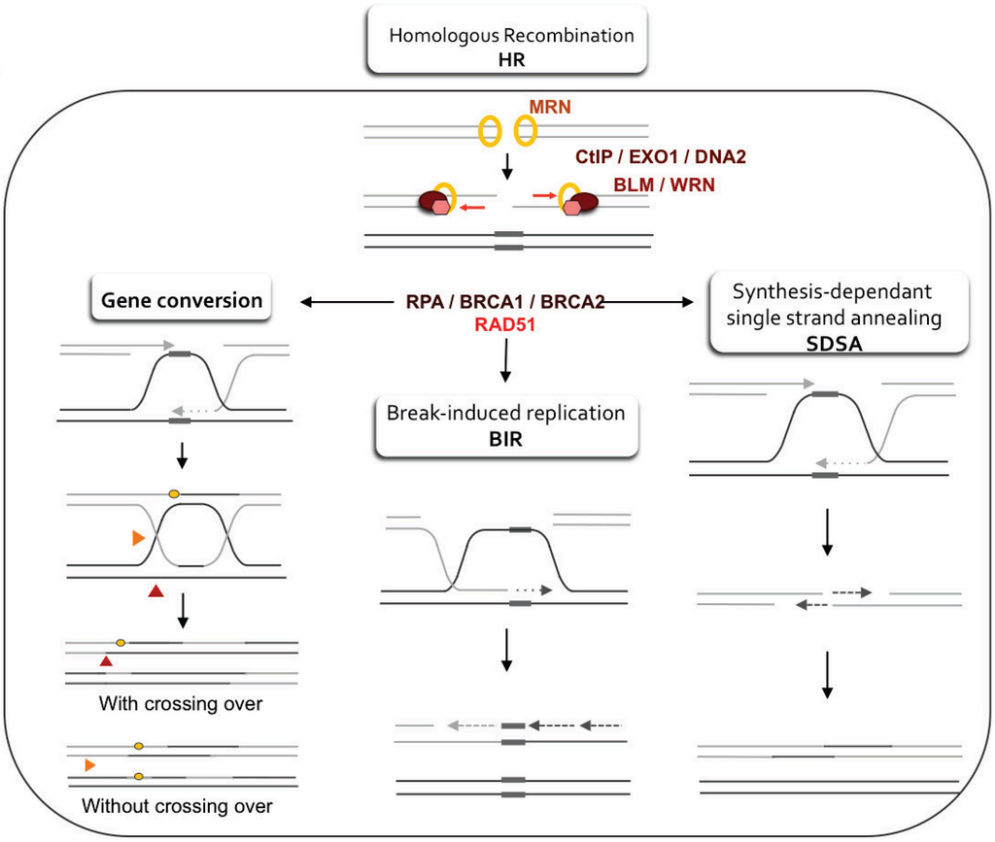
HR mekanizmasının merkezi, hem maya hem de insanda kullanılan en önemli faktörü, çoklu ve birbirine bağlı biyokimyasal aktiviteler sergileyen rekombinaz RAD51'dir. ATP'ye bağlı RAD51 monomerleri yeniden oluşturulmuş tek sarmallı (ss) DNA'ya bağlanır. RAD51'in kooperatif bağlanma modu, ssDNA üzerine kaplanmış, HR'nin aktif formu olarak görülen ve uygun DNA şablonunu bulmak için homoloji araştırması yapabilen bir nükleoprotein filamentinin oluşumuna izin verir. RAD51 filamenti daha sonra, donör dubleksin tamamlayıcı ipliğinin bir ssDNA ipliği olarak yer değiştirdiği yer değiştirme döngüsü (D döngüsü) adı verilen ortak bir molekül oluşturan iplik invazyonuna izin verir. RAD51'in iplik değişimini teşvik etmek için bir DNA ucuna ihtiyacı olmamasına rağmen, çoğu HR tabanlı onarım modeli, 5'uçlu aksine 3'uçlu bir ipliğin DNA sentezini başlatmak için verimli bir D döngüsü oluşturduğunu ve böylece eksik genetik bilgiyi kopyaladığını veya DNA replikasyonunu sürdürdüğünü varsaymaktadır. RAD51'in DNA'ya yüklenmesi, insanda BRCA2 olarak bilinen bir yükleyicinin yardımını gerektirir. RAD51 ayrıca DNA'dan ayrılmasını kolaylaştıran DNA'ya bağlı bir ATPaz aktivitesine sahiptir. Bu nedenle RAD51'in ATPaz aktivitesinin düzenlenmesi, filament oluşumunu ve iplik değişimini kontrol etmek için kritik önem taşır ve birkaç HR aracısının böyle bir işlevi yerine getirdiği önerilmektedir. Son olarak RAD51, homoloji arama ve iplik değişimi için kritik olan ikinci bir düşük afiniteli (çift sarmallı) dsDNA bağlanma bölgesine sahiptir(29).

DNA onarım sürecine katılan BRCA1 protein ürünü, DNA hasarına yanıt olarak ATM ve CHEK2 kinazlar tarafından fosforile edilir (ve böylece aktive edilir) (Şekil). BRCA1 protein ürünü BRCA2 ürününe bağlanır, o da RAD51 filamentine bağlanır. BRCA1 ve BRCA2 böylece önemli bir DNA onarım yoluna katılır ve inaktivasyonları yanlış DNA onarımı ve genomik kararsızlıkla sonuçlanır. RAD51 yolağındaki rollerine ek olarak BRCA1 ve BRCA2, p53, pRb ve Myc gibi proteinlerle etkileşimleri yoluyla ve genomik stabilitenin korunmasına yardımcı olarak tümör oluşumunu baskılamaya yardımcı olur(30).

RAD51 epistasis grubunun protein ve mRNA seviyeleri hücre proliferasyonu ile korelasyon gösterme eğilimindedir. Buna örnek olarak RAD51 ekspresyonunun,

proliferasyon hızı belirgin olan bağırsak ve uterus epitelinde en yüksek olduğu rapor edilmiştir. RAD51'in aynı zamanda fare gelişiminin erken dönemlerinde de gerekli olduğu kanıtlanmıştır. Hücre proliferasyonu ile tutarlı olarak hem RAD51 hem de RAD54, DNA sentezi sırasında S fazında maksimum düzeyde kopyalanır. Tavuk DT40 hücrelerini kullanıldığı bir çalışmada, NHEJ'nin G1'den erken S fazına dahil olduğunu, HR'nin ise geç S fazından G2'ye kadar daha fazla çalıştığı gösterilmiştir(31).

HR yoluyla onarım modelini detaylı inceleyecek olursak, çift zincir kırığı meydana geldikten sonra, tek sarmallı 3' kuyruk homolog, sağlam bir çift sarmallı DNA'yı istila ederek bir D döngüsü oluşturur. Bu süreç sınırlı sayıda kusurlu dizi homolojisini tolere eder, böylece yanlış eşleşmeler taşıyan heterodubleks ara ürünler yaratır. (Şekil, (sarı daireler) Homologuna invazyon gösteren 3'-uç DNA sentezini başlatır ve daha sonra boşlukları doldurur. Haç biçimli kavşaklar (Holliday kavşakları, HJ) meydana gelir. HJ'lerin çözünürlüğü (veya çözünmesi) iki farklı yönde (turuncu veya kırmızı üçgenler) gerçekleşir, bu da gen dönüşümünün crossing over ile veya crossing over olmadan gerçekleşmesine neden olur(32).



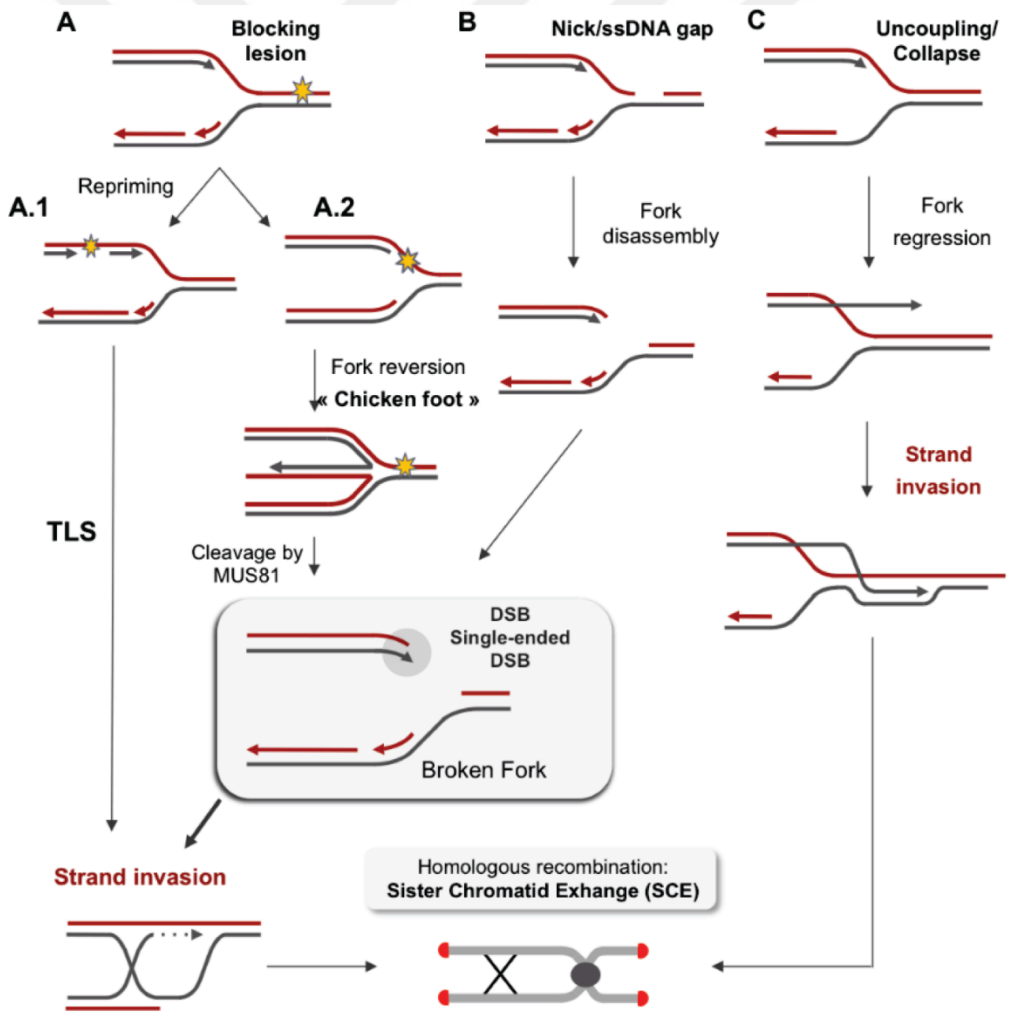
Şekil 2: Homolog rekombinasyon gösteren DSB modeli, (32) numaralı kaynaktan (Gelot C, Magdalou I) aynen alınmıştır.

HR mekanizması replikasyon çatalında multiple işlevler meydana getirir. İlki replikasyon çatalının onarımı ve yeniden başlatılmasıdır. Replikasyon çatalları bir çentik veya ssDNA boşluğu ile karşılaştığında DNA sentezi, kırılmaya bağlı replikasyon (BIR) olarak adlandırılan bir HR yoluyla gerçekleşmektedir. BIR, homoloji arayabilen tek bir DNA ucuyla gerçekleşen ve çok yüksek sayıda DNA senteziyle devam eden bir süreçtir. Bu süreç, kırık çatalların replikatif helikaz CMG'nin bazı bileşenlerinin kaybına neden olur ve RAD51 ile nükleaz MRE11'in replizom bütünlüğünü korumaya çalışır. RAD51'in ikinci DNA bağlanma bölgesindeki mutasyonlar, iplik değişimi aktivitesini etkilemeden çökmüş çatalların yeniden başlatılmasını bozar. Bu durumda çökmüş çatalların birikmesi, alternatif çatal yeniden başlatma/onarımı veya çatalların enzimatik bölünmesi muhtemeldir.

Son 10 yılda, HR bağımlı replikasyon çatalının yeniden başlatılması için DSB'nin bir ön koşul olmadığına dair kanıtlar birikmiştir. Bu mekanizmada, rekombinasyona bağlı replikasyon (RDR) adı verilen bir süreçle çatalda ssDNA boşlukları oluşur ve bu ssDNA bağlayıcı protein replikasyon protein A (RPA) ve HR faktörlerinin yüklenmesini teşvik eder. Bu bağlamda bakıldığında, kırılmaya bağlı replikasyonun bir DSB tarafından başlatılan özel bir rekombinasyona bağlı replikasyon formu olduğu düşünülebilir. RDR sırasında DNA sentezi semi-konservatif olarak kalır ve polimeraz delta tarafından her iki iplik ayrılmadan sentezlenir. Bu klasik yolla gerçekleşmeyen DNA sentezi, mutajenik olup kromozomal yeniden düzenlemelere yol açabilir. RDR'nin ilk adımı RAD51'in aktivitesine bağlıdır, ancak RAD52'nin de iplik hibridizasyon aktivitesinin RDR'nin uzama adımında da önemli bir rol oynadığı rapor edilmiştir. RDR insan hücrelerinde DNA replikasyonunun tamamlanmasına katkıda bulunabilir ve DNA sentezinin devam etmesine olanak sağlar.

İkinci olarak homolog rekombinasyon, replikasyon çatalının remodelingi ve korunması görevi üstlenir. Bu remodelling sürecinde tersine çevrilmiş replikasyon çatalları oluşturulur. Tersine çevrilmiş replikasyon çatalları, yeni sentezlenen iplikçiklerin birbirine katlandığı ve açılan parental DNA iplikçiklerinin tekrar dubleks formuna döndüğü DNA yapılarıdır. Bu tersine dönme çoğunlukla DNA lezyonlarıyla

ilgilidir ve replikasyon çatalının büyümesini sınırlamak için replikasyon stres sinyallerine yanıt olarak gerçekleşir. Tersine çevrilmiş çatal, tek taraflı bir DNA ucu olarak işlem gören ve yeni oluşan iplikçiğin bozulmasına yol açan bir DSB ucu sağlar. Korumasız çatallar olarak adlandırılan bu yapılar, korunmasız kolun her iki ipliğinin de bozulması ile meydana gelir. Çeşitli motor proteinler ve RAD51, çatalın tersine çevrilmesini destekler. RAD51'in rekombinasyon yetenekleri hala tartışmalıdır. Yeni bir çalışmada, farklı RAD51 mutasyon formlarının çatalın tersine çevrilmesindeki rolü araştırılmış ve RAD51'in çatalın tersine çevrilmesinde farklı biyokimyasal faaliyetleri etkilediği belirtilmiştir. Hipotezlerden biri, RAD51'in çatalın tersine çevrilmesine birden fazla mekanizma aracılığıyla yardımcı olan motor proteinlerin aktivitesini uyardığıdır.



Şekil 3: Homolog rekombinasyon gösteren DSB modeli devamı, (32) numaralı kaynaktan (Gelot C, Magdalou I) aynen alınmıştır

RAD51, bu remodelling sürecinde olduğu gibi, çatal korumasında da önemli bir rol oynar. RAD51'in iplik değişimi aktivitesi, DNA bağlanması, BRCA2'nin RAD51'i yüklenmesi ve nükleoprotein filament oluşumu, çatal koruması için gereklidir. RAD51-T131P mutasyonu, çatal koruması için etkisiz olan ancak çatalın tersine çevrilmesi için yeterli olan kararsız bir filament oluşturur. RAD51'in çatalın tersine çevrilmesi BRCA2'den bağımsızdır, ancak çatal koruması BRCA2'ye bağımlıdır. BRCA2 eksikliği olan hücrelerde, RAD51'in downregüle edilmesi korumasız çatalları oluşturur. BRCA2'nin homolojiye yönelik rekombinasyon ve çatal koruması gibi farklı işlevleri vardır ve RAD51 ile farklı etkileşim modları gerektirir. BRC tekrarları, RAD51'in dsDNA bağlanmasını etkileyerek RAD51'e bağlı DNA korumasını iptal ederken, TR2 parçası RAD51'i stabilize ederek DNA korumasını geri kazandırdığı düşünülmekle birlikte, RAD51 aktivitesini düzenlemek için BRCA2'nin nasıl çalıştığı hala tam olarak anlaşılamamıştır. RAD51 aracılı çatalın tersine çevrilmesi ve çatal korumasının birbirine bağlı olduğu, genom kararsızlığını önlemek için önemli olduğu görülmektedir.

Üçüncü ve son işlev ise replikasyon sonrası boşlukların onarımı ve repriming'dir.

Replikatif DNA polimerazların, DNA hasarı ile karşılaştıklarında replikasyon yapamadığı ve DNA hasarının onarımı olmadan genom duplikasyonunun tamamlanması için hasar toleransı veya bypass yollarının devreye girdiği bilinmektedir. Bu mekanizmalar, DNA lezyonunun altında de novo DNA sentezinin başlatılmasını, sürekli çatal ilerlemesini ve yavru iplik boşlukları olarak adlandırılan ssDNA uzantılarının çatalın arkasında bırakılmasını gerektirir. Replikasyon sonrası boşluklar, translezyonel sentezlenme (TLS) DNA polimerazları veya template değişimi (TS) adı verilen bir HR alt yolu tarafından doldurulmaktadır. Yapılan analizler, replikasyon sonrası boşlukların fonksiyonel bir HR yolunun yokluğunda biriktiğini göstermektedir. Mayada, yavru iplik boşlukları Exo1 nükleazı tarafından genişletilir ve tamamen çoğaltılmış kardeş kromatide, ssDNA boşuluğunun RAD51 aracılı invazyon gerçekleşir. RPA odaklarının DNA sentez bölgelerine göre takibinde

anlaşıldığı üzere, replikasyon sonrası boşlukların sınırlı bölgelerde onarıldığını ortaya koymaktadır. HR'ye bağlı boşluk onarımının insan hücrelerinde, kanserojen bir madde olan BPDE (benzo(a)pyrene diol epoxide) ile indüklenen durumlarda bildirilmektedir. Bu durumda, hem MRE11 hem de EXO1, çatal durması veya çökmesinden bağımsız olarak RAD51 odakları oluşturmak için boşluk genişlemesini teşvik eder. HR'ye bağlı boşluk onarımının mevcut modeli, sağlam kardeş kromatidin ssDNA boşluğu tarafından invaze edildiği, 3' uç kullanılmadığını, dolayısıyla kırık çatalları veya DSB'leri onarmak için kullanılanlardan farklı bir HR modu olduğunu göstermektedir.

Farklı iplik invazyon türlerinin düzenlenmesi hakkında kesin veriler olmasa da, yapılan çalışmalarda, DNA helikaz komponenti olan MCM kompleksi ile RAD51-RAD52 arasında fiziksel etkileşimler tespit edilmiştir. İn vivo ortamda ortaya çıkan ve MCM ile etkileşime giremeyen RAD51 mutantı ile gerçekleştirilen deneylerde, RAD51'in boşluk onarımını teşvik etmede rekombinojenik olmayan bir işlevi olduğunu düşündürmektedir.

Repriming sürecinde DNA polimeraz Primpol enzimi rol oynar. HR faktörlerinin repriming sürecini de yine rekombinojenik olmayan yollar ile düzenlediği düşünülmektedir. Mutasyonları Xeroderma pigmentosum sendromuna yol açan TLS polimeraz Eta'nın yokluğunda, UV ışınlarına maruz kaldıktan sonra replikasyon ara ürünlerinin analizi ile RAD51 çatal etrafında artışı saptanmıştır. Maya RAD52 ifadesinin replikatif DNA lezyonlarının tolere edilmesinde önemli olduğu ve rekombinaz RAD51'in replikasyon sürecini teşvik ettiği belirtilmiştir. Ayrıca, BRCA1 veya BRCA2 eksikliği olan hücrelerin replikasyon sonrası boşlukları biriktirdiği vurgulanmıştır. BRCA2, çatal korumasından bağımsız olarak öncü iplik üzerindeki primpol aktivitesini kısıtlamak için replikasyon faktörü MCM10 ile etkileşime girer.

HR fonksiyonları çeşitli yollarla genom duplikasyonunun tamamlanmasına yardımcı olur. “Tamamlanmamış DNA replikasyonu” şu iki durum için kullanılanabilir: Genomun bazı kısımları hiç replike edilmediğinde veya genom süreksiz bir şekilde replike edildiğinde. HR, özellikle transkripsiyon replikasyon çarpışmalarında çatalın yeniden başlatılmasını ve onarılmasını veya doğru sonlandırmayı sağlamak için çatal korumasını sağlayarak, genomun yetersiz replikasyonunu ve mitozda replike olmamış DNA'nın ayırt edici özelliği olan ultra ince köprüler olarak adlandırılan belirli bir mitotik köprü türünün oluşumunu önler. HR,

replikasyon sonrası boşlukların birikimini sınırlayarak sürekli bir DNA sentezi sağlar ve mutasyon yükünün artmasına katkıda bulunabilecek TLS aktivitesinin aşırı kullanımını önler(29).

Bir genin iki kopyası arasındaki bölgeye özgü bir kopma, nispeten yüksek bir frekansta (%30 ila %50) homolog silinmeye neden olacaktır. Son on yılda, birçok araştırmacı tekrarlanan DNA fragmanları arasında HR'un delesyonlara aracılık edebileceğini ve bu olayların sıklığının kansere neden olan ajanlara maruz kalmanın ardından arttığını göstermiştir(33).

Karsinogenez için en basit model tek adımlı bir olaydır ve çoğu zaman onkogenezi sağlayan baskın olarak hareket eden bir onkogende mutasyon meydana gelir. Onkogen örnekleri arasında c-ABL1, H-RAS, c-MYC, c-ERBB, v-FOS ve c-JUN gösterilebilir.

Alternatif olan diğer modelde ise, işlevsel muadilinin mutasyonu ile ortaya çıkan kalıtsal bir resesif gen kusuru içerir, ancak aslında bu "mutasyon" çoğunlukla bir heterozigosite kaybı (LOH) olayıdır. Bu resesif mutasyonlar genellikle klasik olarak tümör baskılayıcı olarak adlandırılan genlerdedir. İki aşamalı basit modelde, tümör baskılayıcı genlerin çoğunun iki işlevsel kopya olarak bulunması temeline dayanır. Burada işlevselliği etkisiz hale getirmek için her iki kopyanın da mutasyona uğraması gerekir. Son dönemde, mutasyonel heterozigotluğun aksine LOH en sık bildirilen olaydır. Rekombinasyon, fonksiyonel alelin silinmesi veya fonksiyonel alelin mutasyona uğramış olana gen dönüşümü, LOH için en olası mekanizmadır.

HR'nun LOH önemli bir mekanizma olabileceğine, iki aşamalı modelin ikinci aşamasını veya çok aşamalı modelde daha sonraki bir olayı yerine getirebileceği düşünülmüştür. Fenotip olarak genetik istikrarsızlığa sahip kansere eğilimli bazı hastalıklar vardır (ör. Kseroderma pigmentosum), bu hastalıklardan bazıları aynı zamanda yüksek düzeyde HR sergilemektedir. Artmış HR sıklığı, LOH'un hızlandırılmış bir hızda meydana gelme olasılığını artırır, ancak aynı zamanda HR'nin karsinogenez için birincil adım olarak hareket edebilecek anormal genomik yeniden düzenlemelere neden olma olasılığını da artırır. Bu argümanlar birlikte, HR'nun karsinogenez için gereken çoklu adımlarda önemli bir faktör olabileceğine dair ikna edici kanıtlar bildirilmiştir(33).

Epitelyal-mezenkimal geçiş (EMT), EK'lerde de tanımlanmış olan, epitelyal hücrelerin hareketli mezenkimal hücrelere dönüşümü olarak ve malign progresyon için kritik olan hücresel bir programdır. Genomik istikrarsızlığın da etkisiyle, EMT tümör hücrelerine gelişmiş tümör başlatma ve metastatik potansiyel kazandırır. Bu nedenle, RAD51 ifadesi tümör hücrelerinin EMT programındaki rolüne yönelik yapılan incelemelerde, özofagus skuamöz hücreli karsinomunda, yüksek RAD51 ekspresyonu TE8, CE81T ve KYSE70 hücrelerinde p38/Akt/Snail sinyal yolu aracılığıyla tümör metastazını teşvik ettiği saptanmıştır(34)Ek olarak, EGFR-Erk1/2/Akt-RAD51 ekseni prostat kanserinde EMT ve DNA onarım yolaklarını düzenlemektedir(35). bHLH/PAS ailesinden bir transkripsiyon faktörü olan SIM2s, HRR'nin güçlendirilmesi yoluyla DNA hasar onarımını düzenler ve ATM'ye bağımlı bir şekilde EMT'yi önler. SIM2s, ATM ile etkileşime girer ve radyasyona yanıt olarak ATM'ye bağlı fosforilasyon yoluyla stabilize edilir. SIM2s stabilize olduktan sonra BRCA1 ile etkileşime girer ve RAD51'in DNA hasarı bölgesine alınmasını destekler. SIM2s'nin bloke edilmesi, RAD51 alımının bozulması yoluyla HRR etkinliğini azaltabilir, bu da genomik instabilite ve EMT indüksiyonu ile sonuçlanır(36) Bu nedenle RAD51'in, tümör ilerlemesinin üstesinden gelmek için çoklu mekanizmalar yoluyla tümör metastazına aracılık ettiği savunulmaktadır.

Oksidatif stresin tümör başlangıcı ve gelişimi üzerinde etkili olduğu, özellikle DNA hasarı ve DNA onarım mekanizması olan HR tamirini etkilediği bilinmektedir(37) Buna karşılık, nükleer DNA hasarı mitokondriyal yanıtı daha da indükler ve nükleer DNA hasarını daha da şiddetlendirmek için mitokondriyal ROS birikimini teşvik eder. Over kanserinde, RAD51 tükenmesi mitokondrial ROS birikimi ve bozulmuş mitokondriyal membran potansiyeli sergiler(38) Spesifik olarak RAD51'in bloke edilmesi, DNA hasarını ve CHK1'e bağlı G2/M fazında hücre arrestini sağlamak için HR tamirini bozabilir, bu da sonuçta nükleer DNA hasarını daha da artırmak için ROS birikimini arttırmış olur(39)Glikoliz, ATP üretiminde oksidatif fosforilasyona göre daha az etkili olmasına rağmen, kanser hücrelerinin yaşamını sürdürebilmek için glikoz alımını artırarak besin yoksunu ortama uyum sağlamaktadır. Glikoliz tümör hücrelerinin hayatta kalmasını destekleyen yapı malzemeleri sağladığı ve makromolekül sentezi için de kullanılmaktadır. Bu nedenle, kanserlerde glikoliz yolunun hedeflenmesinin önemli bir terapötik strateji olduğu

gündeme gelmektedir. RAD51'in pankreatik tümör hücrelerinin malign davranışlarını etkileyerek aerobik glikolizi düzenlediğini bildiren çalışmalar vardır(40)

2.10. P53

p53, DNA'yı sekansa özgü bir şekilde bağlayan ve bağlayıcı düzenleyici unsurlara sahip yüzlerce hedef genin transkripsiyonunu aktive eden bir transkripsiyon faktörüdür(41).

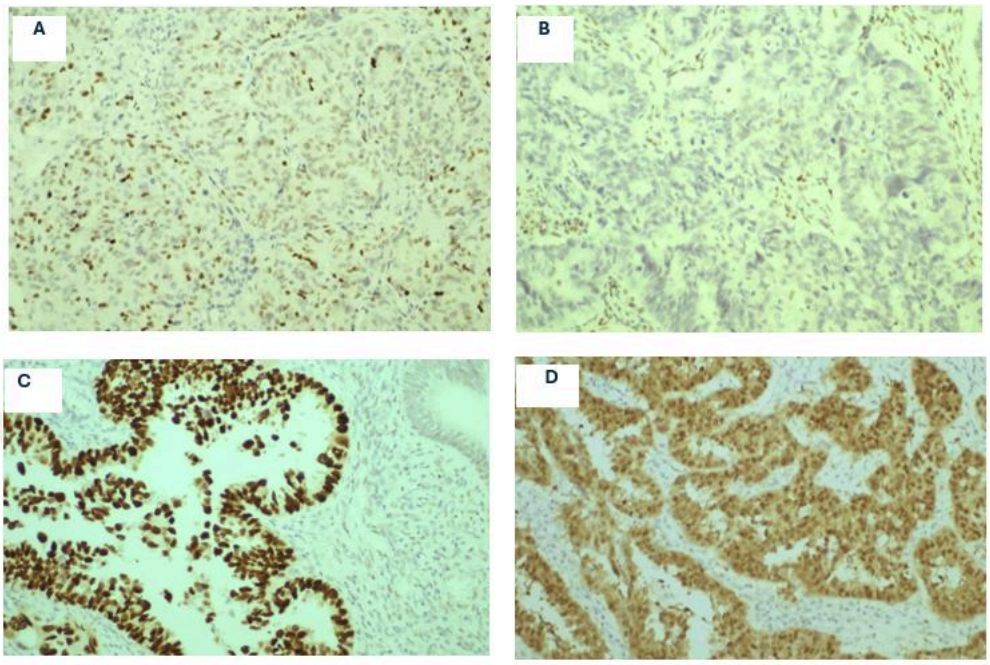
p53'ün işlevlerini yerine getiren hedef genler hücre döngüsünün durmasına neden olan genler, apoptoza neden olan genler ve katabolik metabolizmayı artıran veya anabolik metabolizmayı inhibe eden genler olarak tanımlanmıştır.

DNA hasarına radyasyona, kemoterapötik ilaçlara ve ROS'a maruz kalma neden olabilir veya yaşlanmanın bir parçası olarak kendiliğinden oluşabilir. DNA hasarına karşı yanıt olarak G1 fazının sonlarında gerçekleşen bu duraklama, p53'e bağlı olarak CDKN1A geninin p53'e bağlı transkripsiyonundan kaynaklanır ve p21 proteininin üretimini artırır. p21, CDK4/D siklin komplekslerini inhibe ederek RB'nin aktif halde tutulmasını sağlar ve hücrelerin G1 fazından S fazına geçmesini engeller. Bu duraklama, hücrelere DNA hasarını onarmak için zaman verir. p53 ayrıca DNA onarımını artıran GADD45 gibi proteinlerin indüksiyonunu sağlar. Eğer DNA hasarı başarıyla onarılırsa, p53 sinyallemesi sona erer ve p53 seviyeleri düşerek hücre döngüsü engeli kaldırılır. Böylece hücreler normal işlevlerine devam edebilir.

Geri dönüşü olmayan DNA hasarına sahip hücrelerin apoptozisi, neoplastik dönüşüme karşı nihai koruyucu mekanizmadır. p53, BAX ve PUMA gibi çeşitli pro-apoptotik genlerin transkripsiyonunu yönlendirir ve bunların mitokondriyal yolla hücre ölümü lehine dengeyi değiştirdiğine inanılır.

P53 immünohistokimyası, bir tümörün altta yatan TP53 mutasyon durumunu yansıtan doğru bir belirteç haline gelmiştir ve endometriyal karsinomların tanısal ve prognostik çalışmasında önemli faydası vardır. Ağırlıklı olarak tubo-ovaryan yüksek dereceli seröz karsinomda gerçekleştirilen son çalışmalar, 4 ana p53 boyanma paternini ortaya çıkarmıştır (normal/wild tip, tam yokluk, aşırı ekspresyon ve sitoplazmik). Son 3 patern değişken olarak anormal/aberan/mutasyon tipi olarak adlandırılır ve altta yatan TP53 mutasyonunu güçlü bir şekilde öngörür. TP53 mutasyon durumu, EK'larda prognozu öngören en önemli moleküler faktördür ve

TP53 mutasyonunun varlığı olumsuz bir sonuçla ilişkilidir. TP53 mutasyon durumu klinik olarak seröz ve endometrioid histotip arasındaki ayrıma yardımcı olmak, belirli bir histotip içinde prognozu tahmin etmek gibi farklı şekillerde kullanılabilir.



Resim 6: Olgulardan örnekler, p53 wild tip ekspresyon (IHK x200), B. p53 mutant-null tipte ekspresyon (IHK x200), p53 mutant-yaygın nükleer tipte ekspresyon (IHK x200), p53 mutant-sitoplazmik tipte ekspresyon (IHK x200)

Bir hücrenin DNA'sını onarıp onarmayacağını veya apoptoza girme durumu belirsizdir, ancak p53 aktivasyonunun hem süresi hem de seviyesi belirleyici faktörler olabilir. p53'ün DNA onarım genlerinin promotör ve enhancer'larındaki bağlanma bölgelerine olan afinitesi, pro-apoptotik genlerdeki bağlanma bölgelerine olan afinitesinden daha yüksektir. Böylece p53 birikmeye başladığında ilk olarak DNA onarım yolu uyarılır. Etkisiz DNA onarımı veya diğer kronik stresler nedeniyle p53 bu seviyede tutulursa, hücre döngüsü ilerlemesi için gerekli olan genlerin epigenetik susturulması meydana gelir ve bu da hücre arrestinin kalıcı devamlılığına yol açar. Alternatif olarak, pro-apoptotik genlerin transkripsiyonunu uyarmak için yeterli miktarda p53 birikirse, hücre ölür(41).

p53 aktivasyonuna yanıt olarak hücre tipine özgü kolayca açıklanamayan farklılıklar gözlemlenmiştir; bazı hücre tipleri apoptoza hızla giderken, bazıları hücre arrestinin kalıcı devamlılığını meydana getirmektedir.

Hücre döngüsünün kontrol komponentlerinden biri olan p53, hücre döngüsünün arrestini ve hücre ölümünü indüklemesi ile tümör progresyonuna engel olur. p53 aynı zamanda metabolizmayı, antioksidan yanıtı ve DNA onarımını da düzenleyerek tümörün başlamasını engellemede rol oynadığı bilinmektedir.

RAD51 ifadesinin p53 tarafından transkripsiyonel baskılanmasının homolog rekombinasyonun düzenlenmesine katıldığı ve p53 mutasyonu RAD51 baskılanmasında bozulma meydana getirerek malign transformasyona katkıda bulunabileceğini önerilmektedir(42). Wild tip p53 ekspresyon gösteren fare embriyolarında, RAD51 ailesinin ilgili bir üyesi olan RAD51C ile doğrudan etkileşime girdiği ve RAD51C'nin RAD51 ile etkileşime girdiği gösterilmiş REC2/RAD51L1 geninin, mutant olan embriyoları ile karşılaştırıldığında, p53 mutant embriyoların önemli ölçüde ileri proliferasyon ve gelişim gösterdiği bildirilmiştir(43).

Çalışmalardan birinde, hücre dizilerine RAD51'in wilde tip p53 tarafından düzenlenmesini ve DNA çift zincir kırıklarını spesifik olarak indüklemek için etoposid ile muamele edilerek HR onarımındaki rolünü analiz etmek amacıyla, p53 hedef geni p21'in indüklenmesiyle gösterildiği gibi, etoposid ile wild tip p53 aktivasyonu RAD51 mRNA ve protein seviyelerini aşağı doğru düzenlediği saptanmıştır.

Aynı çalışmada endojen p53'ün RAD51'i downregüle ettiğini göstermek için, wild tip p53 eksprese eden meme karsinomu hücrelerinde RAD51 mRNA ve protein ekspresyonunu analiz edilmiş, p53 mutant protein eksprese eden meme karsinomu hücrelerinin aksine, etoposid tedavisinin wild tip p53 eksprese eden meme kanser hücrelerinde RAD51 mRNA ve protein ekspresyonunu azalttığını gözlemlenmiştir(42).

Genotoksik stress sonrası, p53 proteini hücre döngüsü kontrol noktasını ve apoptozu kontrol eden bir dizi geni transaktive eder. P53'ün inhibisyonu, doğrudan tekrarlar arasında ve ters çevrilmiş tekrar dizileri arasında HR'u uyarır. Ters tekrarlar arasındaki rekombinasyon esas olarak gen dönüşümünü içerdiğinden, bu, p53'ün memeli hücrelerinde RAD51'e bağlı bir süreç olan gen dönüşümünü etkilediğini göstermektedir. Farklı çalışmalar p53'ün buna ek olarak, homolog rekombinasyonun transaktivasyondan bağımsız negatif düzenlenmesinde rol oynadığını bildirmiştir. Buna paradoksal kanıt sunan bir başka çalışmada, transaktivasyon aktivitesini tetiklemeden p53 proteinini stabilize eden hidroksiüre ile tedavi sonucu gerçekleşen

replikasyon inhibisyonu, replikasyon sırasında p53'ün transkripsiyondan bağımsız bir rol de oynadığını ortaya koymaktadır(44).

RAD51'e bağlı HR'nin moleküler düzeyde baskılanması ile ilgili iki mekanizma önerilmiştir: (i) HR'nin erken bir aşamasında iplik değişiminin engellenmesi veya tersine çevrilmesi; ve (ii) HR'nin geç bir aşamasında HR ara ürünlerinin tanınması ve tersine çevrilmesi. Bu iki mekanizmanın her biri p53 yapısının farklı bölgeleri ile ilişkilidir: Erken adımlar için kor alan ve geç adımlar için C-terminal alanı. Çoğu p53 bağlayıcı protein, kor alanın dışında bir bölgeyle etkileşime girer ve p53'ün kor alanın DNA bağlanmasını dolaylı olarak düzenler; post-translasyonel modifikasyon bu dolaylı düzenleme için kilit bir faktördür. Kor alana bağlanarak doğrudan düzenleme de etkilidir, çünkü kor alana bağlanan bir protein p53'ün DNA'ya bağlanmasını ve dolayısıyla transkripsiyonel aktivitesini inhibe edecektir. P53 aktive edildiğinde, kor alana protein bağlanmasının p53'ün seçeceği yolun düzenlenmesinde kilit bir olay olabileceği tahmin edilebilir. RAD51'in bağlanması HR'u inhibe edecek ve nontranskripsiyonel p53 yanıtını aktive edecektir.

p53 mutasyonlarının rekombinasyon substratı ile HR'u uyardığını ve böylece iplik invazyonu mekanizmalarının uyarıldığı literatürde bildirilmiştir(45). Buna ek olarak, p53 mutasyonlarının HR üzerindeki etkisinin G1 kontrol noktası üzerindeki etkisinden bağımsız olup, p53'ün bu işlevlerinin ayrılabilir olabileceği düşünülmektedir.

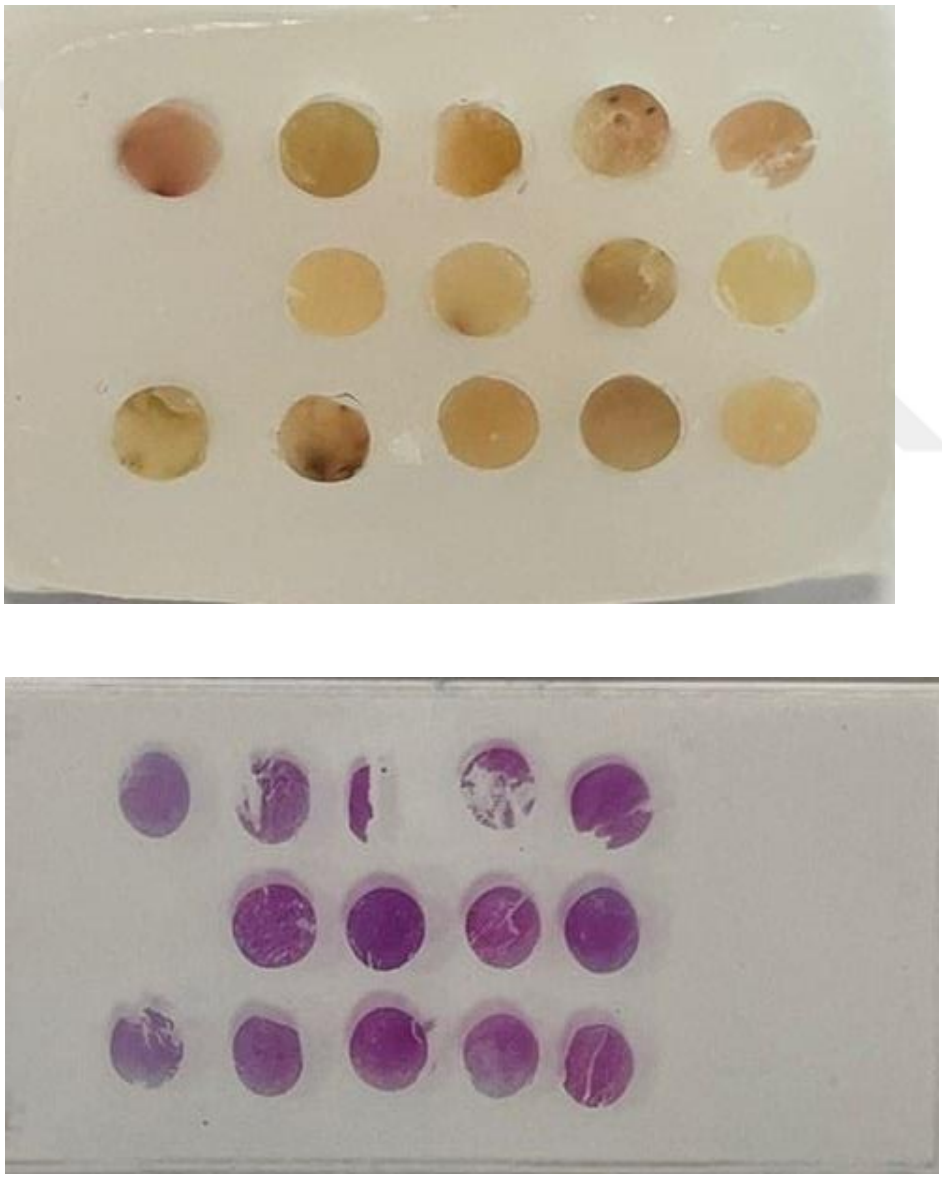
3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız Ankara Şehir Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 28.12.2022 tarihindeki E1/3158/2022 nolu kararı ile etik kurul onayı alınmıştır.

Çalışmada Ankara Şehir Hastanesi Patoloji Laboratuarı arşivinde yer alan ve burada tanı almış total abdominal histerektomi materyallerinde endometrial kanser tanısı retrospektif olarak tarandı. Çalışmaya 01.01.2019 ile 15.05.2024 tarihleri total abdominal histerektomi ve bilateral salpingooferektomi olgularından tanı almış 119 adet yüksek dereceli karsinom (seröz karsinom, karsinosarkom, berrak hücreli karsinom, dediferansiye karsinom, endometrioid karsinom ve mikst karsinom) dahil edildi. EEK'lardan derece 3 olanlar, mikst karsinomlardan ise komponentlerin hepsi yüksek dereceli olan hastalar çalışmaya eklendi. Bu materyallere ait lamlar ışık mikroskobu ile incelendi. İnceleme sırasında ayrıca karsinomların myometrial invazyon oranı, servikal stromal invazyon, lenfovasküler invazyon durumu, eşlik eden over tutulumu, lenf nodu metastazı değerlendirildi. İncelemede rezeksiyonlara ait özellikleri en iyi yansıtan, birer tane yedekleriyle birlikte toplam ikişer lam seçildi. Bu lamlara ait parafine gömülü doku blokları blok arşivinden çıkarıldı. Çıkarılan preparatlardan tümör hücresinin fazla, nekrozun az olduğu, doku takip ve fiksasyonun en iyi olduğu düşünülen alanlar işaretlendi. Tümör alanı raporlama aşamasında ileri inceleme yapıldıktan sonra geride az sayıda tümör hücresi kalmış hastalar, yoğun otolize uğramış olanlar, tümörün tamamı frozen için dondurulmuş olanlar ya da sadece metastaz alanında elverişli tümör dokusuna sahip olan hastalar çalışma grubuna dahil edilmemiştir.

Laboratuarımızda doku mikroarray yöntemi hazırlanması amacıyla boş parafin bloklar döküldü. 4 mm'lik bir punch biyopsi aleti kullanılarak bloklarda işaretli alanlardan punch biyopsiler alındı. Alınan örnekler, hazırlanan boş parafin bloklarda belirli bir düzen ile sırasıyla gömüldü. Bu düzene göre oluşturulan şablona, kor biyopsilerin protokol numaraları sırası ile yazıldı. Bu yöntemle 47 seröz karsinom, 33 karsinosarkom, 24 endometriod tip figo grade 3 karsinom, 5 dediferansiye karsinom, 4 berrak hücreli karsinom, 3 mikst karsinom, 3 yüksek gradeli endometrial karsinom tanısı almış toplam 119 olgudan ayrı ayrı punch biyopsiler alınarak, bir tanesi tekrar

çalışma için olan toplam 9 adet parafin blok hazırlandı. Punch biyopsi için, tümör hücresinden zengin, takip ve fiksasyonu iyi olan, nekroz ve hemoraji içermeyen, tümörü en iyi temsil edebilecek alanlardan seçildi. Bifazik ve mikst tümörler için ise, her iki komponenti en iyi temsil edebilecek alanlar tercih edildi. Ayrıca EEK derece 3 ve karsinosarkom olgularından birer blok tam yüzey kesit boyanması için ayrıldı. Pozitif dış kontrol olarak normal endometrium, serviks kanserli doku ve rat testisi kullanılmıştır. Hazırlanan TMA blok ve H&E boyalı kesit örneği şekillerde gösterilmiştir.



Resim 7: TMA blok ve H&E boyalı kesit örnekleri

Bu yöntem ile çok sayıda vaka, daha az blokla değerlendirilme olanağı yaratıldı. TMA yöntemi değerlendirmeyi kolaylaştırmak ile birlikte, kullanılan malzeme, zaman ve immünhistokimyasal antikor açısından tasarruf sağlamaktadır. Bunun ardından immünhistokimyasal çalışma aşamasına geçilmiştir.

3.1. P53

%10'luk formaldehit ile fikse edilmiş, parafin bloklara gömülü dokulardan 3 mikronluk kesitler pozitif şarjlı, adhezyon gücü yüksek lamlara alındı. Lamlar oda sıcaklığında 24 saat kurumaya bırakıldı. Kesitler, 60ºC'ye ayarlanmış etüvde 30 dakika bekletilme, deparafinizasyon, antijen açığa çıkarma işlemleri de dahil olmak üzere tüm İHK'sal boyama işlemleri tam otomatik İHK cihazında gerçekleştirildi. İHK boyama sistemi olarak HRP konjuge kit, hidrojen peroksit, ve 3,3'-diaminobenzidin tetrahidroklorit (DAB) kromojeni ile tam otomatik İHK boyama cihazi (Leica, Bond Max, Leica Biosystems) kullanıldı. Antijen açığa bu cihazda edta solüsyonunda 60 dk kaynama olarak ayarlandı. P53 monoklonal fare antikoru (Klon DO7, Leica Biosystems 21440 W. Lake Cook Road, Floor 5,Deer Park, IL 60010 United States) 1:50 dilüsyonda hazırlandı. 60 dakika süreyle inkübe edildi. Hematoksilen ile cihazda tamamlandı. Cihazdan alınan lamlar çeşme suyu ile yıkanıp dehidratasyondan sonra entellan damlatılarak kapatıldı.

3.2. RAD51

RAD51 ile ilgili çalışmalar daha sıklıkla western blot, immunfloresan ve NGS metoduyla olup, İHK'sal antikoru uygulaması ise belirtilen yöntemler ile korelasyon değerlendirmesi yapan kısıtlı sayıda çalışma vardır. Bu durum, optimum boyanma sağlanana kadar birçok deneme yapmamıza neden olmuştur. Antikorlardan sırasıyla 1/200, 1/100 ve 1/50 dilüsyon ile yapılan denemelerden sonra en optimal boyanma aşağıda belirtilen prosedür ile elde edilmiştir.

%10'luk formaldehit ile fikse edilmiş, parafin bloklara gömülü dokulardan 3 mikronluk kesitler pozitif şarjlı, adhezyon gücü yüksek lamlara alındı. Lamlar oda sıcaklığında 24 saat kurumaya bırakıldı. Kesitler, 60ºC'ye ayarlanmış etüvde 30 dakika bekletilme, deparafinizasyon, antijen açığa çıkarma işlemleri de dahil olmak üzere tüm İHK'sal boyama işlemleri tam otomatik İHK cihazında gerçekleştirildi. İHK boyama

sistemi olarak HRP konjuge kit, hidrojen peroksit, ve 3,3'-diaminobenzidin tetrahidroklorit (DAB) kromojeni ile tam otomatik İHK boyama cihazi (Leica, Bond Max, Leica Biosystems) kullanıldı. Antijen açığa bu cihazda edta solüsyonunda 40 dk kaynama olarak ayarlandı. RAD51 monoklonal fare antikoru (Klon 14B4, Thermo fisher, Scientific,168 Third Avenue Waltham, MA USA) 1:20 dilüsyonda hazırlandı. 350 dakika süreyle inkübe edildi. Hematoksilen ile cihazda tamamlandı. Cihazdan alınan lamlar çeşme suyu ile yıkanıp dehidratasyondan sonra entellan damlatılarak kapatıldı. TMA yöntemiyle hazırlanan blokların örnek immünhistokimyasal çalışma kesitleri şekil verilmiştir.

3.3. İMMÜNHISTOKIMYASAL ÇALIŞMANIN DEĞERLENDIRILMESI

İHK'sal antikor ile boyalı kesitlerin mikroskopik değerlendirmesinde ışık mikroskopu kullanıldı. İHK preparatları boyanma yaygınlığı ve yoğunluğuna göre değerlendirildi. RAD51 antikoru ile boyanan preparatlarda nükleer boyanma esas alındı. Nicel bir değerlendirme yöntemi olan H skoru hesaplaması manuel olarak tercih edildi. H-skoru nükleer ya da sitoplazmik gibi belirli hücre bölgelerindeki protein ekspresyon seviyelerini ölçmek için değerlidir. H-skoru hesaplaması, proteinler ve tümörler arasında bağlantı kurmak için yaygın olarak kullanılmakta ve tanı, prognoz ve terapötik karar vermede önemli roller oynamaktadır (46).

H-skor formülü = (Yoğunluk sınıflaması 1'de (örn: düşük) boyanan hücrelerin yüzdesi x 1) + (Yoğunluk sınıflaması 2'de (örn: orta) boyanan hücrelerin yüzdesi x 2) + (Yoğunluk sınıflaması 3'de (örn: yüksek) boyanan hücrelerin yüzdesi x 3)

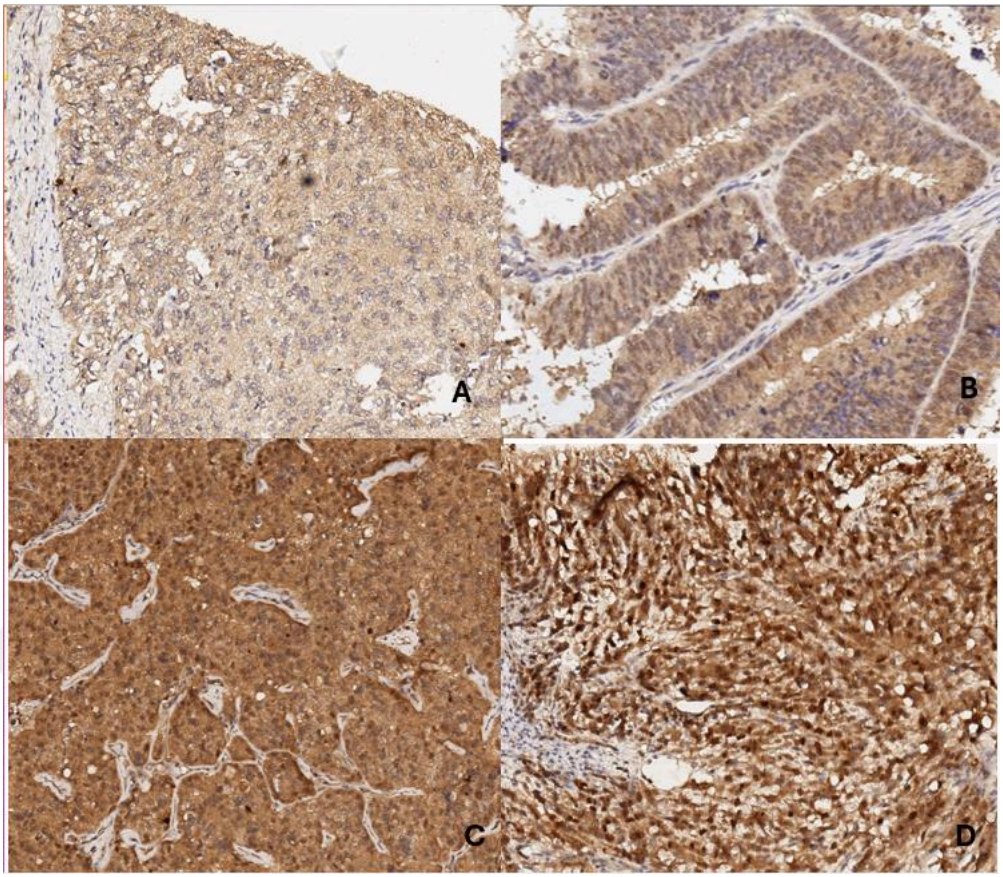
Bu formül ile 0-300 arasında bir H-skor elde edilmiş olur.

Leica Aperio AT Turbo (Dr. Vista, CA, USA) slayt tarama cihazında İHK'sal boyalı preparatlar dijitalleştirildi. Tüm korlar x400 büyütme alanlarında incelenerek, tüm tümör hücre nükleuslarında İHK'sal boyanma yoğunluğu değerlendirilmiştir. Korlarda en az 2271, en fazla 26103 tümör hücresi sayılmıştır. Bu işlem bittikten sonra her korun toplam tümör hücre sayısı, tümör yüzdesi ve H skoru hesaplandı.

Bu çalışma moleküler tümör belirtecinin prognostik rolüne odaklandığından, hastaların olumlu ve olumsuz klinik özelliklere ve prognoza sahip olanlar olarak en iyi

şekilde ayrılmasını sağlamak amaçlanmıştır. H skoru belirteç indeksinin en optimal kesim noktası median değer olarak belirlenmiştir.

119 hastadan klinik bilgisine erişilebilen ve p53-RAD51 biomarkerlarından kullanışlı data elde eldilebilen 63 hasta çalışmaya dahil edilmiştir.



Resim 8: Karsinosarkom, RAD51 ekspresyonu skor: 0 (IHK x200), Endometrioid karsinom RAD51 ekspresyonu skor: 1 (IHK x200), Seröz karsinom RAD51 ekspresyonu skor: 2 (IHK x200), Dediferansiye karsinom RAD51 ekspresyonu skor: 3 (IHK x200)

3.4. İSTATISTIKSEL YÖNTEMLER

Bu çalışmada, betimsel istatistikler, bağımsız gruplar t-testleri, ki-kare ilişki testleri ve Kaplan-Meier sağkalım analizleri kullanılarak veriler analiz edilmiştir. Tüm istatistiksel analizler SPSS 26.0 yazılımı kullanılarak %95 güven düzeyinde gerçekleştirilmiştir.

Betimsel İstatistikler: Çalışmadaki klinik ve patolojik özelliklerin dağılımı, frekans (n) ve yüzdeler (%) şeklinde hesaplanmıştır.

Normallik Testi: Verilerin normallik dağılımı, çarpıklık ve basıklık değerleri incelenerek değerlendirilmiştir. Çarpıklık ve basıklık değerlerinin -3 ile +3 arasında olması, verilerin normal dağılım gösterdiğini belirtmiştir.

Bağımsız Gruplar t-Testi: Bağımsız gruplar t-testi, H-skor düzeyine göre farklı değişkenlerin (ER, PR, Ki-67, tümör çapı, yaş, tümör yüzdesi, toplam tümör hücresi) ortalamaları arasındaki farkı değerlendirmek için kullanılmıştır.

Ki-kare İlişki Testi: Ki-kare testi, H-skor düzeyi ile çeşitli klinik ve patolojik özellikler arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için kullanılmıştır.

Kaplan-Meier Sağkalım Analizi: Kaplan-Meier sağkalım analizi, H-skor düzeyine göre sağkalım sürelerini karşılaştırmak için kullanılmıştır.

$P < 0.05$ olan sonuçlar anlamlı olarak kabul edildi.

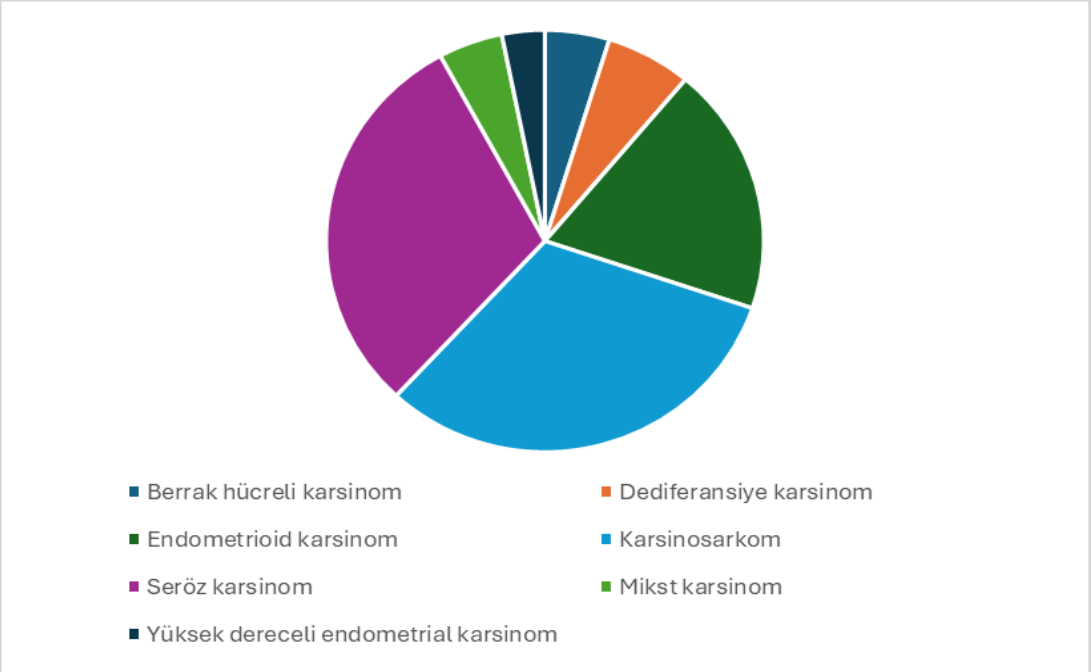
4. BULGULAR

		n (%)
Tipi	Berrak hücreli	3(%4,8)
	Dediferansiye	4(%6,3)
	Endometrioid karsinom, FİGO derece 3	12(%19)
	Karsinosarkom	20(%31,7)
	Mikst	3(%4,8)
	Seröz	19(%30,2)
	Yüksek gradeli	2(%3,2)
Myometrium 1/2 dış invazyonu var mı?	Yok	22(%34,9)
	Var	41(%65,1)
Lenfovasküler invazyon durumu	Yok	25(%39,7)
	Fokal	20(%31,7)
	Yaygın	18(%28,6)
Servikal stromal tutulum	Yok	42(%67,7)
	Var	20(%32,3)
MMR protein ekspresyon durumu	Korunmuş	33(%76,7)
	İzole MLH1 veya PMS2 kayıp	4(%9,3)
	MLH1 ve PMS2 kayıp	5(%11,6)
	MLH1,PMS2,MSH2 kayıp	1(%2,3)
Cerb-B2 ekspresyon skoru	0	20(%66,7)
	1	3(%10)
	2	3(%10)
	3	4(%13,3)
P16 diffüz ekspresyon	Yok	18(%34,6)
	Var	34(%65,4)
Adneksiyal tutulum	Yok	52(%82,5)
	Var	11(%17,5)
Lenf nodu metastazı	Yok	39(%61,9)
	Var	24(%38,1)
Lenf nodu metastazı	Paraortik	11(%68,8)
	Pelvik	5(%31,3)
P53 ekspresyonu	Mutant (yaygın nükleer)	31(%49,2)
	Mutant (null)	4(%6,3)
	Mutant (sitoplazmik)	1(%1,6)
	Wild	27(%42,9)

Neoadjuvant tedavi durumu	Almamış	59(%93,7)
	Almış	4(%6,3)
Hangi adjuvant tedaviyi almış?	Rt	13(%28,3)
	Kt	16(%34,8)
	Rt+kt	17(%37)
2 yıl içerisindeki rekürrens durumu	Yok	40(%72,7)
	Lokal nüks	4(%7,3)
	Metastaz	11(%20)
Ex durumu	Sağ	48(%76,2)
	Ölü	15(%23,8)
FIGO evre	4B	7(%11,1)
	4C	3(%4,8)
	IC	4(%6,3)
	IIC	28(%44,4)
	IIC2	1(%1,6)
	IIIa	1(%1,6)
	IIIA1	1(%1,6)
	IIIB1	2(%3,2)
	IIIC1	6(%9,5)
	IIIC2	10(%15,9)

Tablo 3: Olguların Klinik ve Patolojik Özellikleri

Berrak hücreli karsinom olan hastalar toplamda 3 kişi olup, bu grup çalışmadaki hastaların %4,8'ini oluşturmaktadır. Dediferansiye karsinom olan hastalar ise 4 kişi ile %6,3'lük bir oran göstermektedir. Endometrioid karsinomlu 12 hasta, katılımcıların %19'unu temsil etmektedir. Karsinosarkom tümör tipi, çalışmada en yaygın görülen tip olup, 20 hastayla %31,7'lik bir oran sunmaktadır. Mikst karsinom olan hastalar 3 kişi ile %4,8 oranında bulunmuştur. Seröz karsinom olan 19 hasta ile katılımcıların %30,2'sini kapsamaktadır. Yüksek dereceli endometrial karsinom tanısına sahip hastalar ise 2 kişi ile %3,2 oranında bulunmaktadır.



Şekil 4: Olguların histolojik tiplerine göre dağılımını gösteren pasta dilimi grafiği

Myometrium 1/2 dış invazyonu olmayan hastalar 22 kişi olup, bu durum %34,9 oranında görülmektedir. Myometrium 1/2 dış invazyonu olan hastalar ise 41 kişi ile %65,1'lik bir orana sahiptir.

LVI durumu yaygın olmayan hastalar 25 kişi ile %39,7'lik bir oran gösterirken, LVI durumu yaygın olan hastalar 20 kişi (%31,7) ve çok yaygın olanlar ise 18 kişi (%28,6) olarak belirlenmiştir.

Servikal stromal invazyon olmayan hastalar, 42 kişi ile %67,7 oranındadır. Bu durumu olan hastalar ise 20 kişi ile %32,3 oranındadır.

MMR protein ekspresyonu korunmuş olan hastalar, yani mikrosatellit stabil hastalar, 33 kişi ile %76,7 oranındadır. İzole MLH1 veya PMS2 ekspresyon kaybı olan hastalar, 4 kişi (%9,3) ile, MLH1 ve PMS2 ekspresyon kaybı olanlar 5 kişi (%11,6) ile, MLH1, PMS2 ve MSH2 ekspresyon kaybı olanlar ise 1 kişi ile %2,3 oranında bulunmaktadır.

Cerb-B2 skor 0 olan hastalar, yani HER2 negatif hastalar, 20 kişi ile %66,7 oranındadır. Cerb-B2 skor 1 olanlar, 3 kişi (%10), Cerb-B2 skor 2 olanlar, 3 kişi (%10), Cerb-B2 skor 3 olanlar ise 4 kişi (%13,3) olarak belirlenmiştir.

P16 diffüz ekspresyonu olmayan hastalar, 18 kişi ile %34,6 oranında, p16 diffüz ekspresyonu olan hastalar ise 34 kişi ile %65,4 oranında bulunmuştur.

Adneksiyal tutulumu olmayan hastalar, 52 kişi ile %82,5 oranında iken, adneksiyal tutulumu olan hastalar ise 11 kişi ile %17,5 oranındadır.

Lenf nodu metastazı olmayan hastalar, 39 kişi ile %61,9 oranında, lenf nodu metastazı olan hastalar ise 24 kişi ile %38,1 oranındadır.

Paraortik lenf nodu metastazı olan hastalar, 11 kişi ile %68,8 oranında, Pelvik lenf nodu metastazı olan hastalar ise 5 kişi ile %31,3 oranında bulunmuştur.

Mutant(yaygın nükleer) p53 ekspresyonu olan hastalar, 31 kişi ile %49,2 oranında, Mutant (null) p53 ekspresyonu olanlar 4 kişi ile %6,3 oranında, Mutant (sitoplazmik) p53 ekspresyonu olanlar 1 kişi ile %1,6 oranında, Wild tip p53 ekspresyonu olan hastalar ise 27 kişi ile %42,9 oranında bulunmuştur.

Neoadjuvant tedavi almamış hastalar, 59 kişi ile %93,7 oranında iken, neoadjuvant tedavi almış hastalar 4 kişi ile %6,3 oranındadır.

Sadece radyoterapi (Rt) almış hastalar, 13 kişi ile %28,3 oranında, Sadece kemoterapi (Kt) almış hastalar, 16 kişi ile %34,8 oranında, Hem radyoterapi hem de kemoterapi (Rt+Kt) almış hastalar ise 17 kişi ile %37 oranında bulunmuştur.

İki yıl içinde rekürrens saptanmamış hastalar, 40 kişi ile %72,7 oranında, lokal nüks olanlar, 4 kişi ile %7,3 oranında, metastaz olan hastalar ise 11 kişi ile %20 oranında bulunmuştur.

Sağ kalan hastalar, 48 kişi ile %76,2 oranında, ölen hastalar ise 15 kişi ile %23,8 oranında bulunmaktadır.

4B evresinde 7 hasta (%11,1), 4C evresinde 3 hasta (%4,8), IC evresinde 4 hasta (%6,3), IIC evresinde 28 hasta (%44,4), IIC2 evresinde 1 hasta (%1,6), IIIA

evresinde 1 hasta (%1,6), IIIA1 evresinde 1 hasta (%1,6), IIIB1 evresinde 2 hasta (%3,2), IIIC1 evresinde 6 hasta (%9,5), IIIC2 evresinde ise 10 hasta (%15,9) bulunmaktadır.

	(Alt_üst) Medyan	Ort±ss	Çarpıklık	Basıklık
ER %	(0_95)32,5	39,33±33,85	0,253	-1,462
PR %	(0_90)10	28,69±31,85	0,951	-0,486
Ki-67	(7_95)70	62,58±26,79	-0,670	-0,569
Tümör çapı (cm)	(0,7_20)6	6,57±3,87	1,332	2,299
Yaş	(52_83)68	67,37±7,5	0,016	-0,492
Genel sağkalım	(0,5_57)19	22,58±16,59	0,554	-0,964
Tümör yüzdesi	(25_100)80	77,35±17,66	-1,131	0,960
Toplam tümör hücresi	(2271_26103)10164	10634,54±5617,97	0,725	0,009
H-skor	(1,52_251,42)135,96	142,76±51,39	-0,034	0,411

Tablo 4: Ölçümlere Ait Betimsel İstatistikler

ER değerlerinin alt ve üst sınırları (0-95), medyanı 32,5, ortalaması 39,33±33,85, çarpıklık değeri 0,253 ve basıklık değeri -1,462 olarak belirlenmiştir.

PR değerlerinin alt ve üst sınırları (0-90), medyanı 10, ortalaması 28,69±31,85, çarpıklık değeri 0,951 ve basıklık değeri -0,486 olarak belirlenmiştir.

Ki-67 değerlerinin alt ve üst sınırları (7-95), medyanı 70, ortalaması 62,58±26,79, çarpıklık değeri -0,670 ve basıklık değeri -0,569 olarak belirlenmiştir.

Tümör çapı değerlerinin alt ve üst sınırları (0,7-20), medyanı 6, ortalaması 6,57±3,87, çarpıklık değeri 1,332 ve basıklık değeri 2,299 olarak belirlenmiştir.

Yaş değerlerinin alt ve üst sınırları (52-83), medyanı 68, ortalaması 67,37±7,5, çarpıklık değeri 0,016 ve basıklık değeri -0,492 olarak belirlenmiştir.

Genel sağkalım değerlerinin alt ve üst sınırları (0,5-57), medyanı 19, ortalaması 22,58±16,59, çarpıklık değeri 0,554 ve basıklık değeri -0,964 olarak belirlenmiştir.

Tümör yüzdesi değerlerinin alt ve üst sınırları (25-100), medyanı 80, ortalaması 77,35±17,66, çarpıklık değeri -1,131 ve basıklık değeri 0,960 olarak belirlenmiştir.

Toplam tümör hücresi değerlerinin alt ve üst sınırları (2271-26103), medyanı 10164, ortalaması 10634,54±5617,97, çarpıklık değeri 0,725 ve basıklık değeri 0,009 olarak belirlenmiştir.

H-skor değerlerinin alt ve üst sınırları (1,52-251,42), medyanı 135,96, ortalaması 142,76±51,39, çarpıklık değeri -0,034 ve basıklık değeri 0,411 olarak belirlenmiştir.

		H-SKOR düzey		p
		Düşük ekspresör	Yüksek ekspresör	
		n (%)	n (%)	
Tipi	Berrak hücreli karsinom	2(%66,7)	1(%33,3)	0,172
	Dediferansiye karsinom	1(%25)	3(%75)	
	Endometrioid karsinom, derece 3	9(%75)	3(%25)	
	Karsinosarkom	8(%40)	12(%60)	
	Mikst karsinom	1(%33,3)	2(%66,7)	
	Seröz karsinom	9(%47,4)	10(%52,6)	
	Yüksek dereceli endometrial karsinom	1(%50)	1(%50)	
Myometrium 1/2 dış invazyonu var mı?	Yok	10(%45,5)	12(%54,5)	1,000
	Var	20(%48,8)	21(%51,2)	
Lenfovasküler invazyon	Yok	13(%52)	12(%48)	0,416
	Fokal	7(%35)	13(%65)	
	Yaygın	10(%55,6)	8(%44,4)	
Servikal stromal tutulum	Yok	20(%47,6)	22(%52,4)	1,000
	Var	10(%50)	10(%50)	
MMR protein ekspresyon durumu	Korunmuş	15(%45,5)	18(%54,5)	0,381
	İzole MLH1 veya PMS2 kayıp	2(%50)	2(%50)	
	MLH1 ve PMS2 kayıp	4(%80)	1(%20)	
	MLH1, PMS2 ve MSH2 kayıp	0(%0)	1(%100)	
Cerb-B2 skor	0	9(%45)	11(%55)	0,755
	1	1(%33,3)	2(%66,7)	
	2	2(%66,7)	1(%33,3)	
	3	1(%25)	3(%75)	
P16 diffüz ekspresyon	Yok	8(%44,4)	10(%55,6)	0,776
	Var	17(%50)	17(%50)	
Adneksiyal tutulum	Yok	22(%42,3)	30(%57,7)	0,098
	Var	8(%72,7)	3(%27,3)	
Lenf nodu metastazı	Yok	17(%43,6)	22(%56,4)	0,447
	Var	13(%54,2)	11(%45,8)	
Lenf nodu metastazı	Paraaortik	7(%63,6)	4(%36,4)	0,282
	Pelvik	1(%20)	4(%80)	
P53 ekspresyonu	Mutant	13(%36,1)	23(%63,9)	0,044
	Wild	17(%63)	10(%37)	

P53 ekspresyonu	Mutant (null)	2(%50)	2(%50)	0,609
	Mutant (null dışı)	11(%34,4)	21(%65,6)	
Neoadjuvant tedavi	Almamış	28(%47,5)	31(%52,5)	1,000
	Almış	2(%50)	2(%50)	
Adjuvant tedavi	Rt	9(%69,2)	4(%30,8)	0,324
	Kt	8(%50)	8(%50)	
	Rt+kt	7(%41,2)	10(%58,8)	
2 yıl içinde rekürrens	Yok	17(%42,5)	23(%57,5)	0,238
	Lokal nüks	2(%50)	2(%50)	
	Metastaz	8(%72,7)	3(%27,3)	

Ki-kare testi

Tablo 5: H-SKOR ile Klinik ve Patolojik Özellikler Arasındaki İlişki

Berrak hücreli tümör tipine sahip hastaların %66,7'si düşük ekspresör, %33,3'ü yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Dediferansiye tipte tümörü olan hastaların %0'ı düşük ekspresör, %100'ü yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Endometrioid tümör tipine sahip hastaların %75'i düşük ekspresör, %25'i yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Karsinosarkom tümör tipine sahip hastaların %40'ı düşük ekspresör, %60'ı yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Mikst tümör tipine sahip hastaların %33,3'ü düşük ekspresör, %66,7'si yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Seröz karsinomlu hastaların %47,4'ü düşük ekspresör, %52,6'sı yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Yüksek gradeli endometrial karsinom tanısı almış hastaların %50'si düşük ekspresör, %50'si yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, tümör tipi ile H-skor düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığını göstermektedir ($p = 0,172$).

Myometrium 1/2 dış invazyonu olmayan hastaların %45,5'i düşük ekspresör, %54,5'i yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Myometrium 1/2 dış invazyonu olan hastaların %48,8'i düşük ekspresör, %51,2'si yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, myometrium 1/2 dış invazyonu ile H-skor düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığını göstermektedir ($p = 1,000$).

Lenfovasküler invazyon olmayan hastaların %52'si düşük ekspresör, %48'i yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Lenfovasküler invazyon fokal olarak saptanmış hastaların %35'i düşük ekspresör, %65'i yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Lenfovasküler invazyon yaygın olan hastaların %55,6'sı düşük ekspresör, %44,4'ü yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, lenfovasküler invazyon yaygınlığı ile H-skor düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığını göstermektedir ($p = 0,416$).

Servikal stromal invazyon olmayan hastaların %47,6'sı düşük ekspresör, %52,4'ü yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. ES tutulumu veya stromal invazyon olan hastaların %50'si düşük ekspresör, %50'si yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, servikal stromal invazyon ile H-skor düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığını göstermektedir ($p = 1,000$).

MMR protein ekspresyonu korunmuş olan hastaların %45,5'i düşük ekspresör, %54,5'i yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. İzole MLH1 veya PMS2 kaybı gösteren hastaların %50'si düşük ekspresör, %50'si yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. MLH1 ve PMS2 kaybı olan hastaların %80'i düşük ekspresör, %20'si yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. MLH1, PMS2 ve MSH2 kaybı olan hastaların %0'ı düşük ekspresör, %100'ü yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, MMR protein ekspresyon durumu ile H-skor düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığını göstermektedir (p = 0,381).

Cerb-B2 skor 0 olan hastaların %45'i düşük ekspresör, %55'i yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Cerb-B2 skor 1 olan hastaların %33,3'ü düşük ekspresör, %66,7'si yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Cerb-B2 skor 2 olan hastaların %66,7'si düşük ekspresör, %33,3'ü yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Cerb-B2 skor 3 olan hastaların %25'i düşük ekspresör, %75'i yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, Cerb-B2 skoru ile H-skor düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığını göstermektedir (p = 0,755).

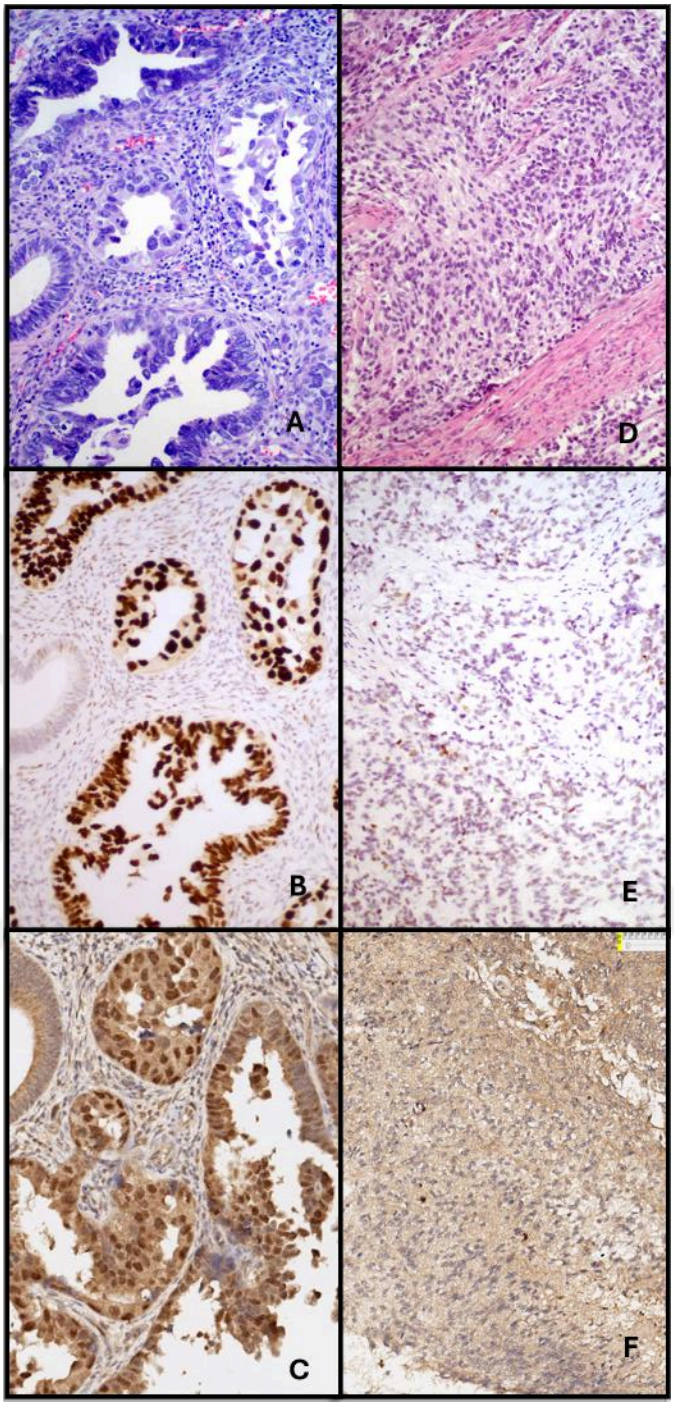
P16 diffüz ekspresyonu olmayan hastaların %44,4'ü düşük ekspresör, %55,6'sı yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. P16 ekspresyonu olan hastaların %50'si düşük ekspresör, %50'si yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, P16 ekspresyonu ile H-skor düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığını göstermektedir (p = 0,776).

Adneksiyal tutulumu olmayan hastaların %42,3'ü düşük ekspresör, %57,7'si yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Adneksiyal tutulumu olan hastaların %72,7'si düşük ekspresör, %27,3'ü yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, adneksiyal tutulum ile H-skor düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığını göstermektedir (p = 0,098).

Lenf nodu metastazı olmayan hastaların %43,6'sı düşük ekspresör, %56,4'ü yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Lenf nodu metastazı olan hastaların %54,2'si düşük ekspresör, %45,8'i yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, lenf nodu metastazı ile H-skor düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığını göstermektedir (p = 0,447).

Paraaortik lenf nodu metastazı olan hastaların %63,6'sı düşük ekspresör, %36,4'ü yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Pelvik lenf nodu metastazı olan hastaların %20'si düşük ekspresör, %80'i yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, lenf nodu metastazı lokasyonu ile H-skor düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığını göstermektedir ($p = 0,282$).

Mutant p53 ekspresyonu olan hastaların %36,1'i düşük ekspresör, %63,9'u yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Wild tip p53 ekspresyonu olan hastaların %63'ü düşük ekspresör, %37'si yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, P53 mutasyonu durumu ile H-skor düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğunu göstermektedir ($p = 0,044$). Buna göre mutant olanların wild olanlara göre daha yüksek ekspresör olduğu görülmektedir.



Resim 9: Seröz karsinom (HE x200), B. Aynı olguda p53 mutant ekspresyon (IHK x200), C. Aynı olguda RAD51 ifadesi skor: 3 (IHK x200), D: Karsinosarkom (HE x200), E. Aynı olguda p53 wild ekspresyon (IHK x200), F. Aynı olguda RAD51 ifadesi skor: 0 (IHK x200)

P53 ve RAD51 ekspresyon durumu	P53 mutant N=36	P53 wild N=27
RAD51 yüksek ekspresyon	N=23	N=10
RAD51 düşük ekspresyon	N=13	N=17

Tablo 6: RAD51 ekspresyon durumuna göre p53 mutasyon dağılımı

Mutant (null) p53 ekspresyonu olan hastaların %50'si düşük ekspresör, %50'si yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Mutant (null) p53 ekspresyonu olmayan hastaların %34,4'ü düşük ekspresör, %65,6'sı yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, mutant (null) p53 durumu ile H-skor düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığını göstermektedir (p = 0,609).

Neoadjuvant tedavi almamış hastaların %47,5'i düşük ekspresör, %52,5'i yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Neoadjuvant tedavi almış hastaların %50'si düşük ekspresör, %50'si yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, neoadjuvant tedavi ile H-skor düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığını göstermektedir (p = 1,000).

Sadece radyoterapi alan hastaların %69,2'si düşük ekspresör, %30,8'i yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Sadece kemoterapi alan hastaların %50'si düşük ekspresör, %50'si yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Hem radyoterapi hem de kemoterapi alan hastaların %41,2'si düşük ekspresör, %58,8'i yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, adjuvant tedavi ile H-skor düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığını göstermektedir (p = 0,324).

İki yıl içinde rekürrens yaşamayan hastaların %42,5'i düşük ekspresör, %57,5'i yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Lokal nüks yaşayan hastaların %50'si düşük ekspresör, %50'si yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Metastaz gelişen hastaların %72,7'si düşük ekspresör, %27,3'ü yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, iki yıl içinde rekürrens ile H-skor düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığını göstermektedir (p = 0,238).

	HSKOR düzey				p
	Düşük ekspresör		Yüksek ekspresör		
	(Alt_üst) Medyan	Ort±ss	(Alt_üst) Medyan	Ort±ss	
ER%	(0_95)30	33,22±31,45	(0_90)40	44,69±35,45	0,193
PR %	(0_90)10	24,61±28,08	(0_90)20	32,31±34,99	0,404
Ki-67	(10_95)62,5	61,5±31,36	(7_90)70	63,25±24,58	0,875
Tümör çapı (cm)	(0,7_18)5,5	6,35±4	(2,3_20)6	6,76±3,8	0,677
Yaş	(52_83)68,5	68,13±8,52	(55_83)67	66,67±6,49	0,443
Tümör yüzdesi	(25_95)80	73,63±20,28	(40_100)80	80,73±14,38	0,112
Toplam tümör hücresi	(2376_22281)10527	10491,4±5775,56	(2271_26103)9590	10764,67±5557,35	0,849

Bağımsız gruplar t testi

Tablo 7: Ölçümlerin, H-SKOR Açısından İncelenmesi

Düşük ekspresörler için ER değerlerinin alt-üst sınırları (0-95), medyanı 30, ortalaması 33,22±31,45 olarak belirlenmiştir. Yüksek ekspresörler için ER değerlerinin alt-üst sınırları (0-90), medyanı 40, ortalaması 44,69±35,45 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, ER değerleri ile HSKOR düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını göstermektedir (p = 0,193).

Düşük ekspresörler için PR değerlerinin alt-üst sınırları (0-90), medyanı 10, ortalaması 24,61±28,08 olarak belirlenmiştir. Yüksek ekspresörler için PR değerlerinin alt-üst sınırları (0-90), medyanı 20, ortalaması 32,31±34,99 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, PR değerleri ile H-SKOR düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını göstermektedir (p = 0,404).

Düşük ekspresörler için Ki-67 değerlerinin alt-üst sınırları (10-95), medyanı 62,5, ortalaması 61,5±31,36 olarak belirlenmiştir. Yüksek ekspresörler için Ki-67 değerlerinin alt-üst sınırları (7-90), medyanı 70, ortalaması 63,25±24,58 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, Ki-67 değerleri ile H-SKOR düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını göstermektedir (p = 0,875).

Düşük ekspresörler için tümör çapı değerlerinin alt-üst sınırları (0,7-18), medyanı 5,5, ortalaması 6,35±4 olarak belirlenmiştir. Yüksek ekspresörler için tümör çapı değerlerinin alt-üst sınırları (2,3-20), medyanı 6, ortalaması 6,76±3,8 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, tümör çapı ile H-SKOR düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını göstermektedir (p = 0,677).

Düşük ekspresörler için yaş değerlerinin alt-üst sınırları (52-83), medyanı 68,5, ortalaması 68,13±8,52 olarak belirlenmiştir. Yüksek ekspresörler için yaş değerlerinin alt-üst sınırları (55-83), medyanı 67, ortalaması 66,67±6,49 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, yaş ile HSKOR düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını göstermektedir (p = 0,443).

Düşük ekspresörler için tümör yüzdesi değerlerinin alt-üst sınırları (25-95), medyanı 80, ortalaması 73,63±20,28 olarak belirlenmiştir. Yüksek ekspresörler için tümör yüzdesi değerlerinin alt-üst sınırları (40-100), medyanı 80, ortalaması 80,73±14,38 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, tümör yüzdesi ile H-skor düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını göstermektedir (p = 0,112).

Düşük ekspresörler için toplam tümör hücresi değerlerinin alt-üst sınırları (2376-22281), medyanı 10527, ortalaması 10491,4±5775,56 olarak belirlenmiştir.

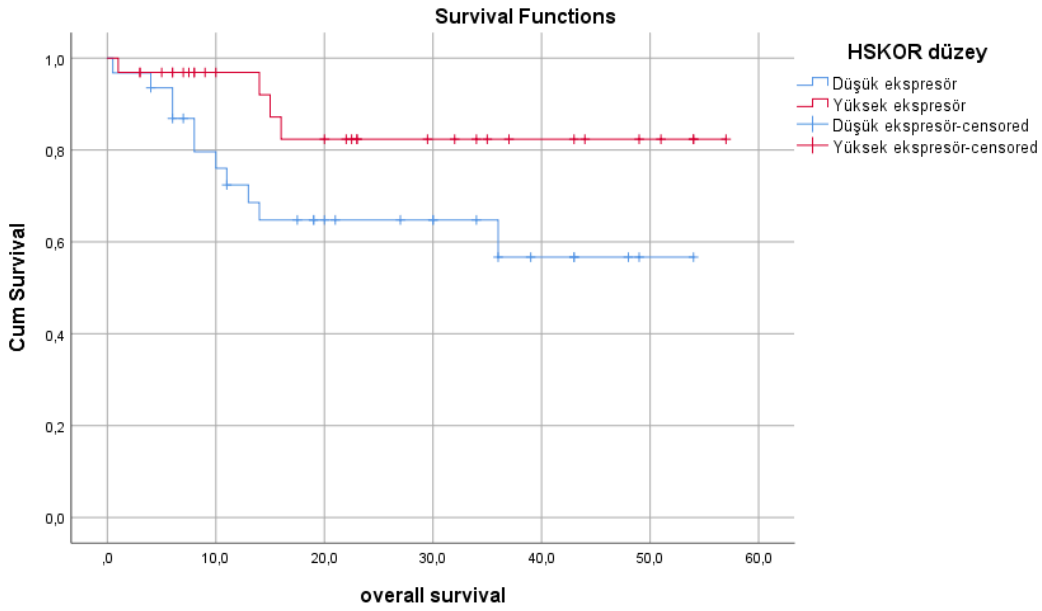
Yüksek ekspresörler için toplam tümör hücresi değerlerinin alt-üst sınırları (2271-26103), medyanı 9590, ortalaması 10764,67±5557,35 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, toplam tümör hücresi ile H-skor düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını göstermektedir (p = 0,849).

H-skor düzey	Estimate	se	95% Confidence Interval		p
			Alt	Üst	
Düşük ekspresör	36,432	4,162	28,274	44,589	
Yüksek ekspresör	49,147	3,591	42,109	56,185	0,062
Overall	43,275	3,012	37,371	49,178	

Kaplan Meier testi

Tablo 8: H-skor Düzeyine Göre Sağkalımın İncelenmesi

Kaplan-Meier sağkalım analizi sonuçlarına göre, düşük ekspresör ve yüksek ekspresör H-skor düzeyine sahip hastalar arasında sağkalım süresi açısından anlamlı bir fark olmadığı görülmektedir. Düşük ekspresör grubunda sağkalım süresi 36,432 ay iken, yüksek ekspresör grubunda bu süre 49,147 ay olarak tahmin edilmiştir.



Şekil 5: H-skor seviyelerine gore genel sağkalım eğrileri

Evre		Chi-Square	df	P
Evre2	Log Rank (Mantel-Cox)	2,359	1	0,125
Evre3	Log Rank (Mantel-Cox)	2,256	1	0,133
Evre4	Log Rank (Mantel-Cox)	0,023	1	0,879

Kaplan Meier testi

Tablo 9: Evre Ayrımında H-skor Düzeyine Göre Sağkalımın İncelenmesi

Evre ayrımında; Evre 2, 3 ve 4 için düşük ekspresör ve yüksek ekspresör HSKOR düzeyine sahip hastalar arasında sağkalım süresi açısından anlamlı bir fark olmadığı görülmektedir (p>0,05). Evre 1 için ise hastalarda rekürens olmadığı için analiz yapılamamıştır.

Evre			H-skor düzey		p
			Düşük ekspresör	Yüksek ekspresör	
			n (%)	n (%)	
Evre1	2 yıl içinde rekürrens	Yok	2(%50)	2(%50)	
		Lokal nüks	0(%0)	0(%0)	
		Metastaz	0(%0)	0(%0)	
Evre2	2 yıl içinde rekürrens	Yok	8(%33,3)	16(%66,7)	0,244
		Lokal nüks	1(%100)	0(%0)	
		Mestastaz	2(%66,7)	1(%33,3)	
Evre3	2 yıl içinde rekürrens	Yok	3(%42,9)	4(%57,1)	0,767
		Lokal nüks	1(%100)	0(%0)	
		Metastaz	4(%66,7)	2(%33,3)	
Evre4	2 yıl içinde rekürrens	Yok	4(%80)	1(%20)	0,167
		Lokal nüks	0(%0)	2(%100)	
		Metastaz	2(%100)	0(%0)	

Ki-kare testi

Tablo 10: Evre Ayrımında H-skor ile 2 Yıl İçinde Rekürrens Durumu Arasındaki ilişkinin İncelenmesi

Evre ayrımında; Evre 2, 3 ve 4 için düşük ekspresör ve yüksek ekspresör H-skor düzeyine sahip hastalar ile 2 yıl içinde rekürrens durumu arasında anlamlı bir ilişki olmadığı görülmektedir (p>0,05). Evre 1 için ise hastalarda rekürens olmadığı için analiz yapılamamıştır.

	Chi-Square	df	p
Log Rank (Mantel-Cox)	0,133	1	0,715

Kaplan Meier testi

Tablo 11: P53 ekspresyonu İçin H-skor Düzeyine Göre Sağkalımın İncelenmesi

P53 mutant ve wild için düşük ekspresör ve yüksek ekspresör H-skor düzeyine sahip hastalar arasında sağkalım süresi açısından anlamlı bir fark olmadığı görülmektedir (p>0,05).

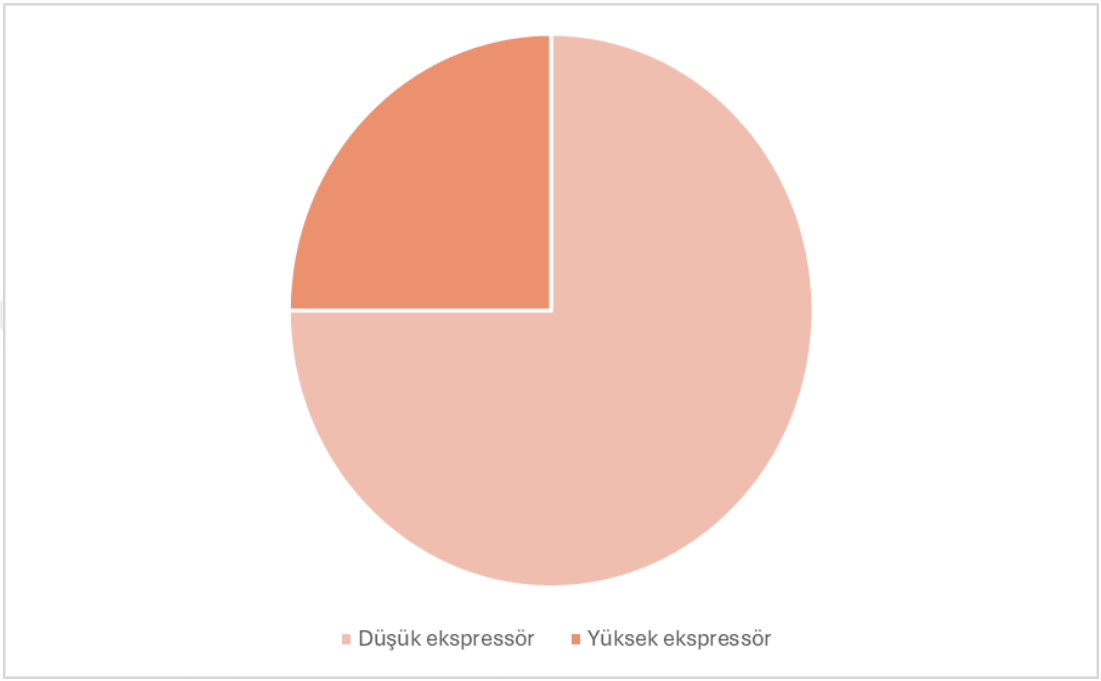
		H-skor düzey		p
		Düşük ekspresör	Yüksek ekspresör	
		n (%)	n (%)	
Tipi	Endometrioid tip Grade 3	9(%75)	3(%25)	0,035
	Diğer histolojik tipler	21(%41,2)	30(%58,8)	
Lenfovasküler invazyon durumu	Yok	13(%52)	12(%48)	0,759
	Var	17(%44,7)	21(%55,3)	
MMR protein ekspresyon durumu	Kayıp	15(%45,5)	18(%54,5)	0,656
	Korunmuş	6(%60)	4(%40)	
2 yıl içinde rekürrens	Yok	17(%42,5)	23(%57,5)	0,196
	Var	10(%66,7)	5(%33,3)	

Ki-kare testi

Tablo 12: H-skor ile Klinik ve Patolojik Özellikler Arasındaki İlişki

4.1. TÜMÖR TIPI ILE H-SKOR DÜZEYI ARASINDAKI İLIŞKI

Endometrioid karsinom, Figo Grade 3 olan hastaların %75'i (n = 9) düşük ekspresör, %25'i (n = 3) yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Diğer tümör tiplerine sahip hastaların %41,2'si (n = 21) düşük ekspresör, %58,8'i (n = 30) yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir.



Şekil 6: Endometrioid karsinomlu hastalarda RAD51 H-skor dağılımı

Ki-kare testi sonuçlarına göre, Endometrioid karsinom, Figo Grade 3 olan hastalar ile diğer histolojik tipte tümörlerin ile H-skor düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmaktadır (p = 0,035).

Bu bulgu, Endometrioid karsinom, Figo Grade 3 olan hastaların H-skor düzeyi açısından diğer tümör tiplerine sahip hastalardan anlamlı derecede farklı olduğunu göstermektedir. Endometrioid tümör tipine sahip hastalar arasında düşük H-skor düzeyi olanların oranı (%75), yüksek H-skor düzeyi olanların oranından (%25) belirgin şekilde daha yüksektir. Buna karşılık, diğer tümör tiplerine sahip hastalar arasında düşük H-skor düzeyi olanların oranı (%41,2), yüksek H-skor düzeyi olanların oranından (%58,8) daha düşüktür.

4.2. LENFOVASKÜLER INVAZYON (LVI) ILE H-SKOR DÜZEYI ARASINDAKI İLIŞKI

LVI olmayan hastaların %52'si (n = 13) düşük ekspresör, %48'i (n = 12) yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. LVI olan hastaların %44,7'si (n = 17) düşük ekspresör, %55,3'ü (n = 21) yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Ki-kare testi sonuçlarına göre, LVI ile H-skor düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır ($p > 0,05$).

4.3. MMR PROTEIN EKSPRESYON DURUMU ILE H-SKOR DÜZEYI ARASINDAKI İLIŞKI:

MMR protein ekspresyonu korunmuş olan hastaların %45,5'i (n = 15) düşük ekspresör, %54,5'i (n = 18) yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. MMR protein ekspresyon kaybı gösteren hastaların %60'ı (n = 6) düşük ekspresör, %40'ı (n = 4) yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Ki-kare testi sonuçlarına göre, MMR protein ekspresyonu ile H-skor düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır ($p > 0,05$).

4.4. İKI YIL İÇINDE REKÜRRENS DURUMU ILE H-SKOR DÜZEYI ARASINDAKI İLIŞKI

İki yıl içinde rekürrens saptanmayan hastaların %42,5'i (n = 17) düşük ekspresör, %57,5'i (n = 23) yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. İki yıl içinde rekürrens saptanan hastaların %66,7'si (n = 10) düşük ekspresör, %33,3'ü (n = 5) yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Ki-kare testi sonuçlarına göre, iki yıl içinde rekürrens durumu ile H-skor düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır ($p > 0,05$).

Yapılan analizlerde ilişki kurulan gruplar arasında verisinde eksik bulunan hastalar söz konusu analize dahil edilmemiştir.

Histolojik tip	p53mutasyon durumu	H-skor
Karsinosarkom	Wild	1.52
Seröz karsinom	Wild	22.17
Seröz karsinom	Mutant	48.49
Seröz karsinom	Wild	73.42
Endometrioid karsinom, derece 3	Mutant (Null)	74.16
Endometrioid karsinom, derece 3	Wild	81.81
Seröz karsinom	Mutant (Null)	99.03
Karsinosarkom	Mutant (sitoplazmik)	99.95
Mikst karsinom (Seröz+berrak hücreli)	Wild	100.62
Yüksek dereceli endometrial karsinom	Wild	100.63
Endometrioid karsinom, derece 3	Wild	101.12
Karsinosarkom	Mutant	103.24
Seröz karsinom	Mutant	105.54
Berrak hücreli karsinom	Wild	105.59
Endometrioid karsinom, derece 3	Wild	106.01
Endometrioid karsinom, derece 3	Wild	107.21
Endometrioid karsinom, derece 3	Mutant	110.81
Endometrioid karsinom, derece 3	Wild	110.88
Endometrioid karsinom, derece 3	Wild	115.88
Berrak hücreli karsinom	Mutant	117.16
Karsinosarkom	Wild	117.42
Karsinosarkom	Wild	120.88
Seröz karsinom	Mutant	121.26
Seröz karsinom	Mutant	122.09
Endometrioid karsinom, derece 3	Wild	122.81
Seröz karsinom	Mutant	126.94
Karsinosarkom	Wild	128.4
Karsinosarkom	Mutant	128.68
Karsinosarkom	Wild	130.86
Seröz karsinom	Mutant	132.3
Dediferansiye karsinom	Mutant	133.42
Seröz karsinom	Mutant (Null)	135.96
Karsinosarkom	Wild	139.13
Karsinosarkom	Mutant	139.3
Karsinosarkom	Mutant	143.71
Karsinosarkom	Wild	144.8
Seröz karsinom	Mutant	146.7
Mikst karsinom (Seröz+ Endometrioid)	Mutant	148.74
Seröz karsinom	Mutant	150.9
Endometrioid karsinom, derece 3	Wild	154.21
Yüksek dereceli endometrial karsinom	Mutant	163.6

Dediferansiye karsinom	Wild	163.82
Seröz karsinom	Mutant	166.11
Karsinosarkom	Mutant (Null)	168.63
Karsinosarkom	Mutant	175.05
Seröz karsinom	Mutant	176.6
Karsinosarkom	Wild	179.38
dediferansiye	Wild	180.16
Karsinosarkom	Wild	182.86
Endometrioid karsinom, derece 3	Mutant	186.11
Karsinosarkom	Mutant	186.74
Seröz karsinom	Mutant	189.19
Berrak hücreli karsinom	Wild	189.42
Karsinosarkom	Wild	192.88
Seröz karsinom	Mutant	194.7
Seröz karsinom	Mutant	196.44
Karsinosarkom	Mutant	196.85
Mikstkarsinom(Seröz+ endometrioid)	Mutant	216.64
Seröz karsinom	Mutant	224.04
Endometrioid karsinom, derece 3	Mutant	242.3
Dediferansiye karsinom	Wild	247.4
Karsinosarkom	Mutant	250.06
Seröz karsinom	Mutant	251.42

Tablo 13: Olguların histolojik tipi ve p53 mutasyon durumunun, RAD51 H-skor sıralamasına göre dağılımı

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda 20 adet karsinosarkom, 19 adet seröz karsinom, 12 adet endometrioid karsinom, 3 adet berrak hücreli karsinom, 4 adet dediferansiye karsinom, 3 adet mikst karsinom ve 2 adet yüksek dereceli endometrial karsinom tanısı almış toplam 63 adet yüksek dereceli endometrial karsinomda immünhistokimyasal yöntemle Rad51 ve p53 ekspresyonu araştırılmış; klinikopatolojik parametrelerle ilişkisi incelenmiştir. Endometrial karsinomlar dünya genelinde kadınlarda 6.sıklıkta olan tümörler olup, dünyada kadınlarda kanser ilişkili ölümlerde 14.sırada yer almaktadır. Yüksek dereceli endometrium karsinomları endometrial kanserler arasında %15-20 oranında görülürken, endometrium karsinomlarına bağlı ölümlerin %74 oranında neden olduğunu bildiren geniş kohort çalışmaları bulunmaktadır(47,48). Cerrahi tedavi ilk aşamada verilmekle birlikte adjuvan kemo-radyoterapi kararı, klinikopatolojik parametrelere göre yapılan risk sınıflandırılmasına göre verilmektedir. Kemoterapötik faydayı öngörebilecek biyobelirteçlerle ilgili çalışmalar endometrial kanserlerde sınırlıdır.

RAD51 nükleazları, helikazları, DNA translokazları ve sinyal proteinlerini regüle edebilen DNA bağlayıcı proteindir. RAD51 rekombinaz ise DNA çift zincir kırıklarının tamir mekanizmasında önemli rol alan homolog rekombinasyonda kritik bir yardımcıdır. HR eksikliğinde RAD51 gen ifadesi değerlendirmesi, HR hatası olan tümörleri saptamada son dönemlerde önemli faktör olarak gündeme gelmiştir. Homolog rekombinasyon eksikliği bulunan tümörlerin platin bazlı kemoterapötiklere ve PARP inhibitörlerine duyarlı olduğunu bildiren yayınlar mevcuttur (49).

Tek sarmallı bir kırılma veya replikasyon çatalının çökmesine neden olan başka bir onarılmamış lezyon nedeniyle DNA replikasyonu durdurulduğunda HR mekanizması kullanılır. Rad51 DNA iplik değişimi aktivitesini etkilemeden çökmüş çatalların yeniden başlatılmasını sağlar. Bununla birlikte replikasyon çatallarının büyümesini sınırlamak için remodelling meydana getirme ve çatal koruması sağlar. DNA'da replikasyon esnasında hasar meydana geldiğinde, onarım sağlanmadan duplikasyonun tamamlanmasıyla ilgili tolerans mekanizmalarının olduğu da bilinmektedir. Bu sebeple Rad51'in oluşan replikasyon boşluklarının onarımında rol aldığı da bilinmektedir(29). Jonge ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada(50)

endometriyal kanserlerin kopya sayısı yüksek/p53 mutant alt sınıfında homolog rekombinasyon eksikliği sıklıkla gözlenmiş, küçük ve seçilmiş bir vaka grubunda, TP53 mutant endometriyal kanserlerin %46'sının fonksiyonel RAD51 değerlendirmesi ile homolog rekombinasyon eksikliği olduğu bildirilmiştir.

Genotoksik stress sonrası, p53 proteini hücre döngüsü kontrol noktasını ve apoptozu kontrol eden bir dizi geni transaktive eder. P53 wild ifadesi RAD51 mRNA ve protein seviyelerinde düşme meydana getirmesi DNA çift zincir kırıklarını spesifik indükleyen ajanlar ile yapılan çalışmalarda bildirilmiştir(35). Bu baskılanmanın HR'nin erken aşamasında iplik değişiminin engellenmesi veya tersine çevrilmesi, geç aşamalarında HR ara ürünlerinin tanınarak tersine çevrilmesi ile meydana gelmiş olabileceği önerilmektedir(51).

Çalışmamızda hastanemizdeki yüksek dereceli endometrial karsinomlarda HR tamirinde rol alan RAD51 ekspresyonu ve p53 mutasyon durumunu immünohistokimyasal yöntemle saptamak ve bunların birbirleriyle ilişkisini araştırmak, elde edilen sonuçları klinikopatolojik parametrelerle karşılaştırmak hedeflenmiştir. RAD51 proteini DNA tamir mekanizmasında etkili önemli bir biyobelirteçtir ve uluslararası çalışmalarda DNA tamir mekanizmaları yoğun ilgi çeken, güncel tartışılan bir konudur. Çalışma konumuz homolog rekombinasyon gösteren tedavi imkanı ve cevabı kısıtlı olan yüksek dereceli endometrial tümörlerde tedavi çerçevesini geliştirmeye katkı sağlayabilir. Literatürde homolog rekombinasyon eksikliği çeşitli yöntemlerle bildirilmiş olup, immünhistokimyasal olarak çalışılan RAD51 protein ekspresyonu değerlendirilmesi ile daha uygun maliyetli ve kullanışlı bir yaklaşım ortaya koymaktadır. Kanser gelişiminde ve ilerlemesinde RAD51 rolünün aydınlatılması, hedefe yönelik tedavilerde biyobelirteç olarak rolünün anlaşılması ileri evredeki endometrial kanser hastaları için yeni tedavi yaklaşımları geliştirebilmesi açısından umut vaat etmektedir.

Çalışmamızda P53 mutant olan tümörlerin H-skor düzeyi, p53 wild olanlara göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır ($p = 0,044$). Literatürde endometrial karsinomlarda p53 ve RAD51 immünhistokimyasal ekspresyonunu karşılaştıran yayın bulunmamaktadır. Hücre döngüsü ilerlemesini düzenleyen bir gen olarak muREC2/RAD51L1 genin işlevini araştırmak için yapılan çalışmada(43) heterozigot muREC2/RAD51L1 gen mutasyonuna sahip fareler normal ve doğurgan görünse de,

melezlemelerinden sonra homozigot yavruların doğmadığı belirlenmiştir. Homozigot mutant embriyolarınsa erken bir dönem olan 5. gün civarında büyümelerinin ciddi şekilde gerilediği ve 8.5. güne kadar tamamen rezorbe olduğunu gösterilmiştir. Yaşam ile bağdaşmayan homozigot mutant muREC2/RAD51L1 fenotipinde wild tip p53 mutasyonu gelişim sağlamak için yetersiz kalırken, her iki mutasyon da heterozigot olduğunda fare embriyosunda önemli ölçüde ileri proliferasyon ve gelişim saptanmıştır. Bu sonuçlar, muREC2/RAD51L1 geninin hücre proliferasyonunda ve erken embriyonik gelişimde, muhtemelen p53 ile etkileşim yoluyla, rol oynadığını ortaya koymaktadır. Arias Lopez C. ve arkadaşları, tet-off-indüklenebilir hücre hattı oluşturarak wild tip p53'ün Rad51 promotöründeki bir p53 yanıt elementine in vivo olarak bağlandığını ve RAD51 mRNA ve proteininin wild tip p53 tarafından DNA hasarı ile desteklenen downregülasyonu gösterilmiştir. Wild tip p53 çift sarmal kırılmalarına yanıt olarak RAD51 odak oluşumunu engellerken, p53 temas mutantı R280K RAD51 mRNA ve protein ifadesini ve RAD51 odak oluşumunu baskılayamaz. RAD51'in p53 tarafından transkripsiyonel baskılanmasının homolog rekombinasyonun düzenlenmesine katıldığını ve p53 mutantları tarafından bozulmuş RAD51 baskılanmasının malign transformasyona katkıda bulunabileceği önerilmektedir(42). TP53 mutasyonlu endometrial tümörlerin tipik olarak genomik kararsız olduğu da düşünülürse, elde ettiğimiz bu sonuç literatür ile uyumludur. Son olarak p53 mutant grubun farklı moleküler özellikler sergilediğini gösteren başka çalışmada ise(52), p53 mutant olan endometrial tümörlü hastalardan oluşturulmuş 187 hastada tüm genom sekanslama yöntemi ile homolog rekombinasyon ilişki genlerden ATM, BRCA1, BRCA2, RAD50, ATRX ve FANCD2 çalışılmıştır. Bu genlerin her birinden değişken oranlarda olmakla birlikte toplam 39 (%21) hastada mutasyon saptanmıştır.

Artmış HR sıklığı, heterozigosite kaybı yaratarak karsinogenez için birincil adım olarak hareket edebilecek anormal genomik yeniden düzenlemelere neden olabilir(33). Literatürde SIM2s'nin bloke edilmesi, RAD51 alımının bozulması yoluyla HRR etkinliğini azaldığını, bu da genomik instabilite ve EMT indüksiyonu ile sonuçlandığı bildirilmiştir (34,36). Çalışmamızda RAD51 ekspresyonu, karsinosarkomlarda diğer histolojik tiplere göre anlamlı farklılık saptanmamıştır. Ancak karsinosarkomlarda H-skor hesaplaması için, epitelyal ve mezenkimal

komponenti içeren, karsinosarkomu en iyi temsil edebilecek alanlar seçilmiştir. Mezenkimal komponentten hazırlanacak örneklerle yapılacak çalışmada karsinosarkom ve RAD51 ekspresyon ilişkisi anlamlılık kazanabilir.

Çalışmamızda yüksek dereceli endometrial karsinom olgularında klinikopatolojik parametrelerden yaş, tümör boyutu, myometriyum invazyonu, lenfovasküler invazyon, servikal stromal tutulum, MMR protein ekspresyon durumu, Cerb-B2 skoru, p16 ekspresyonu, adneksiyal tutulum, lenf nodu metastazı, adjuvant tedavi, 2 yıl içerisinde rekürrens, FİGO evresi ve genel sağkalım ile RAD51 ekspresyonu arasında düşük ve yüksek ekspresyon ayrımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Dinoi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, endometriumda seröz ve mikst seröz karsinom tanısı almış 93 hastanın tümör kesitlerine BRCA1, CHK1, RAD51 ve birçok antikor immünhistokimyasal olarak boyanmıştır. Seröz karsinomlarda CHK1'in yüksek yapısal seviyelerinin, kalıcı hücre döngüsü durması ve hücre ölümünün indüklenmesi yoluyla hastalık gelişiminde koruyucu bir rol oynadığı fikri savunulmuştur. CHK1 ile sitoplazmik yaygın ekspresyon izlenirken, RAD51 ve BRCA1 ile az sayıda hücrede boyanma elde edilmiş, progresyon ve ölüm riski ile ilişkisi saptanmamıştır. RAD51'in klonu ile ilgili bilgi verilmemiştir(53). Diğer organlarda yapılan çalışmalardan birinde(54) lokal ileri, rezektable lokal ileri, rezektable özofagus skuamöz hücreli karsinomda preop terapi standart stratejileri ile preop tedaviden fayda görecek hasta grubunu belirlemede kullanılabilecek biomarkerlardan TP53, CDKN1A (p21, waf1), RAD51, MutT-homolog 1 (MTH1) ve PD-L1 immünhistokimyasal yöntemle araştırmışlardır. Çalışmanın sonuçlarında, preop tedavi yanıtının TP53, CDKN1A, MTH1, ve PD-L1 ekspresyonu ile ilişkisi bulunmamıştır. Ancak patolojik olarak iyi yanıt alınan olgularda preop bakılan RAD51 ekspresyonu, daha kötü yanıt alınan olgulara göre daha düşük olarak bulunmuştur. Preop kemoradyoterapi alan hastalarda RAD51 ekspresyonu pozitif olanlar negatif olanlara göre belirgin kötü sağkalıma sahip olduğu görülmüştür. Mullane ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (55) birinci basamak platin kombinasyon kemoterapisi ile tedavi edilen klinik olarak açıklanmış 104 metastatik ürotelyal karsinom hastasında DNA onarım proteinlerinden analizi ERCC1, RAD51, BRCA1/2, PAR ve PARP-1'in immünhistokimyasal analizi yapılmıştır. Nükleer

boyanma sağkalım analizi için kullanılmıştır. Yüksek kombine ERCC1 ve RAD51 nükleer boyanması daha kötü genel sağkalım ile ilişkili bulunmuştur.

*Kim ve arkadaşları, 36 adet yüksek dereceli ovarian seröz karsinom tanısı almış hastada kemoterapi öncesi ve sonrası RAD51/geminin/γH2AX immünhistokimyasal ekspresyonunu araştırmıştır. RAD51 H-skoru cut off değeri 20 olarak alınmış ve sadece nükleer ekspresyon değerlendirilmiştir. Çalışmada kemoterapi tedavisi öncesi tümör örneklerinden RAD51-yüksek grup (%41,0, 16/39), RAD51-düşük gruba (%51,3, 20/39) kıyasla anlamlı derecede daha kötü progresyonsuz sağkalım göstermiştir (p=0,032). Kemoterapi sonrası tümörlerde (n=50), RAD51-yüksek grubu (%36,0, 18/50) RAD51-düşük grubuna (%64,0, 32/50) kıyasla daha kötü progresyonsuz sağkalım (p=0,013) göstermiş ve daha kötü genel sağkalım (p=0,067) sunma eğiliminde olmuştur (52).

Alshareeda ve arkadaşları meme kanserinin patogenezinde önemli yer tutan RAD51 proteinini, neoadjuvant kemoradyoterapi alan veya almayan 1184 meme kanser hastasında immünohistokimyasal olarak çalışmışlardır. Aynı zamanda RAD51 protein ekspresyon seviyesi hücre kültürlerinde western-blot yöntemi ile ölçülmüştür. Sitoplazmik boyanma ve nükleer kayıp, agresif davranış, büyük tümör boyutu, yüksek grade, lenf nodu metastazı, bazal-like ve triple negate fenotip ve BRCA1 dahil çift zincir DNA kırık tamir biomarkerlarının aberran ekspresyonu ile ilişkili bulunmuştur. Tüm germline BRCA1 mutasyonu gösteren tümörlerde RAD51 sitoplazmik boyanma göstermektedir. Western-blot yöntemi de hücre gruplarında ER ve BRCA1 durumu ile değişken ekspresyon göstermiştir. RAD51'in sitoplazmik ekspresyonu agresif davranışla pozitif ilişkiliyken, nükleer ekspresyonla ters korelasyon gözlenmiştir. RAD51 sitoplazmik pozitif, nükleer negatif ekspresyonu, DNA hasar tamir proteinlerinden BRCA1, cH2AX, CHK1 ve MTA1 aynı fenotipte boyanmasıyla korelasyon izlenmiştir. RAD51 nükleer kaybının DNA hasar tamir yolaklarından NHEJ rol alan diğer markerların (KU70/KU80) overekspresyon meydana geldiği saptanmıştır. Buna ek olarak hücre siklüsü regulator markerlarından p53 ve p27 ile RAD51'in yüksek ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu çalışmaya göre tümör hücrelerinde nükleer boyanma metastatik meme calarda fazla izlenirken, sitoplazmik boyanma da uzak metastaz riskinde de artışı göstermiştir. Aynı zamanda nükleer boyanma, kemoterapi cevabı ile ters orantılı olarak bulunmuştur. Hatalı tamir mekanızmasını

bildiren BRCA1/2 germline mutasyonu olduğu bilinen hastalarda sitoplazmik RAD51 ekspresyonu gözlenmiştir. Bu da düşük meme kanser spesifik survival ile ilişkili bulunmuştur.

Çalışmamızda düşük ekspresör grubunda ortalama sağkalım süresi 36,432 ay, yüksek ekspresör grubunda ise 49,147 ay olarak belirlenmiştir. Bu bulgular, RAD51 ekspresyonunun sağkalım üzerindeki etkisinin daha karmaşık etkenlere bağlı olabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, iki grup arasında gözlemlenen sağkalım süresi farklılığı dikkate değerdir ve mevcut bulgular, RAD51'in potansiyel bir biyomarker olarak rolü hakkında daha fazla araştırma yapılması gerektiğini göstermektedir. Mevcut hasta grubunun boyutunun sınırlı olması ve kullanılan immünhistokimyasal yöntemin doğrulama aşamasında olabilecek potansiyel sınırlamaları, bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç ortaya koymamasında etkili olabilir.

Daha geniş bir hasta populasyonu üzerinde yapılacak olan çalışmalar ve immünhistokimyasal yöntemi destekleyen alternatif moleküler yöntemlerin kullanılması, RAD51 ekspresyonunun sağkalım süresi üzerindeki gerçek etkisini netleştirebilir. Ayrıca takip süremizin kısa olması sağ kalım ile ilişkili sonucun literatür ile uyumlu olmamasına önemli neden olarak düşünülmüştür. Genel olarak bu çelişkili sonuçların sebebi neoadjuvant alma durumu ve hasta sayısının bazı çalışmalarda az olması ile de açıklanabilir.

Sarwar R ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada(56), RAD51 geninin tiroid kanseri hastalarında mRNA ve protein seviyelerini ölçme amacıyla RAD51 ve Ki67 ekspresyonunun tiroid kanserinde anlamlı bir şekilde arttığını gösterilmiştir. Ayrıca, yüksek RAD51 ve Ki67 ekspresyonunun ileri evre, kötü doku farklılaşması, büyük tümör boyutu, lenf nodu metastazı ve uzak metastaz ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Bizim çalışmamızda Ki-67 proliferasyon indeksi değerlendirilen hasta sayısının azlığı, böyle bir karşılaştırma yapmaya imkan tanımamaktadır.

Çalışmamızda endometrioid tipte endometrial karsinom 12 adet (%19) mevcuttur. Endometrioid tümör tipine sahip hastaların %75'i (n = 9) düşük ekspresör, %25'i (n = 3) yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Diğer tümör tiplerine sahip hastaların %41,2'si (n = 21) düşük ekspresör, %58,8'i (n = 30) yüksek ekspresör olarak belirlenmiştir. Ki-kare testi sonuçlarına göre, endometrioid tipte hastalar ile diğer

histolojik tipler bir grup olarak ayrı ele alındığında H-skor ekspresyonu bu grupta istatistiksel olarak anlamlı düşük saptanmıştır (p= 0,035). Bu açıdan çalışmamız endometrial kanserlerde endometrioid tip endometrial karsinomların diğer histolojik tipe sahip endometrial karsinomlara göre RAD51 immünhistokimyasal ifadesini karşılaştıran ilk çalışmadır. Ashley ve arkadaşları primer endometrioid ve seröz karsinomlardan (n = 232) ve uterin karsinosarkomlardan (n = 57) ve eşleştirilmiş primer ve metastatik endometrial karsinomlardan (n = 61, 26 hasta) tüm-ekzom dizileme ile analiz edip, klinikopatolojik ve genomik verilerle korele etmişlerdir. Dokuz kopya sayısı yüksek (seröz benzeri) kanser (%15), kusurlu HR ile ilişkili baskın mutasyonel imzaya sahip olup, endometrioid (n=3) ve seröz (n=6) histolojik alt tiplerinden oluşmaktadır. Bununla birlikte, kusurlu homolog rekombinasyon DNA onarımı (HRD) ile ilişkili mutasyonel imza, HR eksikliğinin genomik özelliklerine göre hesapladıkları skorun yüksekliği ve bi-alelik BRCA1 değişiklikleri, HRD ile tutarlı özellikler ve bu tür DNA onarım kusurlarını hedefleyen tedavilerden potansiyel fayda sağlayabilecek üç EEK tanımlanmıştır. Çalışmamızdaki 12 EEK'nun hepsinde Rad51 H-skorun anlamlı düşük saptanması bu grupta HR eksikliğine sekonder bir kayıp olabilir. Buna paradoksal sonuçları olan Jonge ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise HR eksikliği gösteren tümörlerin hepsi non-endometrioid histolojide olduğu belirlenmiştir. Söz konusu çalışma 25 EK'dan elde edilen taze dokular DNA çift zincir kırıklarını indüklemek için iyonize ışına maruz bırakılmıştır. Işınlama ve inkübasyondan sonra tümör örnekleri, RAD51, Geminin ve EdU için boyanmış ardından Geminin/RAD51 skorlaması yapılmıştır. Buna göre 25 hastadan 6'sında HR eksikliği saptanmıştır. Bu hastaların tamamı nonendometrioid histolojik tipte olup, HR eksikliği nonendometrioid histoloji ile istatistiksel anlamlı ilişkide bulunmuştur. Bizim çalışmamızda bu gruptan farklı olarak endometrioid histolojideki hastaların tamamı neoadjuvan tedavi almamıştır.

Çalışmamızda endometrioid karsinom, FIGO derece 3 tümörlerde RAD51 düşük ekspresör oranının anlamlı yüksekliği, bu hasta grubunda adjuvant tedavilerin daha başarılı olma olasılığını gündeme getirmektedir. Dolayısıyla daha geniş hasta grubunda, daha uzun takip sonrasında progresyonsuz sağ kalım ve genel sağ kalımın diğer histolojik tiplerle karşılaştırılaştıran ileri çalışmalar literature daha çok katkı sağlayabilir.

Auguste ve arkadaşları, yüksek riskli endometrial karsinomlarında DNA tamir cevabı biyomarkerları ile ileri risk sınıflandırılması yapabilirliğini araştırmıştır. “Spesifik molekuler prolifi olmayan” ve “TP53 mutant grup” taki, endometrioid, seröz ve şeffaf hücreli 102 tümör araştırmaya dahil edilmiştir. RAD51 yanı sıra NHEJ mekanizmasında regulator olan DNA-pk ve FANCD2 antikorları immünhistokimyasal olarak TMA kesitlerine uygulanmıştır. RAD51 H-skor <10 olanlar negatif kabul edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen tümörlerin %27’sinde komplet nükleer RAD51 kaybı saptanmıştır. Literatürde RAD51 genellikle DNA hasarı meydana getiren tedaviler sonrasında değerlendirilirken, bu çalışmada çoğu RAD51 null tümörün aynı zamanda saptanabilir endojen DNA hasarı (δ-H2AX+) göstermesi, bu hücrelerin çift zincir DNA kırıkları karşısında HR gerçekleştiremediği düşünülmüştür. "Spesifik moleküler profili olmayan" alt kümesi arasında, δ-H2AX+, kötü hastalıksız sağkalım için önemli ölçüde öngörücü olduğu saptanmış. Çalışmada "TP53 mutasyonu" arasında, DNA-pk+/FANCD2- profili (hataya eğilimli Non-Homologous End-Joining) en kötü hastalıksız sağkalımı öngörmüştür (Hazard Ratio = 4.95; p = 0. 009) DNA hasarı olmayan spesifik moleküler profili olmayan" grupta PI3K yolağı mutasyonları ve ER pozitifliği saptanmıştır. En kötü prognoza sahip "TP53 mutasyonlu/Non-Homologous End-Joining pozitif" grupta ise yüksek DNA hasarı ve PARP-1 ekspresyonu bulunmuştur. RAD51 ekspresyon kaybında artmış hastalıksız sağkalım saptanırken (Hazard Ratio = 0.18; p = 0.024), genel sağkalım ile RAD51 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır(3). Çalışmamızda kanıtlanabilir DNA hasarı zemininde RAD51 değerlendirmesi, laboratuarımızda saptanabilir DNA endojen hasarı göstergesi δ-H2AX+ ve immünfloresan yöntemle geminin eksikliği, hücre siklusünün sadece M fazındaki hücrelergibi) de değerlendirme yapabilme konusunda kısıtlılık mevcuttur. Dolayısıyla uygulanan immünohistokimyasal yöntemin direk gen mutasyonu varlığını ortaya koymada yetersiz kalması bu konuda bir kıyaslama yapmayı zorlaştırmaktadır. HR ilişkili diğer genlerin ekspresyonları ile (ATM, BRCA 1, BRCA2, ATRX, FANCD1) değerlendirme ve karşılaştırma yapılamaması da, çalışmamızın kısıtlayıcı yönlerinden biridir.

Çalışmamızda immünohistokimyasal olarak RAD51 geninin ürünü olan protein ekspresyon düzeylerindeki artma veya azalma incelenmiştir. Protein ekspresyon düzeyleri ailesel olgularda izlenen germline mutasyonlar sonucunda artış

gösterebileceği gibi daha sık olarak somatik mutasyonlarda ve RAD51 genin etkileşime girdiği diğer genlerdeki bozukluklar sonucunda da artış gösterebilir. DNA tamir mekanizması genlerine ilişkin daha kapsamlı değerlendirme ve daha çok hasta sayısı içeren çalışma grubu endometrial karsinomların genomik manzarasının daha iyi tanınmasına ve ileri tedavilerin geliştirilmesine daha çok katkı sağlayacaktır.

6. SONUÇ

- Çalışmamızda kendi merkezimizde yüksek dereceli endometrial karsinom olgularında RAD51 ekspresyonu ve p53 mutasyon durumunu değerlendirmek, bu belirteçleri hem birbiriyle hem de klinikopatolojik parametrelerle karşılaştırmak hedeflendi.
- 20 adet karsinosarkom, 19 adet seröz karsinom, 12 adet endometrioid karsinom, 3 adet berrak hücreli karsinom, 4 adet dediferansiye karsinom, 3 adet mikst karsinom ve 2 adet yüksek dereceli endometrial karsinom tanısı almış toplam 63 TAH+BSO spesmeninden elde edilen örneklerde immünhistokimyasal yöntemle RAD51 ve p53 antikorları çalışıldı; bu belirteçlerin birbiriyle ve klinikopatolojik parametrelerle ilişkisi incelendi.
- Çalışmamızda yüksek dereceli endometrial karsinom olgularında klinikopatolojik parametrelerden yaş, tümör boyutu, myometriyum invazyonu, lenfovasküler invazyon, servikal stromal tutulum, MMR protein ekspresyon durumu, Cerb-B2 skoru, p16 ekspresyonu, adneksiyal tutulum, lenf nodu metastazı, adjuvant tedavi, 2 yıl içerisinde rekürrens, FİGO evresi ve genel sağkalım ile RAD51 ekspresyonu arasında düşük ve yüksek ekspresyon ayrımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p>0,05$).
- Histolojik alt tipler incelendiğinde endometrioid karsinom, Figo derece 3 olan hastaların RAD51 H-skorları, ile diğer histolojik tipte tümörlerin ile H-skorlarına göre anlamlı olarak düşük saptandı ($p<0,05$).
- P53 mutant olan tümörlerin, wild olanlara göre daha yüksek H-skora sahip olduğu bulundu ($p<0,05$).
- Hipotez testleriyle düşük-yüksek ekspresyon ayrımı için belirlenen fonksiyonel RAD51 H-skor eşik değeri idi. Buna göre p53 mutant endometrial karsinomlar, yüksek RAD51 ekspresyonu ile ilişkili bulundu ($p<0,05$).
- P53 mutant tümörler arasında, null tip ekspresyon ile, diğer mutant ekspresyon tipleri ile karşılaştırıldığında RAD51 H-skorları arasında fark saptanmadı ($p>0,05$).
- Yüksek dereceli endometrial tümörlü hastaların genel sağkalımı ile RAD51 ekspresyon seviyeleri arasında anlamlı ilişki saptanmadı.
- Çalışmamızda elde edilen sonuçların literatür ile farklı olması, hasta sayısının düşük olması, antikorların immünhistokimyasal yöntemle uygulanmasındaki olası teknik farklılıklar ve hasta takip sürelerinin kısa olması ile açıklamak uygun olabilir.

- TMA yönteminin avantajı, çok sayıda vakayı, az sayıda blokta değerlendirebilmektir. Bu durum çalışmamızda hem değerlendirmeyi kolaylaştırmış hem de zaman, kullanılan malzeme ve immünhistokimyasal antikor açısından tasarruf sağlamıştır.
- Endometrioid karsinom, FIGO derece 3 tümörlerinde elde edilen immünhistokimyasal sonuçlar, HR eksikliği için gen değerlendirmesi yapılmasına elverişli olabilir ve immünhistokimyasal yöntem HR eksikliğine yönelik yapılabilecek gen analizinden önce, için daha ekonomik ve kolay bir ön tarama testi olarak gündeme gelmektedir.
- Endometrioid karsinom, FIGO derece 3 tümörler ve diğer tümör tiplerinin RAD51 ekspresyonları ve daha uzun vadede progresyonsuz sağ kalım ve genel sağ kalımlarının takibi ve değerlendirmesinin yapılması bu çalışmanın sonraki aşaması olarak düşünülmektedir.
- Yüksek dereceli endometrial tümörlerde risk sınıflandırmasına göre ileri tedaviler belirlenmiş olsa da olası moleküler ve biyolojik davranış farklılıkları nedeniyle aynı kategoride ele alınan tümörler tedavilere tamamen aynı yanıt vermemekte, mevcut prognostik belirteçler tümör davranışını tahmin etmek ve optimal tedaviyi sağlamak için her zaman yeterli olmamaktadır. Kemoterapötik ajanlara dirençli yüksek dereceli hastalarda RAD51 ekspresyonun değerlendirilmesi, HR yetersizliği hedef alacak tedavilerden fayda görecek hasta grubunu seçmede yardımcı olması açısından umut vadedebilir.
- Bu çalışma, Türkiye popülasyonuna ait yüksek dereceli endometrial karsinomlarda, doku mikroarray yöntemi ile RAD51 ve p53 biyobelirteçlerin immünhistokimyasal olarak araştırıldığı ilk çalışma olması açısından önem taşımaktadır.

7. KAYNAKÇA

1. Ferlaj J., Ervik M., Lam F., Laversanne M., Colombet M., Pineros M, et al. International Agency for Research on Cancer. 2024. Global Cancer Observatory: Cancer Today (version 1.1).

2. WHO Classification of Tumours Editorial Board. Female genital tumours. 5th ed. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2020.

3. Auguste A, Genestie C, De Bruyn M, Adam J, Le Formal A, Drusch F, et al. Refinement of high-risk endometrial cancer classification using DNA damage response biomarkers: a TransPORTEC initiative. Modern Pathology. 2018 Dec 1;31(12):1851–61.

4. Sophie A, Van Den Heerik VM, Horeweg N, De Boer SM, Bosse T, Creutzberg CL. Adjuvant therapy for endometrial cancer in the era of molecular classification: radiotherapy, chemoradiation and novel targets for therapy. Int J Gynecol Cancer. 2021;31:594–604.

5. Richard L. Drake, A. Wayne Vogl, Adam W.M. Mitchell MBBS F. Gray's Basic Anatomy. 3rd ed. Philadelphia: Jeremy Bowes; 2023.

6. Hansen J. Netter's Clinical Anatomy. 5th ed. Philadelphia; 2022.

7. Dudás B. Human Histology: A Text and Atlas for Physicians and Scientists. 2023.

8. Murdock AT, Veras EFT, Kurman RJ, Mazur MT. Diagnosis of Endometrial Biopsies and Curettings. 3rd ed. Switzerland; 2019.

9. Molecular Surgical Pathology. 2nd ed. Switzerland: Springer Cham; 2023.

10. Brinton LA, Felix AS. Menopausal hormone therapy and risk of endometrial cancer. J Steroid Biochem Mol Biology.

11. McCluggage WG, Abdulkader M, Price JH, Kelehan P. Uterine carcinosarcomas in patients receiving tamoxifen. A report of 19 cases. Int J Gynecol Cancer . 2020;

12. Varela-Duran J, Nochomovitz LE, Prem KA, Dehner LP. Postirradiation mixed müllerian tumors of the uterus: a comparative clinicopathologic study. Cancer. 1980;

13. Bokhman J V. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. Gynecol Oncology. 1983;

14. Hoang NL, McConechy KM, Köbel M, Han G, Rouzbahman M, Davidson B, et al. Histotype-genotype correlation in 36 high-grade endometrial carcinomas. Am J Surg Pathol. 2013;37(9).

15. Barlin JN, Soslow RA, Lutz M, Zhou QC, St. Clair CM, Leitao MM, et al. Redefining stage I endometrial cancer: incorporating histology, a binary grading system, myometrial invasion, and lymph node assessment. Int J Gynecol Cancer [Internet]. 2013 [cited 2024 May 23];23(9):1620–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24126219/

16. Berek JS, Matias-Guiu X, Creutzberg C, Fotopoulou C, Gaffney D, Kehoe S, et al. FIGO staging of endometrial cancer: 2023. International Journal of Gynecology and Obstetrics. 2023 Aug 1;162(2):383–94.

17. Kurman RJ, Ellenson LH, Ronnett BM, editors. Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract. 7th ed. Switzerland; 2019.

18. Cherniack AD, Shen H, Walter V, Stewart C, Murray BA, Bowlby R, et al. Integrated Molecular Characterization of Uterine Carcinosarcoma. Cancer Cell [Internet]. 2017 Mar 3 [cited 2024 Jul 13];31(3):411. Available from: /pmc/articles/PMC5599133/

19. Barnes EA, Martell K, Parra-Herran C, Taggar AS, Donovan E, Leung E. Substantial lymphovascular space invasion predicts worse outcomes in early-stage endometrioid endometrial cancer. Brachytherapy [Internet]. 2021 May 1 [cited 2024 Jul 13];20(3):527–35. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33485810/

20. Vermij L, Jobsen JJ, León-Castillo A, Brinkhuis M, Roothaan S, Powell ME, et al. Prognostic refinement of NSMP high-risk endometrial cancers using oestrogen receptor immunohistochemistry. Br J Cancer [Internet]. 2023 Mar 30 [cited 2024 Jul 13];128(7):1360–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36690721/

21. Jamieson A, Huvila J, Chiu D, Thompson EF, Scott S, Salvador S, et al. Grade and Estrogen Receptor Expression Identify a Subset of No Specific Molecular Profile Endometrial Carcinomas at a Very Low Risk of Disease-Specific Death. Mod Pathol [Internet]. 2023 Apr 1 [cited 2024 Jul 13];36(4). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36788084/

22. Cuevas D, Velasco A, Vaquero M, Santacana M, Gatius S, Eritja N, et al. Intratumour heterogeneity in endometrial serous carcinoma assessed by targeted sequencing and multiplex ligation-dependent probe amplification: a descriptive study. Histopathology [Internet]. 2020 Feb 1 [cited 2024 Jul 13];76(3):447–60. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31550396/

23. Fader AN, Roque DM, Siegel E, Buza N, Hui P, Abdelghany O, et al. Randomized Phase II Trial of Carboplatin-Paclitaxel Versus Carboplatin-Paclitaxel-Trastuzumab in Uterine Serous Carcinomas That Overexpress Human Epidermal Growth Factor Receptor 2/neu. J Clin Oncol [Internet]. 2018 Jul 10 [cited 2024 Jul 13];36(20):2044–51. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29584549/

24. Gonzalez Bosquet J, Terstriep SA, Cliby WA, Brown-Jones M, Kaur JS, Podratz KC, et al. The impact of multi-modal therapy on survival for uterine carcinosarcomas. Gynecol Oncol [Internet]. 2010 Mar [cited 2024 Jul 13];116(3):419–23. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19896181/

25. Matsuo K, Takazawa Y, Ross MS, Elishaev E, Podzielinski I, Yunokawa M, et al. Significance of histologic pattern of carcinoma and sarcoma components on survival outcomes of uterine carcinosarcoma. Ann Oncol [Internet]. 2016 Jul 1 [cited 2024 Jul 13];27(7):1257–66. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27052653/

26. Haruma T, Nagasaka T, Nakamura K, Haraga J, Nyuya A, Nishida T, et al. Clinical impact of endometrial cancer stratified by genetic mutational profiles, POLE mutation, and microsatellite instability. PLoS One [Internet]. 2018 Apr 1 [cited 2024 May 23];13(4):e0195655. Available from: https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0195655

27. Bosse T, Nout RA, McAlpine JN, McConechy MK, Britton H, Hussein YR, et al. Molecular Classification of Grade 3 Endometrioid Endometrial Cancers Identifies Distinct Prognostic Subgroups. Am J Surg Pathol [Internet]. 2018 [cited 2024 May 23];42(5):561–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29505428/

28. Léon-Castillo A. Update in the molecular classification of endometrial carcinoma. International journal of gynecological cancer. 2023;33(3).

29. Chakraborty S, Schirmeisen K, Lambert SA. The multifaceted functions of homologous recombination in dealing with replication-associated DNA damages. DNA Repair (Amst) [Internet]. 2023 [cited 2024 Jun 4];129:103548. Available from: https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2023.103548

30. Jorde LB, Carey JCC, Bamshad MJ. Medical Genetics. 6th ed. Elsevier; 2020.

31. Takata M, Sasaki MS, Sonoda E, Morrison C, Hashimoto M, Utsumi H, et al. Homologous recombination and non-homologous end-joining pathways of DNA double-strand break repair have overlapping roles in the maintenance of chromosomal integrity in vertebrate cells. EMBO. 1998;

32. Gelot C, Magdalou I, Lopez BS. Replication Stress in Mammalian Cells and Its Consequences for Mitosis. Genes (Basel) [Internet]. 2015 [cited 2024 Jun 6];6:267–98. Available from: www.mdpi.com/journal/genes

33. Bishop AJR, Schiestl RH. Homologous Recombination and Its Role in Carcinogenesis. Journal of Biomedicine and Biotechnology • [Internet]. 2002 [cited 2024 May 23];2(2):75–85. Available from: http://jbb.hindawi.com

34. Chiu WC, Fang PT, Lee YC, Wang YY, Su YH, Hu SCS, et al. DNA Repair Protein Rad51 Induces Tumor Growth and Metastasis in Esophageal Squamous Cell Carcinoma via a p38/Akt-Dependent Pathway. Ann Surg Oncol [Internet]. 2020 Jun 1 [cited 2024 Jul 29];27(6):2090–101. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31749080/

35. Rajput M, Singh R, Singh N, Singh RP. EGFR-mediated Rad51 expression potentiates intrinsic resistance in prostate cancer via EMT and DNA repair pathways. Life Sci [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2024 Jul 29];286. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34627777/

36. Pearson SJ, Roy Sarkar T, McQueen CM, Elswood J, Schmitt EE, Wall SW, et al. ATM-dependent activation of SIM2s regulates homologous recombination and epithelial-mesenchymal transition. Oncogene [Internet]. 2019 Apr 4 [cited 2024 Jul 29];38(14):2611–26. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30531838/

37. Wang Y, Qi H, Liu Y, Duan C, Liu X, Xia T, et al. The double-edged roles of ROS in cancer prevention and therapy. Theranostics [Internet]. 2021 Mar 4 [cited 2024 Jul 29];11(10):4839–57. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33754031/

38. Srinivas US, Tan BWQ, Vellayappan BA, Jeyasekharan AD. ROS and the DNA damage response in cancer. Redox Biol [Internet]. 2019 Jul 1 [cited 2024 Jul 29];25. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30612957/

39. Wang Z, Jia R, Wang L, Yang Q, Hu X, Fu Q, et al. The Emerging Roles of Rad51 in Cancer and Its Potential as a Therapeutic Target. Vol. 12, Frontiers in Oncology. Frontiers Media S.A.; 2022.

40. Zhang X, Ma N, Yao W, Li S, Ren Z. RAD51 is a potential marker for prognosis and regulates cell proliferation in pancreatic cancer. Cancer Cell Int [Internet]. 2019 Dec 27 [cited 2024 Jul 29];19(1):1–11. Available from: https://cancerci.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12935-019-1077-6

41. Kumar V, Abbas AK, Aster JC, Perkins JA. Robbins basic pathology. 935 p.

42. Arias-Lopez C, Lazaro-Trueba I, Kerr P, Lord CJ, Dexter T, Iravani M, et al. p53 modulates homologous recombination by transcriptional regulation of the RAD51 gene. EMBO Rep [Internet]. 2006 Feb 1 [cited 2024 May 25];7(2):219–24. Available from: https://www.embopress.org/doi/10.1038/sj.embor.7400587

43. Shu Z, Smith S, Wang L, Rice MC, Kmiec EB. Disruption of muREC2/RAD51L1 in mice results in early embryonic lethality which can Be partially rescued in a p53(-/-) background. Mol Cell Biol [Internet]. 1999 Dec 1 [cited 2024 May 26];19(12):8686–93. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10567591/

44. Gottifredi V, Shieh SY, Taya Y, Prives C. p53 accumulates but is functionally impaired when DNA synthesis is blocked. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 2001 Jan 30 [cited 2024 Jun 1];98(3):1036–41. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11158590/

45. Saintigny Y, Rouillard D, Chaput B, Soussi T, Lopez BS. Mutant p53 proteins stimulate spontaneous and radiation-induced intrachromosomal homologous recombination independently of the alteration of the transactivation activity and of the G1 checkpoint. [cited 2024 Jul 30]; Available from: http://www.stockton-press.co.uk/onc

46. Wen Z, Luo D, Wang S, Rong R, Evers BM, Jia L, et al. Deep Learning–Based H-Score Quantification of Immunohistochemistry-Stained Images. Modern Pathology. 2024 Feb 1;37(2).

47. Colombo N, Creutzberg C, Amant F, Bosse T, González-Martín A, Ledermann J, et al. ESMO-ESGO-ESTRO Consensus Conference on Endometrial Cancer: diagnosis, treatment and follow-up †. Annals of Oncology. 2015;27:16–41.

48. Hamilton CA, Cheung MK, Osann K, Chen L, Teng NN, Longacre TA, et al. Uterine papillary serous and clear cell carcinomas predict for poorer survival compared to grade 3 endometrioid corpus cancers. Br J Cancer [Internet]. 2006 Mar 13 [cited 2024 Aug 11];94(5):642–6. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16495918/

49. Gachechiladze M, Škarda J, Soltermann A, Joerger M. RAD51 as a potential surrogate marker for DNA repair capacity in solid malignancies. Vol. 141, International Journal of Cancer. Wiley-Liss Inc.; 2017. p. 1286–94.

50. De Jonge MM, Auguste A, Van Wijk LM, Schouten PC, Meijers M, Ter Haar NT, et al. Frequent homologous recombination deficiency in high-grade endometrial carcinomas. Clinical Cancer Research [Internet]. 2019 Feb 1 [cited 2024 Jul 31];25(3):1087–97. Available from: /clincancerres/article/25/3/1087/9893/Frequent-Homologous-Recombination-Deficiency-in

51. p53 Interacts with hRAD51 and hRAD54, and Directly Modulates Homologous Recombination12 | Cancer Research | American Association for Cancer Research [Internet]. [cited 2024 Jul 30]. Available from: https://aacrjournals.org/cancerres/article/63/10/2596/509918/p53-Interacts-with-hRAD51-and-hRAD54-and-Directly

52. Jamieson A, Sobral de Barros J, Cochrane DR, Douglas JM, Shankar S, Lynch BJ, et al. Targeted and Shallow Whole-Genome Sequencing Identifies Therapeutic Opportunities in p53abn Endometrial Cancers. Clinical Cancer Research. 2024 Jun 1;30(11):2461–74.

53. Dinoi G, Mariani A, Martinelli E, Ciucci A, Zannoni GF, Weaver AL, et al. In search for biomarkers and potential drug targets for uterine serous endometrial cancer. J Cancer Res Clin Oncol. 2021 Jun 1;147(6):1647–58.

54. Nakanoko T, Saeki H, Morita M, Nakashima Y, Ando K, Oki E, et al. Rad51 expression is a useful predictive factor for the efficacy of neoadjuvant chemoradiotherapy in squamous cell carcinoma of the esophagus. Ann Surg Oncol. 2014 Feb;21(2):597–604.

55. Mullane SA, Werner L, Guancial EA, Lis RT, Stack EC, Loda M, et al. Expression Levels of DNA Damage Repair Proteins Are Associated With Overall Survival in Platinum-Treated Advanced Urothelial Carcinoma. Clin Genitourin Cancer. 2016 Aug 1;14(4):352–9.

56. Sarwar R, Sheikh AK, Mahjabeen I, Bashir K, Saeed S, Kayani MA. Upregulation of RAD51 expression is associated with progression of thyroid carcinoma. Exp Mol Pathol. 2017 Jun 1;102(3):446–54.