



**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL OLUŞTURULMUŞ ENDOMETRİAL
HİPERPLAZİ MODELLERİNDE METFORMİN VE
PROGESTERON TEDAVİSİNİN SURVİVİN VE BCL-2
GENLERİNİN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL
EKSPRESYONLARI ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Şerife Seçil BARATALI

KAYSERİ-2017



**T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL OLUŞTURULMUŞ ENDOMETRİAL
HİPERPLAZİ MODELLERİNDE METFORMİN VE
PROGESTERON TEDAVİSİNİN SURVİVİN VE BCL-2
GENLERİNİN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL
EKSPRESYONLARI ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

**Hazırlayan
Dr. Şerife Seçil BARATALI**

**Danışman
Prof. Dr. Hülya AKGÜN**

**Bu araştırma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi tarafından TTU-2016-6617 numaralı proje kodu ile desteklenmiştir.**

KAYSERİ-2017

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanması sürecince bilgi birikimi ve tecrübesiyle bana rehberlik eden, öğrencisi olmaktan mutluluk duyduğum değerli hocam, tez danışmanım Prof. Dr. Hülya AKGÜN'e,

Uzmanlık eğitimim süresince desteğini esirgemeyen, disiplinli ve özverili yoğun çalışma temposu ile her zaman örnek aldığım anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Özlem CANÖZ'e,

Bilgi ve tecrübeleri ile bize ışık tutan, eğitimim süresince gerek tecrübelerinden gerek derin bilgi birikimlerinden istifade ettiğim değerli hocalarım Prof. Dr. Turhan OKTEN'e, Prof. Dr. Tahir E. PATIROĞLU'na, Prof. Dr. Süleyman BALKANLI'ya, Prof. Dr. Figen ÖZTÜRK'e, Prof. Dr. Olgun KONTAŞ'a, Prof. Dr. Kemal Deniz'e

Uzmanlık eğitimi boyunca beraber çalıştığım kıymetli araştırma görevlisi arkadaşlarım Dr. Seher DARAKÇI'ya, Dr. Özlem KARA'ya, Dr. Ali MIZRAK'a, Dr. Meral Filiz TAŞTEKİN'e, Dr. Büşra EKİNCİ'ye

Ve sevgileri ile en büyük desteği veren yol arkadaşım, değerli eşim Dr. Emre BARATALI'ya ve canım aileme

Sonsuz teşekkür ederim...

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	v
RESİMLER LİSTESİ	vii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. UTERUS EMBRİYOLOJİSİ.....	3
2.2. UTERUS ANATOMİSİ.....	6
2.3. UTERUS HİSTOLOJİSİ.....	9
2.4. UTERUS FİZYOLOJİSİ.....	14
2.5. ENDOMETRİAL HİPERPLAZİ	16
2.6. HİPERPLAZİ VE KARSİNOM ARASINDAKİ İLİŞKİ	22
2.7. SURVİVİN	24
2.8. BCL-2	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	26
4. BULGULAR.....	28
5. TARTIŞMA	30
6. SONUÇLAR.....	36
KAYNAKLAR	37

**DENEYSEL OLUŞTURULMUŞ ENDOMETRİAL HİPERPLAZİ
MODELLERİNDE METFORMİN VE PROGESTERON TEDAVİSİNİN
SURVİVİN VE BCL-2 GENLERİNİN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL
EKSPRESYONLARI ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

ÖZET

Amaç: Deneysel oluşturulmuş endometrial hiperplazi modellerinde metformin ve progesteron tedavisinin Survivin ve Bcl-2 genlerinin immünohistokimyasal ekspresyonları üzerine etkilerinin araştırılması

Yöntem ve Gereçler: : Bu tez çalışması, uygun şekilde bakımı medikasyonu ve operasyonu yapılmış, 3 gruptan oluşan ratların histerektomi materyallerinden elde edilen bloklardan hazırlanan kesitlerde immünohistokimyasal olarak Bcl-2 ve Survivin ekspresyonu değerlendirilerek, karşılaştırıldı. 11 adet parafin bloktan oluşan ve yalnızca Östradiol alan kontrol grubu grup 1 olarak isimlendirildi. 12 adet parafin bloktan oluşan Östradiol'e ek olarak Metformin verilmiş grup, grup 2 olarak isimlendirildi. 13 adet parafin bloktan oluşan Östradiol'e ek olarak Progesteron verilmiş grup, grup 3 olarak isimlendirildi.

Bulgular: Çalışmada her üç grupta medikasyon sonrası immünohistokimyasal gen ekspresyon düzeyleri değerlendirildi. Gruplar arasında Bcl-2 immünohistokimyasal ekspresyonları arasında Östradiol ve Metformin (E+M) ile Östradiol ve Medroksiprogesteron Asetat (E+P) alan gruplar, sadece Östradiol (E) alan grup ile kıyaslandığında Metformin ve Medroksiprogesteron Asetat alan gruplarda Bcl-2 ekspresyon oranının anlamlı şekilde azaldığı; Survivin immünohistokimyasal ekspresyonları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı gösterildi.

Sonuç: Çalışmada, endometrial hiperplazi tedavisinde etkinliği kanıtlanmış Progesteron ile Metformin kıyaslandığında Metforminin de Progesterona benzer şekilde hiperplaziyi geriletmediği tespit edildi. İmmünohistokimyasal gen ekspresyonları değerlendirildiğinde Progesteronun endometrial dokuda Bcl-2 ekspresyon oranını istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı, Metforminin de yine Progesterona benzer şekilde Bcl-2 ekspresyon oranını azaltılarak apoptozisi uyardığı gösterildi. Metforminin literatürde bilinen etkilerine ek olarak, apoptozisin regülasyonunda önemli rol oynayan ve hücrenin apoptozise uğrayıp uğramayacağını belirleyen Bcl-2 ekspresyonunu azaltarak hücreyi oluşabilecek anormal çoğalmaya karşı apoptozise yönlendirdiği tespit edildi. Diğer

yandan immünohistokimyasal ekspresyonları değerlendirildiğinde endometrial hiperplazi tedavisinde kullanılan Progesteron ve Metforminin Survivin üzerine etkili olmadığı anlaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Endometrial Hiperplazi, Metformin, Progesteron, Apoptozis, Bcl-2, Survivin

**INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF METHFORMINE AND
PROGESTERON TREATMENT ON THE IMMUNOHISTOCHEMICAL
EXPRESSIONS OF SURVIVIN AND BCL-2 GENES IN EXPERIMENTAL
ENDOMETRIAL HYPERPLASIA MODELS**

ABSTRACT

Objective: To investigate the effects of metformin and progesterone treatment on immunohistochemical expressions of Survivin and Bcl-2 genes in experimental established endometrial hyperplasia models

Materials and Methods: In this thesis study, immunohistochemical analysis of Bcl-2 and Survivin expression was assessed and compared in sections prepared from hysterectomy specimens of rats that were maintained, medicated and operated appropriately. The group, which consisted of 11 paraffin blocks and received only estradiol, was named group 1. The group, which consisted of 12 paraffin blocks, received the metformin in addition to estradiol, was called group 2. The group, which consisted of 13 paraffin blocks, received the progesterone in addition to estradiol, was called group 3.

Findings: Immunohistochemical gene expression levels were evaluated in all three groups. There was no statistically significant difference between Survivin immunohistochemical expressions of the groups. (E + M) and (E + P) groups showed a significant decrease in the Bcl-2 expression ratio in both groups when compared to the group receiving only (E). And it was shown that endometrial hyperplasia may be regressed by stimulation of cell apoptosis with this decrease.

Conclusion: In the study, when compared with progesterone and metformin, it was determined that metformin regresses hyperplasia similar to progesterone. When immunohistochemical gene expressions were evaluated, progesterone significantly reduced the rate of Bcl-2 expression in endometrial tissue, and metformin induced apoptosis in a similar manner to progesterone, decreasing the Bcl-2 expression ratio. In addition to the known effects of metformin in the literature, it was found that apoptosis induced the cell by significantly reducing the ratio of Bcl-2, which plays an important role in the regulation of apoptosis. On the other hand, when immunohistochemical

expressions were evaluated, it was understood that progesterone and metformin used in endometrial hyperplasia treatment were not effective on Survivin expression.

Key words: Endometrial hiperplasia, metformin, medroksiprogesteron asetat, apoptosis, Bcl-2, Survivin.

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1: Normal endometrium.....	11
Resim 2. Basit Atipisiz Endometrial Hiperplazi.....	17
Resim 3. Kompleks Atipisiz Endometrial Hiperplazi	18
Resim 4. Basit Atipili Endometrial Hiperplazi	19
Resim 5. Kompleks Endometrial Atipili Hiperplazi.....	20

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Endometrial hiperplazi progesteron ile karşılanmamış endojen veya ekzojen östrojenik stimülasyonuna bağlı olarak, değişik büyüklük ve görünüşteki endometrial glandların fizyolojik olmayan proliferasyonudur. Proliferatif endometriumla karşılaştırıldığında gland/stroma oranında artış vardır. Tanı anormal proliferasyon, glandüler yapılarıdaki değişiklikler ve azalmış stroma ile konur. Bu paternde sitolojik atipi olabilir ya da olmayabilir. En en sık nedeni anovulatuvar sikluslardır (1). Endometrial hipeplazinin önemi endometrium kanseri ile olan ilişkisidir. Özellikle menopoz sonrasında, atipi içeren hiperplazilerde endometrium kanseri gelişme riski artmaktadır (2,3). Tanı, endometrial kaviteden alınan örneğin histopatolojik incelenmesi ile konulmaktadır.

Endometrial hiperplazinin tedavisi hastanın yaşına ve sitolojik atipinin varlığına bağlıdır. Öncelikle medikal tedavi tercih edilirken atipi varlığında cerrahi tedavi diğer bir seçenek olmaktadır. Medikal tedavide progestinler, oral kontraseptifler, levonorgestrel içeren rahim içi sistem, danazol ve GnRH analogları kullanılmaktadır. Metformin, Polikistik Over Sendromu (PCOS) olan hastalarda insülin direncini azaltmak amacıyla kullanılmakta olan bir oral antihiperglisemik ajandır (4). Metforminin PCOS'un uzun dönem komplikasyonları olan endometrial patolojiler üzerinde olumlu etkisi olduğu gösterilmiştir. Son yıllarda metforminin endometrium üzerine antiproliferatif etkileri olduğuna dair vaka sunumları ve hayvan deneyleri vardır(5,6).

Çalışmamızın amacı deneysel oluşturulmuş endometrial hiperplazi modellerinde Survivin, Bcl-2 genlerinin immünohistokimyasal ekspresyonları üzerine metformin ve progesteron tedavisinin etkilerini değerlendirmektir. İmmünohistokimyasal ekspresyonu yüksek olan hastalarda medikal tedaviye rağmen gelişebilecek malignite riskinden dolayı, hastaların takip ve tedavilerinin planlanmasında yol gösterici olabilmesi açısından çalışma planlanmıştır.(7)

2. GENEL BİLGİLER

2.1. UTERUS EMBRİYOLOJİSİ

Genetik olarak cinsiyet, döllenme sırasında belirlense de gelişimin 7. haftasına kadar dişi ve erkekte benzer özellikler görülmektedir. Bu nedenle embriyonik gelişimin bu evresine farklanmamış evre denir (8,9).

Cinsiyetin belirlenmesi ve farklanması, çok sayıda otozomal ve resesif genin rol oynadığı karmaşık bir süreçten oluşmaktadır. Seksüel dimorfizmin anahtarı, Y kromozomunun kısa kolu (Yp11) üzerindeki SRY genidir (Y kromozomu üzerindeki cinsiyet belirleyici bölge). Bu genin protein ürünü testis belirleyici faktördür (TBF). TBF, cinsiyet organlarının farklanmasını düzenleyen genlerin harekete geçirilmesini sağlar. Fetusun cinsiyeti bu faktörün varlığında erkek tipinde; yokluğunda ise kız tipinde gelişir (9).

Gonadlar; mezodermal epitel, embriyonik bağ dokusu ve ilkel germ hücrelerinden köken alırlar. Kölom epitelinin proliferasyonu ve altındaki mezenşimin yoğunlaşmasıyla gonadlar ortaya bir çift uzunlamasına genital veya gonadal sırt halinde çıkarlar. Gelişimin 6. haftasına kadar genital sırtlar içinde germ hücreleri gözlenmez (9,10).

Primordiyal germ hücreleri, epiblasttan köken alır. Primitif çizgi boyunca göç eder ve 3. haftada vitellus kesesinin allantoise yakın duvarındaki endoderm hücrelerinin arasına yerleşirler. 4. haftada ameboid hareketlerle sonbarsağın mezenterinin dorsali boyunca

ilerleyerek 5. haftanın başında primitif gonadlara ulaşırlar. 6. haftada da genital sırtları işgal ederler (8,9).

Primordiyal germ hücrelerinin primitif gonadlara ulaştıkları sırada genital sırttaki epitel hücreleri proliferasyon olarak alttaki mezenşimin içine gömülür ve burada ilkel cinsiyet kordonlarını oluştururlar. İlkel cinsiyet kordonları, kısa sürede alttaki mezenşimin içine doğru büyüyerek, dışta korteks, içte medulla bölgelerini oluşturur. Bu evrede erkek ve dişi gonadlar birbirinden ayırt edilemediğinden ‘farklanmamış gonad’ olarak isimlendirilirler.

Embriyo XX cinsiyet kromozomunu içeriyorsa, farklanmamış gonadın korteksi overe farklılaşırken, medullası geriler. XY cinsiyet kromozomuna sahipse medulla testise farklılaşırken, korteks gerileyip dejenerasyon olur (8,9,10).

Erkek ve dişi embriyolarda iki çift genital kanal bulunur. Paramezonefrik kanal (Müllerian kanal) dişi üreme sistemi, mezonefrik kanal (Wolffian kanal) ise erkek üreme sisteminin gelişiminde yer alır. 4. haftanın sonunda, ürogenital sırtın ön-yan yüzeyindeki epitelin uzunlamasına içe çökmesi ile paramezonefrik kanal oluşur. Kanal, üst ucundan karın boşluğunun içine huni biçiminde açılırken, alt kısmı da önce mezonefrik kanalın yanında uzanır ve onu önden çaprazlayıp, kaudomedial yönde gelişmeyi sürdürür (9).

Dişi embriyolarda, Leydig hücrelerince sentezlenen testosteron hormonu olmadığından, Mezonefrik kanallar geriler; Sertoli hücrelerince salgılanan “Müllerian Baskılayıcı Madde” (MIS) yokluğu nedeniyle paramezonefrik kanallar gelişir. Erkek cinsiyet gelişiminin uyarılması için testosteron hormonunun gerekli olmasına karşın, dişi cinsiyet gelişiminde overler ve hormonların varlığı gereksizdir. Dişilerde esas genital kanallar paramezonefrik kanallarca oluşturulur. Başlangıçta her kanalda tanımlanabilir 3 kısım vardır:

- a) Karın boşluğuna açılan vertikal parça
- b) Mezonefrik kanalları çaprazlayan horizontal parça
- c) Karşı taraftan gelen eşiyile birleşen kaudal vertikal parça

Ovaryumların aşığı inmeleri ile birlikte ilk iki parçadan tuba uterinalar gelişir. Bunların kaudal kısımları da uterus kanalını oluşturmak için kaynaşırlar (9,10). Paramezonefrik kanalların kranial vertikal parçalarının açık üst uçları tuba uterina'ların fimbriyalarını meydana getirir. Aynı zamanda kranial vertikal parçadan, tuba uterina'ların infundibulum ve ampulla kısımları da oluşur. Horizontal parça ise isthmusu biçimlendirir.

Başlangıçta vertikal olarak yerleşim gösteren tuba uterinalar, uterusun gelişmesi sırasında karın boşluğunun iç kısmına doğru hareket eder ve horizontal hale gelirler (11).

Paramezonefrik kanalların birleşmesi ile iki peritoneal katlantı da birleşerek, sağ ve sol kalın (broad) ligamentler ile uterorektal ve uterovezikal çukurlar oluşur. Kaynaşan paramezonefrik kanallardan uterusun gövde ve serviks kısımları gelişir. Bu yapıların çevresi uterusun kas katmanı myometriumu ve periton örtüsü olan perimetriumu oluşturan mezenşim tabakasıyla sarılır. Serviks, paramezonefrik kökenli olmasına karşın, müköz membranları ürogenital sinüsten köken alır (8, 11).

İnsan uterusu başlangıçta çift boynuzlu şekildedir. İnsanda uterusun gelişimi bazen çift boynuzlu evresinde kalabilir. Normalde bu iki boynuz arasında mezenşim çoğalması gerçekleşir ve uterus erişkinlerdeki armut biçimini alır (12, 13).

Paramezonefrik kanalların uzunlukları boyunca veya herhangi bir bölgesinde kaynaşmamaları sonucunda uterus duplikasyonları oluşur.

Gelişim sırasında, bazen mezovaryumda bulunan, üst ve alt mezonefrik kanal kalıntıları görülebilir. Bunların bazıları, ovaryum ve tuba uterina arasında, mezovaryumda bulunan epoophoron artıklarıdır. Uterusa yakın yerleşimli bazı rudimenter tübüller de paroophoron olarak kalırlar. Mezonefrik kanalın, duktus deferens ve ejakülatör kanala denk gelen bazı bölümleri; vajen duvarı içerisinde veya uterusun yan duvarları boyunca kalın ligament katmanları arasında "Gartner kanalı" olarak görülebilir. Bu kanal kalıntılarından da Gartner kistleri oluşabilir (8, 11, 14).

2.2. UTERUS ANATOMİSİ

Uterus, vücut orta düzleminde, pelvis boşluğu içerisinde, içi boş, armut biçimli ve kalın kaslı duvarları olan bir organdır. Rektumun önünde, mesanenin arkasında ve vajenin üstünde yer alır. Üstten ise ince bağırsak kıvrımları ile komşuluktadır. Uterusun abdominal bölümü tuba uterina, pelvis içindeki bölümü ise vajen ile devam eder (15).

Uterus; tabanı yukarıda, tepesi aşağıda ters konumlu bir armuta benzer. Önden ve arkadan hafif basıktır. Organın uzun eksenini orta planda yerleşim gösterir ve uterusun pelvis eksenine uyan ve öne-aşağıya bakan bir konkavitesi vardır. Uzunluğu yaklaşık olarak 7-9 cm, genişliği 5 cm, duvar kalınlığı ise 2,5 cm kadardır. Gebelikte uterus büyür, ayrıca şekil ve duruş yönünden de değişiklikler gösterir. Doğumdan sonra neredeyse eski haliyle aynı duruma döner (16).

Uterus yapı, işlev ve anatomik olarak korpus, fundus ve serviks bölümlerinden oluşur. Tuba uterinaların uterusu açılış yerlerinin altındaki bölüm uterus korpusudur. (15,16).

Korpus: Tuba uterinaların giriş yaptığı yerlerin altında kalan ve uterusun geniş 2/3 üst bölümdür. Tabanı yukarıda, tepesi aşağıda bir üçgene benzer. Önden arkaya basık olan uterus korpusunun iki yüzü ve üç kenarı vardır. Buranın ön yüzü düz, arka yüzü konvektir. Aşağı doğru daralır ve serviks ile devam eder. Korpus ve serviks birbirinden, isthmus ile ayrılır. Bu bölüm yaklaşık 1 cm uzunluğundadır ve korpusun en dar yeri olan ara bir bölümdür (16).

Uterus korpusunun facies anterior ve facies posterior olmak üzere iki yüzü vardır:

Facies anterior, uterusun ön yüzü olup mesanenin üst yüzü ile komşuluk yapmaktadır. Uterus korpusunu örten periton, mesanenin üst yüzünden atlayarak excavatio vesicouterina adı verilen çıkmazı oluşturur.

Facies posterior, rektuma bakar. Rektum ile arasında, ince bağırsaklar ve sigmoid kolon bulunur. Facies posterioru örten peritonun, arka-aşağı bölgede vajenin arka yüzünün üstünü de örttüğünden sonra rektuma geçmesi sonucu, bu iki organ arasında oluşan çıkmaza ise excavatio rectouterina (Douglas çıkmazı) adı verilir. Bu çıkmazı oluşturan plica da plica rectouterina (Douglas plikası) olarak adlandırılır (16, 17).

Fundus: Fundus, uterusun en geniş kısmıdır. Tuba uterinaların uterus korpusuna bağlandığı yerin üstünde kalan kubbe şeklinde olan peritonla örtülü kısmıdır. İnce bağırsak kıvrımları ve sigmoid kolon ile komşuluk yapar. Korpus, fundustan isthmusa doğru daralır ve serviks ile birleşir (16).

Serviks: Uterusun daha dar olan 1/3 alt parçasıdır ve isthmus uteri ile vajen arasında kalan kısımdır. Yaklaşık 2,5 cm uzunluğundadır. Uterusun en sabit bölümüdür. İçinde, yukarıda cavitas uteri, aşağıda vajen ile devam eden canalis cervicis uteri denilen bir kanal bulunur. Bu kanal, isthmus uteri ile ostium uteri arasındadır. Ostium internum, canalis cervicis uteri ile uterus boşluğuna açılırken ostium externum, canalis cervicis uteri aracılığıyla vajene açılır. Canalis cervicis, önden arkaya basık, orta bölümü daha geniş bir boşluktur. Bu kanalın iki ucu, orta bölümüne oranla daha dardır. Bu kanalın ön ve arka duvarında uzunlamasına seyreden birer çıkıntı bulunur. Bu çıkıntılardan yan tarafa doğru uzanan plikalara, plicae palmatae denir. Öndeki plikalar, arkadaki plikalar arasındaki oluklara girer. Bu nedenle kanalı iyice kapatırlar. Ostium internum, canalis cervicis uteri ile uterus boşluğuna açılırken ostium externum, canalis cervicis uteri aracılığıyla vajene açılır (16, 17, 18).

Serviksin alt kısmı vajenin içine doğru uzanmıştır. Serviksin vajen içerisine giren bu bölümüne portio vaginalis cervicis, yukarısında kalan bölümüne ise portio supravaginalis cervicis ismi verilir.

Portio supravaginalis cervicis, serviksin vajenin üstünde kalan 2/3'lük üst bölümünü oluşturur. Portio vaginalis cervicis, serviksin vajen içinde kalan 1/3'lük kısmıdır. Vajen ön duvarı üzerine sarkar. Bunun sonucunda vajen ile aralarında fornix vaginae denilen bir oluk oluşur (fornix posterior). Portio vaginalisin tam ortasında ostium uteri bulunur. Vajenin arka duvarına doğru bakan bu delik hiç doğum yapmayan kadınlarda ufak ve yuvarlak, doğum yapanlarda ise enine bir yarık şeklindedir (16).

Uterusun ligamentleri

M. levator ani; pelvis çıkımının büyük bölümünü örttüğünden uterusun konumunu koruyan en önemli yapıdır. M. levator ani kasıldığında, artmış karın içi basınca karşı koyar. M. levator aninin ön parçasını oluşturan kas lifleri, bu kası örten fasya aracılığı

ile uterus serviksine tutunur. Böylece uterusun aşağıya doğru yer değiştirmesi önlenmiş olur (19).

Lig. transversum cervicis (lig. cardinale); vajenin üst ve serviksin alt bölümlerinden bu yapıları önden ve arkadan sararak, vajen ve serviksin yan kısımlarında bir araya gelerek pelvis yan duvarlarına doğru uzanırlar. Böylece pelvis döşemesi içinde uzanan bağ dokusu lifleri pelvis yan duvarlarına tutunur. Lig. transversum cervicis içindeki uterusu ait damarlar ile birlikte serviks desteklenir. Özellikle retroversio uteri konumunda, lig. transversum cervicis'lerin tutucu etkileri daha belirginleşir. Lig. transversum cervicisin ön tarafa uzanan lifleri lig. pubovesicale, arka tarafa uzanan lifleri ise lig. sacrocervicale ile devam eder. Lig. transversum cervicis içinde a. vaginalis bulunur (19).

Lig. pubocervicale; pubisin arka yüzünü uterus serviksine bağlayan şerit biçimindeki bağlardır. Bu bağ mesanenin yanından geçerken mesaneye de tutunur (19).

Lig. Sacrocervicale, Lig. latum uteri, Lig. teres uteri, Lig. Uterosacralis, Lig. ovarii proprium (20).

Uterusun damarlanması ve sinirleri

Uterus'a, a. iliaca communis'ten ayrılan a. iliaca interna'nın dalı olan a. uterina gelir ve organı besler. A. uterina üstte a. ovarica, altta a.vaginalis ile anastomoz yapar. A. uterina'nın dalları lig. latum uteri içinde kıvrımlar yaparak yükselir ve uterus duvarına giren dalları aa. arcuatae anteriores ve aa. arcuatae posteriores olarak gruplara ayrılır. Bu dallar dairesel olarak myometriuma ilerler ve karşı taraftan gelen dallar ile anastomoz yapar (19,20).

Uterusun venleri uterus arterlerini izler ve v. iliaca internaya boşalırlar. Uterus venleri, serviksin yan taraflarında plexus venosus uterinus adı verilen ven ağını oluştururlar.

Ağdan çıkan venler ise (venaeuterinae) v. iliaca internaya açılırlar. V. iliaca interna; cavitas pelvisi terk eder ve pelvis girişinin hemen üst yanında bulunan v. iliaca communis ile birleşir (19,20).

Uterusa sinirler plexus hypogastricus inferior (plexus pelvici)'dan ve büyük miktarda da, plexus uterovaginalis' in ön ve orta bölümlerinden gelir. Plexus hypogastricus inferior'dan çıkan nn. uterini lig. latum uteri'nin tabanında plexus uterovaginalis ismini alır. Plexus uterovaginalis'teki liflerin çoğu vazomotor etki gösterir. Uterusa gelen preganglionik sempatik lifler medulla spinalis'in T 11-12 ve L1 segmentlerinden, parasempatik lifler ise plexus pelvici aracılığıyla S 2-4 spinal segmentlerinden gelir (15, 19, 21).

2.3. UTERUS HİSTOLOJİSİ

Uterus histolojik olarak dıştan içe doğru;

1. Perimetrium (tunica serosa),
2. Myometrium (tunica muscularis),
3. Endometrium (tunica mucosa) olarak üç katmandan oluşur (22, 23, 24)

Perimetrium

Uterusu en dıştan saran katmandır. Peritonun visseral yaprağıdır. Perimetrium, tek katlı yassı epitel, mezotel ve onun altında yer alan ince gevşek bağ dokudan oluşur. Pelvik ve abdominal periton ile devam eder. Bu tabaka uterusun tüm arka yüzünü örter. Ön yüz ise "tunica adventisya" adını alan bir bağ dokusu ile örtülüdür (22,23).

Myometrium

Uterusun en kalın katmanıdır. Bağ dokusu ile ayrılmış düz kas demetlerinden oluşur. Bu düz kas demetleri de kendi içinde sınırları belirgin olmayan üç katman oluşturur. İç kas katmanında (stratum submucosum) uzunlamasına düzenlenmiş kas lifleri bulunurken, orta kas katmanı (stratum vasculosum - stratum subvasculosum) kalın olup enlemesine uzanan kas lifleri ile bunların arasındaki bağ dokuda bulunan çok miktarda büyük kan damarlarından oluşur. Özellikle venleri içeren orta kas katmanına vasküler tabaka denir. Dış kas katmanı (stratum subserosum) ise uzunlamasına düzenlenmiş kas liflerinden oluşur (23, 25).

Serviks ve istmusta iç ve dış uzunlamasına düz kas lifleri gittikçe zayıflar. Enlemesine uzanan düz kas lifleri ise çok iyi gelişmiştir. Myometriumun özellikle dış kas demetleri

arasındaki gevşek bağ dokuda, bol kollajen ve elastik lifler bulunur. Bunlar arasında fibroblast, histiyosit, makrofaj ve mast hücreleri gözlenir (25).

Gebelikte, myometrium büyüme evresine girer. Bu düz kas dokusu hücrelerinin hem hiperplazi, hem de hipertrofi göstermesi sonucu gerçekleşmektedir. Bu sırada bağ doku miktarı da artar. Pek çok düz kas hücresi, protein salgısı yapan hücrelere özgü ince yapı özelliklerini gösterir. Bu hücreler, gebelik sırasında aktif olarak kollajen sentezlerler ve uterusun kollajen miktarını artırır (24, 25, 26).

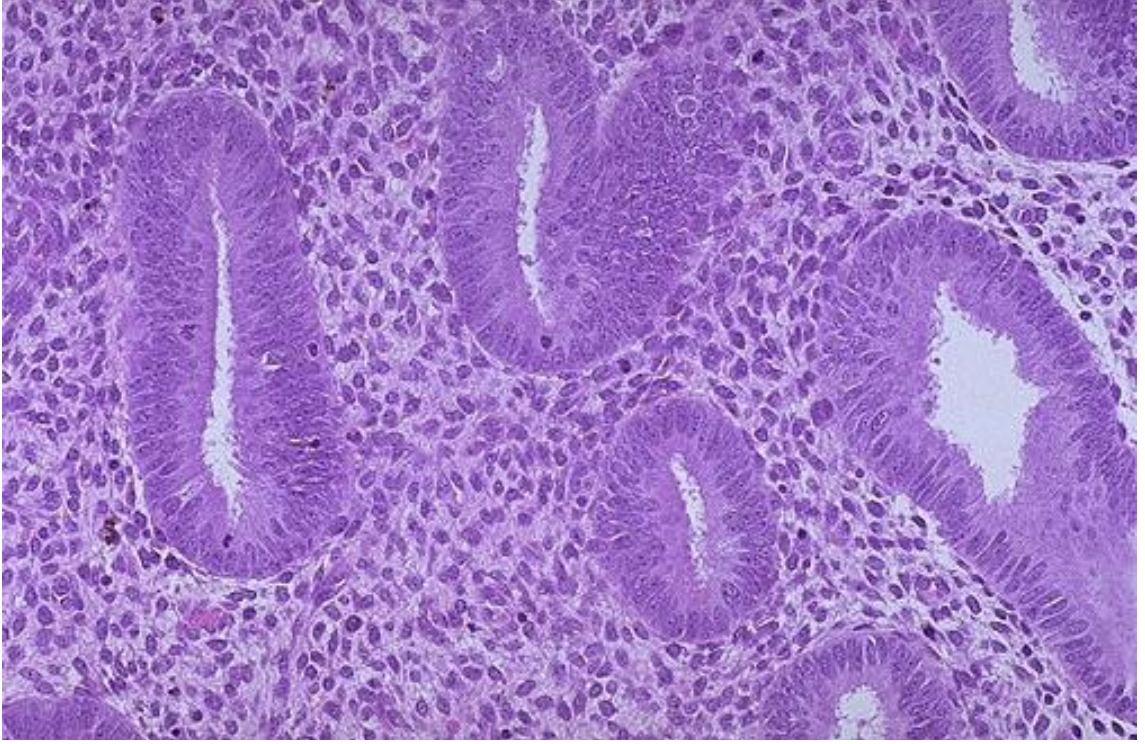
Doğumdan sonra, uterusun boyutları gebelik öncesi durumuna yakın değerlere iner. Bazı düz kas hücrelerinde yıpranma, boyutlarında azalma ve kollajen yapımında enzimatik eksilme görülür (24, 26).

Endometrium (tunica mucosa)

Uterusun en iç katmanı olan ve fetusun yerleşip geliştiği endometrium, epitel ve bunun altında yer alan lamina propriadan oluşur (Resim 1). Epitel tek katlı prizmatiktir ve iki tip hücre görülür. Bu hücrelerin bir kısmı silyalı, bir kısmı ise salgı yapan mikrovilluslu hücrelerdir.

Yüzey epitel hücreleri, altındaki endometriyal stroma denilen lamina proprianın derinliğine uzanarak dallı basit tübüler tipte uterus bezlerini (gl. uterina) oluştururlar. Bu bezler, menstrüal döngünün evrelerine göre, şekillerini ve büyüklüklerini değiştirir. Birbirine çok yakın ya da biraz aralıklı dururlar. Uterus bezlerini oluşturan epitel, yüzey epiteline benzerdir ama silyalı hücreler çok daha azdır (25, 26).

Lamina propria, bol hücreli, fibroblastlardan zengin, bol miktarda temel madde içeren sıkı düzensiz bağ dokusudur. Bağ doku genellikle tip III kollajen lifler ve bunun yanında retiküler lif ağları içerir. Elastik liflere ise ancak arteriollerin çevresinde rastlanır. Bu liflerin arasında çok sayıda iğ şeklinde bağ doku hücreleri de bulunur. Gebelik sırasında daha da irileşen hücrelere, desidual hücreler denir. Bu hücreler bir ya da iki çekirdek içerir ve sitoplazmalarında, lipid tanecikleri, glikojen ve vakuoller bulunur (23, 26).



Resim 1: Normal endometrium

Endometrium işlevsel olarak iki tabakadan oluşur. Myometriuma komşu olan, endometrium'un 1/3 bazal kısmını oluşturan ve uterus bezlerinin son kısımlarını içeren bölgeye endometrium bazalis (stratum basale endometriale) denir ve bu tabaka menstrüasyon sırasında dökülmez ve menstrüasyondan sonra yenilenecek olan fonksiyonel tabakaya kaynak oluşturur.

Endometrium'un 2/3 yüzeyel bölgesinde ise bezlerin boyun ve gövde bölümleri bulunur.

Bu katmana endometrium fonksiyonalis (stratum functionale endometriale) denir. Gebelik ve menstrual döngünün sekresyon evresinde iki katmandan oluşur. Bezlerin daralıp kapanmış boyun bölgelerini içeren 2/3 yüzeyel bölümü yoğun yapıdadır ve kompakt tabaka (stratum compactum endometriale) ismini alır. Alt bölüm ise genişlemiş, salgıyla dolu bezler nedeniyle süngerimsi yapıdadır ve spongiöz tabaka (stratum spongiosum endometriale) olarak bilinir (26).

Endometriyum yeni doğanda genellikle proliferasyon evresi görünümündedir. Pubertede önce endometriyum epiteli tek katlı, alçak kübiktir ve ince bir stromaya sahiptir. Epitelde stromaya doğru çökmüş az sayıda tubuler bezler bulunur.

Doğurganlık döneminde stromal hücreler, epitel hücreleri ve damarlar hızla çoğalır. Kanama ve menopoz arasında, endometrium tek katlı prizmatik epitel ve altındaki lamina propria'dan oluşur (26, 27).

Kadınlarda yaklaşık 12-15 yaşlarında başlayan ve 45-50 yaşlarına değin süren menstrüal döngü, hipofiz bezi ön lobunun uyarısı altında salgılanan over hormonları olan östrojen ve progesteron etkisiyle gerçekleşir. Endometriumdaki bu döngüsel değişiklikler, döllenmiş ovumun implantasyonuna en uygun yapının oluşmasını sağlar.

Gebeliğin olmaması durumunda menstrual sıklusa bağlı olarak yaklaşık 28 günde bir uterus tunika mukozasında değişiklikler olur ve siklus sonunda eski biçimine döner (22,23,25).

Menstrüel siklus ardışık üç evreden oluşur:

1) Proliferasyon (foliküler) evresi: Menstrüasyon ile ovulasyon olayları arasındaki, bir önceki menstrüasyonda dökülen epitelin yenilenmesini sağlayan evredir. Bu evre yaklaşık 9 gün sürer ve menstrüasyondan sonraki 5. ile 14. günler arasında gerçekleşir.

Overlerde bu dönemde folliküller olgunlaşır ve folliküllerden östrojen salgılanır. Östrojenin endometriuma etkisiyle, hücreler hızla çoğalır ve menstrüasyon ile yitirilen endometrium bezleri ve epiteli yeniden oluşur. Endometriumun tüm kan damarları özellikle kapillerleri genişler, bol kanla dolar ve spiral arterler yeniden oluşur. Yenilenen spiral arterler fazla kıvrımlı değildirler ve fonksiyonel tabakanın yüzeye doğru 2/3'üne erişirler. Bez lümenleri biraz genişler ve lümeni çeviren epitel hücrelerinde glikojen birikmeye başlar. Glikojen birikimi, hücrelerin bazal sitoplazmalarında belirgindir. Bu alışılmış histolojik kesitlerde hücrelerin bazal kısımlarında boşluklar şeklinde belirgindir.

Hücrelerin nükleusları yoğun kromatinlidir. Bu evrede fonksiyonel kat 2-3 milimetreye kadar kalınlaşır. Yaklaşık 14. gün olan ovulasyonda endometrium tümüyle yenilenmiştir. Proliferatif evre ovulasyondan sonra bir iki gün daha sürebilir (22,23,26).

2) Sekresyon (luteal, progestasyonel) evresi: Progesteronun etkisiyle başlar. Bu hormon ovulasyondan sonra, korpus luteumdan salgılanır. Döngünün 28. gününe kadar

sürer. Östrojen etkisi ile gelişmiş olan bezler üzerine etki eden progesteron ile bezler genişleyerek, bez gövdeleri çok kıvrımlı bir yapı kazanır. Spiral arterler, yüzeye doğru uzayarak iyice kıvrımlı hale gelirler. Epitel hücreleri nükleusun altında glikojen depolamaya başlar. Daha sonra glikojen miktarı azalır ve glikoprotein salgı ürünleri bezlerin lümenini genişletir. Biriken glikoprotein salgısı, fertilizasyon sonrasında embriyonun beslenmesi için önemli bir kaynaktır. Bu dönemde endometrium, glikojen salgılarının birikmesi ve stromada oluşan ödeme bağlı olarak en kalın halini alır (5 mm). Mitozun nadir görüldüğü bu evrede uterus zigotun tutunması için hazırlık yapar.

Gebelik olmazsa sekresyon evresinin sonunda menstrüasyon evresi başlar. Fertilizasyon olmuşsa, endometriumun lamina propriasındaki stromal hücreler büyür ve artan progesteron miktarına yanıt olarak glikojen ve lipit depolarlar. Bu endometriyal değişikliklere desidual reaksiyon adı verilir (25,26).

3) Menstrüasyon (kanama) evresi: Fertilizasyon veya implantasyonun gerçekleşmediği durumlarda, korpus luteumun işlevi 14 gün sonunda kendiliğinden sona erer. Buna bağlı olarak kandaki östrojen ve progesteron miktarları hızla düşer ve bu hormonların etkisiyle gelişmiş olan endometriumda gerileme (involusyon) başlar ve endometrium kısmi olarak dökülür. Böylece menstrüasyon evresi başlar. Bu evre döngünün 1.-4. günleri arasında gerçekleşir. Bu dönemde spiral arterler kasılıp gevšemeye başlar, bezlerin salgıları azalır, stroma daha yoğun bir hale gelerek lökositler artar, spiral arterlerin kasılması devamlı hale gelerek fonksiyonel tabakanın oksijenlenmesini keser. Böylece fonksiyonel tabakada nekroz bölgeleri belirir ve birbirleriyle birleşir. Spiral arterlerin duvarında önce spazm, daha sonra nekroz gelişmesi, leke biçimindeki kanamaların bir araya gelerek kanamayı başlatmasına sebep olur.

Menstrüasyon evresinin sonunda endometriumdan geriye, endometrium bezlerinin bazal bölümlerini içeren bazal tabaka kalır. İnce bir tabakaya dönüşen endometriumda bazal hücreler, mukozayı yeniden oluşturmak için bölünmeye başlar. Bezlerin dip kısımları kısa sürede çoğalarak bezleri yapar. Bağ dokusu da çoğalarak bezlerin arasını doldurur. Rejenerasyon evresi adı verilen bu evrede, endometriumun fonksiyonel tabakası yenilenir ve endometrium yeni bir döngüye hazırlanır.

Endometrium özel bir kan damar sistemi içerir. Myometriumun orta bölümlerinde dairesel olarak yerleşmiş arkuat arterlerden iki dal endometriuma doğru dik açılarla ilerler. Bu radial arterler endometrium bazalis'teki kısa düz arterleri oluştururlar. Üst kısımlara doğru ilerleyen bu arterler spiral arterleri yaparlar. Spiral arterler, fonksiyonalis katmanının daha üst kısımlarında incelenerek arteriol ve kapillere dönüşürler. Kapiller ağı yüzey epitelinin hemen altındadır. Spiral arterler zengin bir kapiller ağı oluşturarak fonksiyonalis katmanının bezlerini ve bağ dokusunu beslerler. Bu arterler hormonlara duyarlıdır. Düz arterler sadece bazalis katmanını besler ve hormonlara duyarsızdır. Kapiller yatak, laküna denilen ince duvarlı genişlemiş bölgeler içerir. Lakünalar, endometriumun venöz sisteminde de bulunabilir (23,25,28).

Menstrüasyon sırasında yaklaşık 30-50 ml kan kaybı olur. Ancak dökülen endometrium miktarı ile kaybedilen kan miktarı kişiye göre ve zamana göre farklılık gösterir (25,26)

2.4. UTERUS FİZYOLOJİSİ

Hormonların salgı hızındaki aylık ritmik değişimlere uygun olarak, overlerde ve uterusda değişiklikler görülür (29). Bu değişiklikler üç hormon grubunun etkisindedir:

1. Hipotalamustan salınan hipotalamik serbestleyicisi hormon ya da gonadotropik serbestleştirici hormon (GnRH).
2. Hipofiz ön lobundan salgılanan follikül uyarıcı hormon (FSH) ve luteinize edici hormon (LH).
3. Ovaryumdan salgılanan östrojen ve progesteron (29, 30).

Hipotalamustan GnRH salgılanması ortalama 2 saatte bir gerçekleşir ve birkaç dakika sürer. GnRH'nin pulsatil salınımı LH'nin salınımına neden olurken, FSH salgısı sürekli'dir. GnRH'nin yükselmesi döngüyü başlatır. GnRH hipofiz ön lobundan LH ve FSH salınımını artırır. Ayrıca bu iki hormonun salgılanması, overlerden salgılanan östrojen ve progesteron adlı gonadal steroidlerin geri bildirim etkisi ile de düzenlenir (29).

Her siklusta, overlerde gelişmeye başlayan primer folikül grubu FSH ve LH hormonlarının etkisiyle yüksek miktarda östrojen salgılar. Bu durum hipofiz

hormonlarının salınımını baskılar. Menstrüal siklusun 12-13. günü çok yüksek olan östrojen seviyesi pozitif geri bildirim yaparak LH salınımını artırır. Ovulasyondan yaklaşık 18 saat önce ani LH ve FSH artışı önce ovulasyona, daha sonra korpus luteumun oluşmasına neden olur.

Ovulasyondan sonra korpus luteumdan progesteron salınımı başlar (31). Östrojen ve progesteronun FSH ve LH üzerinde baskılayıcı etkisine ek korpus luteumdan salgılanan inhibin hormonu da FSH ve LH salgılanmasını baskılar. Bu hormonların etkisiyle menstrüasyondan birkaç gün önce LH düzeyi en alt değere indiğinde, korpus luteum dejenere olur. Bunun sonucunda plazmada östrojen ve progesteron düzeyleri düşer ve FSH, LH, GnRH baskılanmaktan kurtulurlar ve bir grup büyüyen follikülün ortaya çıkmasıyla yeni siklus başlar (29,31).

Over folliküllerinin teka interna ve granüloza hücrelerinden, korpus luteumdan ve plasentadan salgılanan östrojen, uterusu endometriyal proliferasyonu uyarır, uterusun kan akımını artırır, uterus kasının miktarını ve kasılma proteinlerinin miktarını artırarak kası daha kolay uyarılabilir hale getirir. Ayrıca uterusu oksitosin hormonuna karşı daha duyarlı kılar (31,32).

Korpus luteum, plasenta ve over foliküllerinden salgılanan progesteron, endometriumdaki gebelik öncesi değişiklikler ile serviks ve vajinadaki döngüsel değişikliklerden sorumludur. Myometrium hücreleri üzerinde östrojene antagonist çalışarak, bu hücrelerin uyarılabilirliğini, oksitosine duyarlılığını ve kendiliğinden oluşan elektriksel membran potansiyelini azaltır ya da artırır. Aynı zamanda endometriumdaki östrojen reseptörlerinin sayısını azaltarak uterus üzerine etki eder (32).

Relaksin, kadınlarda korpus luteum, uterus, plasenta ve meme bezlerinde yapılan bir polipeptid hormondur. Gebelikte simfizis pubisi ve pelvisin diğer eklemlerini gevşetir, uterus kasılmalarını baskılar, uterus serviksini genişleterek doğumu kolaylaştırır. Gebe olmayan kadınlarda, menstrüel döngünün salgı evresinde korpus luteum ve endometriumda relaksin bulunur. Gebe olmayan kadınlardaki görevi belirlenmemiştir (31,32).

Uterus korpusunun devamı olan serviks, bazı özellikleri açısından farklılık gösterir. Servikal kanalda mukus üreten hücreler, döngüsel değişiklikler ile uyumlu olarak mukus üretirler. Serviksin mukus salgıları düzenli olarak değişir. Östrojen, mukusa daha ince ve daha alkali bir yapı kazandırarak spermin taşınması ve yaşaması için uygun ortamı oluşturur. Progesteron ise servikal mukusu kalın, yapışkan ve hücre içeren bir hale getirir. Ovulasyon anında mukus, en ince yapısında iken ovulasyondan sonra ve gebelik sırasında kalınlaşır (30,32).

2.5. ENDOMETRİAL HİPERPLAZİ

Endometrial hiperplazi, endometriumun proliferasyon fazına göre gland/ stroma oranının arttığı, glandların farklı şekil ve büyüklükte olduğu proliferasyondur. Reprodüktif dönemdeki kadınlarda hiperplazi daha nadirdir.

Endometrial hiperplaziler, Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) önerdiği şekilde, sitolojik ve yapısal değişikliklere göre, hiperplazilerin uzun dönem takipleri incelenerek sınıflandırılmıştır (33, 34).

Endometrial Hiperplazide Dünya Sağlık Örgütü Sınıflaması	
Hiperplazi Tipleri	Kansere İlerleme (%)
Basit Atipisiz Hiperplazi	1
Kompleks Atipisiz Hiperplazi	3
Basit Atipili Hiperplazi	8
Kompleks Atipili Hiperplazi	29

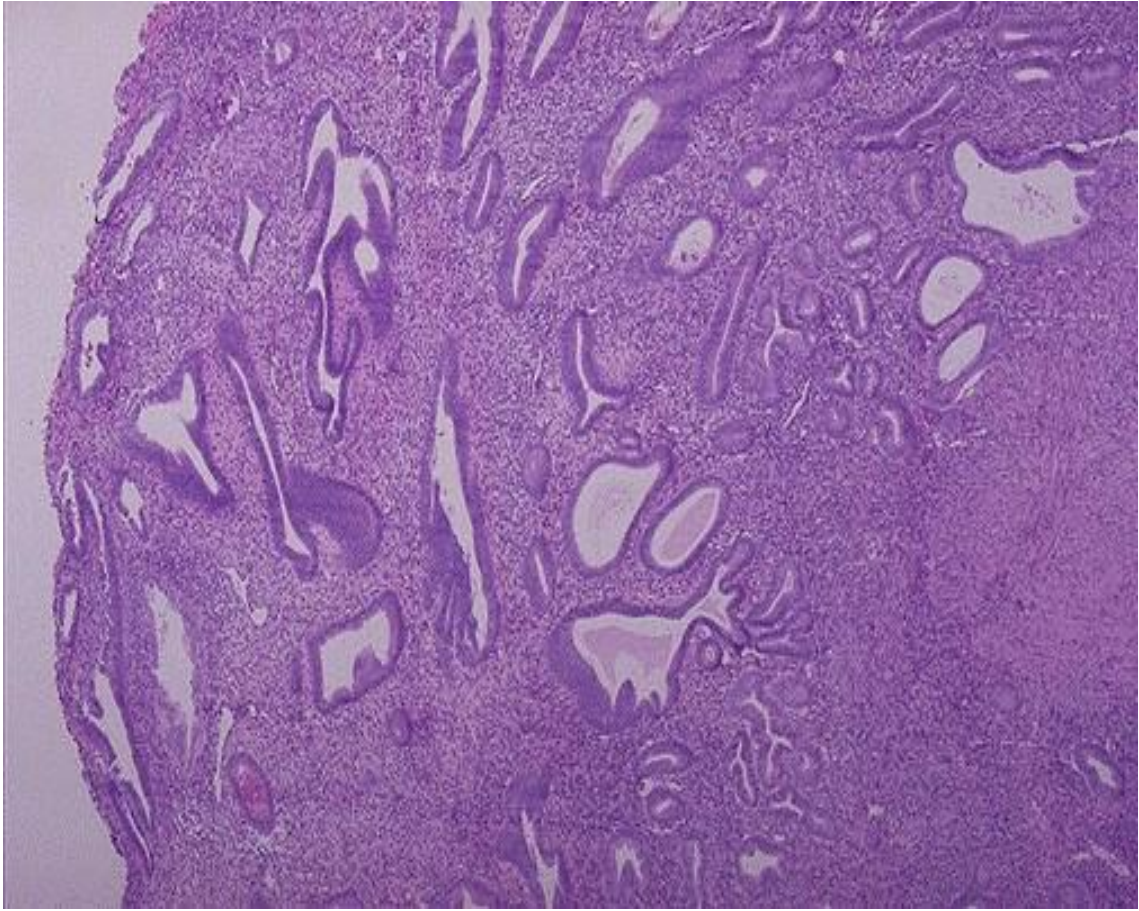
1. Atipisiz Hiperplaziler:

a) Basit Atipisiz Hiperplazi:

Hücreden zengin stroma içinde kistik, genişlemiş yer yer dallanma gösteren gland yapıları izlenir. Glandları döşeyen epitel hücreleri amfofilik sitoplazmalı, yalancı

çok katlı ve kolumnardır. Sitolojik atipi yoktur. Epitelyal hücreler oval, bazale yerleşmiş düzgün kontürlü, uniform nükleuslardan oluşur. Epitelyal hücrelerde sıralanma artışı görülebilir, iki-dört hücre tabakası arasında değişir. Mitoz değişkendir ve sıklıkla 10 büyük büyütme alanında beşten azdır (Resim 2).

Proliferatif endometriumdan farklı olarak stromal hücreler daha yoğundur. Stromal hücreler iğsi özelliklerini korurlar ve mitotik aktivite değişkendir (34,35).

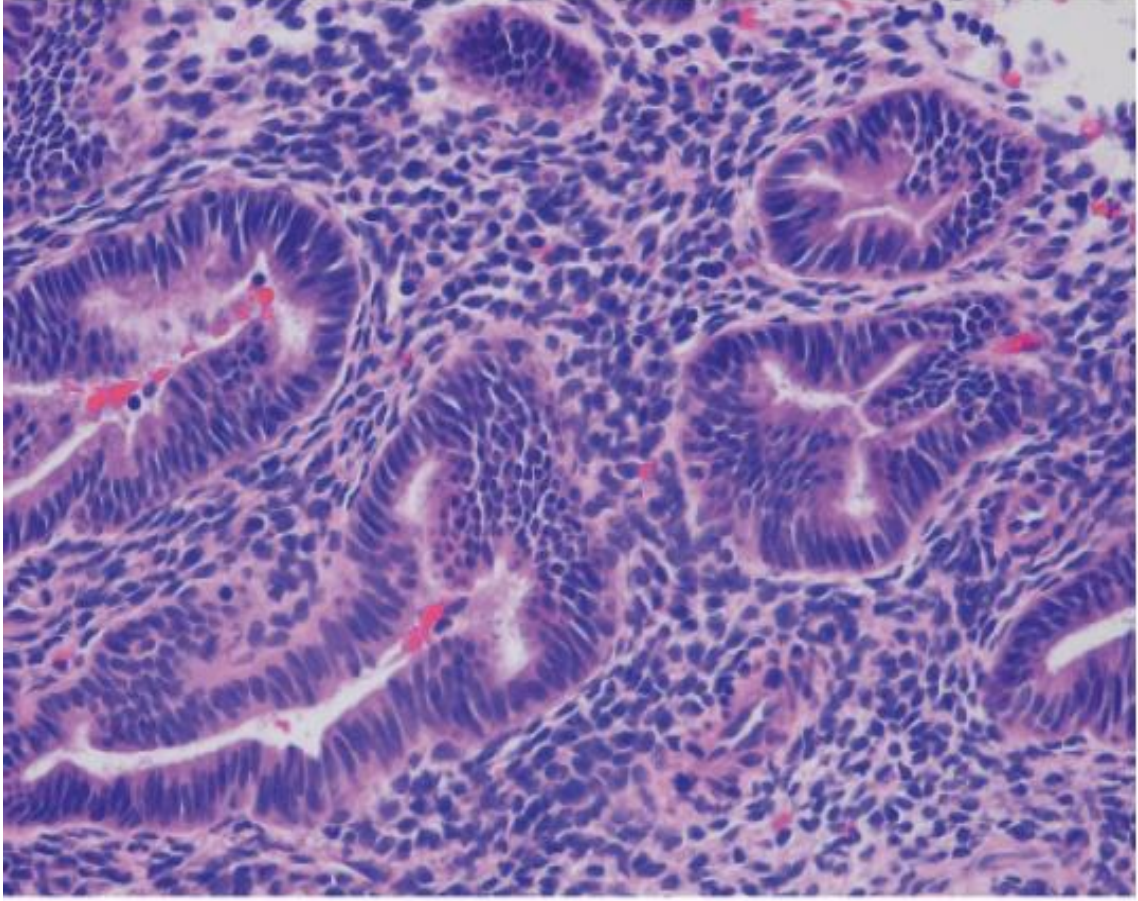


Resim 2. Basit Atipisiz Endometrial Hiperplazi

b) Kompleks Atipisiz Hiperplazi:

Kompleks hiperplazi arada sıkışmış iğsi hücrelerden oluşan çok az stroma ile dallanan ve tübüler yapıdaki glandlardan oluşur (Resim 3). Glandlardaki proliferasyon artışı kalabalıklaşmaya ve aradaki stromayı basıya uğratarak sırt-sırtı vermiş gland yapılarına neden olur. Belirgin sıralanma artışı gösteren kompleks hiperplazilerde

mitotik figürler belirsiz olabilir. Arşitektürel anomalinin derecesi arttıkça glandlar irregüler sınırlı kompleks, dallanmış ve lümene papiller girintiler yapmış haldedir.



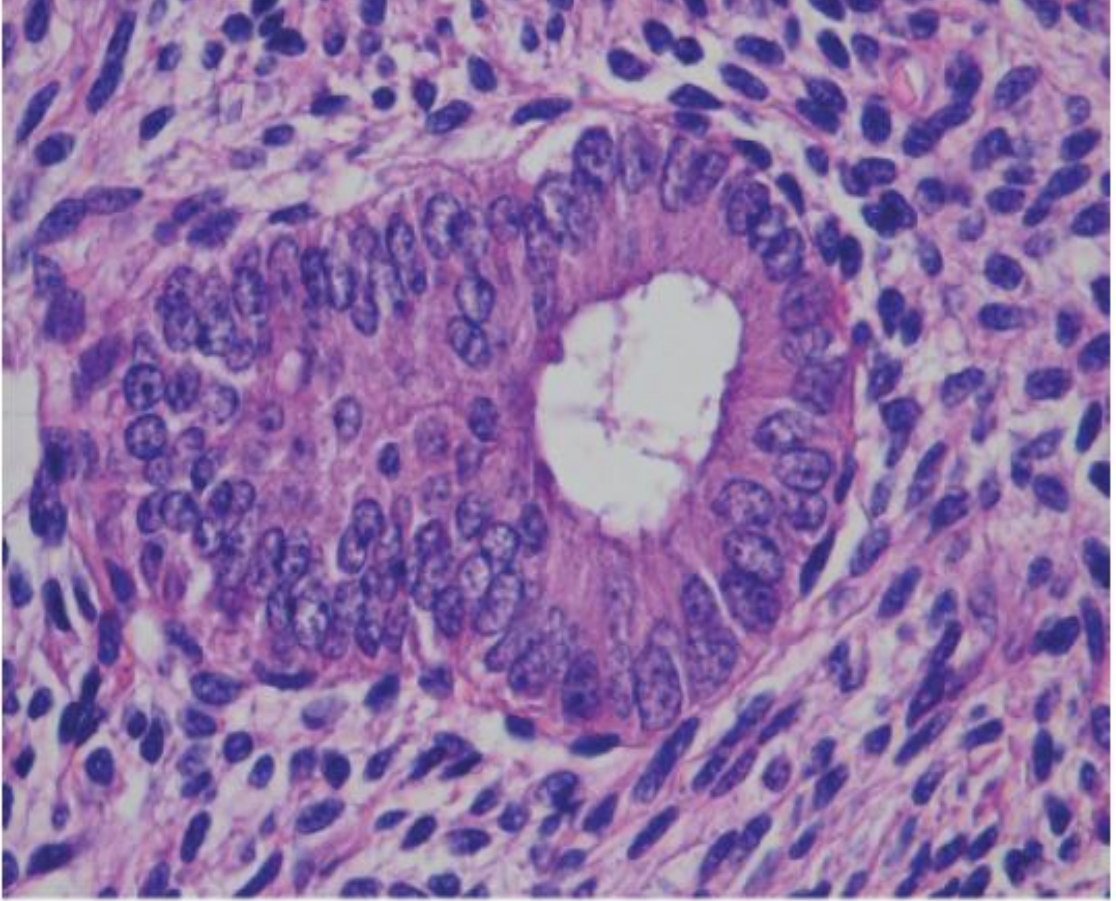
Resim 3. Kompleks Atipisiz Endometrial Hiperplazi

2. Atipili Hiperplaziler: Endometrial hiperplazilerin değerlendirilmesinde en önemli kriter; atipinin bulunmasıdır.

Nükleer atipisi olan hücreler sıralanması artmış, polarite kaybı gösteren ve nükleus/ sitoplazma oranı artmış olan hücrelerdir. Nükleus genişlemiş, düzensiz boyut ve şekilli, yoğun kromatin kümelenmesi içerir, kalınlaşmış irregüler nükleer membrana sahiptir ve belirgin nükleolusu mevcuttur. Nükleus, proliferatif endometrium ve atipisiz hiperplazilerle karşılaştırıldığında yuvarlak olmaya meyillidir. Sonuçta nükleus berrak ve veziküler görünüme sahiptir ve kromatin nükleer membran çevresine kümelenir. Atipik hücreler nadirse göz ardı edilebilir. Ayrıntılı aramada hücrel atipi belirginse atipili hiperplazi tanısı verilmelidir. Yapısal özellikler atipisiz basit ve kompleks hiperplazilerle benzerdir.

a) Basit Atipili Hiperplazi:

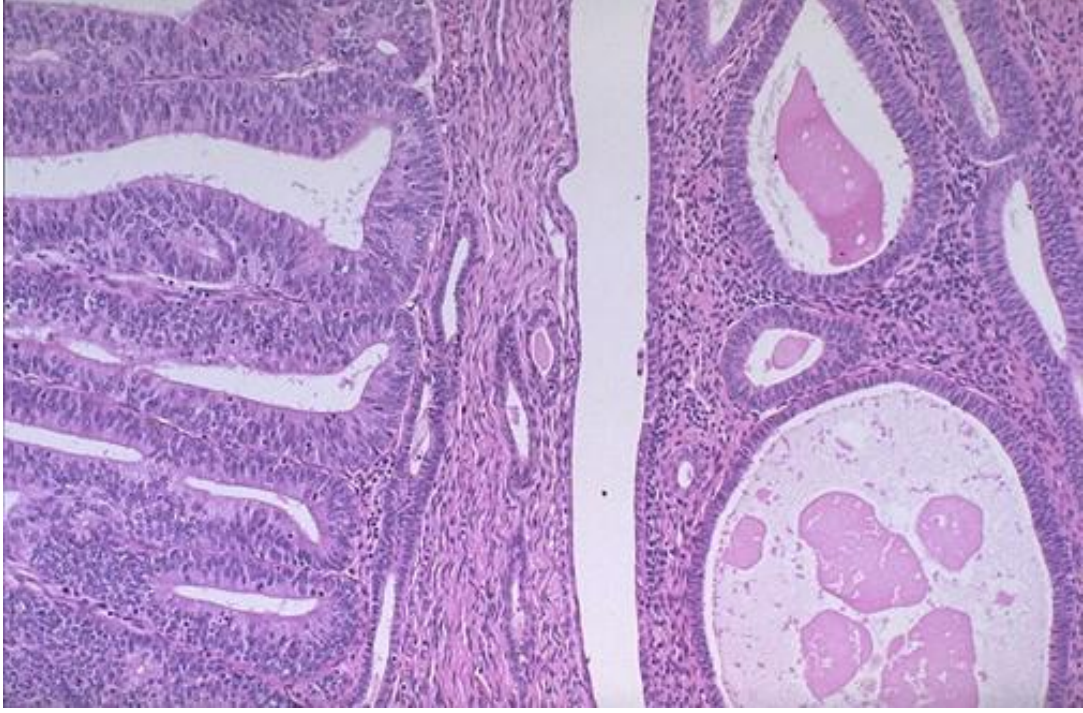
Basit hiperplazide sitolojik atipinin bulunmasıdır. Glandlar belirgin stroma ile ayrılırlar ve sırt-sırta vermiş glandlar bulunmaz (Resim 4).



Resim 4. Basit Atipili Endometrial Hiperplazi

b) Kompleks Atipili Hiperplazi:

Glandların sayısı artmıştır. Sırt sırta dizilim gösterirler. Düzensiz dallanmalar içerir ve hücrel atipi vardır (Resim 5). Glandlar kalabalıklaştığı için stroma azalmıştır. Epitelyal sıralanma artışı ve mitotik aktivite değişkendir. Papiller girintiler de görülebilir (34,35).



Resim 5. Kompleks Endometrial Atipili Hiperplazi

Ayrıcı Tanı

Endometrial hiperplazi; irregüler şekil ve boyutlu glandların proliferasyonu ve proliferatif endometriumla karşılaştırıldığında gland/ stroma oranında artışla ilişkilidir. Biyopside kistik endometrial glandların varlığı, hiperplazi tanısı için tek başına kriter değildir. Volüm artışı olmayan durumlarda basit tipte hiperplazi ile birlikte olabilmesine rağmen; bazı kistik endometrial glandlar hiperplazik olmayıp atrofik olabilir ve Ki-67 indeksi ile bu gösterilebilir (36). Bu durum kistik endometrial atrofi olarak bilinir.

Endometrial hiperplazi sıklıkla perimenopozal dönemde görülür. Bununla birlikte genç hastalarda; hatta adölesanlarda da görülebilir. Bazıları Stein- Leventhal Sendromu ya da östrojen üreten ovaryan tümörlerde östrojenik uyarı sonucu gelişebilir.

Atipili hiperplazi ile iyi diferansiye adenokarsinom vakaları arasındaki ayırım güç olmakla birlikte ayırıcı tanı, patern analiziyle yapılabilir. Mikroskopik olarak; belirgin pleomorfizm, polarite kaybı, düzensiz dizilmiş glandlarda kompleks dallanma, yaygın papiller yapılar, solid ya da kribriform görünümlü birbiriyle birleşen glandüler pattern,

glandüler lüminada polimorfonükleer lökosit ve nükleer debris görülmesi ve desmoplaziye neden olan irregüler stromal invazyon; karsinom lehinedir (37,38,39).

Hiperplazi ile karışabilen bir başka lezyon adenomatöz poliptir. Polipoid şekilli doku parçasında kalın duvarlı damarlar ve yoğun, fibrotik stroma bulunması ile polip tanısı verilir (40).

Sekretuar değişiklik, sekretuar endometriumda hücrel atipi ve yapısal anomalilerin bulunmasıdır. Normal siklusun 16. ve 17. gününde görülenlere benzer atipik glandlar mevcuttur. Bu değişiklik Arias-Stella reaksiyonu ve hormonla tedavi edilmiş konvansiyonel endometrial hiperplaziden ayrılmalıdır (41). Bu sınıflamadaki sorun, endometrium gibi hormonal düzensizlik, benign rejenerasyon ve metaplazi gösteren bir dokuda, nükleer sitolojik değişikliklerin sık görülmesi nedeniyle sitolojik atipi kriterlerinin uygulama zorluklarıdır (42,43).

Endometrial hiperplazilerin endometrioid adenokarsinoma progresyon riski sitolojik atipi ve yapısal kalabalıklıkla yakından ilişkilidir (44). Lacey ve ark.'nın (45) çalışmasında, atipisiz hiperplazilerin %2'den azı karsinoma ilerlerken, atipili hiperplazilerin %23'ünün karsinoma progrese olduğu belirtilmiştir.

Atipili hiperplazi ve iyi diferansiye karsinomun ayırımında gerekli ipucu myometrial invazyon riskinin tahminidir (46,47). İyi diferansiye adenokarsinom tanısı için histerektomi spesmenlerindeki kas invazyonu gösteren histolojik özellikler baz alınır. Ayırırda 2 önemli tanısal kriter mevcuttur;

1-Kompleks glandüler arşitektürel pattern (glandüler devamlılık, gland içindeki kompleksite ve papiller arşitektür),

2-Atipili hiperplazilerdeki gibi sitolojik atipi (küçük büyütmede belirgin makronükleolus ve belirgin nükleer pleomorfizm) (48).

Tablo 1. Myometrial invazyon riskine dayalı kompleks endometrial proliferasyonların klasifikasyonu.

Tanı	Histoloji	Myometrial invazyon riski(%)
Kompleks atipili hiperplazi	Düşük riskli sitoloji Ve Düşük riskli arşitektür	<0.05
Borderline endometrial proliferasyon (iyi diferansiye adenokarsinomun ekarte edilemediği atipili kompleks hiperplazi)	Yüksek risk arşitektür ($\geq$ %30) Veya Labirent benzeri veya kompleks non villöz papiller yapı bulunmaması Veya Yüksek riskli sitoloji	5.5
İyi diferansiye endometrial adenokarsinom	Yüksek riskli sitoloji Ve/veya düşük riskli arşitektür	20

Hiperplazi ve karsinomlarla metaplazi ve hücresel değişikliklerin ayrımı önemlidir. Östrojenik stimulusa proliferatif cevap veren hiperplazilerin aksine, metaplazi sitoplazmik diferansiasyon gösterir. Metaplastik değişiklikler; eozinofilik, silyalı hücre (tubal), skuamöz, sekretuar/ berrak ve müsinöz diferansiasyondur (35,44).

Hiperplazide glandüler sınırlar düzensiz, kompleks epitelde proliferasyonu gösteren sıralanma artışı mevcuttur. Tersine, metaplastik değişikliklerde glandüler sınırlar düzgün, tubüler yapıya sahip olup hafif kistik dilatasyon ve hafif glandüler düzensizlik görülebilir.

Hiperplaziyle ilişkili skuamöz ve eozinofilik değişiklik lümeni doldurup köprü oluşturabilir, ancak gerçek kribriform pattern oluşturmazlar. Müsinöz değişiklik kompleks papiller yapılar yapabilir ancak papillanın stroması normal endometrial stromadır. Epitelde sitolojik atipi bulunmaz. Hiperplazi ve metaplastik değişiklik birlikte görüldüğünde hiperplazi olarak sınıflanır ancak sitoplazmik değişikliğin tariflenmesi prognozu etkilemediği için gerekli değildir (35).

2.6. HİPERPLAZİ VE KARSİNOM ARASINDAKİ İLİŞKİ

Endometrioid tipte endometrial karsinomların çoğunun öncesinde hiperplazi evresi vardır. Atipili hiperplazilerde karsinom gelişimi daha olasıdır. (35) Kistik

değişiklikler eşlik eden basit hiperplazi vakalarında karsinoma dönüşüm riski çok düşüktür. Yirmi dört yıl takip edilen 544 premenopozal kadında karsinom gelişim riski %0.4'ten azdır. Aksine atipili kompleks hiperplazi bulunan kadınlarda karsinom gelişim riski %15-30 civarındadır (49).

Tavasoli ve Kraus (42); küretajda atipili hiperplazi (karsinoma in situ dahil) tanısı aldıktan 1-6 ay sonra çıkarılan 48 histerektomi örneğinde, iyi diferansiye adenokarsinom oranını %25 bulmuştur. Sadece bir vakada myometrial invazyon görülmüş olup 0,2 mm'dir. Diğer vakaların çoğunda persistan hiperplazi bulunmuştur.

Araştırmacılar karsinom tehlikesi nedeniyle atipili endometrial hiperplazinin medikal (progesteron) veya cerrahi (histerektomi) olarak tedavi edilmesi gerektiğini belirtmişlerdir.

Endometrial hiperplaziler ve iyi diferansiye adenokarsinom ayırımında çok sayıda çalışma yapılmıştır (42,50). Bir çalışmada proliferatif endometriumdan iyi diferansiye adenokarsinom arasında değişen 100 endometrial biyopsi ve küretaj spesmenlerinde atipisiz hiperplazi ve iyi diferansiye adenokarsinomlarda gözlemciler arasında önemli derecede anlaşma sağlanırken atipili hiperplazilerde orta derecede görüş birliği sağlanmıştır (42). Nükleer irileşme, veziküler değişiklik, nükleer pleomorfizm, kromatinde irregülerite, polarite kaybı, nükleusta yuvarlaklaşma, nükleolus varlığı gibi birçok özellik atipili hiperplazi ile ilişkilidir (51). Atipili hiperplazilerin atipisiz hiperplazilerden ayırımında en önemli özellik, nükleolus varlığıdır.

Karsinomun atipili hiperplaziden ayırımında stromal desmoplazi ve glandüler devamlılık önemli özelliklerdir (51).

Bazı araştırmacılar yapısal ve nükleer morfometrik özelliklerin kombinasyonunun hiperplazilerin endometrial kansere dönüşme riskinde daha yararlı olabileceğini ileri sürmüşlerdir (48,52).

Günümüzde birçok araştırmacı klonalitenin moleküler genetik analizine göre endometrial proliferasyonları 2 büyük gruba ayırmışlardır (53,54).

Anormal hormonal çevre-anovulatuvar siklusla birlikte olan karşılanmamış östrojenik uyarı veya eksojen östrojenik uyarıya karşı cevap olarak oluşan proliferasyonlar

poliklonaldır ve hiperplazi olarak adlandırılır. Monoklonal lezyonların ise karsinoma ilerleme yüzdeleri yüksektir ve EIN olarak adlandırılırlar.

Lacey ve ark.'nın (55) bir vaka kontrol çalışmasında EIN veya atipik endometrial hiperplazilerin karsinoma ilerleme riskleri benzer olarak bulunmuştur. Kurman ve ark. (35) progestin tedavisinin atipili hiperplaziler ve iyi diferansiye endometrial adenokarsinomlarını sıklıkla suprese edebilmesi EIN klasifikasyonuna adaptasyonu için iyi bir neden olmadığını belirtmişlerdir. WHO klasifikasyonundaki sitolojik atipinin EIN tanısı için gerekli olduğunu WHO klasifikasyonunun basitleştirilmiş versiyonunda 4 kategoriden ikiye düşürülmesi ise (hiperplazi ve atipili hiperplazi) EIN sistemi için avantaj sağlamamıştır. Gelecekte moleküler genetik çalışmalar bu lezyonların sınıflandırılmasında önemli rol oynayacaktır (35).

Kurman ve ark. (39) bir çalışmasında atipisiz hiperplazinin karsinoma progresyonunun 10 yıl, atipili hiperplazinin karsinom progresyonunun 4 yıl olduğunu belirlemişlerdir.

2.7. SURVİVİN

Survivin pek çok tümörde overekspresyonu saptanmış, son yıllarda yoğun araştırılan konulardandır. Survivin 16.5 kDa ağırlığında, BIRC5 geninde kodlanmış, BIRC5 proteini olarak da isimlendirilen apoptoz inhibitör ailesinden, normal dokuda ekspresyonu olmayan, tümörlü dokuda eksprese edilen bir proteindir. (56/57)

Kaspaza bağımlı hücre ölümünü bloke ederken proliferasyon ve damarlanma artışına sebep olur. Survivin hücre döngüsünde G2/M fazında bol miktarda eksprese olur. (58)

Küçük hücre dışı akciğer kanserinde (%83,5), kolorektal kanserde (%63,5), özefagial kanserlerde (%70,6), over kanserlerinde (%86), mide kanserlerinde (%34,5), meme kanserlerinde (%70,7), nöroblastomda (%47), hepatoselüler karsinomda (%60,5), endometrial karsinomlarda (%76) survivin ekspresyonu saptanmıştır. Survivin ekspresyonu bir çok çalışmada lokal yineleme, azalmış sağkalım, RT, KT ve hormonoterapi ajanlarıyla tedavide direnç gelişimi ile ilişkili bulunmuştur. (59, 60)

2.8. BCL-2

Bcl-2 geni 25 kDa proteinden oluşmaktadır. Apoptozisin istenmeyen hücrelerin eliminasyonunu sağlayan mekanizma olarak patofizyolojik olaylarda önemli bir rolü

vardır. Bu fonksiyonun kesintiye uğraması tümör gelişim mekanizmalarından birini oluşturur. Apoptotik süreci kontrol eden genlerden birisi bcl-2 ailesidir. Folliküler lenfomada t(14;18) translokasyonu bcl-2'yi aktive etmekte ve aşırı ekspresyonuna yol açmaktadır. Nonhematolojik malignitelerde de yüksek bcl-2 protein ekspresyonu tariflenmiştir.

Bcl-2 proteinleri mitokondriyal membran geçirgenliği ve proapoptotik mitokondriyal yolağı düzenleyen kritik proteinlerdir. Hücre nükleusu, mitokondri ve endoplazmik retikulumda bulunurlar. Hücre proliferasyonuna etki etmeden apoptozis inhibitörü olarak görev yaparlar.

Bcl-2, mitokondriyal ve nükleer membranlarda ve endoplazmik retikulumlarda bulunan bir proteini kodlayan 18. kromozomda yerleşik bir protoonkogendir. Apoptozu engelleyerek sağlıklı veya patolojik olan hücrelerin hayatta kalması için fonksiyon görür (61, 62, 63, 64, 65). Hormonal kontrol altında olduğuna inanılan bir antiapoptotik belirleyici olan Bcl-2, siklik endometriumda proliferatif fazda yüksek derecede gözlenirken, sekretuar fazda hızla azalmaktadır (66, 67).

Apoptozisteki artış, sekretuar fazda görülmeye başlarken, menstruasyondaki endometriumda en fazladır. Bu artış, apoptoza giden hücrelerdeki antiapoptotik olan Bcl-2 ve apoptotik olan Bax oranındaki azalışa bağlıdır. Bu orandaki değişiklik, hücre ölümündeki artıştan günler önce başlar. İn-vitro çalışmalarda hücre ölüm sinyalinin çok kısa bir zaman sonra apoptozun başladığı ileri sürülmektedir (68).

Hiperplazide Bcl-2 ekspresyonunun azaldığını bildiren bazı çalışmalar bulunmasına karşılık, genel olarak kabul edilen görüş Bcl-2'nin endometrial 29 hiperplazide kuvvetli pozitiflik gösterdiği yönündedir (63, 69). Bcl-2'nin normal endometriumda reaksiyon vermesi ve hatta hiperplazik endometriumda daha kuvvetli boyanma göstermesi, Bcl-2 ekspresyonunun hormonal kontrol altında olduğunu da göstermektedir (61, 63)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma TTU-2016-6617 nolu proje olarak Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Araştırmada ağırlıkları 180-260 g olan 8 haftalık dişi Wistar-Albino ratların Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kuruluna ve dünya hayvan hakları bildirgesine uygun olarak yapılmış olan histerektomi materyallerinden önceki bir çalışma için elde edilen hazır bloklar kullanıldı. Bahsi geçen hazır blokların elde edildiği ratlar, önceki çalışmalar ile 17 β Estradiolhemihydrate ile 10 günlük medikasyon sonrası endometrial hiperplazi geliştiği kanıtlanmış olduğu için, 20 gün boyunca 4mg/kg 17 β estradiolhemihydrate aralıksız vererek endometrial hiperplazi gelişimi indüklenmiş olduğu deneklerdir.

Hazır bloklar toplam 3 grup rata ait bloklardan oluşmaktadır. İlk grup, ratların medikasyonunun 10. gününde 12 rattan oluşan Östradiol+ Metformin (E+M) grubuna 4mg/kg 17 β Estradiolhemihydrate'a ek olarak 50 mg/kg metformin verilmiş grup, 2. Grup 13 rattan oluşan Östradiol+Progesteron (E+P) grubuna 17 β Estradiolhemihydrate'a ek olarak 1mg/gün Medroxiprogesteron verildiği gruptaki 12 rata ait bloklardan oluşan grup; 3. Grup olan 11 rattan oluşan Östradiol (E) grubu ise 20 gün boyunca sadece 17 β Estradiolhemihydrate alan grubun bloklarından oluşmaktadır.

Formalin fikse parafine gömülü dokulardan 5 mikronluk kesitler yapıldı ve dokular poli-L-lizinle kaplı lamlara alındı. Kesitler 60 °C lik etüvde bir saat bekletildikten sonra 15 dakika ksilol ile deparafinize edildi. Derecesi giderek azalan alkollerden geçirilerek hidrate edilip distile suda yıkandı.

Primer antikorlar Bcl-2 (Santa Cruz, klon sc-7382 (C-2), 1/25 dilüsyonda, 120 dakika) ve primer antikor Survivin (SantaCruz, klon sc-17779(D-8), 1/100 dilüsyonda, 120 dakika) kullanılarak Ventana BenchMark XT marka otomatik boya cihazı ile boyama gerçekleştirildi.

Otomatik boyama cihazında boyanan preperatlar derecesi gittikçe artan alkollerden sırasıyla 5'er dakika geçirildikten sonra 15 dakika ksilolde bekletildi. Kapatma solüsyonu ile kapatıldı. Pozitif kontrol olarak Bcl-2 ve Survivin için tonsil dokusu kullanıldı.

Hazırlanan kesitler ışık mikroskopunda incelendi. İmmunohistokimyasal değerlendirmede Bcl-2 için nükleer ve sitoplazmik, Survivin için de yine nükleer ve sitoplazmik boyanma pozitif kabul edildi. Nikon marka E600 modeli mikroskop kullanılarak sonuçlar değerlendirildi. Dokuda boyanan tümör hücreleri olmaması durumunda; ekspresyon negatif, tümör hücrelerinde herhangi bir yüzdelik oranda boyanma olması durumunda ekspresyon pozitif olarak kabul edildi. Bulguların istatistiksel olarak değerlendirilmesi SPSS (Scientific Packagefor Social Sciences) 15.0 programı ile yapıldı. Gruplar arasında immünohistokimyasal ekspresyonları Ki-Kare test metodu kullanılarak karşılaştırıldı ve 0,05'in altındaki p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışma toplam 36 rat uterusundan hazırlanmış bloklardan ve 3 gruptan oluşturuldu. Gruplarda Östradiol (E) alan kontrol grubunda 11, Östradiol ile Metformin (E+M) alan grupta 12 ve Östrodiol ile Medroksiprogesteron asetat (E+P) alan grupta 13 rat bulunmaktaydı.

Sadece Östradiol (E), Östrodiol ile Metformin (E+M) ve Östradiol ile Medroksiprogesteron asetat (E+P) alan gruplar Bcl-2 ve Survivini immünohistokimyasal olarak eksprese etmeleri açısından kıyaslandı.

Bcl2 ekspresyonu: Yalnızca Östradiol verilen grupta 5 olguda (%45.5) boyanma tespit edilmezken, 6 olguda (% 54.5) oranında boyanma görüldü. Östrojen ve Progesteron alan grupta 11 olguda (%84.6) boyanma tespit edilmezken, 2 olguda (% 15.4) oranında boyanma görüldü. Östrojen ve Metformin alan grupta 11 olguda (% 91.7) boyanma tespit edilmezken, 1 olguda (% 8.3) oranında boyanma görüldü (Tablo 1). Her üç grup kendi içinde Bcl-2 immünohistokimyasal ekspresyonu açısından karşılaştırıldığında, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). Yalnızca E alan grup ile, E+P alan grup kıyaslandığında Bcl-2 immünohistokimyasal boyanması açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0.05$). Yalnızca E alan grup ile, E+M alan grup kıyaslandığında Bcl-2 immünohistokimyasal boyanması açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0.05$). Ancak E+P alan grup ile, E+M alan grup kıyaslandığında Bcl-2 immünohistokimyasal boyanması açısından istatistiksel

olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). Grupların Bcl-2 ile immünohistokimyasal boyanma oranları Tablo 1’de gösterilmiştir.

	Grup			Toplam	p<0.05
	E	E+P	E+M		
Bcl-2 ile (+) boyanma	6 ^a % 54.5	2 ^b % 15.4	1 ^b % 8.3	9 % 25	
Bcl-2 ile (-) boyanma	5 % 45.5	11 % 84.6	11 % 91.7	27 % 75	
Toplam	11 %100	13 %100	12 %100	36 %100	

Survivin ekspresyonu: Yalnızca Östradiol verilen grupta 7 olguda (%63.6) boyanma tespit edilmezken, 4 olguda (% 36.4) oranında boyanma görüldü. Östrojen ve Progesteron alan grupta 11 olguda (%84.6) boyanma tespit edilmezken, 2 olguda (% 15.4) oranında boyanma görüldü. Östrojen ve Metformin alan **grupta** 10 olguda (%83.3) boyanma tespit edilmezken, 2 olguda (% 16.7) oranında boyanma görüldü (Tablo 2). Her üç grup Survivin immünohistokimyasal ekspresyonu açısından karşılaştırıldığında, arada istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$). Grupların Survivin ile immünohistokimyasal boyanma oranları Tablo 2’de gösterilmiştir.

	Grup			Toplam	p>0.05
	E	E+P	E+M		
Survivin ile (+) boyanma	4 % 36.4	2 % 15.4	2 % 16.7	8 % 22.2	
Survivin ile (-) boyanma	7 % 63.6	11 % 84.6	10 % 83.3	28 % 77.8	
Toplam	11 %100	13 %100	12 %100	36 %100	

5. TARTIŞMA

Endometrial hiperplazinin kansere dönüşümü değerlendirildiğinde hücre döngüsü, gen polimorfizmi, protoonkogen ve onkogenler ile apoptotik süreç önem kazanmaktadır. G1, S, G2 ve M evrelerinden oluşan hücre döngüsünün bir evresinden diğerine geçişi döngüye özel olan siklin proteinleri ile denetlenir. G1/S fazının denetlenmesi siklinlere bağlanan ve döngü boyunca aktivasyondan sorumlu olan siklin-bağımlı kinaz kompleksi ve bu kompleksin inhibitörleri ile sağlanır. Endometrial hiperplazi tedavisinde kullanılan progesteronun antimitotik özelliği yani G1 fazında mitotik aktiviteyi bloke etmesi bilinen en önemli tedavi mekanizmalarından biridir. G1 in ilerleyişinden sorumlu en önemli tümör baskılayıcı gen Retinoblastoma (Rb) genidir. Aktif hale gelmesiyle birlikte G1 evresinden S evresine geçiş için gerekli siklin A, siklin E, siklin bağımlı kinaz, dihidrofolat redüktaz ve timidin kinaz gibi enzimlerin kontrolünü sağlamaktadır. Hücre döngüsünün diğer bir düzenleyicisi tümör süpresör p53 genidir. DNA hasarına yanıt olarak p53 aktive olarak hücre döngüsünü durdurarak DNA onarımını sağlar. DNA hasarı onarılamayacak kadar fazlaysa apoptosis süreci başlatılır. p53 DNA hasarına yanıt olarak siklin bağımlı kinaz inhibitörlerinden olan p21 proteini ile etkisini sağlar. Programlı hücre ölümü olan apoptozis hücrel devamlılığın ve hücre eliminasyonunun sağlanması için gerekli fizyolojik bir olaydır. Bu süreçte ki proapoptotik ve antiapoptotik genlerin birçok kanserle ilişkisi bilinmekle beraber, bu genlerin ekspresyonları ile kanser prognozunun belirlenmesine dair güncel çalışmalar yapılmaktadır. Apoptozisin azalması tümör oluşumu ile sonuçlanacağından apoptozisi negatif düzenleyen genlere onkogen, pozitif düzenleyici genlere de tümör süpresör genler denilmektedir. Apoptozisin süreci intrinsik ve ekstrinsik iki mekanizmayla sağlanır. İntrinsik yolağın düzenlenmesinde mitokondri önemli rol oynamaktadır.

Burada mitokondrinin aktivasyonunda rol oynayan en önemli faktör Bcl-2 ailesidir (70,71). Ekstrinsik yolak ise hücre ölüm reseptörleri olan Fas (diğer isimleriyle APO-1, CD95) ve tümör nekroz faktör reseptörü-1 (TNFR-1)'in ilgili ligandlar ile etkileşime girerek apoptozisi uyarması ile sağlanmaktadır (72).

Apoptozisin intrinsik yol regülasyonu Bcl-2/Bax ailesiyle sağlanmaktadır (73). Bu ailenin yaklaşık 20 üyesi tanımlanmıştır (74,75). Bcl-2 proteinlerinin bir grubu apoptozisi inhibe (anti-apoptotik) eder, diğeri ise aktive eder (pro-apoptotik). Pro-apoptotik moleküllerden oluşan grup içinde BH3 only proteinleri olarak isimlendirilen alt grup vardır. (72)

Bcl-2, Bad ve Bax gibi pro-apoptotik proteinler mitokondri membranı ile doğrudan ilişki kurarak mitokondri üzerinden etkilerini gösterirler. Mitokondri dış membranı üzerinde biraraya gelen Bcl-2 ailesinden Bax ve Bad molekülleri mitokondri dış membranında bir transmembran por oluşturur. Bax ve Bad proteinleri sitoplazmada bulunur. Apoptotik sinyalin alınmasından sonra Bax ve Bad proteinleri mitokondri zarının permeabilite geçiş poruna doğru yönelip burada transmembran por oluştururlar. Bu olay BH3 only proteinlerinden Bid ve Bim tarafından indüklenir. Transmembran porun yapısını bozarak sitokrom-c' nin mitokondriden sitoplazmaya salınmasını sağlar. Sitoplazmaya serbestlenen Sitokrom c sitoplazmada prokaspaz-9, Apaf-1 ve ATP ile kompleks oluşturarak apoptozom kompleksini meydana getirir. Halkasal kompleks içerisinde CARD adı verilen bir domain bulunur. Apaf-1 bir kofaktör proteindir ve prokaspaz-9 aktivasyonu için gereklidir. Kaspaz-9 intrinsik yolağın anahtarıdır ve başlatıcı kaspazıdır. Kaspaz-9 aktivasyonundan sonra kaspaz 3, 6 ve 7 aktive olur ve apoptozis süreci başlar (76,77). Bcl-2 ve Bax oranının hücre siklusunun düzenlenmesinde anahtar rol oynadığı yapılan birçok güncel çalışmada gösterilmiştir. Oranlamada Bcl-2 gen ekspresyonunun artması hücrenin yaşamını sürdürmesini sağlarken, Bax gen ekspresyonunun artmasıyla siklus hücre apoptozisi ile sonuçlanmaktadır (78).

Endometrium, meme ve kolorektal kanserler değerlendirildiğinde fizyolojik olarak benzer reseptörler taşımaları, ailesel kanserlere bakıldığında birliktelik göstermeleri ve benzer genlerin aktivasyonu ile malignitelerinin gelişmesinden dolayı, literatürdeki

meme ve kolorektal kanser için yapılan çalışmalar endometrium kanseri içinde yol gösterici olmaktadır.

Khodapasand ve ark. kolorektal adenokarsinom tanısı alan 22 hastada Bcl-2 ve Bax gen ekspresyonları ve Bcl-2/Bax oranları değerlendirilmiştir. Bcl-2/Bax oranının kolorektal adenokarsinomda anlamlı olduğu, oranın yüksek olduğu hastalarda daha agresif tümör geliştiği gösterilmiştir (79). Kolorektal adenokarsinom tanısı alan ve kolon kanserinde kemoterapötik olarak kullanılan Triphala ekstraktı adı verilen kemoterapötik ajanın Bcl-2/Bax ve c-myc/siklin D1 oranları üzerine olan etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada Bcl-2 gen ekspresyonunun azaldığı ve Bcl-2/Bax oranının anlamlı şekilde azaldığı gösterilmiştir(80). Östrojen reseptörü pozitif meme kanseri tanısı alan hastaların değerlendirildiği çalışmada hastaların %85'inde Bcl-2 geninin aşırı eksprese olduğu ve östrojen reseptör pozitifliği ile Bcl-2 gen ekspresyonunun korelasyon gösterdiği, tedavide yeni hedef olarak Bcl-2 geni üzerinde durulması gerektiği savunulmuştur (81).

Endometrium üzerine yapılan çalışmalarda endometrial kanser tanısı alan 1028 hastada Bcl-2, Bad ve Bax gen ekspresyonları ile kanserin progresyonu ve prognozu karşılaştırılmıştır. Daha agresif ve hızlı progresyon gösteren hastalarda Bcl-2 gen ekspresyonunun fazla olduğu saptanmıştır (82). Tommi E. ve ark. çalışmalarında normal endometrium, endometrial hiperplazi ve endometrial karsinomu olan hastalarda Bcl-2, Bax ve Bad genlerinin ekspresyonları değerlendirmişlerdir. Çalışmada Bcl-2, Bax ve Bad genlerinin normal ve hiperplazi gelişen endometrial dokuda da eksprese olduğunu, endometrial kanser gelişen durumlarda ise Bcl-2 ekspresyonunun artıp Bax ve Bad gen ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir (83).

Appel ve ark. çalışmalarında endometrium kanseri tanısı alan 98 hasta değerlendirildiğinde Bcl-2 gen ekspresyonunun klinik stage ve survey ile ilişkili olduğu, Tip 2 endometrium kanserinde Tip 1 endometrium kanserine oranla daha fazla eksprese olduğu gösterilmiştir. Farklı bir çalışmada P53 ve Bcl-2 gen ekspresyonlarının histolojik tip, tümör grade'i, myometrial invazyon derinliği ve lenf nodu pozitifliği ilişkisi değerlendirilmiştir. 48 endometrial kanser tanısı alan hasta primer cerrahi tedavileri sırasında değerlendirmiş P53 ekspresyonu %39,6, Bcl-2 ekspresyonu %58,3 olarak hesaplanmıştır. P53 ekspresyonu ile undiferansiye tümör ve lenf nodu pozitifliği arasında anlamlı ilişki tespit edilirken Bcl-2 ekspresyonu ile belirtilen parametreler arasında ilişki

saptanmamıştır (84). Vereide ve ark. yaptıkları çalışmada endometrial hiperplazi tanısı alan 57 hastanın 26'sına intrauterin levonorgestrel içeren rahim içi araçlar ile tedavi planlanırken diğer 31 hastaya yüksek doz medroksiprogesteron asetat ile tedavi başlanmıştır. Tedavi öncesi ve sonrası Bcl-2, Bax ve Bad genlerinin ekspresyonları değerlendirilmiş ve progesteron tedavisi sonrası Bcl-2 gen ekspresyonunda anlamlı oranda down regülasyon, Bax ve Bad genlerinde up regülasyon izlenmiştir (85).

Literatürdeki çalışmalarda, endometrial hiperplazi tedavisinde kullanılan progesteronun Bcl-2, gen ekspresyonu ile Bcl-2/Bax oranına etkisi kanıtlanmıştır. Bu tez çalışmasında da, endometrial hiperplazi tedavisinde kullanılan progesteronun endometrial dokuda Bcl-2 immünohistokimyasal ekspresyonunu anlamlı şekilde azalttığını, metforminin ise progesterona benzer şekilde Bcl-2 ekspresyonunu azaltarak apoptosisi uyardığını gösterdik.

Genetik çalışmalar sonucunda kısa süre önce bulunan ve BIRC5 olarak bilinen Survivin, apoptoz inhibe edici proteinler ailesindendir. 17q25 kromozomda yer alan Survivin geni, 3 intron ve 4 ekzondan meydana gelen 142 aminoasitlik bir proteini kodlar. Bu güne kadar 8 (BIRC1-8) adet rapor edilen bu anti-apoptotik proteinler, başlatıcı kaspaz-9 ve efektör kaspaz 3 ve kaspaz 7'yi inhibe ederek apoptozisi inhibe ederler. Survivin geni yapısında sadece BIR (baculovirus IAP repeat) domaini içermesi, RING ve CARD (caspase activation recruitment) domainini içermemesi sebebi ile diğer anti-apoptotik genlere göre farklılık arz eder. Hücre döngüsünün G2/M fazına etki ederek hücrenin mitoz bölünmesini uyarır. Survivin geninin en önemli özelliklerinden biri kanser dokusunda normal dokuya göre çok daha fazla eksprese olmasıdır. Genellikle embriyonik dokuda ve fetal dokuda eksprese edilen Survivinin normal dokuda ekspresyonu tayin edilemeyecek kadar azdır.

Literatürde Survivin ekspresyonu ile birçok malignitenin ilişkisi gösterilmiştir. Survivinin normal hücrelerde bulunmadığı, endometrial hiperplazi ve endometrium kanserinde aşırı eksprese olduğu bilinmektedir. Akciğer, mesane, kolorektal, endometrial, meme, ösefagial, mide, hepatoselüler, pankreas ve renal hücreli karsinomda Survivinin ekspresyonu ve Survivin gen polimorfizmi tespit edilmiştir (86). Endometrial hiperplazide ve endometrium kanserinde Survivin ile ilgili az sayıda

Çalışma bulunsa da meme, kolorektal ve mide kanserindeki sonuçlar endometrium kanseri üzerine yapılacak çalışmalar için yol göstericidir.

Kolorektal kanserlerde Survivin ve anjiyotensin- converting enzim (ACE) polimorfizmi ile kolorektal kanser ilişkisi değerlendirilmiştir. Meta-analizde 2000-2014 yılları arasında yayınlanan toplam 11 çalışma gözden geçirilmiş ve 1840 hasta analiz edilmiştir. Survivin'in -31G/C ve ACE I/D polimorfizmi ile kolorektal kanser gelişimi ilişkili bulunmuştur. Aynı şekilde -31G/C promotor bölgesindeki polimorfizm ile mide kanseri ve hepatik kanser gelişimi ilişkili bulunmuştur (86). Mide kanseri tanısı alan 2695 hastada hem immünohistokimyasal hemde real time PCR ile survivin'in gen ekspresyonu değerlendirilmiş olup Survivin'in mide kanserinde anlamlı olarak eksprese olduğu ve mide kanseri için prognostik faktör olabileceği savunulmuştur. A. Brunner ve ark. 106 endometrial kanser tanısı alan (81 hasta tip 1 endometrium kanseri, 18 hasta tip 2 endometrium kanseri) hastada Survivin gen ekspresyonunu değerlendirmişlerdir. Tip 2 endometrium kanseri olan ve yüksek grade tümör tanısı olan hastalarda Survivin gen ekspresyonunun daha fazla olduğu gösterilmiştir (87). Xiaojun ve ark. endometrial hiperplazi tanısı alan 23 hastaya 4 ay süre ile progesteron tedavisi verip tedavi sonrası hiperplaziyi yeniden değerlendirmişlerdir. Tedavi sonrası 8 hastada endometrial değişiklikler persiste etmiştir. Persiste değişiklikleri olan 8 hasta için immunohistokimyasal olarak Survivin ekspresyonu değerlendirilmiş ve Survivin gen ekspresyonunun anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir (88). Çalışmamızda ise Survivin immünohistokimyasal ekspresyonu açısından Progesteron ve Metformin tedavisi alan grupların, yalnızca östradiol verilen grup ile kıyaslanmasında anlamlı farklılık izlenmedi. Bu sonuçlar, bahsedilen çalışmalardakine göre daha kısa süreli tedavi verilmesine bağlanabilir.

Metformin ile ilgili son yıllarda yapılmış çalışmalarda metforminin aromataz enzim inhibisyonuna bağlı olarak bu enzim aktivasyonunun yüksek olduğu alanlarda östrojenin etkisini azalttığı gösterilmiştir. Metformin ayrıca SHBG seviyelerini arttırıp dolaşımdaki estradiol seviyelerinin sistemik olarak da azalmasına neden olmaktadır (89). Metformin ile yapılan bir rat modeli çalışmasında endometrial hiperplaziyi regrese ettiği gösterilmiştir (90). Ayrıca PKOS'lu hastalarda yapılmış bir çalışmada metformin kullanan hastalarda endometrial proliferasyonun azaldığı ve dolaşımdaki

östrojenin normal seviyelere düştüğü tespit edilmiştir (91). Başka bir çalışmada ise metforminin PKOS'lu hastalarda hiperinsulineminin neden olduğu aromataz enzim ve lokal Östrojen artışına bağlı oluşan endometrial hiperplazileri ve kanseri önleyebileceğini ortaya koymuştur.

Çalışmamızda metforminin tüm bu bilinen etkilerine ek olarak, apoptozisin regülasyonunda önemli rol oynayan ve hücrenin apoptozise uğrayıp uğramayacağını belirleyen Bcl'yi anlamlı şekilde azaltarak hücreyi oluşabilecek anormal hücre çoğalmasına karşı apoptozise yönlendirdiğini tespit ettik.

Bu çalışmada ayrıca progesteronun gen ekspresyonu üzerine bilinen bu etkisi ile metforminin bu genlerin ekspresyonu üzerine olan etkisini karşılaştırmayı amaçladık. Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda endometrial hiperplazi tedavisinde kullanılan progesteronun endometrial dokuda Bcl-2 ekspresyonunu anlamlı şekilde azalttığını, metforminin ise progesterona benzer şekilde Bcl-2 oranını azaltarak apoptozisi uyardığını gösterdik.

Bu bilgiler ışığında progesterona göre benzer histopatolojik regresyon sonuçları sağlayan metformin tedavisinin moleküler düzeyde progesterona eşdeğer biçimde apoptozisi indüklediği görülmektedir. Özellikle hiperplazi ve malignite riskinin yüksek olduğu gerek premenopozal gerekse menopoş dönemi kadınlarında progesterona alternatif olabileceği gösterilmiştir. Böylece ek medikal problemler nedeniyle hormon tedavisi kontraendike olan ya da eşlik eden obezitesi nedeniyle malignite riski yüksek olan kadın gruplarında gerek tedavi gerekse de tedavide metforminin güçlü bir alternatif olarak göz önünde bulundurulabilir. Özellikle metforminin Bcl-2 üzerine olan olumlu etkisi göz önüne alınacak olur ise hiperplaziye ek olarak atipisi olan ve olmayan gruplar ile hiperplazinin devam ettiği ve etmediği hastaların karşılaştırılacağı çalışmalar metformin tedavisinin Survivin gen ekspresyonu üzerine olan etkisini daha net ortaya koyacaktır.

6. SONUÇLAR

1. Endometrial hiperplazi tedavisinde kullanılan progesteronun endometrial dokuda Bcl-2 gen ekspresyonunu ve dolaylı olarak hücre çoğalmasının belirleyicisi olan Bcl-2 ekspresyon düzeyini anlamlı şekilde azalttığını böylelikle apoptozisi uyarak hiperplaziyi moleküler düzeyde regrese ettiğini tespit ettik.
2. Endometrial hiperplazi tedavisinde kullanılan metforminin progesterona benzer şekilde Bcl-2 immünohistokimyasal ekspresyonunu azaltarak bilinen etkilerine ek olarak moleküler düzeyde apoptozisi uyarak hiperplaziyi regrese ettiğini gösterdik.
3. Endometrial hiperplazide metformin ve progesteron tedavisinin survivin gen ekspresyonunu üzerine etkisi değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edilmedi.
4. Progesteron tedavisi alan grup ile, Metformin tedavisi alan grup kıyaslandığında Bcl-2 ve Survivin immünohistokimyasal boyanması açısından anlamlı fark saptanmadı.

KAYNAKLAR

1. Bengisu E, Ermiş H: Endometriyal Hiperplaziler. Jinekolojik Onkoloji 1996;312-35.
2. Woodruff JD, Pickar JH: Incidence of endometrial hyperplasia in postmenopausal women taking conjugated estrogens (Premarin) with medroxyprogesterone acetate or conjugated estrogens alone. Am J Obstet Gynecol. 1994; 170: 1213-23.
3. Smith-Bindman R, Kerlikowske K, Feldstein VA, Subak L, Scheidler J, Endovaginal ultrasound to exclude endometrial cancer and other endometrial abnormalities 1998; 280: 1510-7.
4. Oner G, Ozcelik B, et al. The effects of metformin and letrozole on endometriosis and comparison of the two treatment agents in a rat model. 2010 April;25(4):932-7.
5. Takemura Y, Osuga Y, et al. Metformin suppresses interleukin (IL)-1 β -induced IL-8 production, aromatase activation, and proliferation of endometriotic stromal cells. J Clinical Endocrinol 2007;92:3213–3218.
6. Management of Endometrial Hyperplasia: A Survey of Members of the Korean Gynecologic Oncology Group. 2015 Jun 9.
7. Erdemoglu E, Güney M, Giray SG, Take G, Mungan T. Effects of metformin on mammalian target of rapamycin in a Mouse model of endometrial hyperplasia. Eur J Obstet Rep Bio. 2009; 145: 195-199.
8. Moore, K.L. (1998) The Developing Human: Clinically Oriented Embryology. (6th edition). Amerika: Saunders Company, 323-339.
9. Sadler, T.W. (2011). Langman's Medikal Embriyoloji.(Çev. C. Başaklar). Ankara: Palme Yayıncılık. (Eserin orijinali 2010'da yayımlandı.). 246-254.
10. Snell, R.S. (1983). Clinical Embryology for Medical Students.(3rd edition). Boston: Little, Brown and Company, 215-219

11. Sant, S. (2008). Embryology for Medical Students.(2nd edition). India: Jaypee, 258- 260.
12. Şeftalioğlu, A. (1998). Genel ve Özel İnsan Emriyolojisi.(3.baskı). Ankara: Tıp ve Teknik Yayıncılık, 356.
13. Sweeney, L.J. (1998). Basic Concepts in Embryology: A Student's Survival Guide.(1st edition). Amerika: Better Graphics, 364.
14. Moore, K.L., Persaud, T.V.N. and Torchia, M.G. (2009).Before We Are Born: Essentials of Embryology and Birth Defects.(Çev. S. Müftüoğlu, P. Atilla ve F. Kaymaz). Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri. (Eserin orijinali 1974'te yayımlandı.). 179-185.
15. Sweeney, L.J. (1998). Basic Concepts in Embryology: A Student's Survival Guide.(1st edition). Amerika: Better Graphics, 364.
16. Moore, K.L. and Dalley, A.F. (2007). Kliniğe Yönelik Anatomi.(Çev. K. Şahinoğlu). Ankara: Nobel Tıp Kitapevleri. (Eserin orijinali 1999'da yayımlandı.). 374-378.
17. Sancak, B. ve Cumhur, M. (2010). Fonksiyonel Anatomi. (5.baskı). Ankara: ODTÜ Yayıncılık, 302-303.
18. Cumhur, M. (2001). Temel Anatomi. (1.baskı). Ankara: ODTÜ Yayıncılık, 283.
19. Yıldırım, M. (2003). İnsan Anatomisi. (6.baskı). Ankara: Nobel Tıp Kitapevleri, 218
20. Snell, R.S. (2004). Klinik Anatomi.(Çev. M. Yıldırım). Ankara: Nobel Tıp Kitapevleri. (Eserin orijinali 2000'de yayımlandı.). 332.
21. Dere, F. (1994). Anatomi.(3.baskı). Adana: Genel Dağıtım, 693-700. 29. Ozan, H. (2004) Anatomi.(2.baskı). Ankara: Nobel Tıp Kitapevleri, 198
22. Ovalle, W.K. and Patrick, C.N. (2009). Netter Temel Histoloji.(Çev. S. Müftüoğlu, P. Atilla ve F. Kaymaz). Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri. 412-417.
23. Ross, M.H., Romrell, L.J. and Kaye, G.I. (1995). Histology A text and Atlas. (3rd edition). Amerika: Williams and Wilkins, 722-726.

24. Erdoğan, D., Görgün, M., Hatipoğlu, T. ve Ilgaz, C. (2007). Özel Histoloji. (2. Baskı.) Ankara: Hatipoğlu Yayınevi, 181-186.
25. Kierszenbaum, A.L. (2006). Histoloji ve Hücre Biyolojisi-Patolojiye Giriş.(Çev. R. Demir). Ankara: Palme Yayıncılık. 577-583.
26. Junqueira, L.C. and Carneiro, J. (2006). Temel Histoloji.(Çev. Y. Aytekin ve S. Solakoğlu). İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri. (Eserin orijinali 2003'te yayımlandı.). 458- 462.
27. Cormack, D.H. (1987). Ham's Histology. (9th edition). Amerika: Lippincott Company, 633-641.
28. Eroschenko, V.P. (2001). di Fiore Histoloji Atlası.(Çev. R. Demir). Ankara: Palme Yayıncılık. 312-323
29. Guyton, A.C. ve Hall, J.E. (2003). *Tıbbi Fizyoloji*.(Çev. Z. Solakoğlu). İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri. 621-628.
30. Bozdoğan, Ö. (2012). *Fizyoloji*. (3.baskı). Ankara: Palme Yayıncılık, 539-552, 600.
31. Noyan, A. (2011). *Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji*. (19. Baskı). Ankara: Palme Yayıncılık, 1116-1126.
32. Ganong, W.F. (1999). *Tıbbi Fizyoloji*.(Çev. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği, Ankara). İstanbul: Barış Kitabevi, 458-463.
33. Silverberg SG, Kurman RJ, Nogales F, Mutter GL. Kubik-Huch RA. Tavassoli FA. Tumors of the uterine corpus. In: Tavassoli FD, P., editor. WHO Classification Of Tumors: Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs. Lyon, France: IARC Press; 2003. p. 217-249.
34. Kurman RJ. Normal Cyclical Endometrium. In: Kurman RJ, editor. Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract. 6th ed. New York: Springer; 2004. p. 308- 323
35. Kurman R, Ellenson LH, Ronnett MB. Precursor Lesions of Endometrial Carcinoma. In: Kurman R, editor. Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract. Sixth ed. New York: Springer-Verlag; 2004. p. 360-389..

36. Ambros RA. Simple hyperplasia of the endometrium: an evaluation of proliferative activity by Ki-67 immunostaining. *Int J Gynecol Pathol* 2000;19(3):206-11.
37. Silverberg SG. Hyperplasia and carcinoma of the endometrium. *Semin Diagn Pathol* 1988;5(2):135-53.
38. Silverberg SG. Problems in the differential diagnosis of endometrial hyperplasia and carcinoma. *Mod Pathol* 2000;13(3):309-27.
39. Buckley CH, Fox H. Endometrial hyperplasia and intra-endometrial adenocarcinoma. In: *Biopsy Pathology Of The Endometrium*. 2nd edition ed. New York: Oxford University Press; 2002. p. 130-145.
40. Winkler B, Alvarez S, Richart RM, Crum CP. Pitfalls in the diagnosis of endometrial neoplasia. *Obstet Gynecol* 1984;64(2):185-94.
41. Bell CD, Ostrezega E. The significance of secretory features and coincident hyperplastic changes in endometrial biopsy specimens. *Hum Pathol* 1987;18(8):830- 8.
42. Kendall BS, Ronnett BM, Isacson C, Cho KR, Hedrick L, Diener-West M, et al. Reproducibility of the diagnosis of endometrial hyperplasia, atypical hyperplasia, and well-differentiated carcinoma. *Am J Surg Pathol* 1998;22(8):1012-9.
43. Nogales-Ortiz F, Puerta J, Nogales FF, Jr. The normal menstrual cycle. Chronology and mechanism of endometrial desquamation. *Obstet Gynecol* 1978;51(3):259-64.
44. Horn LC, Meinel A, Handzel R, Einkenkel J. Histopathology of endometrial hyperplasia and endometrial carcinoma: an update. *Ann Diagn Pathol* 2007;11(4):297-311.
45. Lacey JV, Jr., Ioffe OB, Ronnett BM, Rush BB, Richesson DA, Chatterjee N, et al. Endometrial carcinoma risk among women diagnosed with endometrial hyperplasia: the 34-year experience in a large health plan. *Br J Cancer* 2008;98(1):45-53.

46. Kurman RJ, Kaminski PF, Norris HJ. The behavior of endometrial hyperplasia. A long-term study of "untreated" hyperplasia in 170 patients. *Cancer* 1985;56(2):403- 12
47. Baak JP, Nauta JJ, Wisse-Brekelmans EC, Bezemer PD. Architectural and nuclear morphometrical features together are more important prognosticators in endometrial hyperplasias than nuclear morphometrical features alone. *J Pathol* 1988;154(4):335- 41.
48. McKenney JK, Longacre TA. Low-grade endometrial adenocarcinoma: a diagnostic algorithm for distinguishing atypical endometrial hyperplasia and other benign (and malignant) mimics. *Adv Anat Pathol* 2009;16(1):1-22.
49. Dietel M. The histological diagnosis of endometrial hyperplasia. Is there a need to simplify? *Virchows Arch* 2001;439(5):604-8.
50. Zaino RJ, Kauderer J, Trimble CL, Silverberg SG, Curtin JP, Lim PC, et al. Reproducibility of the diagnosis of atypical endometrial hyperplasia: a Gynecologic Oncology Group study. *Cancer* 2006;106(4):804-11.
51. Bergeron C, Nogales FF, Masseroli M, Abeler V, Duvillard P, Muller-Holzner E, et al. A multicentric European study testing the reproducibility of the WHO classification of endometrial hyperplasia with a proposal of a simplified working classification for biopsy and curettage specimens. *Am J Surg Pathol* 1999; 23(9):1102-8.
52. Baak JP, Wisse-Brekelmans EC, Fleege JC, van der Putten HW, Bezemer PD. Assessment of the risk on endometrial cancer in hyperplasia, by means of morphological and morphometrical features. *Pathol Res Pract* 1992;188(7):856-9.
53. Mutter GL, Baak JP, Crum CP, Richart RM, Ferenczy A, Faquin WC. Endometrial precancer diagnosis by histopathology, clonal analysis, and computerized morphometry. *J Pathol* 2000;190(4):462-9.
54. Mutter GL, Chaponot ML, Fletcher JA. A polymerase chain reaction assay for nonrandom X chromosome inactivation identifies monoclonal endometrial cancers and precancers. *Am J Pathol* 1995;146(2):501-8.

55. Lacey JV, Jr., Mutter GL, Nucci MR, Ronnett BM, Ioffe OB, Rush BB, et al. Risk of subsequent endometrial carcinoma associated with endometrial intraepithelial neoplasia classification of endometrial biopsies. *Cancer* 2008;113(8):2073-81.
56. Altieri DC. Molecular cloning of effector cell protease receptor-1, a novel cell surface receptor for the protease factor Xa. *J Biol Chem.* 1994 Feb 4;269(5):3139-42.
57. Altieri DC. Splicing of effector cell protease receptor-1 mRNA is modulated by an unusual retained intron. *Biochemistry.* 1994 Nov 22;33(46):13848-55.
58. Nicholson DW, Thornberry NA. Caspase: killer proteases. *Trends Biochem Sci* 1997;22:229-306
59. Monzo M, Rosell R, Felip E, Astudillo J, et al. A novel anti-apoptosis gene: Reexpression of survivin messenger RNA as a prognosis marker in non-small-cell lung cancers. *J. Clin. Oncol.* 1999; 17: 2100–2104.
60. Freier Kolja, Pungs Susanne, Sticht Carsten, et al. High Survivin expression is associated with favorable outcome in advanced primary oral squamous cell carcinoma after radiation therapy. *Int.J.Cancer* 2006;120:942-46
61. Morsi HM, Leers MP, Jager W, Bjorklund V, Radespiel-Troger M, el Kabarity H, Nap M, Lang M. The patterns of expression of an apoptosis- related CK18 neopeptide, the Bcl-2 proto-oncogene, and the Ki67 proliferation marker in normal, hyperplastic, and malignant endometrium. *Int J Gynecol Pathol* 2000; 19:118-126.
62. Miturski R, Semczuk A, Tomaszewski J, Jakowicki J. Bcl-2 protein expression in endometrial carcinoma: the lack of correlation with p53. *Cancer Lett* 1998;133:63-69.
63. Williams GT Programmed cell death: apoptosis and oncogenesis. *Cell* 1991; 65:1097-1098.
64. Taylor LJ, Jackson TL, Reid JG. The differential expression of estrogen receptors, progesterone receptors, Bcl-2 and Ki-67 in endometrial polyps. *Am J Surg Pathol* 2003; 110: 794-798

65. Crescenzi E, Palumbo G. Bcl-2 exerts a pRb-mediated cell cycle inhibitory function in HEC1B endometrial carcinoma cells. *Gynecol Oncol* 2001;81:184-192.
66. Robert J. Kurman. Endometrial carcinoma In: Blaustein's Pathology of The Female Genital Tract. Springer Verlag, New York, 2002. p.501-561.
67. Al Kushi A, Lim P, Aquino-Parsons C, Gilks CB. Markers of proliferative activity are predictors of patient outcome for low-grade endometrioid adenocarcinoma but not papillary serous carcinoma of endometrium. *Mod Pathol* 2002;15:365-371.
68. Dumont EA, Reutelingsberger CP, Smits JF, Daemen MJ, Doevendans PA, Wellens HJ & Hofstra L. Real-time imaging of apoptotic cell- membrane changes at the single-cell level in the beating murine heart. *Nat Med* 2001; 7:1352-1355.
69. Ioffe OB, Papadimitriou JC, Drachenberg CB. Correlation of proliferation indices, apoptosis, and related oncogene expression (Bcl-2 and c-erbB-2) and p53 in proliferative, hyperplastic, and malignant endometrium. *Hum Pathol* 1998;29:1150-1159.
70. Hampton MB, Orrenius S. Redox regulation of apoptotic cell death. *Biofactors* 1998;8:1-5.
71. King KL, Cidlowski JA. Cell cycle regulation and apoptosis. *Annual Review of Physiology* 1998;60: 601-17.
72. Thompson EB. The many roles of c-Myc in apoptosis. *Annual Review of Physiology* 1998; 60: 575-600.
73. Chao DT, Korsmeyer SJ. BCL-2 family: regulators of cell death. *Annual Review of Immunology* 1998; 16: 395- 419.
74. Roulston A, Marcellus RC, Branton PE. Viruses and Apoptosis. *Annual Review of Microbiology* 1999;53: 577-628.
75. Johnson DE. Programmed cell death regulation: basic mechanisms and therapeutic opportunities. *Leukemia* 2000; 14: 1340-44.

76. Budihardjo I, Oliver HLM. Biochemical pathways of caspase activation during apoptosis. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 1999; 15: 269-90.
77. Hart S. The drama of cellular death. *Bioscience* 1994; 44: 451-5.
78. Thompson EB. Apoptosis. *Annual Review of Physiology* 1998; 60: 525-32.
79. Khodapasand E, Jafarzadeh N, Farrokhi F, Kamalidehghan B, Houshmand M. Is Bax/bcl-2 ratio considered as prognostic marker with age and tumor location in colorectal Cancer? *Iranian Biomedical Journal* april 2015;1366.2015.
80. Vadde R, Radhakrishnan S, Reddivari L, Vanamala JK. Triphala Extract Suppresses Proliferation and Induces Apoptosis in Human Colon Cancer Stem Cells via Suppressing c-Myc/Cyclin D1 and Elevation of Bax/Bcl-2 Ratio. *Mar*:2015:649263,12.
81. Martin LA, Dowsett M. Bcl-2: A new therapeutic target in estrogen receptor-positive breast cancer?
82. Association of genetic markers in the Bcl-2 family of apoptosis- related genes with endometrial cancer risk ina chinese population depermtant of epidemiyoloji, school of public health July 8,2013:120-129, 0060915.
83. Tommi E.vaskivuo et all. Regulation of cell death in human fetal and adult ovaries role of Bok and Bcl-X(L). 2010 Dec 15;330(1-2):17-24.American canser society 2006: 10876.
84. Appel ML, Edelweiss MI, Fleck J, Rivero LF, Rivoire WA. P53 and Bcl-2 as prognostic markers in endometrium carsinoma *Pathol. Oncol. Res.* 2008 14;23-30.
85. Orbo A. Et all. Levonorgestrel-impregnated intrauterine device as treatment for endometrial hyperplasia: a national multicentre randomised trial. 2014 Mar;121(4):477-86.
86. Jaiswal PK, Goel A, Mittal RD. Survivin: A moleculer biomarker in canser *Indian J Med Res* April 2015141.

87. Depertmant ofobsetrics and gynecology moedeilng vienna 12A-2340 British journal of cancer 2012 84-90.
88. Erkani s,Kayeselcuk F, Kuscu E, et alExpression of survivin, Pten and P27 in normal, hiprplaztik carsinamateus endometrium. İnt gynecol cancer 2009;161412-1418.
89. Moghetti P, Castello R, Negri C, Tosi F, Perrone F, Caputo M, Zanolin E, Muggeo M. Metformin effects on clinical features, endocrine and metabolic profiles, and insulin sensitivity in polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled 6-month trial, followed by open, long-term clinical evaluation. J Clin Endocrinol Metab 2000; 85: 139- 146.
90. Erdemoglu E, Güney M, Giray SG, Take G, Mungan T. Effects of metformin on mammalian target of rapamycin in a mouse model of endometrial hyperplasia. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2009; 145: 195- 9.
91. Legro RS, Zaino RJ, Demers LM, Kunselman AR, Gnatuk CL, Williams NI, Dodson WC. The effects of metformin and rosiglitazone, alone and in combination, on the ovary and endometrium in polycystic ovary syndrome. Am J Obstet Gynecol. 2007; 196: 402- 407.