



T.C.

PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**NORMAL ENDOMETRİYUMDA VE ENDOMETRİYAL HİPERPLAZİLERDE  
PROTOONKOGEN BİR PROTEİN OLAN YAP1 PROTEİNİNİN  
EKSPRESYONUNUN ARAŞTIRILMASI**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**HAZIRLAYAN:**

**DR. ALP KORAY KİNTER**

**DANIŞMAN:**

**DOÇ. DR. ÖZER ÖZTEKİN**

**DENİZLİ 2018**



T.C.

PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**NORMAL ENDOMETRİYUMDA VE ENDOMETRİYAL HİPERPLAZİLERDE  
PROTOONKOGEN BİR PROTEİN OLAN YAP1 PROTEİNİNİN  
EKSPRESYONUNUN ARAŞTIRILMASI**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**HAZIRLAYAN:**

**DR. ALP KORAY KİNTER**

**DANIŞMAN:**

**DOÇ. DR. ÖZER ÖZTEKİN**

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin 01.03.2018 tarih ve 2018TIPF007 nolu kararı ile desteklenmiştir.

**DENİZLİ 2018**

## ONAY SAYFASI

Doç. Dr. Özer ÖZTEKİN danışmanlığında Dr. Alp Koray KİNTER tarafından yapılan "Normal Endometriyumda Ve Endometriyal Hiperplazilerde Protoonkogen Bir Protein Olan Yap1 Proteininin Ekspresyonunun Araştırılması" başlıklı tez çalışması 23.10.2018 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN PAÜTF Eğt. Uyg. ve Araş. Hast.  
Doç. Dr. Özer ÖZTEKİN  
Kadın Hast. ve Doğum A.D.  
Dip. No: 93092121 Tescil No: 93807

ÜYE  
ADNAN MENBİRESİ ÜNİVERSİTESİ  
UYGULAMA VE ARAŞTIRMA HASTANESİ  
Prof. Dr. Hasan YÜKSEL  
Dip. Tes. No. 49852  
Kadın Hastalıkları ve Doğum Uzmanı  
Jinekolojik Onkoloji Cerrahisi Uzmanı

ÜYE  
PAÜ Eğt. Uyg. ve Ars. Hast.  
Prof. Dr. Neysel FENKÇİ  
Kadın Hast. ve Doğum A.D.  
Diploma No: 93011077  
Tescil No: 66951

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım

23.10.2018

Prof. Dr. Osman ÖZTAI

Pamukkale Üniversitesi

Tıp Fakültesi Dekanı

## TEŞEKKÜRLER

Uzmanlık eğitimimde bilgi ve tecrübesiyle bana devamlı yol gösterici olan, uzmanlık tezimin planlanmasında, çalışmalarımın yapılmasında ve tezimin yazımı aşamasında bana sürekli destek olan kıymetli hocam Doç. Dr. Özer ÖZTEKİN başta olmak üzere birlikte çalıştığım, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli hocalarım Prof. Dr. Babür KALELİ, Prof. Dr. Erkan ALATAŞ, Prof. Dr. Veysel FENKÇİ, Doç. Dr. Ömer Tolga Güler, Dr. Öğr. Gör. Chan KABUKÇU, Dr. Öğr. Gör. Derya KILIÇ, Dr. Öğr. Gör. Ümit ÇABUŞ, Dr. Öğr. Gör. Özlem KOŞAR CAN'a gönülden saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlık sürecimin başında bilgi ve tecrübelerini aktaran, cerrahi nosyonu edinmemi sağlayan, zorlandığım her anda yanımda olan, iyi bir doktor olmak kadar iyi bir insan olmayı da gösteren Uz. Dr. Özgür ARAT ve Uz. Dr. Behzat CAN'a ve asistanlık sürem boyunca birlikte çalıştığım tüm doktor arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Tüm eğitim hayatım boyunca maddi manevi yanımda olup desteklerini bir gün dahi esirgemeyen çok değerli aileme ve eşime de ayrıca teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI.....	III
TEŞEKKÜRLER.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
KISALTMALAR DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
TABLolar DİZİNİ.....	VII
RESİMLER DİZİNİ.....	VII
ÖZET.....	VIII
İNGİLİZCE ÖZET.....	XI
1- GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2- ENDOMETRİYAL HİPERPLAZİLER.....	3
2.1- Endometriyal İntraepitelyal Neoplazi.....	6
2.1.1- E1N ve PTEN Gen Mutasyonu.....	13
2.2- Patofizyoloji.....	14
2.3- Tanı.....	15
2.4- Tedavi.....	17
3- HİPPO YOLAĞI VE YAP PROTEİNİ.....	20
3.1- Hippo Yolağı ve YAP Proteininin Kansere Oluşumundaki Rolü.....	22
4- GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	23
4.1- YAP1 Poliklonal Antikoru İle Boyanmanın Yorumlanması.....	24
5- BULGULAR.....	27
5.1- Boyanma Durumu.....	27
5.2- Boyanma Yoğunluğu.....	28
5.3- Boyanma Yüzdesi.....	29
6- TARTIŞMA VE SONUÇ.....	30
KAYNAKLAR.....	36

## KISALTMALAR DİZİNİ

AKT	Protein Kinaz B
Ark.	Arkadaşları
BSO	Bilateral Salpingo-Ooferektomi
DBF-2	Dumbbell Forming Protein 2 / Dumbbell Biçimlendirici Protein 2
EİN	Endometriyal İntraepitelyal Neoplazi
Hoxc13	Homeobox C13
KRAS	Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog / Kirsten Rat Sarcoma Viral Onkogen Homolog
LATS 1/2	Nuclear DBF-2-Related Kinase That Phosphorylates And Inactivates YAP/TAZ YAP/TAZ'ı Fosforile ve İnaktive Eden Nükleer DBF-2 İlişkili Kinaz
MAP4K	Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase Kinase Kinase / Mitojen Aktive Edilmiş Protein Kinaz Kinaz Kinaz Kinazi
MOBK1B	Kinase That Associates With LATS 1/2 To Potentiate İts Catalytic Activity / Katalitik Aktiviteyi Güçlendiren LATS 1/2 ile İlişkili Kinaz
MOBKL	Mps One Binder Kinase Activator-Like / Mps One Bağlayıcı Kinaz Aktivatör-Benzeri
MST 1/2	Sterile-20-Type Kinase That Phosphorylates And Activates LATS 1/2 LATS 1/2 'yi Fosforile ve Aktive Eten Steril-20 Tipi Kinaz
NF2	Nörofibromatozis 2 Geni
p73	Protein 73
PCOS	Polikistik Over Sendromu
PH	Pleckstrin Homolojisi
PI3-kinaz	Fosfotidil İnozitol 3 Kinaz
PIP3	Fosfotidil İnozitol Trifosfat
PTEN	Phosphatase And Tensin Homolog Deleted On Chromosome 10/ 10. Kromozomda Fosfataz Ve Tensin Homolog Delesyonu
Runx2	Runt-Related Transcription Factor 2 / Runt ilişkili transkripsiyon faktörü 2
SH3	Src Homology 3/ Src Homoloji 3
TAZ	Trascriptional Co-Factor With PDZ-Binding Motif / PDZ-Bağlama Motifli Traskripsiyon Kofaktörü
TEAD	YAP/TAZ'a Bağlanan Transkripsiyon Faktörü
WHO	World Health Organisation, Dünya Sağlık Örgütü
WW45	WW Domain-Containing Protein That May Act As A Scaffold Protein, Facilitating Warts Phosphorylation By MST 1/2 MST1/2 İle Warts Fosforilasyonunu kolaylaştırıcı, Bir Scaffold Proteini Gibi Davranabilen WW Alanı İçeren Protein
YAP1	Yes Associated Protein 1 / Yes İlişkili Protein 1

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1	WHO 94 ve EIN Sınıflama Sistemleri ile Elde Edilen Sonuçların Karşılaştırılması.....	9
---------	--	---

## TABLolar DİZİNİ

Tablo 1	Endometriyal Hiperplazilerde Kansere İlerleme Oranları.....	6
Tablo 2	EIN Sınıflama Sisteminde Tanı Kategorileri ve Önerilen Tedavi Yaklaşımları .....	7
Tablo 3	EIN Sınıflamasında Kullanılan Subjektif Tanı Kriterleri .....	8
Tablo 4	Olguların Dağılım Oranları.....	27
Tablo 5	Grupların Boyanma Durumu Açısından Karşılaştırılması.....	28
Tablo 6	Grupların Boyanma Yoğunluğu Açısından Karşılaştırılması.....	29
Tablo 7	Grupların Boyanma Yüzdesi Açısından Karşılaştırılması.....	30

## RESİMLER DİZİNİ

Resim 1	Normal Endometriyum.....	12
Resim 2	Atipisiz Endometriyal Hiperplazi.....	12
Resim 3	Endometriyal İntraepitelyal Neoplazi.....	12
Resim 4	Zayıf Boyanma.....	25
Resim 5	Orta Boyanma.....	25
Resim 6	Yoğun Boyanma.....	26
Resim 7	Sitoplazmik Boyanma.....	26
Resim 8	Nükleer Boyanma.....	26
Resim 9	Nükleer ve Sitoplazmik Boyanma.....	27

## ÖZET

### NORMAL ENDOMETRİYUMDA VE ENDOMETRİYAL HİPERPLAZİLERDE PROTOONKOGEN BİR PROTEİN OLAN YAP1 PROTEİNİNİN EKSPRESYONUNUN ARAŞTIRILMASI

**Amaç:** Endometriyum kanseri, 2008 yılı Türkiye Kanser İstatistikleri verilerine göre kadınlarda meme, tiroid ve kolorektal kanserlerin ardından dördüncü en sık rastlanan kanser olup; kansere bağlı ölümlerin sekizinci en sık nedenidir. Son yıllarda endometriyum kanserinde prognozu belirlenmek ve hiperplaziden kansere ilerleyişi göstermek için immünohistokimyasal çalışmalara ağırlık verilmiştir. Literatürde endometriyum kanseri ve farklı kanser türlerinde Hippo Yolağı'nın etkinliğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Biz de çalışmamızda endometriyal hiperplazili olgularda ve kontrol grubunda Hippo Yolağı'nda etkin protoonkogen bir protein olan YAP1 proteininin ekspresyonunu ve dolayısıyla endometriyum kanseri öncülü olan endometriyal hiperplazilerde YAP1 proteininin rolünü araştırmayı amaçladık.

**Materyal-Metod:** Çalışmamız retrospektif olarak dizayn edilmiş olup; Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniği'ne anormal uterin kanama ya da başka nedenlerle başvurduğu sırada ultrasonografik olarak endometriyal kalınlık artışı saptanan ve endometriyal biyopsi ya da histerektomi yapıp patoloji sonucu; atipisiz hiperplazi gelen 41 hasta, EİN gelen 41 hasta ve normal kontrol grubundan 40 hasta çalışma için seçildi. Olgulara hücre sitoplazma ve çekirdeğinde mevcut YAP1 proteinini tespit edebilen YAP1 policlonal antibody boyası 1:200 dilüsyonda uygulandı. Veriler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak kaydedildi. Grup karşılaştırmalarında tek yönlü varyans analizi kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırmada Pearson ki-kare testi kullanıldı.



**Bulgular:** Çalışmamız sonucunda boyanma durumuna göre baktığımızda atipisiz endometriyal hiperplazi grubunda; nükleer boyanan preparat izlenmedi, sitoplazmik boyanan 21 preparat (%51.2), nükleer ve sitoplazmik boyanan 20 preparat (%48.8) izlendi. EİN grubunda; nükleer boyanan 1 preparat (%2.4), sitoplazmik boyanan 21 preparat (%51.2), nükleer ve sitoplazmik boyanan 19 preparat (%46.3) izlendi. Normal kontrol gurubunda; nükleer boyanan preparat izlenmedi, sitoplazmik boyanan 20 preparat (%50), nükleer ve sitoplazmik boyanan 20 preparat (%50) izlendi. Ancak gruplar arasında boyanma durumuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilemedi ( $p>0.05$ ). Boyanma yoğunluğuna göre baktığımızda atipisiz endometriyal hiperplazi grubunda; zayıf boyanan 12 preparat (%29.3), orta yoğunlukta boyanan 24 preparat (%58.5), yoğun boyanan 5 preparat (%12.2) izlendi. EİN grubunda; zayıf boyanan 14 preparat (%34.1), orta yoğunlukta boyanan 19 preparat (%46.3), yoğun boyanan 8 preparat (%19.5) izlendi. Normal kontrol gurubunda; zayıf boyanan 9 preparat (%22.5), orta yoğunlukta boyanan 26 preparat (%65), yoğun boyanan 5 preparat (%12.5) izlendi ( $p>0.05$ ). Boyanma yüzdelerini incelediğimizde ise atipisiz endometriyal hiperplazi grubunda; %50'den az boyanan 7 preparat (%17.1), %50-79 arası boyanan 2 preparat (%4.9), %80-100 arası boyanan 32 preparat (%78) izlendi. EİN grubunda; %50'den az boyanan 3 preparat (%7.3), %50-79 arası boyanan 3 preparat (%7.3), %80-100 arası boyanan 35 preparat (%85.4) izlendi. Normal kontrol gurubunda; %50'den az boyanan 3 preparat (%7.5), %50-79 arası boyanan 2 preparat (%5), %80-100 arası boyanan 35 preparat (%87.5) izlendi. Bu sonuçlarda da gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edemedik ( $p>0.05$ ).

**Sonuç:** Çalışmamız sonucunda YAP1 ekspresyonu açısından normal dokular ile hiperplazi alt grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığını gördük. Bu durum ilk aşamada endometriyal hiperplazi sürecinin YAP1-Hippo Yolağı'ndan bağımsız geliştiğini akla getirirse de güncel literatür bilgileri değerlendirildiğinde sonuçlarımızın endometriyal hiperplazi patofizyolojisinin karmaşıklığının bir yansıması olduğunu öngörmekte olup; net sonuçların daha fazla hasta sayısı ve daha geniş imkanlarla yapılabilecek ileri çalışmalar neticesinde ortaya çıkacağını düşünmekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** Endometriyal Hiperplazi, Endometriyal İntraepitelyal Neoplazi, Endometriyum Kanseri, Hippo Yolağı, YAP1 proteini

## İNGİLİZCE ÖZET

### INVESTIGATION OF THE EXPRESSION OF A PROTOONCOGENE YAP1 IN NORMAL ENDOMETRIUM AND ENDOMETRIAL HYPERPLASIA

**Aim:** According to 2008 cancer statistics of Turkey, endometrium cancer is the fourth leading cause of death among women after breast, thyroid and colorectal cancers. Recently, studies are focused on immunohistochemical investigations to determine the prognosis and demonstrate the progression from hyperplasia to cancer. Recent literature include studies showing the role of hippo pathway in endometrial and several other cancers. Thus we aimed to investigate the expression and possible role of YAP1; an efficient protooncogene in endometrial hyperplasias which are precursors of endometrial cancer.

**Material and Methods:** Our study designed retrospectively. 41 endometrial hyperplasia without atypia, 41 EIN and 40 normal endometrium specimens belonging to the patients who admitted to Obstetrics and Gynecology Policlinics of Pamukkale University Hospital with abnormal uterine bleeding or other complaints and performed either endometrial biopsy or hysterectomy based on the finding of increased endometrial thickness were included in our study. YAP1 polyclonal antibody dye which can detect YAP1 protein in nucleus or cytoplasm was applied to pathological specimens in 1:200 dilution. Data was recorded as mean  $\pm$  standart deviation. One-way analysis of variance was used in comparison in groups. Pearson chi square test was used for the comparison between groups.

**Results:** According to staining status, no nuclear staining was observed in endometrial hyperplasia cases without atypia. In this group cytoplasmic staining was observed in 21 (51.2%), while nuclear and cytoplasmic staining was detected in 20 (48.8%) cases. EIN group revealed 1 (2.4%) nuclear, 21 (51.2%) cytoplasmic and

19 (46.3%) nuclear/cytoplasmic staining. 20 (50%) cytoplasmic staining and 20 (50%) nuclear/cytoplasmic staining cases were found in normal control group. But there was no nuclear staining in this group. These results were not statistically significant ( $p>0.05$ ).

According to staining density, 12 (29.3%) weakly, 24 (58.5%) moderately and 5 (12.2%) strongly stained cases were observed. These rates were 14 (34.1%), 19 (46%) and 8 (19.5%) respectively in EIN group and 9 (22.5%), 26 (65%) and 5 (12.5%) respectively in normal control group ( $p>0.05$ ). When staining percentages were analysed groups are allocated according to less than 50%, 50-79% or 80-100% staining. In endometrial hyperplasias without atypia, 2 (17.1%) cases were stained less than 50%, 2 cases were stained between 50-79% and 32 cases were stained between 80-100%. The staining percentages were 3 (7.3%), 3 (7.3%) and 35 (85.4%) respectively in EIN group and 3 (7.5%), 2 (5%) and 35 (87.5%) respectively in normal control group. There was no statistically significant difference among groups ( $p>0.05$ ).

**Conclusion:** With respect to YAP1 expression, our study showed no statistically significant differences between study groups. At first glance these results suggest that endometrial hyperplasia develops independently from YAP1-hippo pathway. But a review of the literature give rise to the thought that our results may represent the complexity of the pathophysiology of endometrial hyperplasia. Consequently we suppose that definitive results would be obtained by further studies with better facilities including higher patient numbers.

**Key Words:** Endometrial hyperplasia, endometrial intraepithelial neoplasia, endometrial cancer, hippo pathway, YAP1 protein

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Endometriyum kanseri, 2008 yılı Türkiye Kanser istatistikleri verilerine göre kadınlarda meme, tiroid ve kolorektal kanserlerin ardından dördüncü en sık rastlanan kanser olup kansere bağlı ölümlerin sekizinci en sık nedenidir. Amerika Birleşik Devletleri istatistiklerine göre 2012 yılında 47130 yeni endometriyum kanseri tanısı konmuş ve 8010 kadın endometriyum kanserine bağlı hayatını kaybetmiştir (1).

1970'lerin başında hormon replasman tedavisinin kullanımı ile görülme sıklığında belirgin artış görülen endometriyum kanseri 1980'li yıllarda önceki yıllardaki görülme sıklığı seviyesine gerilemiştir. 1980'li yılların ortalarından itibaren yaşam süresinin uzaması, postmenopozal östrojen replasman tedavisinin uygulanması, düzenli muayene alışkanlığının oluşması, erken tanı yöntemlerinin gelişmesi ve serviks kanserinin tarama programları ile erken tanısının yapılabilmesi nedenleriyle endometriyum kanseri insidansı giderek artmaktadır. Bir kadının yaşam boyu endometriyum kanserine yakalanma oranı % 2-3 olarak bilinmektedir (1).

Endometriyum kanseri insidansı ülkeler arasında geniş farklılıklar göstermektedir. Endometriyum kanseri; Avrupa, Kanada, Yeni Zelanda, İngiltere, Avustralya ve Amerika'da yüksek; Afrika, Asya, Orta ve Güney Amerika'da düşük insidansa sahiptir (2). Endometriyum kanseri Amerika'da yaşayan Asyalı ve Afrikalılarda kendi ırklarına göre daha fazladır. Bu coğrafi ve ırksal farklılık endometriyum kanseri gelişimini etkileyen genetik ve çevresel faktörlerin önemini ortaya koymaktadır.

Endometriyum kanserinde en önemli prognostik faktör hastalığın evresidir. Bunun yanında histopatolojik tip, grade, myometrial invazyon derinliği, lenfovasküler invazyon durumu, lenf nodu tutulumu, tümör büyüklüğü, hastanın yaşı, uterin dışı yayılımın klinik ve cerrahi bulguları, hormon reseptör durumu, DNA ploidi de prognoz üzerine etkili faktörlerdir (3).

Endometriyum kanserinin iki patogenetik tipi vardır. Tip 1 karsinomlar (olguların %75- 85'ni oluşturur) hiperöstrojenizm zemininde endometriyal hiperplazi yoluyla gelişen karsinomlardır. Bu grup hastalar daha genç yaşta ve daha iyi prognozludur. Endometrioid ve müsinöz karsinomlar tip 1 olarak kabul edilirler (4, 5). Tip 2 karsinomlar ise östrojenden bağımsız olarak atrofik endometriyum zemininden gelişirler. Bu grup hastalar daha yaşlıdır ve hastaların prognozları daha kötüdür

(4,6). Seröz ve şeffaf hücreli karsinomlar tip 2 karsinomlardır (4,5).

Endometriyal hiperplazi; Tip 1 endometriyum kanserinin prekanseröz lezyonudur ve endometriyal kanser ile benzer risk faktörlerine sahiptir. Hiperplaziden kansere ilerleyiş riskini gösteren en önemli faktör hiperplazide atipinin varlığıdır. Basit hiperplazilerin kansere ilerleme oranı %1 iken atipili hiperplazilerde bu oran %29'dur (7).

İleri evre endometriyum kanserinde sağ kalımı belirlemek ve erken evre endometriyum kanserinde açıklanamayan nüksleri aydınlatmak için yeni prognostik faktörlere ihtiyaç vardır. Bu sebeple, prognozu belirlemek ve hiperplaziden kansere ilerleyişi göstermek için immünohistokimyasal çalışmalara ağırlık verilmiştir.

YAP veya YAP65 olarak da bilinen YAP1 ( Yes Associated protein-1 ), hücre proliferasyonunda yer alan genlerin transkripsiyonunu aktive ederek ve apoptotik genleri baskılayarak transkripsiyonel regülatör görevi gören bir proteindir. YAP1, organ boyutunun ve tümör bastırılmasının hücrel kontrolüne izin veren Hippo sinyal yolunda engellenmiştir. YAP1, ilk olarak Yes ve Src protein tirozin kinazlarının SH3 alanıyla ilişkilendirilebilmesi nedeniyle tanımlandı. YAP1 çeşitli kanserlerde rolü olan güçlü bir onkogendir.

Endometriozisli ve normal olgularda yapılan bir çalışmada ektopik ve ötopik endometriyumda normal endometriyumdan farklı olarak YAP'ın artmış ekspresyonu ve p-YAP ekspresyonunun azaldığını ortaya koymuştur (8).

Agresif tip endometriyal karsinomlarda yapılan bir çalışmada Hippo yolağının transdüseri TAZ'ın agresif tip endometriyal kanser gelişimindeki rolü araştırılmış olup epitelyal tümörlerden mezenkimal tümörlere dönüşümünde etkili olduğu gösterilmiştir. (9).

YAP proteininin endometriyal kanserde onkogenik özellikleri ve radyasyon duyarlılığının araştırıldığı bir çalışmada lenfovasküler alan invazyonu, postoperatif nüks/metastaz ve genel sağ kalım ile anlamlı olarak ilişkili olduğu ve yüksek evre ve grade ile doğrudan ilişkili olduğu gösterilmiştir (10).

Tiroid, meme, özofageal kanserlerde de YAP-1 proteininin rolü gösterilmiştir (11,12,13).

Biz de çalışmamızda endometriyal hiperplazili olgularda ve kontrol grubunda YAP1 protein ekspresyonunu ve dolayısıyla endometriyum kanseri öncülü olan endometriyal hiperplazilerde YAP1 proteininin rolünü araştırmayı amaçladık. Sonuçlarımızın anlamlı çıkması halinde, çalışmamızın yukarıda sözü edilen literatürdeki objektif kriter eksikliği konusunda önemli katkıları olacağını düşünmekteyiz.

## **2. ENDOMETRİYAL HİPERPLAZİLER**

Endometriyum; hormonal, vasküler ve stromal değişikliklerle embriyo implantasyonu ve gebelik gelişimi için destek sağlayan dinamik bir dokudur. Endometriyal büyüme ve proliferasyon, östrojen uyarımı ile ilişkilidir. Ovulasyondan sonra korpus luteumdan salınan progesteron, –östrojenin aksine- stromada predesidual değişikliklere neden olarak endometriyal proliferasyonu inhibe eder. Konsepsiyon oluşmaz ve insan koryonik gonadotropin üretimi olmaz ise korpus luteum tarafından progesteron üretimi olmaz ve hormonal çekilme kanaması ortaya çıkar. Endometriyumun sürekli östrojene maruz kalması ile bu döngü bozulur. Endometriyal hiperplazi, progesteron yokluğunda uzun süre östrojen uyarımı ile gelişebileceği gibi normal hormonal uyarıya aşırı yanıt durumunda da ortaya çıkabilir. Endometriyumda karşılanmamış östrojen, proliferatif endometriyum, endometriyal hiperplazi ve endometriyum kanseri gibi birbirinden çok farklı klinik

tablolarına sebep olabilir. Endometriyal hiperplazi endometriyumdaki glandüler dokunun stromal dokuya oranının 1'den fazla olmasıdır. Endometriyal hiperplaziler; östrojen üreten tümörlerle ilişkili olabilmeleri, hormonal tedavi sonucunda oluşabilmeleri ve endometriyal kanser ile birlikte veya endometriyal kanser öncesinde bulunabilmeleri açısından klinik olarak önemlidir.

Hiperplazilerin en sık nedeni, anovulatuvar sikluslardır. Hiperplazi gelişiminde etkili risk faktörleri artmış östrojen ve azalmış progesteron uyarısıdır. Hiperplazi oluşumuna yol açan diğer risk faktörleri; obezite, nulliparite, polikistik over sendromu, erken menarş, geç menopoza, ekzojen östrojen kullanımı (hormon replasman tedavisi, tamoksifen kullanımı), östrojen salgılayan tümörler (granüloza hücreli tümör, tekoma), adrenal androjen salgılayan tümörleri (adrenal androjenlerin periferik dönüşümü) içerir.

Endometriyal hiperplaziler postmenopozal ve premenopozal kadınları etkileyebilir. Endometriyal hiperplaziler çoğu zaman asemptomatik olmakla birlikte en sık görülen belirtisi anormal uterin kanamadır. Genellikle rutin muayene sırasında pelvik ultrasonografide endometriyal kalınlaşma olarak tespit edilir. Endometriyal hiperplaziler postmenopozal kanamaların % 15'inden sorumludur (14). Peri ve postmenopozal dönemdeki düzensiz, uzamış, sık veya ağır uterin kanama şikayeti olan kadınlarda mutlaka endometriyal hiperplazi akılda bulundurulmalıdır.

Endometriyal hiperplazi tanısı histopatolojik olarak nükleer, yapısal ve sitolojik anormalliklerin değerlendirilmesi ile konulur. Hiperplaziler hormon bağımlı, geri dönüşümlü, preneoplastik ve neoplastik değişiklikler olarak sınıflandırılmıştır. Bu sınıflamaya göre hiperplaziler 4'e ayrılır.

**1- Basit atipisiz hiperplazi:** Şekil ve boyut olarak farklılık gösteren ve bir kısmında kistik genişleme olan bezler vardır. Nükleuslarda psödostratifikasyon



vardır; ancak atipi yoktur.

**2- Basit atipili hiperplazi:** Basit atipisiz hiperplaziye sitolojik atipinin eklenmiş halidir.

**3- Kompleks atipisiz hiperplazi:** Bezler birbiriyle yakınlaşmış; ancak stroma ile ilişkisi seyrekleşmiştir. Nükleuslar proliferatif endometriyumdaki gibi uniform, oval ve psödostratifidir. Nükleoluslar belirsizdir.

**4- Kompleks atipili hiperplazi:** Glandlar düzensiz, sıkıca sıralanmış ve sırt sırta vermiştir. Glandlarda papiller intraluminal tomurcuklanmalar vardır. Glandların stroma ile ilişkisi çok azalmıştır. Nükleer membran boyunca kromatin kümelenmenin olduğu, büyük, veziküler nükleuslar vardır. Nükleoluslar belirginleşmiştir.

Endometriyal hiperplaziler, endometriyum kanserine ilerleme gösterebilirler. Kansere ilerleme riski atipinin varlığına ve ağırlığına bağlıdır (15). Ayrıca hastanın yaşı, endokrinopati, obezite ve ekzojen hormon maruziyeti progresyonu etkilemektedir (16,17). Kansere ilerleme riski basit hiperplazilerde en azdır. Basit hiperplazilerin çoğu spontan geriler, yaklaşık % 18' i persiste eder, % 3' ü kompleks atipili hiperplaziye ve % 1'i endometriyal adenokarsinoma ilerler. Bu oranlar atipisiz kompleks hiperplazilerde % 3, basit atipili hiperplazilerde % 8, kompleks atipili hiperplazilerde % 29'dur (Tablo 1) (7). Endometriyal doku örneklemede atipili hiperplazi saptanan hastalara histerektomi yapılırsa yaklaşık % 25-43 oranında genellikle iyi differansiye endometriyal karsinomun eşlik ettiği görülmektedir (18).

2006 yılında yapılan bir Gynecologic Oncology Group (GOG) çalışmasında atipili endometriyal hiperplazi tanısı konan 306 kişinin endometriyal biyopsi materyalleri tanının tekrarlanabilirliğini ve patoloğlar arasındaki uyumu değerlendirmek amacıyla tekrar incelenmiştir. Burada tanı konmuş materyaller 3 patoloğ tarafından tekrar

değerlendirildiğinde en az 2 patoloğun aynı sonuçta hemfikir olduğu durum, çoğunluk tanısı (majority diagnosis) şeklinde kabul edilmiştir. Buna göre olguların sadece %40'ının tanısında her 3 patoloğun hemfikir olduğu görülmüştür. Çoğunluk tanısı %29 hastada adenokarsinom iken %7 hastada normal, %18 hastada ise atipisiz endometriyal hiperplazi şeklinde rapor edilmiştir. Dolayısıyla atipili endometriyal hiperplazi tanısının tekrarlanabilirliğinin ve farklı patologların koyduğu tanıları arasındaki uyumun çok düşük olduğu ortaya konmuştur (19).

Tablo 1: Endometriyal hiperplazilerde kansere ilerleme oranları

Histoloji	Progresyon oranı
Atipisiz Basit Hiperplazi	%1
Atipisiz Kompleks Hiperplazi	%3
Atipili Basit Hiperplazi	%8
Atipili Kompleks Hiperplazi	%29

## 2.1 ENDOMETRİYAL İNTRAEPİTELYAL NEOPLAZİ

EİN sistemi esasen WHO 94'e göre endometriyumun gerçek prekürsör lezyonlarının daha doğru saptanabilmesi ve hiperplazisi olan hastaların tedavisinin daha iyi yönlendirilebilmesi için geliştirilmiş bir sınıflamadır. Benign, premalign ve malign lezyonları belirlemek için histomorfolojik, genetik ve klinik bilgiler toplanarak oluşturulan daha objektif patolojik kriterleri içerir (20,21). Bu sınıflandırma henüz yaygın olarak kabul görmemiş olsa da hastanemiz de dahil olmak üzere bazı merkezler tarafından kullanılmaktadır.

Bu sınıflandırma sisteminde endometriyal patolojiler değişik klinik yaklaşımlar gerektirecek üç ana gruba ayrılmıştır: endometriyal hiperplazi veya benign endometriyal hiperplazi, EIN ve karsinom (Tablo 2) (22).

Tablo 2: EİN Sınıflama Sisteminde Tanı Kategorileri ve Önerilen Tedavi Yaklaşımları

Tanı	Topografi	Fonksiyonel Kategori	Tedavi
<b>Endometriyal Hiperplazi</b>	Fokal	Östrojen Etkisi	Hormonal
<b>EİN</b>	Fokal başlar, diffüze ilerler	Prekanser	Hormonal veya Cerrahi
<b>Karsinom</b>	Fokal başlar, diffüze ilerler	Kanser	Cerrahi

EİN sınıflama sistemine göre benign endometriyal hiperplazide tipik olarak anovulasyon veya başka nedenlerle ortaya çıkan karşılanmamış östrojen maruziyetinden kaynaklanan benign yapısal değişiklikler vardır. Endometriyal hiperplazilerde glandlarda birkaç adet kistik genişlemenin olduğu persistan proliferatif endometriyumdan çoğu genişlemiş kıvrımlı glandların olduğu kistik glandüler hiperplaziye kadar değişen morfolojik farklılıklar vardır (Resim 2). Bu lezyon poliklonaldır ve hormon bağımlıdır. Bu nedenle de hormonal tedavi önerilir.

EİN ise gerçek endometriyal prekanseröz lezyondur. EİN'in objektif tanısı için moleküler testler kullanılarak monoklonalite ve PTEN mutasyonu ortaya konmalı, stromal hacmi ölçmek için kompüterize morfometrik analiz yapılarak hesaplanan D skorunun da 1'in altında olduğu gösterilmelidir (22-27).  $D=0,6229+[0,0439 \times (\text{gland/stroma oranı})]-[3,9934 \times (\text{kısa nükleer aks standart deviasyonu})]-[0,1592 \times (\text{dış yüzey dansitesi})]$  D skor metodu ile spesimenler benign ( $D>1$ ), arada ( $0<D<1$ ) veya EİN ( $D<0$ ) olarak sınıflandırılır. Fakat; bu testler günlük rutinde kullanım için uygun olmayan testlerdir. Bu nedenle EİN tanısında konvansiyonel ışık mikroskopu ve hematoksilen-eozinle boyalı preparatlar

kullanılarak ulaşılabilecek subjektif tanı kriterleri oluşturulmuştur. Subjektif EİN tanısı için Tablo 3'de belirtilen 5 kriterin tamamının mevcut olması gereklidir (28).

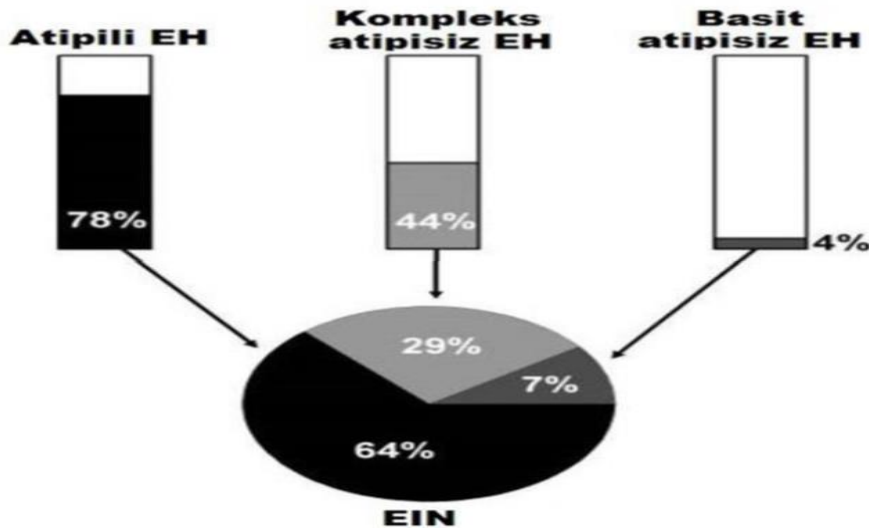
Tablo 3: EİN Sınıflamasında Kullanılan Subjektif Tanı Kriterleri

KRİTER	YORUM
Yapı	Gland/Stroma Alanı
Sitoloji	Geri kalan endometrium ile sitolojik farklılık
Boyut	Maksimal lineer çap >1 mm
Taklit eden lezyolar ekarte edilir	Proliferatif endometriyum, sekretuar endometriyum, polipler ve onarım süreci
Kanser ekarte edilir	Solid alanlar, belirgin kribriform büyüme

Bu kriterler kullanılarak elde edilen EİN tanısının objektif EİN tanısı ile uyumunun yüksek olduğu saptanmıştır (29) (Resim 3). Fakat subjektif EİN tanısı koyma aşamasında hem jinekoloğun, hem de patoloğun dikkat etmesi gereken bazı önemli hususlar mevcuttur. Öncelikle endometriyal intraepitelyal neoplazi lezyonları monoklonal olduğu ve fokal olarak geliştiği için normal bir endometriyal biyopsi veya küretaj spesmeninin sadece bir kısmında saptanabilir. Hastaların sadece %20 kadarlık bir grubunda ilk tanı sırasında lezyonların tüm endometriyal alanı kapladığı görülür. Biyopsi örnekleri çok küçük veya ileri derecede fragmente olursa tanı için gerekli olan fokal değişiklikler her zaman göze çarpmayabilir. Bu nedenle tanı için patolog öncelikle spesimeni küçük büyütmede incelemeli ve tanı için yoğunlaşması gereken alanı seçmelidir. Bir başka önemli husus ise progesteron tedavisi verilen hastalardan alınan biyopsi örneklerinin incelenmesidir. Bu durumda stromal psödosedidualizasyon oluşacak, stromal komponentin miktarının artması sonucunda glandlar birbirinden uzaklaşacaktır. Bu değişiklikler tanı kriterleri arasında yer alan gland dansitesi ve lezyon boyutu gibi önemli özellikleri

etkileyeceği için tanısal güçlülere neden olabilmektedir. Bu nedenle jinekolog tarafından patoloji istek kağıdında hastanın bu tür bir tedavi aldığından ve tedavinin detaylarından bahsedilmelidir. Daha uygun olan yaklaşım ise özellikle hormonal tedaviden kaynaklanan tanısal problem söz konusu ise çekilme kanamasından 2-4 hafta sonra tekrar biyopsi yapılmasıdır (28).

EİN sistemindeki tanı sınıfları birebir olarak WHO 94 tanı sınıfları ile örtüşmez. Örneğin eski sınıflamada kompleks atipili endometriyal hiperplazi tanısı alanların tümü yeni sınıflamada EİN tanısı almaz. Tersine eski sınıflamada basit veya kompleks atipisiz endometriyal hiperplazi saptanan hastaların preparatları yeni sınıflama sistemi kriterleri kullanılarak tekrar incelendiğinde belli oranda EİN tanısı konabilmektedir. Yine de iki sınıflama sisteminin belli oranda kesiştikleri alanlar da mevcuttur. Buna göre; EİN tanılarının %64'ünü WHO 94 kriterlerine göre kompleks atipili endometriyal hiperplazi tanısı alan hastalar oluşturmaktadır ve atipili hiperplazi saptanan hastaların önemli bir kısmında histopatolojik bulgular EİN varlığı ile uyumludur (Şekil 1) (29).



Şekil 1: WHO 94 ve EİN Sınıflama Sistemleri ile Elde Edilen Sonuçların Karşılaştırılması

Kullanımı hem dünya genelinde, hem de ülkemizde henüz yaygın kabul görmemesine rağmen EİN tanısının ileride endometriyum kanseri gelişimi riski ile önemli oranda korele olduğu saptanmıştır (23,29). EİN tanısı alan hastaların %41'inde 1 yıl içinde endometriyum adenokarsinomu saptanırken 1 yıl içinde kanser saptanmayan hastalarda ise zaman içinde kanser gelişimi açısından artmış risk söz konusudur (30). Endometriyal biyopsi örneklerinde kompüterize morfolometrik analiz kullanılarak hesaplanan D-skoru 1 veya altında saptanan hastalarda D-skoru 1'in üzerinde olanlarla karşılaştırıldığında endometriyum kanseri gelişme riski 45 kat artmıştır (31-34).

D-skoru ile WHO 94 sınıflamasının karşılaştırıldığı ve tanı sonrası hastaların en az 10 yıl izlendiği bir çalışmada D-skorunun kansere progresyonu belirleme açısından sensitivite, spesifite, negatif ve pozitif prediktif değerlerinin sırasıyla %100, %78, %100 ve %58 olduğu, bunların WHO 94 sınıflama sistemi kullanıldığında ise %89, %60, %94 ve %44 olduğu gösterilmiştir. Buna göre kompüterize morfolometrik analiz kullanıldığında hastalardan endometriyum kanserine progresyon açısından risk altında olanlar daha doğru bir şekilde saptanabilmektedir (34).

Endometriyum kanseri geliştiren hastalarda öncü lezyonun EİN olma ihtimali de atipili hiperplazi olma ihtimalinden daha fazladır. Hiperplazi tanısı olup izlem sırasında endometriyum kanseri geliştiren 67 hastanın değerlendirildiği bir çalışmada alınmış olan biyopsilerin %97'sinde EİN olduğu görülürken sadece %78'inde atipili endometriyal hiperplazi mevcudiyeti saptanmıştır (35). Ayrıca EİN saptanan hastaların ortalama yaşları 52 iken endometrioid tip endometriyum adenokarsinomlu hastalarının ortalama yaşları ise 60'tır. Bu saptama da EİN'in iyi diferansiye endometrioid tip endometriyum adenokarsinomunun öncüsü olduğunu destekleyen bir saptamadır. Nitekim EİN tanısı konup uzun süre izlenen hastaların

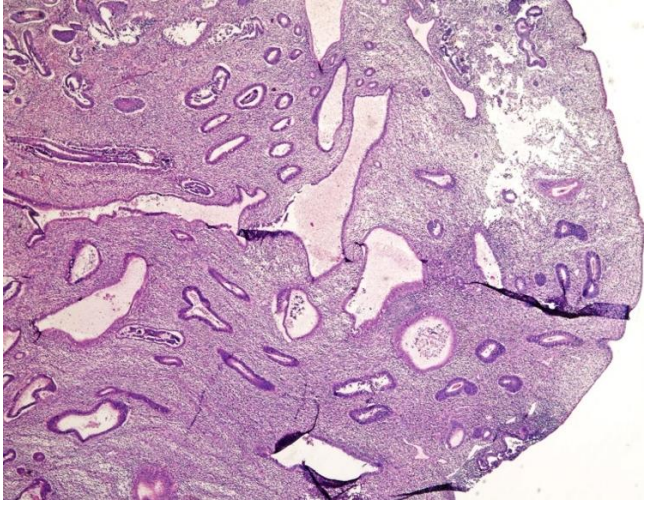
değerlendirildiği bir başka çalışmada endometriyumda adenokarsinom saptanana kadar geçen sürenin ortalama 4 yıl olduğu görülmüştür (24,35).

Endometriyal biyopside EİN saptanan hastalarda belki de en önemli sorun tanı anında da hastada iyi diferansiye bir endometriyum kanseri bulunma riskidir. Değişik yayınlara göre bu oran %40'a kadar yükselebilmektedir (36,37). Bu konuda yapılan bir çalışmada WHO 94 sınıflamasına göre endometriyal hiperplazi tanısı alıp 2 hafta içinde cerrahi tedavi (histerektomi) uygulanmış hastaların biyopsi ve histerektomi spesmenleri EİN sistemine göre tekrar incelenmiş, biyopsi tanısı kompleks atipili hiperplazi olanların %94,1'inde ve kompleks atipisiz hiperplazi olanların %41,7'sinde EİN saptanırken basit atipili hiperplazi saptananların hiçbirinde EİN saptanmamıştır. Hastaların %18,4'ünde eşzamanlı endometriyum kanseri olduğu saptanmıştır. Kanser saptanan hastaların tümünde biyopsi spesmenlerinde EİN olduğu görülmüştür. Biyopside EİN olan hastaların histerektomi spesmenlerinde endometriyum kanseri saptanma oranı %24,3 iken EİN olmayanların hiçbirinde kanser görülmemiştir. Bu çalışmadan elde edilen bulgular, biyopsi örneklerinde EİN tanısının eşzamanlı endometriyum kanserinin varlığını belirleme açısından %100'lük sensitivite ve %100'lük negatif prediktif değere sahip olduğu anlamına gelmektedir (38).

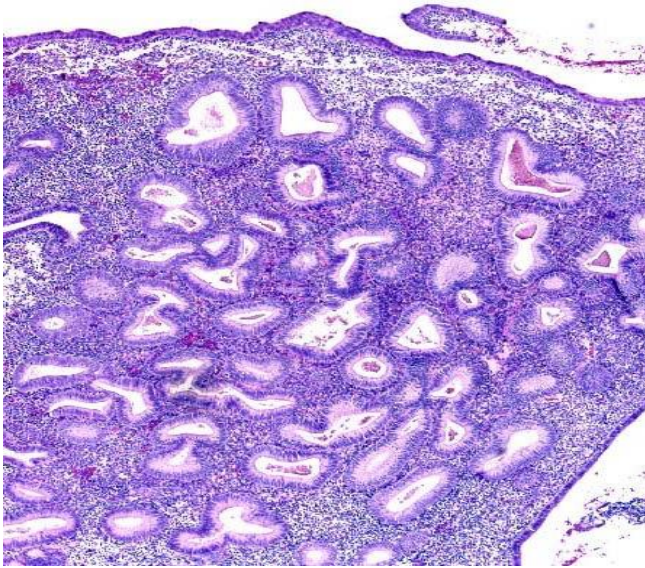
EİN sisteminin bir diğer önemli avantajı da WHO 94 sınıflama sisteminde saptanan büyük boyuttaki tanı uyumsuzluklarını ortadan kaldırmış gibi görünmesidir. Preparatların EİN var veya yok şeklinde değerlendirildiği bir çalışmada farklı patoloğlar arasında bu açıdan %75 uyum olduğu saptanmıştır. Bu tanının aynı patoloğ tarafından tekrarlanabilirliğinin ise yaklaşık %93 olduğu görülmüştür (29).



Resim 1: Normal Endometriyum (Hematoksilen – Eozin Boyama)



Resim 2: Atipisiz Endometriyal Hiperplazi (Hematoksilen – Eozin Boyama)



Resim 3: Endometriyal İntraepitelyal Neoplazi (Hematoksilen – Eozin Boyama)



### 2.1.1 E1N ve PTEN Gen Mutasyonu

Tümör baskılayıcı gendir ve 10. kromozom üzerinde yer almaktadır (10q23).

Endometriyum kanseri ve prekanseröz lezyonlarında tespit edilmiş en sık mutasyona uğrayan gendir (39,40). Mutasyon veya heterozigot kaybına bağlı olarak ekspresyonunda bozulma olur. Bu bozulma endometrioid tip adenokarsinomların %83 kadarında bulunabilmektedir. E1N lezyonlarına bakıldığında herhangi bir PTEN mutasyonu lezyonların %55 kadarında bulunmaktadır.

PTEN'in normal endometriyumdaki ekspresyonu hormon bağımlıdır ve siklusun değişik dönemlerinde farklılık gösterir. Östrojenik uyarı PTEN'in epitelde yüksek oranda sentezlenmesine yol açmaktadır (41,42). Sekretuar fazdaki progesteron maruziyeti ise PTEN'den yoksun sekretuar vakuoller meydana getirmektedir. Stromal ekspresyonu ise tüm siklus boyunca yüksek seyretmektedir. Progesteron ile PTEN ekspresyonunun azalması aslında fonksiyonel bir ihtiyacın ortadan kalkmasını göstermektedir. Çünkü progestin etkisi altındaki endometriyumda PTEN'in tümör baskılayıcı etkisine ihtiyaç kalmamaktadır (41,42).

PTEN mutasyonları veya inaktivasyonu her geçen gün artan sayıda birçok tümörde ve bunların özellikle erken evrelerinde saptanabilmektedir. p53 de olduğu gibi PTEN geninin her iki allelinin de etkilenmesi gerekmektedir. PTEN in vitro ortamda çift özelliğe sahip bir tirozin fosfataz bölgesi içerir: protein fosfataz ve lipid fosfataz. Lipid fosfataz aktivitesinin substratı olan fosfotidil inositol trifosfata (PIP3) karşı PTEN yüksek derecede özgüdür ve D3 fosfatını inozitol halkasından ayırır (43).

Normal koşullarda dinlenme halindeki bir hücrede PTEN seviyeleri düşüktür. Hücre yüzeyindeki reseptörlerin aktivasyonu sonucu fosfotidil inozitol 3 kinaz (PI3 kinaz) da aktif hale gelir. Böylece PTEN ve D5 fosfatazların substratı olan fosfotidil

inositol trifosfat (PIP3) meydana gelir. PIP3 güçlü bir hücre içi habercidir ve pleckstrin homologisi (PH) olan proteinlere bağlanır (42). PTEN mutasyonuna bağlı PIP3 ün hücre içinde kontrolsüz artışı onkogeneze eğilim yaratan hücre içi değişikliklere neden olur. PIP3 ile aynı PH bölgesi içeren proteinler içinde en önemli olan ise AKT ailesidir (AKT1, AKT2, AKT3) ve bunların düzenleyicisi fosfoinozimid bağımlı kinaz 1 (PI3K 1)'dir. PTEN aktivitesinin kaybı hücre içinde PI3-kinaz /AKT sinyal yolağının sürekli olarak aktif kalması ile sonuçlanır.

## 2.2 PATOFİZYOLOJİ

Endometriyal hiperplazi, progesteron ile karşılanmayan sürekli endojen veya eksojen östrojenik uyarımdan kaynaklanır. Endojen östrojen uyarımının kaynağı kronik anovulasyon ile giden polikistik over sendromu (PCOS) olabilir. Obezite de androjenlerin adipoz dokuda aromatize olarak androstenedion'un estron'a dönüşmesi sonucu kronik olarak östrojen düzeyinin yüksek seyretmesiyle karşılanmamış östrojenik uyarıma neden olur. Granüloza hücreli tümörler gibi östrojen salgılayan tümörler de endometriyal hiperplazi ve endometrioid adenokarsinom'a neden olabilir.

Progesteron içermeyen eksojen karşılanmamış östrojen, artmış endometriyal hiperplazi ve adenokarsinom ile ilişkilendirilmiştir (44). Postmenopozal hastalara 0.625mg konjuge östrojen içeren hormon replasman tedavisi yapılan bir çalışmada kompleks hiperplazi riskinde %22.7, atipili hiperplazi riskinde %11.8 artış izlenmiş; plasebo verilen kontrol grubunda bu oranlar %1'in altında saptanmıştır (45).

Women's Health Initiative (WHI) çalışmasında 8506 kadına 0.625 mg konjuge östrojen'e 2.5 mg medroksiprogesteron asetat kombine edilerek verilmiş ve endometriyal kanser riskinde artma olmadığı saptanmıştır (46). Tamoksifen, endometriyumdaki östrojenik etkisi ile endometriyal hiperplazi ve endometriyal

kanser riskini artırır. Kansere ilerlemenin riski, artan kullanım süresiyle ilişkilidir (47). Sadece östrojen içeren oral kontraseptif ve östrojen replasman tedavileri hiperplazi ve kanser riskini artırırken kombine oral kontraseptifler ve kombine hormon replasman tedavileri hiperplazi ve kanser riskini artırmaz ve hatta hiperplazi ve kanser riskini azaltabilir.

Endometriyal hiperplazi için diğer risk faktörleri, obezite, nulliparite, erken menarş ve geç menopoz dahil olmak üzere tip1 endometriyal adenokarsinomla aynıdır. Endometriyal hiperplazinin endometriyal kanserle birlikteliği için bağımsız risk faktörleri; 53 yaşından büyük olmak, postmenopozal durum, diyabet, anormal kanama, vücut kitle indeksinin 27 ve üstünde olması ve atipili hiperplazi varlığıdır (48).

Normal endometriyumun hiperplazi ve kansere dönüşmesinde östrojen rolünün kesin mekanizması bilinmemektedir. Genetik değişikliklerin hiperplazi ve tip 1 endometriyal kanserler ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Benign hiperplazi, düşük seviyelerde somatik mutasyonlarla ilişkiliyken; EIN, mikrosatellit instabilitesi, PTEN ve KRAS'daki mutasyonlar gibi endometrioid tip endometriyal kansere benzer genetik değişimler ile ilişkilidir (49,50,51). Endometriyal hiperplazilerin %55'inde, endometriyal kansere ilerleyen endometriyal hiperplazilerin ise %83'ünde PTEN tümör süpresör gen mutasyonu saptanmıştır (52).

Hiperplaziler her yaşta görülebilmekle birlikte ağırlıklı olarak perimenopozal dönemdeki hastalarda izlenir (53,54).

### **2.3 TANI**

Endometriyal hiperplazinin en sık görülen semptomları, düzensiz uterin kanama ve endometriyal kavite içinde kan ve kan pıhtılarının birikmesine bağlı kramp

şeklinde karın ağrısıdır. Ağrının temel nedeni uterin kanama olsa da bu durum kadınlarda endişe ve huzursuzluğa yol açmaktadır. Endometriyal kavitenin kan ve kanın pıhtılaşmış ürünlerini dışarıya atmaya çalışması dar olan servikal kanaldan geçişi sırasında kramplara neden olmaktadır. Özellikle genç yaştaki hastalarda ağrı semptomları daha fazla olsa da, orta ve ileri yaş perimenopozal kadınlarda da aynı semptomlar görülebilmektedir (53,54). Endometriyal hiperplazilerin tanısında altın standart yaklaşım endometriyal biyopsidir (55,56). Bu hastalığın yönetiminde en önemli nokta yeterli miktarda doku örnekleme yaparak, hiperplazik lezyonlar ile kanserin ayırımını yapabilmektir. Günümüzde tanı amaçlı non-invaziv ve invaziv yöntemler klinik yaklaşımda kullanılmaktadır. Non-invaziv yöntemler değerlendirildiğinde servikal sitoloji tanıda nadiren faydalı olmaktadır. Endometriyal sitolojik taramaların (endocyte sampler) rutin kullanımda yeri yoktur ve yeterli çalışma bulunmamaktadır. Klinik çalışmalar transvajinal ultrasonografi (TVUSG) üzerine yoğunlaşmıştır. Ortalama endometriyal kalınlık gri skala USG'lerde, endometriyal hiperplazi için 21 mm iken, endometriyal kalınlığın 5 mm az ölçüldüğü hastalarda endometriyum kanseri nadiren izlenmektedir(55,57). Son yıllarda renkli doppler ve 3D power doppler USG'lerle ilgili çalışmalar umut verici olsa da yine de yeterli düzeyde çalışma yoktur(56).

Endometriyal hiperplazilerin standart ve kesin tanı metodu endometriyal biyopsidir. Eksojen progesteron kullanımı patolojik değerlendirmeleri etkileyebileceğinden biyopsiler çekilme kanamasından sonra alınmalıdır. Hangi teknik ile yapılan örneklemenin daha optimal olduğuna dair birçok çalışma vardır. Maliyet zarar hesaplarına göre kıyaslandığında ofis endometriyal biyopsiler, klasik dilatasyon ve küretaj işlemine göre daha uygulanabilir. Pipelle metodu ile yapılan örnekleme oranı endometriyal hiperplazi saptama oranı %66,7-82,3 olarak rapor edilmiştir(58). Yetersiz örnekleme ya da klinik şüphenin devam ettiği olgularda klasik

dilatasyon ve küretaj ile biyopsi yapılması gerekmektedir. Küretaj işlemi invaziv bir işlem olduğundan uterus perforasyonu, enfeksiyon, kanama ve yalancı pasaj oluşması gibi komplikasyonları vardır.

Sonohisterografi klinikte kullanılan bir diğer invaziv tanı yöntemidir. İşlem ultrasonografi eşliğinde uterin kavitenin salin infüzyonu ile doldurularak ultrasonografik görüntülerinin alınmasıyla yapılır. Lezyonun endometriyal olup olmadığının ayırımında sıklıkla kullanılmaktadır.

Ofis histereskopi kolay uygulanabilir ve artan oranda kullanılmaya başlanan bir diğer tanı yöntemidir. Kavitenin direk izlenip düzensiz rejenerasyon alanları, nekrotik alanlar, asimetrik kalınlaşma ve polipoid yapılar gibi şüpheli görülen bölgelerden biyopsi alınmasını sağlamaktadır. Ofis histereskopi ile değerlendirme yapmadan önce mutlaka endometriyal örnekleme ile malignite ekarte edilmelidir. Kansere olgularında ofis histereskopinin peritoneal sitolojik yayılım yapma riski bilinmektedir.

## **2.4 TEDAVİ**

Gerek endometriyal hiperplaziler, gerekse endometriyal intraepitelyal neoplaziler semptomatik oldukları için, tedavi edilmedikleri takdirde kansere ilerleme riski taşıdıkları için ve de belli oranda kanserle birlikte görülebilen riskleri bulunduğu için tedavi edilmeleri gereken klinik durumlardır.

Endometriyal hiperplazi saptanan bir hastada tedavi kararını belirleyen en önemli faktörler lezyonun atipili veya atipisiz olması ve hastanın fertilitate arzusunun var olup olmamasıdır. Hastanın yaşı, menopozal durumu ve cerrahi açıdan risk oluşturabilecek dahili sorunları tedavi seçiminde etkili olabilecek daha az önemli faktörlerdir.

Atipisiz endometriyal hiperplazi varlığında kansere ilerleme riski ve eş zamanlı kanser ihtimali düşük olduğu için tedavide esas amaç semptomların kontrolü olmalıdır ve bu amaçla en sık önerilenler bekleyici yaklaşım ve medikal tedavidir.

Bekleyici yaklaşım özellikle hastada progesteron tedavisi kontrendike ise veya progesteronla yan etki oluşmuşsa önerilir. Burada normal endometriyum histolojisi elde edilene kadar, 3-6 ay aralıklarla endometriyal küretaj yapılır. Bu yaklaşımla %70 hastada regresyon elde edilir. Eğer lezyon persistans gösterir veya progresyon saptanırsa tedavi önerilir (59).

Medikal tedavide en sık kullanılan ajanlar progestinlerdir. Ama aromataz inhibitörleri, selektif östrojen reseptör modülatörleri, gonadotropin serbestleştirici hormon agonistleri ve danazol da kullanılabilen diğer ajanlardır. Ayrıca anovulasyonu olan hastalarda ovulasyon indüksiyonu veya kombine oral kontraseptifler de kullanılabilir (33). Progestinlerin temel etki mekanizması östrojenin mitojenik etkilerini antagonize etmeleridir. Bunu östrojen reseptörlerini azaltarak ve hidroksilaz enzimini aktive edip estradiolü daha az aktif estrona dönüştürerek yaparlar. Diğer etki mekanizmaları apoptozun indüksiyonu, stromal desidüalizasyon ve endometriyal atrofidir. Fakat progestin tedavisi ile ilgili olarak doz, tedavi süresi, tercih edilecek progestinin türü ve kullanım yolu ile ilgili halen net ortaya konmuş standartlar yoktur (60,61). En sık tercih edilen ve bu nedenle de klinik tecrübenin en fazla olduğu progestin, medroksiprogesteron asetatıdır. Genellikle oral yolla 5-10 mg verilir, sıklık (ayda 12-14 gün) veya devamlı şekilde kullanılır. 3-6 ay kullanım ve regresyon olana kadar 3-6 ay aralıklarla kontrol endometriyal örnekleme önerilir. Bu tedavi ile %80-90 hastada regresyon sağlanır. Ama zaman içinde %10 hastada rekürrens riski vardır. 3 veya 6 ay kullanım sonrası regresyon yok veya progresyon varsa ya medroksiprogesteron asetat dozu artırılıp medikal tedaviye devam edilir ya da cerrahi yaklaşım tercih edilir (61).

Atipili endometriyal hiperplazide eşzamanlı kanser varlığı ve tedavisiz kansere ilerleme riski daha fazla olduğu için tedavide semptom kontrolü dışında kanserin ekartasyonu ve kansere progresyonun önlenmesi de amaçlanmalıdır. Bu hastalarda fertilité arzusu yoksa veya hasta postmenopozal ise cerrahi tedavi önerilmelidir. Fertilité arzusu olanlarda ise medikal tedavi uygulanabilir, ama genellikle daha yüksek dozda progestin kullanımı önerilir ve burada en sık kullanılan progestin megestrol asetattır. Medikal tedavi başlanan hastalarda 3 ay sonra kontrol örnekleme yapılmalıdır, persistans varsa doz daha da arttırılmalıdır. Atipili hiperplazide medikal tedavide regresyon oranları daha düşük olup %60-85 arasında değişir. %40 hastada persistans, %25 hastada ise rekürrens riski söz konusudur. Aynı zamanda tedaviye rağmen kansere progresyon riskinin olduğu akılda tutulmalıdır (61,62,63). Medikal tedavide median regresyon zamanı 6-9 aydır. Regresyon sonrası çocuk isteği varsa gebelik teşebbüsü önerilir, çocuk isteği yoksa rekürrensi önlemek için idame progestin tedavisi ve bu idame süresince 6-12 ay aralıklarla endometriyal örnekleme yapılması önerilir (64,65,66).

Atipili endometriyal hiperplazide cerrahi tedavi tercih edilmişse total ekstrasfasyal histerektomi yapılmalıdır. Eşzamanlı endometriyum kanseri olabileceği ve bunun serviksi tutma riski nedeniyle subtotal histerektomi yapılması önerilmemektedir. Bu hastalarda mevcut olabilecek ortalama 1/3 oranındaki eş zamanlı endometriyum kanserinden ötürü mümkünse intraoperatif frozen inceleme de yapılmalıdır (67). Cerrahi yaklaşım sırasında bilateral salpingo-ooforektomi (BSO) yapılması ise tartışmalıdır. Hasta premenopozal ve frozen incelemede endometrium kanseri mevcut değilse tüp ve overler korunabilir. Ama hasta postmenopozal dönemde ise histerektomiye BSO eklenmelidir. Frozen inceleme eş zamanlı endometriyum kanseri varlığını göstermişse de %5 civarında over metastazı riski ve özellikle genç

hastalarda %15'lere varan senkron over-endometriyum kanseri olasılığı düşünülerek BSO yapılmalıdır (19,68,69).

Hastanın tanısı için EİN sınıflama sistemi kullanılmış ve benign endometriyal hiperplazisi tanısına ulaşılmış ise amaç semptomları düzeltmektir ve hormonal tedavi uygun yaklaşımdır. Ama EİN tanısı söz konusu ise fertilité arzusu olanlarda hormonal tedavi düşünülebilir. Hormonal tedavi başarısız ise veya fertilité arzusu yoksa frozen inceleme ile birlikte histerektomi planlanmalıdır. EİN'deki progesteron tedavisinde de optimal rejim net değildir. Cevap oranları ise %75-80 civarındadır. Hormonal tedavi sırasında 3 ayda bir kontrol biyopsiler alınmalıdır. Hormonal tedavi oldukça etkin görünmektedir ve bu tedavi persistan EİN riskini %90, kansere progresyon riskini ise %75 oranında azaltır (36).

### **3. HİPPO YOLAĞI VE YAP PROTEİNİ**

Hippo yolağı, hücre proliferasyonu ve apoptozun düzenlenmesi yoluyla hayvanlarda organ büyüklüğünü kontrol eder. Yolak, adını sinyal bileşenlerinden olan protein kinaz Hippo'dan alır. Bu gendeki mutasyonlar aşırı doku büyümesine yol açar.

Organ büyümesi, hücre bölünmesi ve apoptoz dahil olmak üzere hücresele seviyede meydana gelen çeşitli süreçlere dayanır. Hippo yolağı, hücre proliferasyonunu kısıtlamak ve apoptozu tetiklemede görevlidir. Birçok kanser tipi kontrol edilmeyen hücre bölünmesi sonucu geliştiğinden, bu yolağın kanser gelişiminde rolü olabileceği düşünülerek araştırılması giderek daha önemli hale gelmiştir (70). Hippo yolağı kök hücre ve dokuya özgü progenitör hücre kendini yenileme ve genişlemesinde kritik role sahiptir (71).



Hippo yolu, MST 1/2'nin protein kinaz LATS 1/2'yi fosforile ettiği bir çekirdek kinaz kaskadından oluşur (72,73). MST1/2, Ste-20 protein kinaz familyasının bir üyesidir. Bu yüksek oranda korunmuş serin/treonin kinaz grubu, hücre proliferasyonu, apoptoz ve çeşitli stres tepkileri gibi çeşitli hücresel süreçleri düzenler (74). Fosforile edildiğinde, LATS 1/2 aktif hale gelir. MAP4K 4/6/7 ve MAP4K 1/2/3/5, LATS 1/2'yi aktive etmek için MST1/2'ye paralel olarak hareket eder (75,76,77). LATS 1/2, nükleer bir DBF-2 ile ilişkili kinazdır. Bu kinazlar, hücre döngüsünün ilerlemesinde, hücre büyümesi ve gelişiminde rol alan düzenleyicilerdir (78). WW45 ve MOBKL 1A/1B proteinlerinin LATS 1/2 aktivasyonunu kolaylaştırdığı bilinmektedir. WW45, WW alan adı içeren bir proteindir; yani bu protein, yüksek oranda triptofan ve prolin'den oluşan bir dizi amino asit içerir (79). MST 1/2, bir iskele proteini olarak işlev gören WW45'e bağlanır ve fosforile ederek LATS 1/2 fosforilasyonunu artırır (80). MST 1/2 ayrıca MOBKL 1A/1B'yi fosforile ederek aktive eder, bu da LATS 1/2'nin kinaz aktivitesinin güçlendirilmesini sağlar (81).

Aktive olan LATS 1/2, daha sonra transkripsiyonel koaktivatörler YAP/TAZ'ı fosforile ederek etkisiz hale getirir. YAP/TAZ DNA'yı kendi başına bağlayamaz. Etkin durumda, YAP/TAZ, TEAD 1/2/3/4 transkripsiyon faktörüne bağlanır ve YAP/TAZ-TEAD kompleksi çekirdeğe lokalize olur. Bu olay hücre döngüsünün ilerlemesi ve apoptoz'un inhibisyonu için gerekli olan birkaç genin ekspresyonuna neden olur (82). YAP/TAZ ayrıca pozitif büyüme düzenleyici olan bantam mikroRNA'nın ekspresyonunu da aktive ederek hücre sayısında artışa neden olur (83,84). Böylece, YAP/TAZ'ın LATS 1/2 ile inaktivasyonu, bu büyüme düzenleyicilerinin transkripsiyonel baskısı yoluyla büyümeyi engeller. YAP/TAZ'ın fosforile edilmesiyle LATS 1/2, YAP/TAZ'ın 14-3-3 proteinleri ile birleşmesini sağlar, bu da YAP/TAZ'ı sitoplazmada tutulmasını sağlayarak çekirdeğe taşınmasının önlenmesine neden olur. YAP ve TAZ etkinleştirildiğinde, p73, Runx2 ve TEAD dahil olmak üzere birçok

transkripsiyon faktörüne bağlanır (85). YAP epitel hücrelerinde Hoxa1 ve Hoxc13'ün ekspresyonu'nu düzenler (86).

### **3.1 HİPPO YOLAĞI VE YAP PROTEİNİNİN KANSER OLUŞUMUNDAKİ ROLÜ**

Hippo yolağı, WW45(Sav1), LATS 1/2 ve MST1/2 protein kinazları içeren bir kinaz kaskadı içerir(87). Hippo sinyal yolağında yer alan genlerin çoğu tümör süpresör olarak kabul edilirken, YAP ve TAZ onkogen olarak tanımlanmaktadır. YAP ve TAZ, kanser hücrelerini kanser kök hücrelerine dönüştürebilir (88). Yapılan çalışmalarda YAP ekspresyonu meme kanseri, kolorektal kanser ve hepatosellüler karsinomda artmış olarak bulunmuştur (89,90,91). Bu durum yapılan bir çalışmada in vivo ve in vitro kültürlerde YAP ekspresyonu artırıldıktan sonra hücre proliferasyonunda artış ve kontakt inhibisyonun ortadan kalktığı tespit edilmiş olması ile açıklanabilir (92). Bu özellik tipik olarak kanserli hücrelerde kaybolur ve kontrolsüz bir şekilde çoğalmasını sağlar (93). Aslında YAP aşırı ekspresyonu, kontakt inhibisyonunu antagonize eder (94).

Tümör süpresör genleri olarak bilinen yol bileşenlerinin çoğu, kanserlerde mutasyona uğrar. Örneğin, meme kanserinde Fat4'de mutasyonlar bulunmuştur (95). Ailesel ve sporadik schwannomalarda NF2 mutasyona uğramıştır (96). Ek olarak, birkaç kanser hücresi dizisi, WW45 ve MOBK1B proteinlerinin mutasyonlarını düşündürmektedir (97,98). Bununla birlikte, son zamanlarda yapılan araştırmalar, Hippo yolağı bileşenlerinin kanserleşme sürecinde daha önce düşünülenlerden daha fazla rol oynuyor olabileceğini göstermiştir. FDA onaylı 15 kemoterapötik ilaçla yapılan bir çalışmada Hippo yolağının inaktivasyonu sonucu bu ilaçların etkisinin arttığı gözlenmiştir (99). Başka bir çalışmada, Hippo yolağı kinazları LATS1/2'nin farelerde kanser bağışıklığını baskıladığı bulunmuştur (100).

Endüstriyel alanda medikal firmalar şuanda Hippo yolağındaki kinazları hedef alan ilaçlar üzerinde çalışmaktadır (101,102).

#### 4. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamız retrospektif olarak dizayn edilmiş olup, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniği'ne anormal uterin kanama ya da başka nedenlerle başvurduğu sırada ultrasonografik olarak endometriyal kalınlık artışı saptanan ve endometriyal biyopsi ya da histerektomi yapıp sonucu; atipisiz endometriyal hiperplazi (grup 1), EİN (grup 2) ve normal (kontrol grubu – grup 3) gelen gruplar araştırmanın örneklemini oluşturacak şekilde planlanmıştır.

Referans çalışmalarda bizim yapmayı planladığımız çalışmaya benzer çalışma bulunmadığından varsayımlarımız doğrultusunda yapılan güç analizi için, gruplar arasındaki farklılıktan elde edilecek olan etki büyüklüğünün orta derece etki büyüklüğüne sahip olacağı düşünülerek ( $W=0,3$ ) çalışmaya en az 108 kişi alındığında (her grup için en az 36 kişi) %95 güvenle %80 güç elde edilebileceği hesaplanmıştır. Veriler SPSS paket programıyla analiz edilecek, sürekli değişkenler ortalama  $\pm$  standart sapma ve kategorik değişkenler sayı ve yüzde olarak verilecek, bağımsız grup karşılaştırmalarında, parametrik test varsayımları sağlandığında Tek Yönlü Varyans Analizi; parametrik test varsayımları sağlanmadığında ise Kruskal Wallis Varyans Analizi kullanılacak, kategorik değişkenler arasındaki farklılıklar ise Ki Kare Analizi ile incelenecek şekilde planlama yapılmıştır.

Çalışma ve kontrol grubunu oluşturacak tüm hastaların geçmiş anamnezinden jinekolojik pelvik muayene, ultrasonografik pelvik değerlendirmeleri incelenmiştir. Tanı almış herhangi bir kanser ya da kanser öyküsü, sistemik hastalık (hipertansiyon, diyabet, tiroid hastalıkları vb.) ve ilaç kullanım öyküsü olan hastalar

çalışma dışı tutulmuştur. Bu değerlendirmeler sonucunda atipisiz hiperplazi grubundan 41 hasta, EİN grubundan 41 hasta ve normal kontrol grubundan 40 hasta çalışma için seçilmiştir.

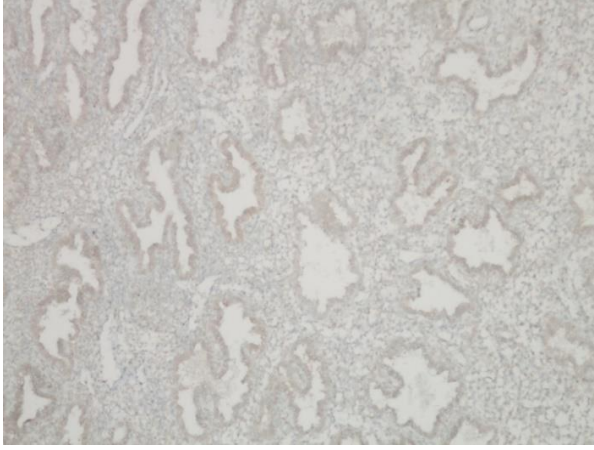
Patolojik olarak atipisiz endometriyal hiperplazi, EİN tanısı konulan ve kontrol grubundaki hastaların preparatları boyanma öncesi tekrar incelenerek patolojik tanıları teyit edildikten sonra immünohistokimyasal boyamalar için seçilen formalinde tespit edilmiş, parafine gömülü dokulardan elektrostatik yüklü lamlara 3 µm kalınlığında kesitler alındı ve etüvde 60°C'de en az iki saat kurutuldu. Deparafinizasyon ve antijen açığa çıkarma işlemleri de dahil olmak üzere, tüm boyama süreci Ventana, BenchMark LT tam otomatik immünohistokimya boyama cihazında gerçekleştirildi. Zıt boyama, Hematoksilen ve mavileştirici solüsyon ile cihazda tamamlandı. Kesitlerin dehidratasyonu, ksilen ile şeffaflandırılmaları ve lamel ile kapatılma aşamaları elde yapılarak immünohistokimya boyama protokolü tamamlandı. Olgulara hücre sitoplazma ve çekirdeğinde mevcut YAP1 proteinini tespit edebilen YAP1 poliklonal antibody (YAP1 poliklonal antibody PA5-19677, Thermo Fisher Scientific 3747 N. Meridian Road Rockford, IL 61105 USA) boyası 1:200 dilüsyonda uygulandı. Pozitif kontrol oluşturmak amacıyla over seröz papiller karsinomu olgusu kullanıldı.

#### **4.1 YAP1 Poliklonal Antikoru ile Boyanmanın Yorumlanması**

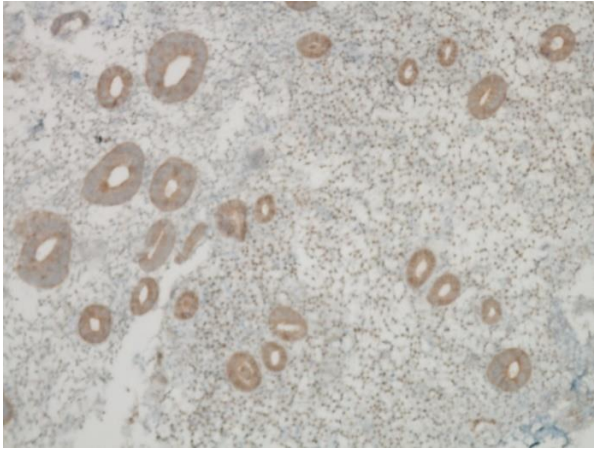
İmmünohistokimyasal bulgular, tek bir patolog tarafından semikantitatif olarak değerlendirildi. Boyanan hücrelerin boyanma yoğunluğu ve dağılımı değerlendirildi. Nükleer ve/veya sitoplazmik boyanma pozitif reaksiyon olarak kabul edildi. YAP1 antikoru ile hücre sitoplazma ve çekirdeğinde boyanma olmayanlar negatif kabul edildi. Boyanma izlenen olgular, hücrelerinin boyanma yoğunluğuna göre 3 gruba

subjektif olarak ayrıldı: zayıf boyanma olanlara 1, orta boyanma olanlara 2, yoğun boyanma olanlara 3 (Resim 4-6) değeri verildi. Boyanma yüzdeleri belirlendi.

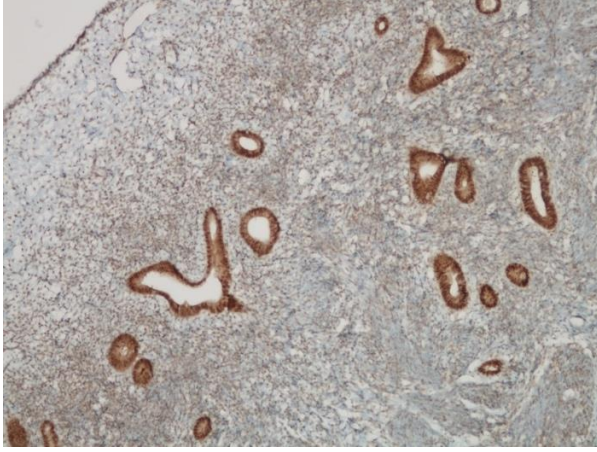
Veriler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak kaydedildi. Preparatlardaki YAP1 ekspresyonunda grup 1, grup2 ve grup 3'ün boyanma yoğunluğu, nükleer/sitoplazmik boyanma durumu (Resim 7-9) ve boyanma yüzdesi gibi grup karşılaştırmalarında tek yönlü varyans analizi kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırmada Pearson ki-kare testi kullanıldı. İstatistiksel analiz için SPSS paket programı kullanıldı.  $P < 0.05$  anlamlı kabul edildi.



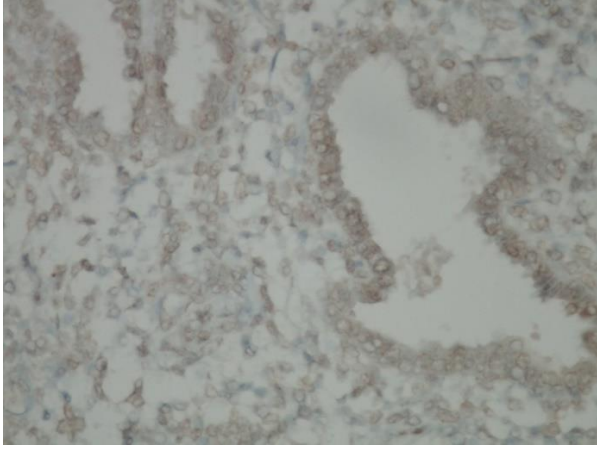
Resim 4: Zayıf Boyanma (YAP1 Poliklonal antikor boyama ile)



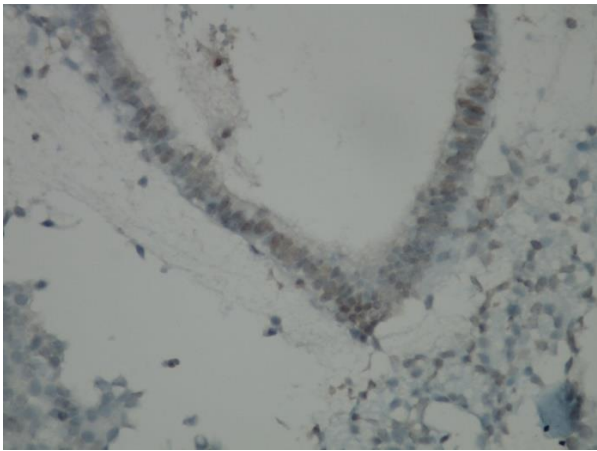
Resim 5: Orta Boyanma(YAP1 Poliklonal antikor boyama ile)



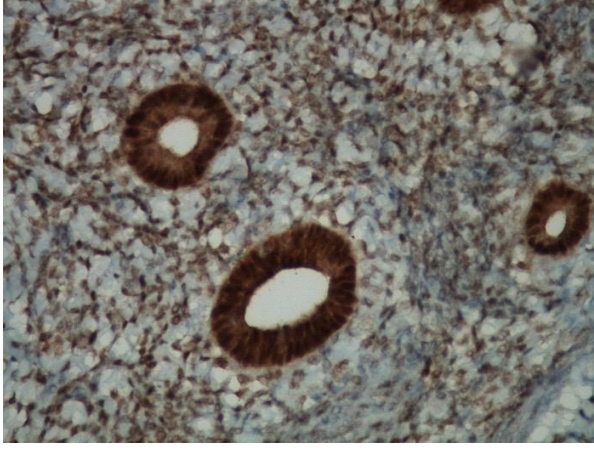
Resim 6: Yoğun Boyanma (YAP1 Poliklonal antikor boyama ile)



Resim 7: Sitoplazmik Boyanma (YAP1 Poliklonal antikor boyama ile)



Resim 8: Nükleer Boyanma (YAP1 Poliklonal antikor boyama ile)



Resim 9: Nükleer ve Sitoplazmik Boyanma (YAP1 Poliklonal antikor boyama ile)

## 5. BULGULAR

Yapılan değerlendirmeler sonucunda atipisiz hiperplazi grubundan 41 hasta, EİN grubundan 41 hasta ve normal kontrol grubundan 40 hasta çalışma için seçilmiştir. (Tablo 4)

Tablo 4: Olguların Dağılım Oranları

Tanı	Hasta Sayısı (n)	Hasta Yüzdesi (%)
Atipisiz Endometriyal Hiperplazi	41	%34
Endometriyal İntraepitelyal Neoplazi	41	%34
Normal	40	%32
Toplam	122	%100

### 5.1 Boyanma Durumu

Çalışmaya alınan preparatların YAP1 poliklonal antikor boyasıyla nükleer, sitoplazmik, nükleer ve sitoplazmik olarak boyanma durumları değerlendirildi. Buna

göre atipisiz endometriyal hiperplazi grubunda; nükleer boyanan preparat izlenmedi, sitoplazmik boyanan 21 preparat (%51.2), nükleer ve sitoplazmik boyanan 20 preparat (%48.8) izlendi. EİN grubunda; nükleer boyanan 1 preparat (%2.4), sitoplazmik boyanan 21 preparat (%51.2), nükleer ve sitoplazmik boyanan 19 preparat (%46.3) izlendi. Normal kontrol gurubunda; nükleer boyanan preparat izlenmedi, sitoplazmik boyanan 20 preparat (%50), nükleer ve sitoplazmik boyanan 20 preparat (%50) izlendi (Tablo 5). Gruplar kendi aralarında boyanma durumu açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (p: 0.69)

Tablo 5: Grupların Boyanma Durumu Açısından Karşılaştırılması

Boyanma Durumu		Grup			Toplam	P değeri
		Atipisiz Endometriyal Hiperplazi	Endometriyal İntıraepitelyal Neoplazi	Normal		
Nükleer	Sayı	0	1	0	1	>0.05
	Yüzde	0,0%	2,4%	0,0%	0,8%	
Sitoplazmik	Sayı	21	21	20	62	>0.05
	Yüzde	51,2%	51,2%	50,0%	50,8%	
Nükleer ve Sitoplazmik	Sayı	20	19	20	59	>0.05
	Yüzde	48,8%	46,3%	50,0%	48,4%	
Toplam	Sayı	41	41	40	122	
	Yüzde	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

## 5.2 Boyanma Yoğunluğu

Çalışmaya alınan preparatların YAP1 poliklonal antikor boyasıyla zayıf, orta ve yoğun olarak boyanma yoğunluğu durumları değerlendirildi. Buna göre atipisiz endometriyal hiperplazi grubunda; zayıf boyanan 12 preparat (%29.3), orta yoğunlukta boyanan 24 preparat (%58.5), yoğun boyanan 5 preparat (%12.2) izlendi. EİN grubunda; zayıf boyanan 14 preparat (%34.1), orta yoğunlukta boyanan 19 preparat (%46.3), yoğun boyanan 8 preparat (%19.5) izlendi. Normal kontrol gurubunda; zayıf boyanan 9 preparat (%22.5), orta yoğunlukta boyanan 26 preparat



(%65), yoğun boyanan 5 preparat (%12.5) izlendi (Tablo 6). Gruplar kendi aralarında boyanma yoğunluğu açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (p: 0.525)

Tablo 6: Grupların Boyanma Yoğunluğu Açısından Karşılaştırılması

Boyanma Yoğunluğu		Grup			Toplam	P değeri
		Atipisiz Endometriyal Hiperplazi	Endometriyal İntraepitelyal Neoplazi	Normal		
Zayıf	Sayı	12	14	9	35	>0.05
	Yüzde	29,3%	34,1%	22,5%	28,7%	
Orta	Sayı	24	19	26	69	>0.05
	Yüzde	58,5%	46,3%	65,0%	56,6%	
Yoğun	Sayı	5	8	5	18	>0.05
	Yüzde	12,2%	19,5%	12,5%	14,8%	
Toplam	Sayı	41	41	40	122	
	Yüzde	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

### 5.3 Boyanma Yüzdesi

Çalışmaya alınan preparatların YAP1 poliklonal antikor boyasıyla boyanma yüzdeleri değerlendirildi. %50'den az, %50-79 arası ve %80-100 arası olarak 3 gruba ayrıldı. Buna göre atipisiz endometriyal hiperplazi grubunda; %50'den az boyanan 7 preparat (%17.1), %50-79 arası boyanan 2 preparat (%4.9), %80-100 arası boyanan 32 preparat (%78) izlendi. EİN grubunda; %50'den az boyanan 3 preparat (%7.3), %50-79 arası boyanan 3 preparat (%7.3), %80-100 arası boyanan 35 preparat (%85.4) izlendi. Normal kontrol grubunda; %50'den az boyanan 3 preparat (%7.5), %50-79 arası boyanan 2 preparat (%5), %80-100 arası boyanan 35 preparat (%87.5) izlendi (Tablo 7). Gruplar kendi aralarında boyanma yüzdesi açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (p: 0.603)

Tablo 7: Grupların Boyanma Yüzdesi Açısından Karşılaştırılması

Boyanma Yüzdesi		Grup			Toplam	P değeri
		Atipisiz Endometriyal Hiperplazi	Endometriyal İntraepitelyal Neoplazi	Normal		
%50'den az	Sayı	7	3	3	13	>0.05
	Yüzde	17,1%	7,3%	7,5%	10,7%	
%50-79	Sayı	2	3	2	7	>0.05
	Yüzde	4,9%	7,3%	5,0%	5,7%	
%80-100	Sayı	32	35	35	102	>0.05
	Yüzde	78,0%	85,4%	87,5%	83,6%	
Toplam	Sayı	41	41	40	122	>0.05
	Yüzde	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

## 6. TARTIŞMA VE SONUÇ

Endometriyal hiperplaziler tip 1 endometriyum kanserlerinin öncü lezyonları olarak kabul edilmekle birlikte hiperplaziden kansere geçiş sürecinin ayrıntıları günümüzde henüz aydınlatılamamıştır. Endometriyal hiperplaziler genel olarak perimenopozal yaş grubunda görülmekte olup en sık nedeni anovulatuvar sikluslardır. Hiperplazi gelişiminde rol alan risk faktörleri artmış östrojen, azalmış progesteron etkinliği, obezite, nulliparite, polikistik over sendromu, erken menarş, geç menopoz, eksojen östrojen kullanımı, androjen salgılayan tümörler ve östrojen salgılayan tümörler olarak sıralandırılabilir. Öte yandan, neden benzer risk faktörlerine sahip kişilerin hepsinde endometriyal hiperplazi gelişmediği konusu günümüzde henüz açıklık kazanmamıştır. Benzer şekilde yukarıda açıklandığı üzere artmış atipi varlığı endometriyum kanseri gelişimi açısından belirgin risk faktörü olarak kabul edilirken; hangi olguların kanser sürecine ilerleyeceği de net olarak aydınlatılabilmemiş değildir.

Endometriyal hiperplazilerde bir başka sorun da sınıflandırmanın objektif olarak yapılamamasından kaynaklanmaktadır. Son yıllarda güncellik kazanan EİN

sınıflaması endometriyal hiperplazi sınıflandırmasında, WHO 94 sınıflandırmasının kendine özgü kısıtlamalarını kısmen giderse de gerek yöntemin pahalı ve ayrıntılı oluşu gerekse yetişmiş patolog eksikliği yöntemin yaygın kullanımına olanak sağlamamakta ve objektif kriterler yerine daha subjektif kriterlerin kullanılması yoluna gidilmektedir. Endometriyal hiperplazi patofizyolojisinin günümüzde kesin olarak aydınlatılamamış olması karşılaşılan bu tür sorunların temel sebeplerinden birisidir.

EİN sınıflamasında da kullanılan PTEN geni bir tümör süpresör gen olup 10. kromozomun q23 lokalizasyonunda yer almaktadır. PTEN gen mutasyonu endometriyal kanser olgularının %30-50'sinde karşımıza çıkmakta olup bu oran şu ana kadar analiz edilen tüm tümörler içerisinde rastlanan en büyük orandır. PTEN aynı zamanda PI3-kinaz'ı defosforilize eden bir lipid fosfatazdır. Bu yolak üzerinden PTEN hücre sürveyi ve proliferasyonu üzerinde önemli rol oynamaktadır (103).

Hippo sinyal yolağı kontak inhibisyonda, organ boyutu kontrolünde ve kanser gelişiminde rol oynadığı gösterilmiş olan bir yolak olup çalışmamızda kullandığımız YAP1 proteini de bu yolağın fonksiyonlarının araştırılmasında kullanılan önemli bir moleküldür. Genel olarak bir organ nihai boyutlarına ulaştığında Hippo yolağının aktive olup hücre proliferasyonunu inhibe ettiği ya da apoptozu tetiklediği kabul edilir (104).

Hippo yolağının ko-aktivatörleri olan TAZ ve YAP1 proteinlerinin bazı kinaz kaskadları üzerinden doku hemostazı, doku spesifik kök hücre regülasyonu ve dolayısıyla organ boyutu kontrolü üzerinde rolü olduğu bilinmektedir. TAZ ve YAP1 proteinlerini içeren Hippo yolağı disregülasyonun da epitelyal-mezenkimal transisyonundan ve kanser gelişiminden sorumlu olduğu gösterilmiştir (9).

Öte yandan Tumaneng ve ark. 2012 yılında yaptıkları bir çalışmada YAP1 proteininin miR-29 üzerinden PTEN geni ekspresyonunu baskıladığını göstermişlerdir. Çalışmacılar Hippo ve PI3K-mTOR yolları arasında da fonksiyonel bir bağlantı olduğu göstermişlerdir (105).

Romero-Perez ve ark. ise yaptıkları çalışmada gerek in vitro gerek in vivo ortamda Hippo yolağının YAP1 ile benzer fonksiyonlara sahip olan TAZ proteini ekspresyonunun agresif endometriyal kanser subtiplerinin gelişiminde rolü olduğunu ortaya koymuşlardır(9).

Yukarıdaki bilgiler ışığında endometriyum kanserlerinin öncü lezyonları olan endometriyal hiperplazilerde YAP1 proteini ekspresyonunun araştırılmasının akla yatkın olduğu açıktır. Böyle bir bağlantının varlığı endometriyal hiperplazi patofizyolojisinin açıklanmasına katkı sağlayacağı gibi, hiperplazi sınıflandırmasında da objektif bir kriter olarak kullanılabilir. Biz de bu çalışmamızda bu bağlantıyı araştırmak üzere hastanemiz Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniği'ne anormal uterin kanama ya da başka nedenlerle başvurup, endometriyal kalınlık artışı nedeniyle endometriyal biyopsi ya da histerektomi yapıp sonucu; atipisiz endometriyal hiperplazi (n= 41), EİN (n=41) ve normal (n=40) gelen toplam 122 hastayı çalışmamıza dahil ettik. Olgulara hücre sitoplazma ve çekirdeğinde mevcut YAP1 proteinini tespit edebilen YAP1 poliklonal antibody boyası 1:200 dilüsyonda uyguladık. Grupları boyanma durumuna, boyanma yoğunluğuna ve boyanma yüzdelere göre karşılaştırdık.

Çalışmamız sonucunda boyanma durumuna göre baktığımızda atipisiz endometriyal hiperplazi grubunda; nükleer boyanan preparat izlenmedi, sitoplazmik boyanan 21 preparat (%51.2), nükleer ve sitoplazmik boyanan 20 preparat (%48.8) izlendi. EİN grubunda; nükleer boyanan 1 preparat (%2.4), sitoplazmik boyanan 21

preparat (%51.2), nükleer ve sitoplazmik boyanan 19 preparat (%46.3) izlendi. Normal kontrol gurubunda; nükleer boyanan preparat izlenmedi, sitoplazmik boyanan 20 preparat (%50), nükleer ve sitoplazmik boyanan 20 preparat (%50) izlendi. Ancak gruplar arasında boyanma durumuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilemedi ( $p>0.05$ ). Boyanma yoğunluğuna göre baktığımızda atipisiz endometriyal hiperplazi grubunda; zayıf boyanan 12 preparat (%29.3), orta yoğunlukta boyanan 24 preparat (%58.5), yoğun boyanan 5 preparat (%12.2) izlendi. EİN grubunda; zayıf boyanan 14 preparat (%34.1), orta yoğunlukta boyanan 19 preparat (%46.3), yoğun boyanan 8 preparat (%19.5) izlendi. Normal kontrol gurubunda; zayıf boyanan 9 preparat (%22.5), orta yoğunlukta boyanan 26 preparat (%65), yoğun boyanan 5 preparat (%12.5) izlendi ( $p>0.05$ ). Boyanma yüzdelerini incelediğimizde ise atipisiz endometriyal hiperplazi grubunda; %50'den az boyanan 7 preparat (%17.1), %50-79 arası boyanan 2 preparat (%4.9), %80-100 arası boyanan 32 preparat (%78) izlendi. EİN grubunda; %50'den az boyanan 3 preparat (%7.3), %50-79 arası boyanan 3 preparat (%7.3), %80-100 arası boyanan 35 preparat (%85.4) izlendi. Normal kontrol gurubunda; %50'den az boyanan 3 preparat (%7.5), %50-79 arası boyanan 2 preparat (%5), %80-100 arası boyanan 35 preparat (%87.5) izlendi. Bu sonuçlarda da gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edemedik ( $p>0.05$ ).

Sonuçlarımıza göre endometriyal hiperplazi subgrupları arasında YAP1 proteini ekspresyonu açısından başlangıçta öngördüğümüzün aksine herhangi bir farklılık tespit edemedik. Literatürde bu konuda daha önce yapılmış bir çalışma bulunmadığı için verilerimizi literatür verileriyle karşılaştırma imkanımız olmadı. Olgu sayılarımızın sınırlı olması bu sonuçları etkileyen faktörlerden biri olabileceğini düşünmekteyiz.

Yine bulgularımızın aksine Romero-Perez ve ark. endometriyum kanserlerinde TAZ ekspresyonunu arařtırdıkları çalıřmada dūřuk grade endometriyal endometrioid karsinom olgularında %18, yūksək grade endometriyal endometrioid karsinom olgularında %36, endometriyal serōz karsinom olgularında %46, endometriyal karsinosarkom olgularında %54, andiferansiye endometriyal karsinom olgularında ise TAZ ekspresyonunu %76 olarak saptamıř olup bu durum tūmōr agresyonu ile paralel olarak Hippo yolađının sūrece dahil olduđunu gōstermektedir (9).

Bu bilgiler gōz önūnde bulundurulduđunda endometriyal hiperplazilerden endometriyum kanserine geçiř sūrecinde YAP1 proteini ekspresyonunun, dolayısıyla Hippo yolađının rolū olmadıđını dūřünmek de akla yatkın gelmektedir.

Öte yandan 2018 yılında Jiang ve ark. tarafından yapılan bir başka çalışmada ise miR-29 aşırı ekspresyonunun endometriyal karsinomlarda TPX2 üzerinden proliferasyonu ve invazyonu inhibe ettiği, apoptozu indüklediği ortaya konmuştur (106).

Endometriyum kanseri tedavisinde kullanılmak üzere yeni geliştirilen bir ilaç olan verteporfin bir YAP1 fonksiyon inhibitörüdür. Ancak alışmalar ilacın endometriyum kanseri üzerindeki etkinliğinin YAP1 proteininden bağımsız bir yolak üzerinden olduğunu gōstermektedir (107).

Bu bulgular çalışmamızın sonuçlarına destek olacak nitelikte olup; tūm bu bulgular YAP1, Hippo yolağı, miR-29, PI3-kinaz, PTEN geni ile endometriyal hiperplazi ve endometriyum kanseri arasındaki ilişkinin kompleks yapısını ortaya koymaktadır.

Nitekim bu düşüncelerimizi destekler şekilde Hu X ve ark. yaptıkları çalışmada prostat kanseri dokularında YAP1 ekspresyonu azalmış ya da kaybolmuşken, prostat hiperplazisi ve normal prostat dokularında YAP1 ekspresyonu artmış olarak tespit etmişlerdir (108).

Sonuç olarak endometriyal hiperplazilerin patofizyolojisini açıklamaya dönük çalışmalar güncelliğini korumakta olup biz de bu konuda sonuçlarının önemli ve literatüre katkısı olabileceğini düşündüğümüz endometriyal hiperplazilerde YAP1 proteini ekspresyonunun rolünü araştırmaya çalıştık. Çalışmamız sonucunda YAP1 ekspresyonu açısından normal dokular ile hiperplazi altgrupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığını gördük. Bu durum ilk aşamada endometriyal hiperplazi sürecinin YAP1-Hippo yolağından bağımsız geliştiğini akla getirirse de güncel literatür bilgileri değerlendirildiğinde sonuçlarımızın endometriyal hiperplazi patofizyolojisinin karmaşıklığının bir yansıması olduğunu öngörmekte olup net sonuçların daha fazla hasta sayısı ve daha geniş imkanlarla yapılabilecek ileri çalışmalar neticesinde ortaya çıkacağını düşünmekteyiz. Çalışmamız bu haliyle dünya literatüründe yapılan ilk çalışma olup bu konuda daha sonra yapılacak olan çalışmalara altyapı teşkil edecektir.

## KAYNAKLAR

1. Siegel R, Naishadham D, Jemal A, et al. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012;62:10–29.
2. Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, Raymond L, Yound J. *Cancer incidence in five continents*, vol. 7. Lyon: IARC; 1997.
3. Ayhan A, Kişnişçi H, Gökşin E, Durukan T et al: Endometrium kanseri. *Temel Kadın Hast. ve Doğum Bilg.*, Güneş Kitabevi 1996, 963-73.
4. Bokhman JV. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma *Gynecol Oncol* 1983;15:10-17.
5. Azueta A, Gatus S, Matias-Guiu X Endometrioid carcinoma of the endometrium: pathologic and molecular features. *Semin Diagn Pathol*. 2010 Nov;27.
6. Ayhan A, Murat G, Polat D. *Textbook of Gynaecological Oncology*. Güneş Kitabevi 2009.
7. Kurman RJ, Kaminski PF, Norris HJ. The behavior of endometrial hyperplasia: a long term study of 'untreated' hyperplasia in 170 patients. *Cancer* 1985;56:403-412.
8. Yong Song, Jing Fu, Min Zhou, Li Xiao, Xue Feng, Hengxi Chen, and Wei Huang Activated Hippo/Yes-Associated Protein Pathway Promotes Cell Proliferation and Anti-apoptosis in Endometrial Stromal Cells of Endometriosis *J Clin Endocrinol Metab*. 2016 Apr; 101(4): 1552–1561.
9. Laura Romero-Pérez, Pablo Garcia-Sanz, Alba Mota, Susanna Leskelä, Marta Hergueta-Redondo, Juan Díaz-Martín, M Ángeles López-García, M Ángeles Castilla, Ángel Martínez-Ramírez, Robert A Soslow, Xavier Matias-Guiu, Gema Moreno-Bueno and Jose Palacios A role for the transducer of



- the Hippo pathway, TAZ, in the development of aggressive types of endometrial cancer *Modern Pathology* (2015) 28, 1492–1503
10. Masahiro Tsujiura, Virginia Mazack, Marius Sudol, Hanna G. Kaspar, John Nash, David J. Carey, Radhika Gogoi Yes-Associated Protein (YAP) Modulates Oncogenic Features and Radiation Sensitivity in Endometrial Cancer *Plos One* June 2014 | Volume 9 | Issue 6 | e100974
  11. Ugolini C, Borrelli N, Niccoli C, Elisei R, Viola D, Vitti P, Miccoli P, Basolo F. Role of YAP-1 in Thyroid Tumor Progression and Outcome. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2016 Oct 7. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 27753655.
  12. Kim HM, Jung WH, Koo JS. Expression of Yes-associated protein (YAP) in metastatic breast cancer. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015 Sep 1;8(9):11248-57. eCollection 2015. PubMed PMID: 26617849; PubMed Central PMCID: PMC4637664.
  13. Jia Zhao, Xiangnan Li, Yang Yang, Dengyan Zhu, Chunyang Zhang, Donglei Liu, Kai Wu, and Song Zhao Effect of YAP1 silencing on esophageal cancer *Onco Targets Ther*. 2016; 9: 3137–3146. Published online 2016 May 26.
  14. Lidor A, Ismajovich B, Confino E. David MP. Histopathologic findings in 226 women with postmenopausal uterine bleeding. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1986;65;41-3.
  15. Montgomery BE, Daum GS, Dunton CJ. Endometrial hyperplasia: A review. *Obstet Gynecol Surv* 2004; 59:368-78:10.
  16. Tavassoli F, Kraus FT. Endometrial lesions in uteri resected for atypical endometrial hyperplasia. *Am J Clin Pathol* 1978;70: 770-779.

17. Trimble C, Kauderer J, Silverberg S, et al. Concurrent endometrial carcinoma in women with biopsy diagnosis of atypical endometrial hyperplasia. *Gynecol Oncol* 1994;55:66-71.
18. Steven G, Sirverberg MD. Problems in the differential diagnosis of endometrial hyperplasia and carcinoma. *Mod Pathol*, 2000;13:309-327.
19. Zaino RJ, Kauderer J, Trimble CL, et al. Reproducibility of the diagnosis of atypical endometrial hyperplasia: a Gynecologic Oncology Group study. *Cancer* 2006; 106:804.
20. Megumi Yanokura, Kouji Banno, Miho Iida et al. MicroRNAs in endometrial cancer: recent advances and potential clinical applications. *EXCLI J*. 2015; 14: 190– 198.
21. Hedrick Ellenson L, Ronnett BM, Kurman RJ. Precursor Lesions of Endometrial Carcinoma. In: Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract, 6th ed, Kurman RJ, Hedrick Ellenson L, Ronnett, BM. (Eds), Springer, New York 2010. p.360-361.
22. Baak JP, Mutter GL. EIN and WHO94. *J Clin Pathol* 2005;58:1-6.
23. 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;190:462-9.
24. Jovanovic AS, Boynton KA, Mutter GL. Uteri of women with endometrial carcinoma contain a histopathological spectrum of monoclonal putative precancers, some with microsatellite instability. *Cancer Res* 1996;56:1917-21.
25. Mutter GL, Ince TA, Baak JP, Kust GA, Zhou XP, Eng C. Molecular identification of latent precancers in histologically normal endometrium. *Cancer Res* 2001;61:4311-4.

26. Mutter GL, Lin MC, Fitzgerald JT, Kum JB, Eng C. Changes in endometrial PTEN expression throughout the human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:2334-8.
27. Baak JP, Ørbo A, van Diest PJ, Jiwa M, de Bruin P, Broeckaert M, Snijders W, Boodt PJ, Fons G, Burger C, Verheijen RH, Houben PW, The HS, Kenemans P. Prospective multicenter evaluation of the morphometric D-score for prediction of the outcome of endometrial hyperplasias. *Am J Surg Pathol* 2001;25:930-5.
28. Mutter GL, Zaino RJ, Baak JP, Bentley RC, Robboy SJ. Benign endometrial hyperplasia sequence and endometrial intraepithelial neoplasia. *Int J Gynecol Pathol* 2007;26:103-14.
29. Hecht JL, Ince TA, Baak JP, Baker HE, Ogden MW, Mutter GL. Prediction of endometrial carcinoma by subjective endometrial intraepithelial neoplasia diagnosis. *Mod Pathol* 2005;18:324-30.
30. Brinton LA, Berman ML, Mortel R, Twigg LB, Barrett RJ, Wilbanks GD, Lannom L, Hoover RN. Reproductive, menstrual, and medical risk factors for endometrial cancer: results from a case-control study. *Am J Obstet Gynecol* 1992;167:1317-25.
31. Baak JPA, Nauta J, Wisse-Brekelmans E, Bezemer P. Architectural and nuclear morphometrical features together are more important prognosticators in endometrial hyperplasias than nuclear morphometrical features alone. *J Pathol* 1988;154:335-41.
32. Dunton C, Baak J, Palazzo J, van Diest PJ, McHugh M, Widra EA. Use of computerized morphometric analyses of endometrial hyperplasias in the prediction of coexistent cancer. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:1518-21.
33. 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;188:856-9.
34. Orbo A, Baak JP, Kleivan I, Lysne S, Prytz PS, Broeckaert MA, Slappendel A, Tichelaar HJ. Computerised morphometrical analysis in endometrial hyperplasia for the prediction of cancer development. A long-term retrospective study from northern Norway. *J Clin Pathol* 2000;53:697-703.
35. Baak JP, Mutter GL, Robboy S, et al. The molecular genetics and morphometry- based endometrial intraepithelial neoplasia classification system predicts disease progression in endometrial hyperplasia more accurately than the 1994 World Health Organization classification system. *Cancer* 2005;103:2304-12.
36. Semere LG, Ko E, Johnson NR, Vitonis AF, Phang LJ, Cramer DW, Mutter GL. Endometrial intraepithelial neoplasia: clinical correlates and outcomes. *Obstet Gynecol* 2011;118:21-8.
37. Mutter GL, Kauderer J, Baak JP, Alberts D; Gynecologic Oncology Group. Biopsy histomorphometry predicts uterine myoinvasion by endometrial carcinoma: a Gynecologic Oncology Group study. *Hum Pathol* 2008;39:866-74.
38. Salman MC, Usubutun A, Boynukalin K, Yuce K. Comparison of WHO and endometrial intraepithelial neoplasia classifications in predicting the presence of coexistent malignancy in endometrial hyperplasia. *J Gynecol Oncol* 2010;21:97-101.
39. Lacey JV Jr, Mutter GL, Ronnett BM, Ioffe OB, Duggan MA, Rush BB, Glass AG, Richesson DA, Chatterjee N, Langholz B, Sherman ME. PTEN expression in endometriyal biopsies as a marker of progression to endometriyal carcinoma. *Cancer Res.* 2008 Jul 15;68(14):6014-20

40. Pallares J, Bussaglia E, Martínez-Guitarte JL, Dolcet X, Llobet D, Rue M, Sanchez- Verde L, Palacios J, Prat J, Matias-Guiu X. Immunohistochemical analysis of PTEN in endometriyal carcinoma: a tissue microarray study with a comparison of four commercial antibodies in correlation with molecular abnormalities. *Mod Pathol*. 2005 May;18(5):719-27
41. Guzeloglu-Kayisli O, Kayisli UA, Al-Rejjal R, Zheng W, Luleci G, Arici A. Regulation of PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10) expression by estradiol and progesterone in human endometrium. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003 Oct;88(10):5017-26
42. Chow LM, Baker SJ. PTEN function in normal and neoplastic growth *Cancer Lett*. 2006 Sep 28;241(2):184-96. Epub 2006 Jan 18.
43. Terakawa N, Kanamori Y, Yoshida S Loss of PTEN expression followed by Akt phosphorylation is a poor prognostic factor for patients with endometriyal cancer. *Endocr Relat Cancer*. 2003 Jun;10(2):203-8.
44. Lethaby A, Suckling J, Barlow D, Farquhar CM, Jepson RG, Roberts H. Hormone replacement therapy in postmenopausal women: endometrial hyperplasia and irregular bleeding. *Cochrane Database Syst Rev*. 2004. CD000402.
45. The Writing Group for the PEPI Trial. Effects of hormone replacement therapy on endometrial histology in postmenopausal women. The Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions (PEPI) Trial. The Writing Group for the PEPI Trial. *JAMA*. 1996 Feb 7. 275(5):370-5.
46. Anderson GL, Judd HL, Kaunitz AM, et al. Effects of estrogen plus progestin on gynecologic cancers and associated diagnostic procedures: the Women's Health Initiative randomized trial. *JAMA*. 2003 Oct 1. 290(13):1739-48.
47. Cohen I. Endometrial pathologies associated with postmenopausal tamoxifen treatment. *Gynecol Oncol*. 2004 Aug. 94(2):256-66.

48. Chen YL, Wang KL, Chen MY, et al. Risk factor analysis of coexisting endometrial carcinoma in patients with endometrial hyperplasia: a retrospective observational study of Taiwanese Gynecologic Oncology Group. *J Gynecol Oncol.* 2013 Jan. 24(1):14-20.
49. Lancaster JM, Powell CB, Chen LM, Richardson DL, SGO Clinical Practice Committee. Society of Gynecologic Oncology statement on risk assessment for inherited gynecologic cancer predispositions. *Gynecol Oncol.* 2015 Jan. 136 (1):3-7.
50. Zaino R, Carinelli S G, Ellenson L H, Lyon. *Tumours of the uterine Corpus: epithelial Tumours and Precursors.* WHO Press; 2014. 125-126.
51. Cancer Genome Atlas Research Network., Kandoth C, Schultz N, Cherniack AD, Akbani R, Liu Y, et al. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature.* 2013 May 2. 497 (7447):67-73.
52. Sherman ME. Theories of endometrial carcinogenesis: a multidisciplinary approach. *Mod Pathol.* 2000 Mar. 13(3):295-308.
53. Clinico- epidemiological study of endometrial hyperplasia a risk factor for the development of endometrial carcinoma 2015 Jan-Mar;119(1):154-61.
54. Modestil CC. What is new in endometrial hyperplasia treatment or prevention? Best articles from the past year. *Obstet Gynecol.* 2014 Nov;124(5):1029-30.
55. Jindal A. Mohi MK. Kaur M. Kaur B. Endometrial evaluation by ultrasonography hysteroscopy and histopathology in cases of breast carcinoma on Tamoxifen therapy. 2015 Apr-Jun;6.
56. Goldzier JW, Axelrod LR. Clinical and biochemical features of the polycystic ovarian disease. *Fertil Steril* 1963;14:631-638.

57. Mc Campbell et al, Metformin taking away the candy for cancer. 2010 Sep;46(13):2369-80
58. Sanam M. Majid MM. Comparison the Diagnostic Value of Dilatation and Curettage Versus Endometrial Biopsy by Pipelle. a Clinical Trial Asian Pac J Cancer Prev. 2015;16(12):4971-5.
59. Reed SD, Voigt LF, Newton KM, Garcia RH, Allison HK, Epplein M, Jordan D, Swisher E, Weiss NS. Progestin therapy of complex endometrial hyperplasia with and without atypia. Obstet Gynecol 2009;113:655-62.
60. Armstrong AJ, Hurd WW, Elguero S, Barker NM, Zanotti KM. Diagnosis and management of endometrial hyperplasia. J Minim Invasive Gynecol 2012;19:562-71.
61. Trimble CL, Method M, Leitao M, Lu K, Ioffe O, Hampton M, Higgins R, Zaino R, Mutter GL. Management of endometrial precancers. Obstet Gynecol 2012;120:1160-75.
62. Gallos ID, Yap J, Rajkhowa M, Luesley DM, Coomarasamy A, Gupta JK. Regression, relapse, and live birth rates with fertility-sparing therapy for endometrial cancer and atypical complex endometrial hyperplasia: a systematic review and metaanalysis. Am J Obstet Gynecol 2012;207:266.e1-12.
63. Ushijima K, Yahata H, Yoshikawa H, et al. Multicenter phase II study of fertility-sparing treatment with medroxyprogesterone acetate for endometrial carcinoma and atypical hyperplasia in young women. J Clin Oncol 2007;25:2798-803.
64. Gunderson CC, Fader AN, Carson KA, Bristow RE. Oncologic and reproductive outcomes with progestin therapy in women with endometrial

- hyperplasia and grade 1 adenocarcinoma: a systematic review. *Gynecol Oncol* 2012;125:477-82.
65. Wheeler DT, Bristow RE, Kurman RJ. Histologic alterations in endometrial hyperplasia and well-differentiated carcinoma treated with progestins. *Am J Surg Pathol* 2007;31:988-98.
66. Randall TC, Kurman RJ. Progestin treatment of atypical hyperplasia and well- differentiated carcinoma of the endometrium in women under age 40. *Obstet Gynecol* 1997;90:434-40.
67. Salman MC, Usubutun A, Dogan NU, Yuce K. The accuracy of frozen section analysis at hysterectomy in patients with atypical endometrial hyperplasia. *Clin Exp Obstet Gynecol* 2009;36:31-4.
68. Attard Montalto S, Coutts M, Devaja O, Summers J, Jyothirmayi R, Papadopoulos A. Accuracy of frozen section diagnosis at surgery in pre-malignant and malignant lesions of the endometrium. *Eur J Gynaecol Oncol* 2008;29:435-40.
69. Indermaur MD, Shoup B, Tebes S, Lancaster JM. The accuracy of frozen pathology at time of hysterectomy in patients with complex atypical hyperplasia on preoperative biopsy. *Am J Obstet Gynecol* 2007;196:e40-2.
70. Saucedo, Leslie J.; Edgar, Bruce A. (2007). "Filling out the Hippo pathway". *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 8 (8): 613–21.
71. Zhao, Bin; Tumaneng, Karen; Guan, Kun-Liang. "The Hippo pathway in organ size control, tissue regeneration and stem cell self-renewal". *Nature Cell Biology*. 13 (8): 877–883.
72. Pan, Duojia. "The Hippo Signaling Pathway in Development and Cancer". *Developmental Cell*. 19 (4): 491–505.



73. Meng, Zhipeng; Moroishi, Toshiro; Guan, Kun-Liang (2016-01-01). "Mechanisms of Hippo pathway regulation". *Genes & Development*. 30 (1): 1–17.
74. Dan, Ippeita; Watanabe, Norinobu M.; Kusumi, Akihiro (2001). "The Ste20 group kinases as regulators of MAP kinase cascades". *Trends in Cell Biology*. 11 (5): 220–30.
75. Meng, Zhipeng; Moroishi, Toshiro; Mottier-Pavie, Violaine; Plouffe, Steven W.; Hansen, Carsten G.; Hong, Audrey W.; Park, Hyun Woo; Mo, Jung-Soon; Lu, Wenqi (2015-10-05). "MAP4K family kinases act in parallel to MST1/2 to activate LATS1/2 in the Hippo pathway". *Nature Communications*. 6: 8357.
76. Zheng, Yonggang; Wang, Wei; Liu, Bo; Deng, Hua; Uster, Eliza; Pan, Duojia. "Identification of Happyhour/MAP4K as Alternative Hpo/Mst-like Kinases in the Hippo Kinase Cascade". *Developmental Cell*. 34(6): 642–655.
77. Li, Qi; Li, Shuangxi; Mana-Capelli, Sebastian; Roth Flach, Rachel J.; Danai, Laura V.; Amcheslavsky, Alla; Nie, Yingchao; Kaneko, Satoshi; Yao, Xiaohao (2014-10-11). "The Conserved Misshapen-Warts-Yorkie Pathway Acts in Enteroblasts to Regulate Intestinal Stem Cells in *Drosophila*". *Developmental Cell*. 31 (3): 291–304.
78. Ma, J.; Benz, C.; Grimaldi, R.; Stockdale, C.; Wyatt, P.; Frearson, J.; Hammarton, T. C. (2010). "Nuclear DBF-2-related Kinases Are Essential Regulators of Cytokinesis in Bloodstream Stage *Trypanosoma brucei*". *Journal of Biological Chemistry*. 285 (20): 15356–68.
79. Andre, B.; Springael, J.Y. (1994). "WWP, a New Amino Acid Motif Present in Single or Multiple Copies in Various Proteins Including Dystrophin and the SH3-Binding Yes-Associated Protein YAP65". *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 205 (2): 1201–5.

80. Wu, Shian; Huang, Jianbin; Dong, Jixin; Pan, DuoJia (2003). "Hippo Encodes a Ste-20 Family Protein Kinase that Restricts Cell Proliferation and Promotes Apoptosis in Conjunction with salvador and warts". *Cell*. 114 (4): 445–56.
81. Wei, Xiaomu; Shimizu, Takeshi; Lai, Zhi-Chun (2007). "Mob as tumor suppressor is activated by Hippo kinase for growth inhibition in *Drosophila*". *The EMBO Journal*. 26 (7): 1772–81.
82. Huang, Jianbin; Wu, Shian; Barrera, Jose; Matthews, Krista; Pan, DuoJia (2005). "The Hippo Signaling Pathway Coordinately Regulates Cell Proliferation and Apoptosis by Inactivating Yorkie, the *Drosophila* Homolog of YAP". *Cell*. 122 (3): 421–34.
83. Thompson, Barry J.; Cohen, Stephen M. (2006). "The Hippo Pathway Regulates the bantam microRNA to Control Cell Proliferation and Apoptosis in *Drosophila*". *Cell*. 126 (4): 767–74.
84. Nolo, Riitta; Morrison, Clayton M.; Tao, Chunyao; Zhang, Xinwei; Halder, Georg (2006). "The bantam MicroRNA is a Target of the Hippo Tumor-Suppressor Pathway". *Current Biology*. 16 (19): 1895–904.
85. Badouel, Caroline; Garg, Ankush; McNeill, Helen (2009). "Herding Hippos: Regulating growth in flies and man". *Current Opinion in Cell Biology*. 21 (6): 837–43.
86. Liu, Ming; Zhao, Shuangyun; Lin, Qingjie; Wang, Xiu-Ping (2015). "YAP regulates the expression of Hoxa1 and Hoxc13 in mouse and human oral and skin epithelial tissues". *Molecular and Cellular Biology*. 35 (8): 1449–1461.
87. <https://www.uniprot.org/uniprot/Q45VV3>
88. Piccolo S, Dupont S, Cordenonsi M (2014). "The biology of YAP/TAZ: hippo signaling and beyond". *Physiological Reviews*. 94 (4): 1287–1312.

89. Kango-Singh, Madhuri; Singh, Amit (2009). "Regulation of organ size: Insights from the *Drosophila* Hippo signaling pathway". *Developmental Dynamics*. 238 (7): 1627–37.
90. Zender, Lars; Spector, Mona S.; Xue, Wen; Flemming, Peer; Cordon-Cardo, Carlos; Silke, John; Fan, Sheung-Tat; Luk, John M.; et al. (2006). "Identification and Validation of Oncogenes in Liver Cancer Using an Integrative Oncogenomic Approach". *Cell*. 125 (7): 1253–67.
91. Steinhardt, Angela A.; Gayyed, Mariana F.; Klein, Alison P.; Dong, Jixin; Maitra, Anirban; Pan, Duoqia; Montgomery, Elizabeth A.; Anders, Robert A. (2008). "Expression of Yes-associated protein in common solid tumors". *Human Pathology*. 39 (11): 1582–9.
92. Eagle, Harry; Levine, Elliot M. (1967). "Growth Regulatory Effects of Cellular Interaction". *Nature*. 213 (5081): 1102–6.
93. Hanahan, Douglas; Weinberg, Robert A (2000). "The Hallmarks of Cancer". *Cell*. 100 (1): 57–70.
94. Zhao, B.; Wei, X.; Li, W.; Udan, R. S.; Yang, Q.; Kim, J.; Xie, J.; Ikenoue, T.; et al. (2007). "Inactivation of YAP oncoprotein by the Hippo pathway is involved in cell contact inhibition and tissue growth control". *Genes & Development*. 21 (21): 2747–2761.
95. Qi, Chao; Zhu, Yiwei Tony; Hu, Liping; Zhu, Yi-Jun (2009). "Identification of Fat4 as a candidate tumor suppressor gene in breast cancers". *International Journal of Cancer*. 124 (4): 793–8.
96. Evans, D G. R; Sainio, M; Baser, ME (2000). "Neurofibromatosis type 2". *Journal of Medical Genetics*. 37 (12): 897–904.
97. Tapon, Nicolas; Harvey, Kieran F.; Bell, Daphne W.; Wahrer, Doke C.R.; Schiripo, Taryn A.; Haber, Daniel A.; Hariharan, Iswar K. (2002). "Salvador

- Promotes Both Cell Cycle Exit and Apoptosis in Drosophila and is Mutated in Human Cancer Cell Lines". *Cell*. 110 (4): 467–78.
98. Lai, Zhi-Chun; Wei, Xiaomu; Shimizu, Takeshi; Ramos, Edward; Rohrbaugh, Margaret; Nikolaidis, Nikolas; Ho, Li-Lun; Li, Ying (2005). "Control of Cell Proliferation and Apoptosis by Mob as Tumor Suppressor, Mats". *Cell*. 120(5): 675–85.
99. Gujral, Taranjit S.; Kirschner, Marc W. (2017-05-02). "Hippo pathway mediates resistance to cytotoxic drugs". *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 114 (18): E3729–E3738.
100. Moroishi, Toshiro; Hayashi, Tomoko; Pan, Wei-Wei; Fujita, Yu; Holt, Matthew V.; Qin, Jun; Carson, Dennis A.; Guan, Kun-Liang (2016-12-01). "The Hippo Pathway Kinases LATS1/2 Suppress Cancer Immunity". *Cell*. 167(6): 1525–1539.e17.
101. "Vivace uncloaks with \$40M, U.S.-China backing for cancer trials | FierceBiotech". [www.fiercebiotech.com](http://www.fiercebiotech.com). Retrieved 2017-11-04.
102. "General Biotechnologies | Crunchbase". [Crunchbase](http://Crunchbase.com). Retrieved 2017-11-04.
103. Qinglei GAO, Fei YE, Xi XIA, Hui XING, Yunping LU, Jianfeng ZHOU, Ding MA (2009). "Correlation between PTEN Expression and PI3K/Akt Signal Pathway in Endometrial Carcinoma". *J Huazhong Univ Sci Technol[Med Sci]*. 29 (1): 59-63, 2009
104. Zuzana Strakova Szilvia Kruss Kirsten Morris Jen Reed (2010). Members of the Hippo Pathway Are Regulated in the Uterus During the Menstrual Cycle. *Biology of Reproduction*, Volume 83, Issue Suppl\_1, 1 November 2010, Pages 363
105. Karen Tumaneng, Karin Schlegelmilch, Ryan Russell, Dean

- Yimlamai, Harihar Basnet, Navin Mahadevan, Julien Fitamant, Nabeel Bardeesy, Fernando Camargo, Kun-Liang Guan (2012). YAP mediates crosstalk between the Hippo and PI3K-TOR pathways by suppressing PTEN via miR-29. *Nat Cell Biol.* 2012 December ; 14(12): 1322–1329.
106. Tiechao Jiang, Dongming Sui, Dong You, Songmei Yao, Lirong Zhang, Yingjian Wang, Jixue Zhao & Yaozhong Zhang (2018) MiR-29a-5p inhibits proliferation and invasion and induces apoptosis in endometrial carcinoma via targeting TPX2, *Cell Cycle*, 17:10, 1268-1278.
107. Dasari VR, Mazack V, Feng W, Nash J, Carey DJ, Gogoi R. Verteporfin exhibits YAP-independent anti-proliferative and cytotoxic effects in endometrial cancer cells. *Oncotarget.* 2017;8(17):28628-28640.
108. Hu X, Jia Y, Yu J, Chen J, Fu Q. (2015) Loss of YAP protein in prostate cancer is associated with Gleason score increase. *Tumori.* 2015 Mar-Apr;101(2):189-93.