

ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΚΑΙ ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟΥ

Νικολαΐδου Μαρία-Ευαγγελία

Περίληψη

Ο καρκίνος του ενδομητρίου είναι ο συχνότερος γυναικολογικός καρκίνος στον Δυτικό κόσμο και ο τέταρτος συχνότερος στις γυναίκες. Η συχνότητα της νόσου αλλά και η καλή πρόγνωση των περιπτώσεων που διαγιγνώσκονται σε αρχικά στάδια, “επιβάλλει” την ενδελεχή μελέτη της αιτιοπαθογένειας της νόσου μεταξύ άλλων και στο μοριακό επίπεδο, καθώς η προσοχή της επιστημονικής κοινότητας έχει πλέον στραφεί στην αναζήτηση “εξατομικευμένων” θεραπειών. Σκοπός του συγκεκριμένου ερευνητικού πρωτοκόλλου είναι η μέτρηση της αναλογίας μεταξύ κυτταρικού πολλαπλασιασμού και απόπτωσης των ενδομητρικών κυττάρων που λαμβάνονται από ασθενείς με καρκίνο του ενδομητρίου, ο συσχετισμός των δύο αυτών μηχανισμών με διαταραχές της έκφρασης των ορμονικών υποδοχέων και των ογκογονιδίων c-myc και c-erb-b2 στο ενδομήτριο και η σύνδεση των πληροφοριών αυτών με ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά καθώς και με κλινικές πληροφορίες που θα έχουν ληφθεί από το ιστορικό των ασθενών των οποίων οι ιστοί θα μελετηθούν.

Η σχέση κυτταρικού πολλαπλασιασμού και απόπτωσης παίζει σημαντικό ρόλο στην ομαλή λειτουργία του ενδομητρίου, γι’ αυτό και η διαταραχή αυτής της σχέσης σχετίζεται με την καρκινογένεση. Σε ένα φυσιολογικό ενδομήτριο παρατηρούνται «κυκλικές» μεταβολές τόσο στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό όσο και στην απόπτωση. Η εκτίμηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού πραγματοποιείται μέσω του προσδιορισμού του δείκτη Ki-67 με την μέθοδο της ανοσοϊστοχημείας και η απόπτωση προσδιορίζεται με την μέθοδο TUNEL. Τα τελευταία χρόνια η απόπτωση έχει μελετηθεί και συσχετισθεί με πολλές γυναικολογικές παθήσεις μεταξύ των οποίων η ενδομητρίωση, η αδеноμύωση και ο καρκίνος του ενδομητρίου. Στον καρκίνο του ενδομητρίου, παρατηρείται διαταραχή του μηχανισμού της απόπτωσης και υπερ-έκφραση των αντι-αποπτωτικών γονιδίων και ιδιαίτερα του bcl-2, καθώς και μετάλλαξη του bax.

Στον καρκίνο του ενδομητρίου παρατηρούνται επίσης μεταβολές στον βαθμό έκφρασης των οιστρογονικών και προγεστερονικών υποδοχέων. Από την έναρξη της εξαλλαγής των κυττάρων παρατηρείται ελάττωση του αριθμού υποδοχέων σε σχέση με τα φυσιολογικά κύτταρα, γεγονός που αποδεικνύει πως η εμφάνιση κακοήθειας έχει επίδραση και στην έκφραση των υποδοχέων. Το γονίδιο c-erb-B2 (HER-2 ή neu) είναι ογκογονίδιο οι διαταραχές του οποίου εμπλέκονται σε μεγάλο αριθμό κακοηθών νεοπλασμάτων, μεταξύ των οποίων και κακοήθειες του γυναικείου γεννητικού συστήματος. Το c-erb-B2 παρουσιάζει ενίσχυση και υπερέκφραση σε πολλές περιπτώσεις καρκίνου του ενδομητρίου και αυτές οι διαταραχές συνδέονται με κακή πρόγνωση και ελαττωμένη επιβίωση.

Το γονίδιο c-Myc είναι ογκογονίδιο ο ρόλος του οποίου δεν είναι ακόμη πλήρως αποσαφηνισμένος στην λειτουργία των κυττάρων. Το γονίδιο εμφανίζει αυξημένη έκφραση στις περιπτώσεις κακοήθειας σε σχέση με το φυσιολογικό ενδομήτριο.

Λέξεις κλειδιά: Καρκίνος ενδομητρίου, κυτταρικός πολλαπλασιασμός, Ki-67, απόπτωση, ορμονικοί υποδοχείς, c-erb-b2, c-myc.

Εισαγωγή

Το ολοένα αυξανόμενο ενδιαφέρον και η προσπάθεια εξεύρεσης θεραπείας για τις διάφορες μορφές κακοηθειών έχει οδηγήσει τα τελευταία χρόνια στην στροφή της έρευνας προς την κυτταρική βιολογία και στην μελέτη των μοριακών μηχανισμών και της σχέσης τους με τον καρκίνο.

Ο καρκίνος είναι πολυπαραγοντική νόσος και το γεγονός αυτό αποτελεί και μία σημαντική αιτία της δυσχέρειας αντιμετώπισης του. Η προσπάθεια διαλεύκανσης του και κατανόησης οδηγεί τελικά στο κύτταρο και στην διευκρίνιση

των λειτουργιών του και των διαδικασιών που αυτό ακολουθεί.

Ο καρκίνος του ενδομητρίου είναι ο συχνότερος γυναικολογικός καρκίνος στον Δυτικό κόσμο και ο τέταρτος συχνότερος στις γυναίκες.^{1,4} Η συχνότητα της νόσου αλλά και η καλή πρόγνωση των περιπτώσεων που διαγιγνώσκονται σε αρχικά στάδια, “επιβάλλει” την ενδελεχή μελέτη της αιτιοπαθογένειας της νόσου μεταξύ άλλων και στο μοριακό επίπεδο, καθώς η προσοχή της επιστημονικής κοινότητας έχει πλέον στραφεί στην αναζήτηση “εξατομικευμένων” θεραπειών. Σκοπός του συγκεκριμένου ερευνητικού πρωτοκόλλου είναι η μέτρηση της αναλογίας μεταξύ κυτταρικού πολλαπλασιασμού και απόπτωσης των ενδομητρίων κυττάρων που λαμβάνονται από ασθενείς με καρκίνο του ενδομητρίου, ο συσχετισμός των δύο αυτών μηχανισμών με διαταραχές της έκφρασης των ορμονικών υποδοχέων και με διαταραχές της έκφρασης των ογκογονιδίων c-myc και c-erb-b2 στο ενδομήτριο και η σύνδεση των πληροφοριών αυτών με ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά καθώς και με κλινικές πληροφορίες που θα έχουν ληφθεί από το ιστορικό των ασθενών των οποίων οι ιστοί θα μελετηθούν.

Απόπτωση και κυτταρικός πολλαπλασιασμός στο ενδομήτριο

Η απόπτωση και ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός αποτελούν κυτταρικές λειτουργίες που συνδέονται άμεσα με την βιωσιμότητα και την σωστή λειτουργία των αντιστοίχων ιστών. Οι τυχόν διαταραχές τους αποτελούν πιθανά ένα κομβικό σημείο της καρκινογένεσης και για τον λόγο αυτό τα τελευταία χρόνια οι δύο αυτές κυτταρικές λειτουργίες αποτελούν αντικείμενο μελέτης όσον αφορά τον καρκίνο του ενδομητρίου.^{4,6}

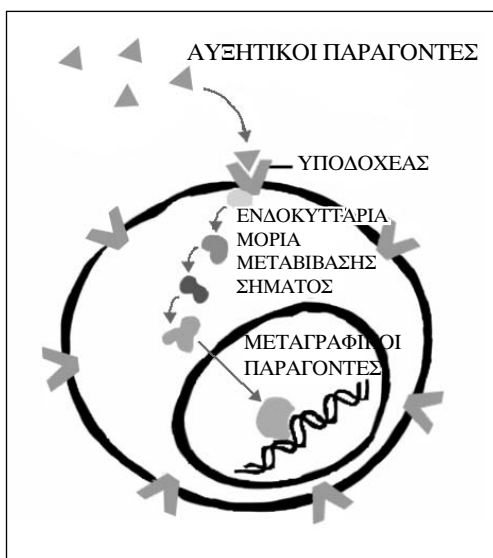
Είναι γνωστό πως η ισορροπία μεταξύ κυτταρικού πολλαπλασιασμού και κυτταρικού θανάτου στο ενδομήτριο είναι ορμονοεξαρτώμενη. Το ενδομήτριο αποτελεί έναν δυναμικά μεταβαλλόμενο ιστό. Η διαδοχή και αλληλουχία του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, της ανάπτυξης των κυττάρων και της απόπτωσης είναι ταχύτατη και εξαρτάται άμεσα από τις ορμόνες που επιδρούν στο ενδομήτριο και από τα επίπεδά τους στην συγκεκριμένη φάση του κύκλου. Ανάλογα με τις ορμονικές αλλαγές στην διάρκεια του κύκλου μεταβάλλεται τόσο ο ρυθμός του κυτταρικού πολλαπλασιασμού όσο και της απόπτωσης.^{4,5,9,12}

Ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός αντιπροσωπεύει ουσιαστικά την κυτταρική διαίρεση και αποτελεί έναν δείκτη της λειτουργίας των υγιών κυττάρων ενός ιστού. Ο ρυθμός κυτταρικού πολλαπλασιασμού ποικίλει ανάλογα με τον ιστό, τις περιβαλλοντικές συνθήκες αλλά και τις «έκτακτες» ανάγκες του ιστού και καθορίζεται από τρεις παραμέτρους: τον ρυθμό της κυτταρικής διαίρεσης (ο χρόνος που απαιτείται για την πραγματοποίηση μίας κυτταρικής διαίρεσης), το κλάσμα των κυττάρων του κυτταρικού πληθυσμού που πραγματοποιεί κυτταρική διαίρεση (κλάσμα ανάπτυξης) και τον ρυθμό κυτταρικής απώλειας του πληθυσμού. Ο ρυθμός της κυτταρικής διαίρεσης είναι μία καλά οργανωμένη διαδικασία η οποία συνδέεται με την κυτταρική ανάπτυξη, την διαφοροποίηση και με την αναδόμηση του ιστού. Τα κύτταρα φυσιολογικά δεν υφίστανται διαίρεση μέχρι να λάβουν κάποιο μήνυμα το οποίο να τα οδηγήσει στην «ενεργή» φάση του κυτταρικού κύκλου. Τα μηνύματα αυτά ονομάζονται αυξητικοί παράγοντες, κυτοκίνες ή μιτογόνα. Εκτός αυτών των παραγόντων, ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός εξαρτάται επίσης από τους υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης, τα ενδοκυττάρια μόρια μετάδοσης του μιτογόνου μηνύματος καθώς και από τους μεταγραφικούς παράγοντες του πυρήνα (Εικόνα 1).

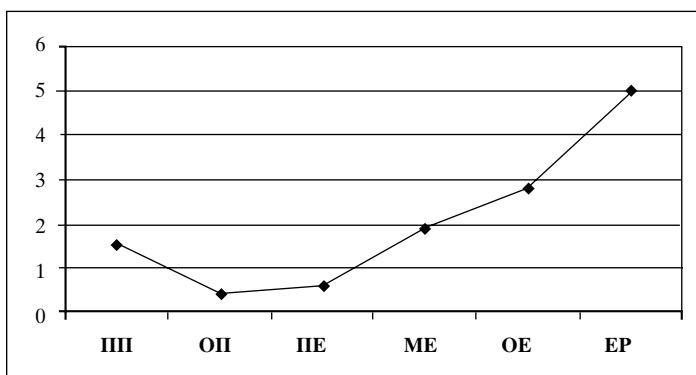
Η εκτίμηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού πραγματοποιείται μέσω του προσδιορισμού του δείκτη Ki-67 με την μέθοδο της ανοσοϊστοχημείας.^{5,10,11} Ο δείκτης Ki-67 μας δίνει μία εκτίμηση της σύνθεσης του DNA μέσα στον πυρήνα του κυττάρου. Το Ki-67 είναι πυρηνική πρωτεΐνη η οποία συνδέεται με το DNA. Εκφράζεται σε κύτταρα που αναπαράγονται, σε όλες τις φάσεις του κυτταρικού κύκλου εκτός της φάσης G₀ και στις φάσεις επιδιόρθωσης του DNA. Ο δείκτης Ki-67 αποτελεί τον αριθμό των θετικών κυττάρων στο Ki-67 στον συνολικό αριθμό των εξεταζόμενων κυττάρων (500-1000 κύτταρα). Το ποσοστό το οποίο θεωρούμε «θετικό» δεν είναι θεσπισμένο. Τα περισσότερα εργαστήρια χρησιμοποιούν το 20%.

Προκειμένου να διατηρήσει την ομοιοστασία του και την λειτουργικότητά του, ο κάθε ιστός ελέγχει συνέχεια τις παραμέτρους του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Φυσιολογικά ερεθίσματα τροποποιούν τους παράγοντες αυτούς προκειμένου το όργανο να εξυπηρετήσει τις ανάγκες του οργανισμού και να ανταποκριθεί στα ερεθίσματα. Τα ερεθίσματα αυτά οδηγούν σε αύξηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, η οποία όμως στο φυσιολογικό κύτταρο σταματά όταν το ερέθισμα εκλείψει. Αντίθετα, το καρκινικό κύτταρο συνεχίζει τον πολλαπλασιασμό του ακόμη και μετά την απομάκρυνση του ερεθίσματος και εδώ συναντούμε μία από τις πολλές διαφοροποιήσεις της λειτουργίας των καρκινικών κυττάρων. Ο πολλαπλασιασμός πάντως των καρκινικών κυττάρων δεν είναι κατ' ανάγκη ταχύτερος των φυσιολογικών, ούτε και διαφέρουν οι μηχανισμοί τους. Η μέτρηση του δείκτη Ki-67 αποτελεί τον κοινότερο τρόπο εκτίμησης κυτταρικού πολλαπλασιασμού σε νεοπλασματικούς ιστούς και τα τελευταία χρόνια έχει συσχετισθεί με τον βαθμό διαφοροποίησης των νεοπλασμάτων.^{12,15}

Η απόπτωση, ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος, αποτελεί μία θεμελιώδη φυσιολογική διαδικασία, υπεύθυνη για την διατήρηση της ομοιόστασης των πολυκύτταρων οργανισμών και την απομάκρυνση «γηρασμένων» και ελαττωματικών κυττάρων. Περιγράφηκε για πρώτη φορά στο ενδομήτριο από τους Horwood και Levison το 1975. Ο προσδιορισμός της γίνεται με την μέθοδο TUNEL.⁴ Τα τελευταία χρόνια έχει μελετηθεί και συσχετισθεί με πολλές



Εικόνα 1. Παράγοντες του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και η μεταξύ τους σύνδεση (Ιστοσελίδα www.fhrc.org, Cancer Research Center)



Εικόνα 2. Διακύμανση της απόπτωσης στο ενδομήτριο κατά την διάρκεια του κύκλου. ΠΠ = πρόωμη παραγωγική (ημέρες 3-9), ΟΠ = όψιμη παραγωγική φάση (10-14), ΠΕ = πρόωμη εκκριτική (15-19), ΜΕ = μέση εκκριτική (20-26), ΟΕ = όψιμη εκκριτική (27-29), ΕΡ = έμμηνος ρύση (1-5). Ο κάθετος άξονας αντιπροσωπεύει το επί τοις % ποσοστό των κυττάρων που αποπίπτουν.

(Ιστοσελίδα www.herkules oulu.fi, "Regulation of apoptosis in female reproductive system", University of Oulu)

γυναικολογικές παθήσεις μεταξύ των οποίων η ενδομητρίωση, η αδеноμύωση και ο καρκίνος του ενδομητρίου.²

Η απόπτωση, σε αντιδιαστολή με τη νέκρωση, δεν σχετίζεται με φλεγμονή και εμφανίζεται μεμονωμένα στα κύτταρα. Χαρακτηρίζεται από κατακερματισμό του DNA, δημιουργία αποπτωτικών σωμάτων, κυτταρική συρρίκνωση και φαγοκυττάρωση και ρυθμίζεται από πολλά γονίδια η έκφραση των οποίων καθορίζεται από πρωτείνες όπως κυτοκίνες, ιντερλευκίνες και ορμόνες. Υπό την επίδραση των στεροειδών ορμονών της ωοθήκης, το ενδομήτριο και οι αδένες του υφίστανται ανατομικές και λειτουργικές αλλαγές. Οι μεταβολές αυτές εξυπηρετούν ουσιαστικά την δημιουργία ενός κατάλληλου υποστρώματος για το τυχόν γονιμοποιημένο ωάριο και την δημιουργία καταλλήλων συνθηκών για την εμφύτευση και ανάπτυξή του. Εφόσον δεν επιτευχθεί κύηση, το ενδομήτριο αποπίπτει προοδευτικά. Η απόπτωση αυτή εκδηλώνεται με την μορφή αιμόρροιας και αποτελεί την έμμηνου ρύση. Με άλλα λόγια, η απόπτωση σχετίζεται με την αποδόμηση του ενδομητρίου και την απόρριψη ιστού ο οποίος είναι πλέον περιττός. Οι τυχόν διαταραχές της αποτελούν ένα βήμα προς την καρκινική εξαλλαγή του ενδομητρίου κυττάρου.^{6,9} Η απόπτωση ρυθμίζεται από γονίδια τα οποία ασκούν δράση είτε αντι-αποπτωτική, είτε αποπτωτική στο κύτταρο. Τέτοια γονίδια είναι το bcl-2, το bag (αντι-αποπτωτικά), το bax, το bim, το p-53 (αποπτωτική δράση) κ.α.^{1,2,4}

Η σχέση κυτταρικού πολλαπλασιασμού και απόπτωσης παίζει σημαντικό ρόλο στην ομαλή λειτουργία του ενδομητρίου, γι' αυτό και η διαταραχή τους σχετίζεται με την καρκινογένεση. Σε ένα φυσιολογικό ενδομήτριο παρατηρούνται «κυκλικές» μεταβολές τόσο στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό όσο και στην απόπτωση. Στην διάρκεια της παραγωγικής φάσης παρουσιάζεται ελάττωση της απόπτωσης και αύξηση των θετικών στο Ki-67 κυττάρων ενώ από την αρχή της εκκριτικής φάσης μέχρι και την εμμηνορρουσία η αποπτωτική δραστηριότητα αυξάνει (Εικόνα 2).^{10,11} Τα θετικά στον δείκτη Ki-67 κύτταρα του ενδομητρίου, ο αριθμός δηλαδή των κυττάρων που πολλαπλασιάζονται, ελαττώνεται στο τέλος της εκκριτικής φάσης για να αυξηθεί πάλι προεμμηνορρουσιακά.¹² Επίσης έχει παρατηρηθεί πως η παρουσία προγεστερόνης ελαττώνει τον Ki-67 ενώ η οιστραδιόλη τον αυξάνει κατά δύο φορές σε σχέση με τα κύτταρα που δεν βρίσκονται σε οιστρογονικό περιβάλλον.^{10,11} Η χορήγηση ταμοξιφένης έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και την αυξημένη έκφραση του Ki-67. Αντίθετα, η ραλοξιφένη δεν έχει τέτοια επίδραση στο ενδομήτριο.¹⁴

Στον καρκίνο του ενδομητρίου, παρατηρείται διαταραχή του μηχανισμού της απόπτωσης και υπερ-έκφραση των αντι-αποπτωτικών γονιδίων και ιδιαίτερα του bcl-2, καθώς και μετάλλαξη του bax.^{3,10} Οι διαταραχές της έκφρασης του bcl-2 και άρα και της απόπτωσης έχουν συσχετισθεί με τον βαθμό διαφοροποίησης και το στάδιο της νόσου και με την επιβίωση των ασθενών και την ανταπόκρισή τους στις θεραπείες. Επίσης συσχέτιση με τον βαθμό διαφοροποίησης των νεοπλασμάτων του ενδομητρίου γίνεται με τον δείκτη Ki-67.^{5,6,15} Όσο καλύτερης διαφοροποίησης είναι το νεόπλασμα τόσο ελαττωμένος είναι ο δείκτης, ενώ παρουσιάζεται αυξημένος στα τύπου II νεοπλάσματα σε σχέση με τα τύπου I.⁷ Αύξηση του δείκτη εμφανίζεται επίσης σε περιοχές του όγκου που παρουσιάζουν αυξημένη συχνότητα οιστρογονικών υποδοχέων.¹⁰

Καρκίνος του ενδομητρίου και ορμονικοί υποδοχείς

Η ανίχνευση των υποδοχέων οιστραδιόλης και προγεστερόνης στους νεοπλασματικούς ιστούς θα γίνει με την μέθοδο της ανοσοϊστοχημείας. Η ύπαρξη των υποδοχέων είναι απαραίτητη για την δράση των αντιστοιχών ορμονών στο κύτταρο. Ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός στο ενδομήτριο είναι αποτέλεσμα της αυξημένης συγκέντρωσης οιστραδιόλης και της υψηλής έκφρασης οιστρογονικών υποδοχέων στην κυτταρική μεμβράνη. Η έκφραση των υποδοχέων στο ενδομήτριο εμφανίζει μία κυκλική διακύμανση, ο αριθμός τους ελαττώνεται από την παραγωγική προς την εκκριτική φάση.⁹ Από την έναρξη της εξαλλαγής των κυττάρων παρατηρείται ελάττωση του αριθμού των οιστρογονικών και των προγεστερονικών υποδοχέων σε σχέση με τα φυσιολογικά κύτταρα, γεγονός που αποδεικνύει πως η εμφάνιση κακοήθειας έχει επίδραση και στην έκφραση των υποδοχέων.^{10,22} Συχνή είναι και η ετερογένεια της συχνότητας των υποδοχέων μεταξύ των διαφόρων περιοχών στους καρκινικούς ιστούς, ο αριθμός δηλαδή των υποδοχέων σε κάποιο σημείο του νεοπλάσματος διαφέρει με τον αριθμό σε άλλο σημείο του ίδιου νεοπλάσματος.²³ Σε έρευνες έχει παρατηρηθεί πως σε περιοχές με αυξημένη συχνότητα οιστρογονικών υποδοχέων υπάρχει και αυξημένος δείκτης Ki-67,¹⁰ αυξημένος δηλαδή κυτταρικός πολλαπλασιασμός, ενώ η απώλεια των προγεστερονικών υποδοχέων συνδέεται με προχωρημένο στάδιο νόσου.⁸ Όσο χαμηλότερης διαφοροποίησης είναι το νεόπλασμα, τόσο ελαττωμένη εμφανίζεται και η έκφραση των υποδοχέων.²²

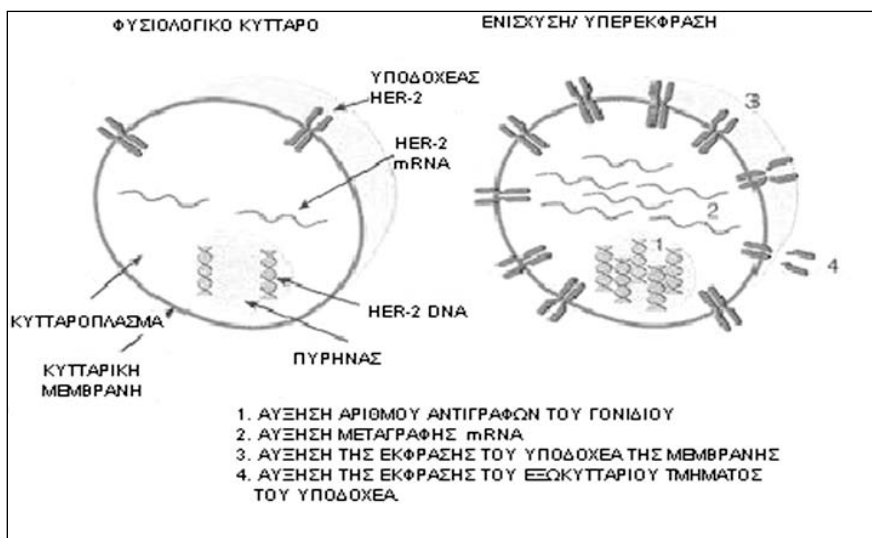
Τα γονίδια c-erb-B2 και c-Myc και η σχέση τους με τον καρκίνο του ενδομητρίου

Ο αριθμός των εμπλεκόμενων στην καρκινογένεση γονιδίων είναι πολύ μεγάλος και επεκτείνεται καθημερινά. Κάποια από αυτά έχουν πλέον μπει στην καθημερινή ιατρική πράξη ενώ για κάποια άλλα χρειάζονται ακόμα μελέτες που να αποσαφηνίζουν την λειτουργία τους. Ένα από τα πλέον μελετημένα γονίδια είναι το c-erb-B2 του οποίου η δράση είναι γνωστή και ιδιαίτερα μελετημένη στον καρκίνο του μαστού. Αντίθετα, το γονίδιο c-Myc, αν και η διαταραγμένη λειτουργία του συμμετέχει σε μεγάλο ποσοστό κακοηθειών,¹⁷ ανήκει σε εκείνα των οποίων η δράση δεν έχει πλήρως διαπιστωθεί. Και τα δύο παραπάνω γονίδια φαίνεται πως παίζουν σημαντικό ρόλο στον καρκίνο του ενδομητρίου και οι διαταραχές των βιοχημικών τους μονοπατιών καθορίζουν σε μεγάλο βαθμό την καρκινική εξαλλαγή και την πορεία της νόσου.

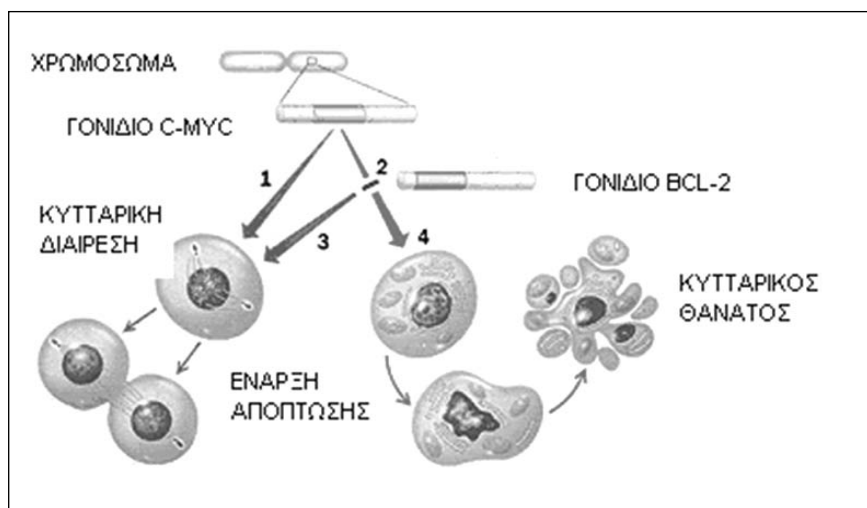
Το γονίδιο c-erb-B2 (HER-2 ή neu) είναι ογκογονίδιο που βρίσκεται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 17. Φυσιολογικά παίζει ρόλο στην ανάπτυξη και διαφοροποίηση πολλών ιστών και οργάνων του ανθρώπινου οργανισμού. (Μαζικός αδένας, ανάπτυξη, διαφοροποίηση, απόπτωση. Καρδιά, ανάπτυξη και λειτουργία. Νευρικό σύστημα, μυελίνωση νευρικών ινών από κύτταρα Schwann και διαφοροποίηση των ολιγοδενδροκυττάρων. Μυϊκό σύστημα, διατήρηση μυϊκής ατράκτου). Το ογκογονίδιο κωδικοποιεί μία διαμεμβρανική πρωτεΐνη που ανήκει στην οικογένεια των υποδοχέων αυξητικών παραγόντων και είναι κινάση της τυροσίνης. Η σύνδεση του υποδοχέα με κάποιον αυξητικό παράγοντα και η επακόλουθη ενεργοποίησή του έχει αποτέλεσμα την δραστηριοποίηση πολυάριθμων βιοχημικών μονοπατιών του κυττάρου που σχετίζονται με την κυτταρική διαίρεση, τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τον μετασχηματισμό και την διαφοροποίηση του κυττάρου. Η πρωτεΐνη αυτή εκφράζεται σε πολλούς ιστούς και όργανα μεταξύ των οποίων το ενδομήτριο, η ωοθήκη, το πάγκρεας, ο προστάτης, κ.α. Χαρακτηριστική είναι η χαμηλή έκφρασή της στα μονοκύτταρα κύτταρα του μυελού των οστών (μάλλον λόγω διαφοροποίησης) και η υψηλότερη που εμφανίζεται στα κύτταρα του αίματος του ομφαλίου λώρου (πολυδύναμα κύτταρα).²¹

Το c-erb-B2 εμπλέκεται σε μεγάλο αριθμό κακοηθών νεοπλασμάτων, όπως του μαστού, του προστάτη, του γυναικείου γεννητικού συστήματος, του πεπτικού, του πνεύμονα και του παγκρέατος, καθώς και αιματολογικές κακοήθειες. Η παραμικρή μεταβολή στην ρύθμιση των βιοχημικών οδών που εμπλέκεται το c-erb-B2 προκαλεί σημαντικές μεταβολές που μπορεί να οδηγήσουν στην καρκινογένεση. Συχνότερα στις περιπτώσεις καρκίνου εμφανίζεται μετάλλαξη που αλλάζει την στερεοδομή του υποδοχέα και τον καθιστά ενεργό ακόμη και χωρίς ερέθισμα ή ενίσχυση, αύξηση δηλαδή του αριθμού των αντιγράφων του γονιδίου στο κύτταρο, η οποία οδηγεί σε υπερέκφραση της πρωτεΐνης (Εικόνα 3).²⁴ Η εκτενής μελέτη του γονιδίου στον καρκίνο του μαστού μας έχει δώσει πολλές πληροφορίες για την δράση του στην καρκινογένεση. Στον μαστό συνδέεται με επιθετικούς όγκους και μικρότερη επιβίωση και υποτροπές. Οι ασθενείς αυτές παρουσιάζουν φτωχή ανταπόκριση στην χημειοθεραπεία και στην ταμοξιφένη. Η δημιουργία της τραστουζουμάμπης (Herceptin) αποτελεί το πρώτο βήμα στην γονιδιακή θεραπεία. Πρόκειται για μονοκλωνικό αντίσωμα που χρησιμοποιείται στον θετικό στο HER2 καρκίνο μαστού, κυρίως στα προχωρημένα στάδια. Συνδέεται με τον υποδοχέα και αναστέλλει τον περαιτέρω πολλαπλασιασμό του κυττάρου.²¹

Το γονίδιο c-Myc ανήκει στην οικογένεια γονιδίων Myc, η οποία περιλαμβάνει επίσης τα L-Myc και N-Myc. Είναι ογκογονίδιο που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 8 και συνδέεται με τον μεταβολισμό, την κυτταρική ανάπτυξη και την απόπτωση. Η πρωτεΐνη που κωδικοποιεί είναι μία πυρηνική φωσφο-πρωτεΐνη που αποτελεί ουσιαστικά μεταγραφικό παράγοντα ο οποίος ρυθμίζει και τροποποιεί την έκφραση γονιδίων, η οποία συνδέεται με το DNA. Την έκφρασή της επάγουν αυξητικοί παράγοντες. Χαρακτηριστικό της είναι πως αποδομείται μετά την επαγωγή των γονιδίων.¹⁷



Εικόνα 3: Δράση του c-erb-b2 (HER-2) και ο υποδοχέας που κωδικοποιεί σε φυσιολογικό κύτταρο και σε περίπτωση ενίσχυσης/υπερέκφρασης. (Ιστοσελίδα www.medscape.com)



Εικόνα 4: Το c-Myc, ανάλογα με τα ερεθίσματα του περιβάλλοντος και την δράση άλλων γονιδίων, μπορεί να οδηγήσει το κύτταρο σε κυτταρική διαίρεση είτε σε απόπτωση. (Ιστοσελίδα www.geocities.com)

Ο ρόλος του c-Myc στην λειτουργία των κυττάρων δεν είναι ακόμη πλήρως αποσαφηνισμένος. Η παρουσία της πρωτεΐνης του σε φυσιολογικούς ταχέως αναπτυσσόμενους ιστούς υποδεικνύει σημαντικό ρόλο του γονιδίου στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό αλλά και στην απόπτωση. Αντίθετα, η έκφρασή του ελαττώνεται στα στάδια της τελικής διαφοροποίησης. Η λειτουργίες του γονιδίου είναι ποικίλες, ανάλογες με τα ερεθίσματα που λαμβάνει το κύτταρο. (Εικόνα 4). Η πρωτεΐνη του c-Myc περιλαμβάνει περιοχές που ρυθμίζουν την λειτουργία της και την δράση της (αυτοκαταστολή, ενεργοποίηση μεταγραφής).¹⁷

Υπερέκφραση ή ενίσχυση του γονιδίου ανευρίσκεται στις περισσότερες κακοήθειες, όπως στον μαστό, ωθήκη, έντερο, προστάτης κ.λπ. Η οικογένεια myc βρίσκεται ενεργοποιημένη στο 70% των ανθρώπινων κακοηθειών. Η παρουσία του σχετίζεται με κακή πρόγνωση και μετάσταση της νόσου και παίζει σημαντικό ρόλο στη νέο-αγγείωση του όγκου. Το γονίδιο ενεργοποιείται στον καρκίνο μέσω διαφόρων μηχανισμών, όπως μετάθεση, ενίσχυση, υπερέκφραση ή μετάλλαξη.²⁴

Λίγες μελέτες έχουν γίνει σε σχέση με τον καρκίνο του ενδομητρίου και τα παραπάνω γονίδια. Το c-erb-B2 παρουσιάζει ενίσχυση και υπερέκφραση σε πολλές περιπτώσεις καρκίνου του ενδομητρίου και συνδέεται με αυξημένο δείκτη Ki-67.²³ Στα καλής και μέτριας διαφοροποίησης καρκινώματα η έκφρασή του είναι ελαττωμένη ενώ στα χαμηλής διαφοροποίησης μέτρια. Αυξημένη έκφραση σχετίζεται με προχωρημένο στάδιο της νόσου καθώς και με διήθηση αγγείων και λεμφαγγειακή διασπορά. Η υπερέκφραση συνδέεται με κακή πρόγνωση και ελαττωμένη επιβίωση.^{20,18}

Ακόμη λιγότερα είναι γνωστά όσον αφορά το c-Myc και την δράση του στο ενδομήτριο. Το γονίδιο εμφανίζει

αυξημένη έκφραση στις περιπτώσεις κακοήθειας σε σχέση με το φυσιολογικό ενδομήτριο.¹⁶ Η θέση της πρωτεΐνης του μέσα στο κύτταρο φαίνεται να σχετίζεται με τον βαθμό διαφοροποίησης στον καρκίνο του ενδομητρίου: Στα χαμηλής διαφοροποίησης καρκινώματα του ενδομητρίου εντοπίζεται στον πυρήνα ενώ στα καλής διαφοροποίησης στο κυτταρόπλασμα. Επίσης, ασθενείς που εμφανίζουν ενίσχυση του C-myc παρουσιάζουν περισσότερο επιθετικούς όγκους με χειρότερη διαφοροποίηση και δυσμενέστερη πρόγνωση.²⁴

Η διευκρίνιση και αποσαφήνιση των μηχανισμών της απόπτωσης και του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και η συσχέτισή τους με τις διαταραχές έκφρασης των παραπάνω γονιδίων στον καρκίνο του ενδομητρίου μπορεί να αποτελέσει σημαντικό στοιχείο στην “εξερεύνηση” της καρκινογένεσης του ενδομητρίου. Η διερεύνηση και αποκάλυψη των μοριακών μηχανισμών του κυττάρου αποτελεί το πρώτο βήμα στην ανεύρεση νέων δεικτών της νόσου αλλά και στην δημιουργία νέων φαρμάκων και παραγόντων ανοσοθεραπείας. Η σύνδεση των μηχανισμών αυτών με τα ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά των νεοπλασμάτων και με το ιστορικό των ασθενών ίσως να αποτελεί τον ακρογωνιαίο λίθο για την εκτίμηση της ακριβέστερης πρόγνωσης και για την επιλογή εξατομικευμένων για κάθε ασθενή θεραπευτικών επιλογών, αναλόγων με το γονιδίωμα κάθε ασθενή και την έκφρασή του.

Summary

Endometrial cancer is the most frequent genital malignancy in women in Western societies and the 4th most frequent in women in general. The frequency of the disease as well as the good prognosis of the early diagnosed cases impose constant study of the aetiopathology in a molecular base.

The aim of the specific research protocol is the measurement of the ratio of cell proliferation and apoptosis in endometrial tumors, the relation between these processes and with hormone receptors' expression alterations, as well as alterations in the expression of the oncogenes c-myc and c-erb-b2 in endometrium and the correlation of these information with histopathological characteristics and the patients history.

The relation of cell proliferation and apoptosis is important for the normal endometrial function and any disorder of this relation might be related to carcinogenesis. In normal endometrium cyclic modifications occur in proliferation and apoptosis. The assessment of cell proliferation is accomplished by the determination of Ki-67 index, using immunohistochemistry, while apoptosis is identified by TUNEL. Recently, apoptosis has been studied and related to a great number of gynecological diseases, including endometriosis, adenomyosis and endometrial malignancies. In endometrial cancer alterations in apoptosis have been observed and over-expression of anti-apoptotic genes, specifically bcl-2, as well as mutation of bax. There are also variations in the hormone receptors expression, which seems to start by the initiation of the malignant transformation. The alterations of the oncogene c-erb-b2 (HER-2 or neu) expression implicate with a lot of malignancies, including malignancies of the female genital tract. In many cases of endometrial carcinoma there is amplification and/or over-expression of c-erb-b2, conversion which is related with poor prognosis and reduced survival. The role of the oncogene c-myc is not clarified regarding the cell function. In endometrial tumours there is over-expression of c-myc.

Keywords: Endometrial cancer, cell proliferation, Ki-67, apoptosis, hormone receptors, c-erb-b2, c-myc.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Jones R., Searle R., Stewart J., Turner S., Bulmer J. Apoptosis, bcl-2 Expression, and Proliferative Activity in Human Endometrial Stroma and Endometrial Granulated Lymphocytes. *Biol. of Reprod.* 1998; 58: 995-1002.
2. Jones R., Searle R., Stewart J., Bulmer J. Apoptosis and bcl-2 expression in normal human endometrium, endometriosis and adenomyosis. *Hum. Reprod.* 1998; 13: 3496-3502.
3. Busmanis I., Ho T., Tan S., Khoo K. p53 and bcl-2 Expression in Invasive and Pre-invasive Uterine Papillary Serous Carcinoma and Atrophic Endometrium. *Ann. Acad. Med. Singapore.* 2005; 34: 421-5.
4. Li A., Felix J., Hao J., Minoo P., Jain J. Menstrual-like breakdown and apoptosis in human endometrial explants. *Hum. Reprod.* 2005; 20: 1709-1719.
5. Sivridis E., Giatromanolaki A. Proliferative activity in postmenopausal endometrium: the lurking potential for giving rise to an endometrial adenocarcinoma. *J. of Clin. Path.* 2004; 57: 840-844.
6. Dahmoun M., Backstrom T., Boman K., Cajanger S. Apoptosis, proliferation and hormone receptor in endometrial carcinoma: Results depending on methods of analysis. *Int. J. of Onc.* 2003; 22:115-122.
7. Veral A., Zekioglu O., Nart D., Ciris M., Ozdemir N. Erhan Y. p53, c-erb-b2, Ki-67, estrogen and progesterone receptor expression and histological parameters in types I and II endometrial carcinomas. *Ann. of Saudi Med.* 2002; 22:3-5.
8. Henecamp E., Gielen S., Koopman E., Kuhne L., de Ruiter P., Ajwani S., Brinkmann A., Grootegoed A., Burger C., Huikeshoven F., Blok L. Consequences of Loss of Progesterone Receptor Expression in Development of Invasive Endometrial Cancer. *Clin. Cancer Resear.* 2003; 9:4190-4199.
9. Bozdogan O., Atasoy P., Erekul S., Bosdogan N., Bayram M. Apoptosis-related proteins and steroid hormone receptors in normal, hyperplastic and neoplastic endometrium. *Int. J. Gynecol. Pathol.* 2002; 4:375-82.

10. Mitselou A., Ioachim E., Kitsou E., Vougiouklakis T., Zagorianakou N., Makrydimas G., Stefanaki S., Agnantis NJ. Immunohistochemical study of apoptosis-related Bcl-2 protein and its correlation with proliferation indices (Ki67, PCNA), tumor suppressor genes (p53, pRb), the oncogene c-erb-b2, sex hormone receptors and other clinicopathological features, in normal, hyperplastic and neoplastic endometrium. *In Vivo*, 2003; 17(5): 469-77.
11. Mertens H., Heineman M., Evers J. The expression of apoptosis-related proteins Bcl-2 and Ki67 in endometrium of ovulatory menstrual cycles. *Gynecol.Obst.Inv.* 2002; 53(4): 224-30.
12. Coates P., Hales S., Hall P. The association between cell proliferation and apoptosis: studies using the cycle-associated proteins Ki67 and DNA polymeras alpha. *J. Pathol.* 1996; 178(1):71-7.
13. Lax S., Pizer E., Ronnet B., Kurman R. Clear cell carcinoma of the endometrium is characterized by a distinctive profile of p53, Ki-67, estrogen and progesterone receptor expression. *Hum.Pathol.* 1998; 29(6):551-8.
14. Koda M., Jarzabek K., Haczynski J., Knapp P., Sulkowski S., Wolczynski S. Differential effects of raloxifene and tamoxifene on the expression of estrogen receptors and antigen Ki-67 in human endometrial adenocarcinoma cell line. *Oncol.Rep.* 2004; 12(3):517-21.
15. Kallakury B., Ambros R., Hayner-Buchan A., Sheehan C., Malfetano J., Ross J. Cell proliferation-associated proteins in endometrial carcinomas, including papillary serous and endometrioid subtypes. *Int.J.Gynecol.Pathol.* 1998;17(4): 320-6.
16. Bircan S., Ensari A., Ozturk S., Erdogan N., Dundar I., Ortac F. Immunohistochemical Analysis of c-Myc, c-Jun and Estrogen Receptor in Normal, Hypeplastic and Neoplastic Endometrium. *Path.Onc.Res.* 2005; 11(1):32-38.
17. Dang C. c-Myc Target Genes Involved in Cell Growth, Apoptosis and Metabolism. *Moll.and Cell.Biol.* 1999;19(1):1-11.
18. Suzuki C., Matsumoto T., Sonoue H., Arakawa A., Furugen Y., Kinoshita K. Prognostic significance of the infiltrative pattern invasion in endometrioid adenocarcinoma of the endometrium. *Pathol.Int.* 2003; 53(8):495-500.
19. Rasty G., Murray R., Lu L., Kubilis P., Benrubi G., Masood S. Expression of HER2/neu in normal, hyperplastic and malignant endometrium. *Ann.Clin.Lab.Sci.* 1998;28(3): 138-43.
20. Cirisano F., Karlan B. The role of the HER2/neu oncogene in gynecological cancers. *J.Soc.Gynecol.Inv.* 1996; 3(3): 99-105.
21. Paik S. Clinical significance of erbB-2 (HER2/neu) protein. *Cancer Inv.* 1992; 10(6): 575-9.
22. Milonas I., Jeschke U., Sbabani N., Kuhn C., Kriegel S., Kupka M., Friese K. Normal and malignant human endometrium express immunohistochemically estrogen receptor alpha (ER-alpha), estrogen receptor beta (ER-beta) and progesterone receptor (PR). *Anticancer Res.* 2005;25(3A): 1679-86.
23. Ferrandina G., Ranelletti F., Gallota V., Martinelli E., Zannoni G., Gessi M., Scambia G. Expression of cyclooxygenase-2 (COX-2), receptors for estrogen (ER), and progesterone (PR), p53, ki67, and neu protein in endometrial cancer. *Gyn.Onc.* 2005;98(3):383-9.
24. Bizari L., Silva A., Tajara E. Gene amplification in carcinogenesis. *Gen.and Mol. Biol.* 2006; 29:1-7.

Ιατρός, Υπ. Διδάκτωρ Πανεπιστημίου Αθηνών

Αλληλογραφία: Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο «Αττικόν», Γ' Μαιευτική-Γυναικολογική Κλινική
Ρίμνι 1, 124 64 Χαϊδάρι, Τηλ.: 210 5832244, e-mail: deptobgyn@attikonhospital.gr