

Prognostické faktory karcinomu děložního hrdla

Prognostic Factors for Cervical Cancer

Mouková L.¹, Nenutil R.², Fabian P.², Chovanec J.¹

¹Oddělení gynekologické onkologie, Masarykův onkologický ústav, Brno

²Oddělení onkologické patologie, Masarykův onkologický ústav, Brno

Souhrn

Standardizované terapeutické onkogynekologické postupy vycházejí z klasických prognostických faktorů, jako jsou velikost nádoru, hloubka stromální invaze, histopatologický typ nádoru, lymfovaskulární nádorová invaze, metastatické postižení lymfatických uzlin. Bohužel síla těchto prognostických faktorů nedokáže ve skupině pacientek indikovaných ke konzervativním výkonům jednoznačně určit bezpečnost tohoto postupu ve vztahu k rekurenci onemocnění. Právě zde vzniká obrovský prostor pro nové prognostické faktory, především biomolekulární (proteiny: p63 a TAp63, p16, p21, p27, COX-2, geny: *hTERT* a *MYCC*). Mimo to komplexní zhodnocení prognostických faktorů u karcinomu děložního hrdla a stanovení nových biomarkerů chování nádoru může v budoucnu ulehčit predikci rizika šíření mimo primární lokalizaci. Tyto informace mohou přispět k individualizaci chirurgické, radioterapeutické, případně systémové léčby.

Klíčová slova

karcinom děložního hrdla – prognostické faktory – lymfovaskulární nádorová invaze – metastázy lymfatických uzlin – velikost nádoru – protein – exprese

Summary

Standardized gynecological oncological therapeutical guidelines are based on ordinary predictive factors, such as depth of stromal invasion, histopathological type of tumor, lymphovascular space invasion, lymph node metastases. Unfortunately, the power of these prognostic factors is not able to determine the safety of this procedure in the relation to disease recurrence in a group of patients who are indicated for conservative operations. This is the appropriate area for new, especially biomolecular prognostic factors (proteins: p63, TAp63, p16, p21, p27, COX-2, genes: *hTERT*, *MYCC*). Moreover, comprehensive evaluation of cervical cancer prognostic factors and assessment of new biomarkers of cancer can ease prediction of risk of spread outside primary localization and determine probability of disease recurrence. This information can help to individualize surgical, radiotherapeutic and chemotherapeutic treatment.

Key words

carcinoma of the cervix – prognostic factors – lymphovascular space invasion – lymph node metastases – tumor size – protein – expression

Podpořeno MZ ČR – RVO (MOÚ, 00209805) a grantovým projektem IGA NT 11089-4/2010.

This study was supported by MH CZ – DRO (MMCI, 00209805) and Research Grant Project NT 11089-4/2010.

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE "uniform requirements" for biomedical papers.



MUDr. Lucie Mouková, Ph.D.
Oddělení gynekologické onkologie
Masarykův onkologický ústav
Žlutý kopec 7
656 53 Brno
e-mail: moukova@mou.cz

Obdrženo/Submitted: 18. 2. 2013

Přijato/Accepted: 24. 3. 2013

Úvod

Incidence karcinomu děložního hrdla se v České republice pohybuje kolem 19/100 000 žen. Infekce lidským papilomavirem (human papillomavirus – HPV) je považována za hlavní etiologický faktor vzniku tohoto onemocnění. Přes dosavadní pokroky v diagnostických me-

todách a standardizaci terapeutických postupů zůstávají hodnoty incidence a mortality v naší republice za posledních 20 let přibližně stejné. Standardizované terapeutické onkogynekologické postupy vycházejí z klasických prognostických faktorů, jako velikost nádoru, hloubka stromální invaze, histopatolo-

gický typ nádoru, metastatické postižení lymfatických uzlin, velikost resekční linie, šíření nádoru do parametří. Nalezením nových prognostických biomolekulárních markerů by bylo možno blíže specifikovat rozsah či prognózu onemocnění již v předoperačním období v časných stádiích těchto zhoubných nádorů. Biomarkery by bylo možno stanovit např. pomocí imunohistochemických metod z biopsicky odebraného vzorku nádorové tkáně cervikálního karcinomu v rámci stagingových vyšetření. Jejich vzájemnou analýzou bychom mohli získat detailnější informace o předpokládaném biologickém chování nádoru, upřesnit rozsah nádorového postižení, event. predikovat přítomnost metastatického postižení lymfatických uzlin ještě před zahájením léčby. Terapie by tak mohla být každé pacientce individuálně „šita na míru“. V případech agresivní povahy nádoru s pozitivně vyjádřenými biomolekulárními markery by bylo možno indikovat razantnější postup s následným intenzivnějším follow-up. Naopak u nádorů s příznivými hodnotami biomolekulárních markerů by byla volena méně radikální léčba s možností snížení pooperační morbidity. Tato předoperační diagnostika by byla přínosem zejména u mladších žen ve snaze o fertilitu zachovávající výkony. U pokročilých stádií nemoci by bylo možno díky novým biomarkerům predikovat odpověď na zvolenou léčbu s její následnou modifikací (obr. 1, obr. 4, tab. 1).



Obr. 1. Karcinom děložního hrdla stadia IB1 – nález při gynekologickém vyšetření. Foto Masarykův onkologický ústav.

Tab. 1. Klasifikace TNM a FIGO zhoubných nádorů děložního hrdla.

TNM	FIGO
T1 omezení na dělohu	I
T1a preklinický invazivní nádor diagnostikovaný mikroskopicky	IA
T1a1 stromální invaze ≤ 3 mm vertikálně a ≤ 7 mm horizontálně	IA1
T1a2 stromální invaze > 3 mm a ≤ 5 mm vertikálně ≤ 7 mm horizontálně	IA2
T1b klinicky viditelná leze ohraničená na dělohu	IB
T1b1 ≤ 4 cm	IB1
T1b2 > 4 cm – „bulky“ tumor	IB2
T2 šíření mimo dělohu, ne na distální 1/3 pochvy a ne k pánevní stěně	II
T2a šíření na proximální 2/3 pochvy	IIA
T2a1 ≤ 4 cm	IIA1
T2a2 > 4 cm – „bulky“ tumor	IIA2
T2b šíření do parametří	IIB
T3 šíření mimo dělohu, rozvoj hydronefrózy, afunkce ledviny	III
T3a šíření na distální 1/3 pochvy, ne k pánevní stěně	IIIA
T3b šíření k pánevní stěně a/nebo hydronefróza a/nebo afunkce ledviny	IIIB
T4 šíření na sliznici močového měchýře/sliznici rekta/mimo malou pánev	IVA
N1 postižení regionálních uzlin	IIIB a výše
M1 vzdálené metastázy	IVB

Klasické prognostické faktory
Velikost tumoru

Velikost nádoru děložního hrdla je těsně spjata s prognózou onemocnění a postižením lymfatických uzlin. Prognostický význam má i podíl velikosti tumoru k velikosti děložního hrdla a vzdálenost nádoru od okraje hrdla, resp. pericervikální fascie. K negativním faktorům patří i šíření nádoru do děložního istmu a těla [1]. Jordan et al ve své studii uvedli nulové riziko metastatického postižení při velikosti nádorového ložiska do 1 mm, při velikosti tumoru 1–3 mm vznik metastáz v 1–2 % případů a u nádorů velikosti 3–5 mm metastazování do regionálních lymfatických uzlin v 6–8 % [2]. Alvarez et al sledovali desetiletou pro-

gnózu pacientek po radikálních operacích, které měly metastaticky postiženy maximálně 2 lymfatické uzliny. U pacientek s primárním nádorem pod 1 cm byla kompletní remise v 90 %. U nádorů velikosti do 4 cm popsal desetileté přežití u 56–70 % žen, u nádorů nad 4 cm přežilo pouze 13 % pacientek. Obecně je prokázána u „bulky“ tumorů děložního hrdla ve stadiu Ib2 a IIa větší incidence metastatického postižení regionálních lymfatických uzlin a přítomnost vzdálených metastáz [3,4].

Hloubka stromální invaze

Hloubku stromální invaze (cervical stromal invasion – CSI) řadíme k dalším prognostickým faktorům. 2/3 infiltrace stromatu děložního hrdla jsou považovány za výrazný rizikový faktor.

Raspagliesi et al u nádorové invaze pod 3 mm neprokázali metastatické postižení lymfatických uzlin či rekurenci nemoci [5]. Ostor et al rozdělili pacientky do dvou skupin. Při hloubce nádorové stromální invaze 0–3 mm byla rekurence a poměr úmrtí 0,8 a 0,2 %, zatímco u stromální invaze velikosti 3,1–5 mm byla rekurence a poměr úmrtí 4 a 2 % [6]. Signifikantní souvislost s metastatickým postižením lymfatických uzlin prokázal Milam et al při hloubce nádorové stromální invaze nad 4 mm s pozitivní lymfangoinvazí [7].

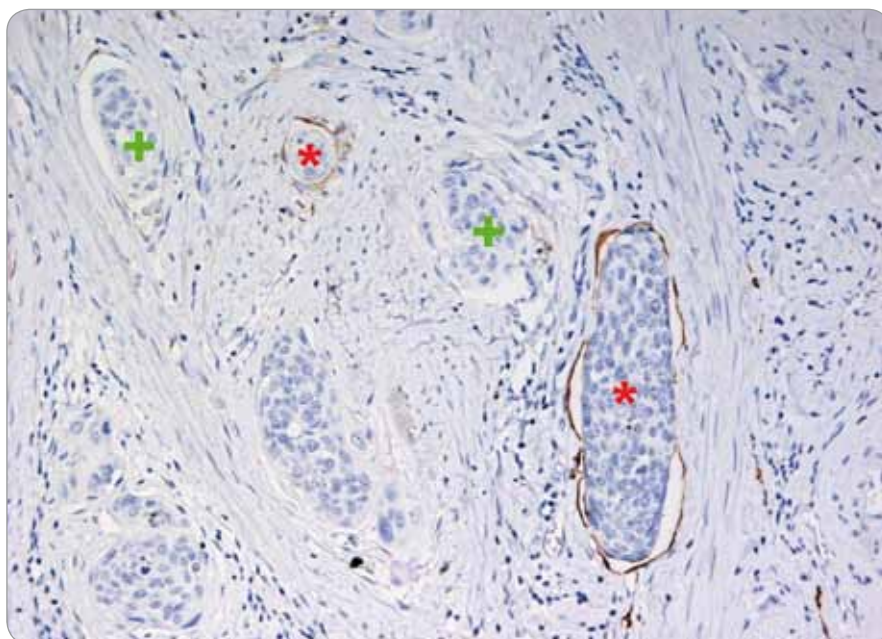
Histologický grading tumoru

Dle histopatologického stupně diferenciace dělíme nádory na G1 – dobře diferencované, G2 – středně diferencované, G3 – špatně diferencované a Gx, kdy nelze stupeň hodnotit. Prognostický význam je udáván spíše u adenokarcinomů děložního hrdla. Berek et al sledovali 5leté přežití u pacientek s adenokarcinomy, které dosáhly kompletní remise u nádorů G1 v 84,2 %, u G2 v 77,8 %, u G3 v 50 % [3,8]. U spinocelulárního karcinomu má grading rovněž určitý prognostický význam. Často se však kombinuje s dalšími ukazateli do multiparametrických skórovacích systémů (např. s morfologií invazivní fronty, zánětlivou odpovědí a zejména přítomností cévní invaze), aby jeho prognostická hodnota byla zvýšena (Lindahl et al, Graflund et al) [9,10].

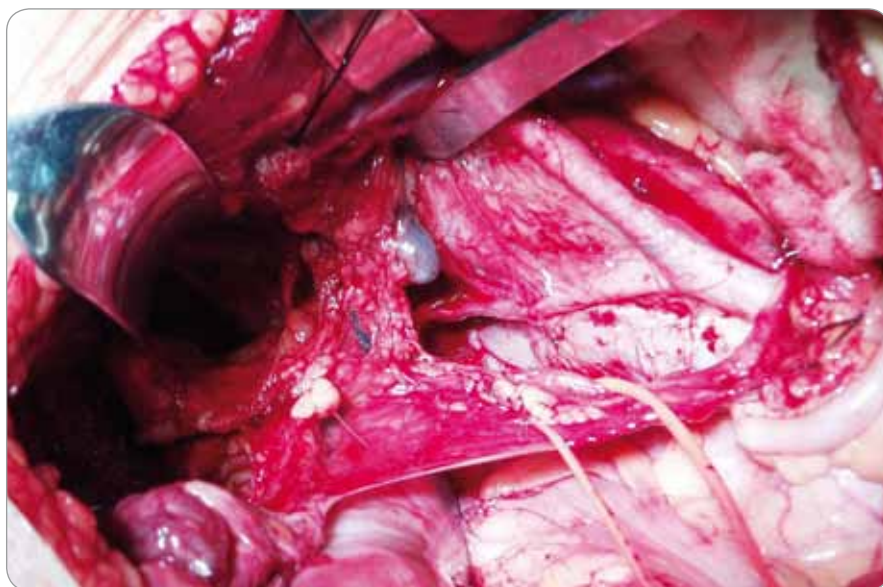
Histopatologický typ nádoru

Z maligních epitelových nádorů je v 60–80 % velký podíl spinocelulárních (dlaždicobuněčných) karcinomů. Adenokarcinomy tvoří 10–15 %. Vzácně jsou zastoupeny např. adenoskvamózní karcinomy, adenoidně cystické karcinomy, nádory s neuroendokrinní sekrecí. U invazivních spinocelulárních karcinomů rozlišujeme rohovější a nerohovější typy, dále pak bazaloidní, verukózní, kondylomatózní, papilární, lymphoepithelioma-like dlaždicový a skvamotranzicionální karcinomy. Verukózní a kondylomatózní karcinomy mají poměrně dobrou prognózu. Naopak bazaloidní spinocelulární karcinomy se chovají velmi agresivně. Z adenokarcinomů se vyskytuje nejčastěji v 50–60 % mucinózní adenokarcinom. Dle histologické struktury se dělí ještě na další typy – endocervikální, intestinální, z prstenčitých buněk, viloglandulární a minimálně deviovaný (= adenoma malignum). Endometroidní adenokarcinom zastupuje cca 30 % adenokarcinomů endocervixu. Jeho odlišení od primárního endometroidního adenokarcinomu děložního těla může někdy způsobovat diagnostické obtíže. V 5 % se vzácně vyskytují serózní a světlóbuněčný adenokarcinom. Z me-

zonefrických reziduí mohou vznikat ojedinele mezonefrické adenokarcinomy. K dalším maligním epitelovým tumorům patří vzácné formy – adenoskvamózní karcinom (5–25 % karcinomů děložního hrdla), adenoidně cystický karcinom se špatnou prognózou, prognosticky příznivý adenoidně bazocelulární karcinom, nediferencovaný karcinom, karcinoid, atypický karcinoid, malobuněčný karcinom a velkobuněčný neuroendokrinní karcinom. K maligním mezenchymálním nádorům řadíme velmi vzácné leiomyosarkomy, embryonální rhabdomyosarkomy, endometriální stromální sarkomy, nediferencované endocervikální sarkomy, angiosarkomy, alveolární sarkomy měkkých tkání a další extrémně vzácné typy tumorů. Smíšené maligní epitelové a mezenchymální nádory obsahují vzácnou skupinu nádorů – maligní smíšené müllerianské nádory, adenosarkomy a nádory podobné Wilmsovu tumoru ledviny [11]. Yasuda et al srovnávali ve své histopatologické studii nádorů děložního hrdla stadia Ib1 adenoskvamózní karcinomy (ASC), adenokarcinomy (ADC) a spinocelulární karcinomy (SCC). Popsali incidenci metastatického postižení ASC 21,4 %, ADC 13,6 % a SCC 15,8 %. Prognóza 5letého přežití ve studii byla



Obr. 2. Imunohistochemické značení lymfatických cév detekcí podoplaninu pomáhá odlišit lymfovaskulární invazi spinocelulárního karcinomu (čepky značené*) od čepů s retrakčními artefakty (značeno +). D2.40, Dako, 400krát zvětšení, foto Masarykův onkologický ústav.



Obr. 3. Pohled do pánve s vizualizací sentinelové uzliny v interiliické oblasti vpravo po předchozím barvení Patent Blau a Tc99. Foto Masarykův onkologický ústav.

u adenoskvamózních karcinomů 82,4 %, u ADC 92,4 % a SCC 94,0 % [12].

Lymfovaskulární nádorová invaze

Lymfovaskulární invaze (lymphovascular space invasion – LVSI) je nezávislým rizikovým prognostickým faktorem a přímo koreluje s metastatickým postižením lymfatických uzlin a stagingem [13,14]. Detekce se provádí pomocí imunohistochemického vyšetření (obr. 2). Delgado et al ve své prospektivní studii u 542 pacientek prokázali souvislost mezi bezpříznakovým přežitím (disease-free interval – DFI) a přítomností nádorové lymfangioinvaze. Pacientky bez přítomné nádorové lymfangioinvaze dosahovaly delšího časového intervalu DFI oproti ženám s pozitivní LVSI [15]. Morice et al popisovali 5leté celkové přežití u 97 % pacientek s negativní LVSI a u 78 % žen s pozitivní LVSI [16]. Roman et al poukázali na přímou úměru mezi kvantitou nádorové lymfovaskulární invaze a metastatickým postižením lymfatických uzlin [17]. Na základě preoperativní LVSI z biopsie v souvislosti s hloubkou nádorové invaze nad 4 mm Milam et al verifikovali přímou úměru s metastatickým postižením lymfatických uzlin [7].

Postižení lymfatických uzlin

Regionální lymfatické uzliny u karcinomu děložního hrdla se nacházejí v ob-

lasti paracervikální, parametriální, při a. iliaca interna, a. iliaca externa, v obturatorní foše a při a. iliaca communis. V rámci radikality operačního výkonu pro stanovení klasifikace pN je zapotřebí získat při pánevní lymfadenektomii minimálně 10 a více lymfatických uzlin. O prognóze rozhoduje počet postižených uzlin, velikost metastáz a přítomnost vzdálených metastáz [1,3]. Za metastázu je považována velikost nádorového postižení lymfatické uzliny > 2 mm. Jako mikrometastázu hodnotíme velikost nádorového postižení 0,2–2 mm a o clusterech či izolovaných nádorových buňkách (isolated tumor cells – ITC) hovoříme při velikosti ≤ 0,2 mm. V současné době je snahou peroperačně detekovat sentinelovou lymfatickou uzlinu (sentinel node biopsy – SNB), tedy první uzlinu, do které je odváděna lymfa z nádorové tkáně (obr. 3). Pokud je sentinelová uzlina bez nádorové infiltrace, lze předpokládat, že nedošlo k šíření tumoru mimo primární lokalizaci. V případě histologicky prokázané přítomnosti mikrometastáz, event. izolovaných nádorových buněk v SNB, nastává otázka, jak přistupovat k pacientkám s tímto nálezem ve smyslu adjuvantní léčby. Rob et al v Guideline gynekologických zhoubných nádorů doporučují adjuvantní radioterapii u skupiny N1 s nálezem více než jedné mikrometastázy v jedné lymfatické uzlině [18].

Metastatické postižení pánevních lymfatických uzlin patří mezi významný prognostický faktor, který snižuje 5leté přežití na 50 %. V případě postižení para-aortálních lymfatických uzlin klesá 5leté přežití až na 20 %. Delgado et al ve studii zahrnující 545 žen prokázali nepřímou úměru mezi stoupajícím počtem pozitivních lymfatických uzlin a dobou 5letého přežití. Při postižení 1 lymfatické uzliny popsali přežití 62 % žen, u 2 pozitivních lymfatických uzlin 36 % žen, u 3 a 4 pozitivních lymfatických uzlin 20 % žen. Při pozitivitě 5 a více lymfatických uzlin bylo již 5leté přežití nulové [3,14,15].

Velikost resekcího lemu

Raspagliesi et al se zabývali vzdáleností resekcího lemu v souvislosti s prognózou u pacientek po konizaci pro mikroinvasivní spinocelulární karcinom. Prognosticky významnou vzdáleností mezi kraniální hranicí tumoru a apexem konusu (apical clearance) bylo ve studii 10,6 mm a vzdálenost mezi tumorem a laterální stěnou konusu (lateral clearance) 6,5 mm. Raspagliesi et al prokázali statistický význam mezi hodnotou apikální clearance a rekurencí [4].

Intratumorózní mikrovaskulární denzita

Cantu De León et al popsali v retrospektivní studii u spinocelulárních karcinomů děložního hrdla mikrovaskulární intratumorózní denzitu (microvascular density – MVD) v korelaci s ostatními prognostickými faktory. MVD nad 20 byla přítomna u 68 % pacientek s rekurencí onemocnění. Ve skupině bez rekurence byl průkaz MVD u 39 % pacientek [19].

Biomolekulární faktory

Progrese nádorových buněk je v buněčném cyklu regulována pomocí pozitivních regulátorů – **cyklin dependentních kináz** (CDKs – CDK1, CDK2, CDK4, CDK6) s jejich aktivačními koenzymy (cyklin A, B, D, E) a negativních regulátorů – **inhibitorů cyklin dependentních kináz** (CDKIs). Mechanismus působení cyklinů ve své studii shrnují např. Young Tae a Min Zhao. CDKs jsou regulovány nadbytkem cyklinů, fosforylací pomocí kináz, defosforylací pomocí buněčných fosfatáz a interakcí s CDKIs. CDKIs dělíme do dvou skupin –

skupina CIP/KIP (zahrnuje proteiny p21, p27, p57) a skupina INK4 (zahrnuje p15, p16, p18 a p19). INK4 specificky inhibují cyklin D komplex pomocí CDK4 a CDK6. KIP působí vazbou na cyklin E, cyklin A přes CDK2 a cyklin B přes CDK1 [20]. Bahnassy et al sledovali prognostické faktory karcinomu děložního hrdla v souvislosti s vyjádřením exprese jednotlivých proteinů. V analýze popsali snížení celkového přežití v souvislosti s velikostí tumoru, diferenciací, postižením lymfatických uzlin, stadiem FIGO, Ki-67, cyklinem D1, p53 a p27. Dle výsledku studie v časných fázích karcinomů děložního hrdla asociovaných s lidským papilomavirem – HPV typem 16 a 18 – prokázali aberaci v p27, cyklinu E, CDK4 a p16, zatímco pozdní fáze je spojována s abnormalitami v dráze cyklin D1 a p53. Imunohistochemický průkaz proteinu p16 a cyklinu E by tak mohl napomoci v časně diagnostice karcinomu děložního hrdla [21].

Protein p27

Protein p27 patří do skupiny CDK inhibitorů, které negativně regulují buněčný cyklus. Protein inaktivuje cyklin-CDK komplex a brání přechodu z G1 fáze do S fáze. Za normálních podmínek je p27 silně vyjádřen u neproliferativních buněk a jeho primární funkcí je kontrolovat proliferaci. Jeho exprese narůstá pod vlivem růstových inhibičních signálů, jako např. transformační růstový faktor β (TGF- β). Protein p27 se účastní i regulace buněčné odpovědi na extracelulární signály. Byla prokázána jeho role při buněčné diferenciaci, mezibuněčné adhezi a apoptóze [22]. Koncentrace proteinu p27 klesá, pokud buňka dosáhne S fáze a p27 je degradován proteolýzou pomocí ubiquitin navázaných proteáz, části z kontrolních mechanismů aktivity p27. Během proteolýzy je p27 inaktivovaný fosforylací na Thr-187 cyklin E-CDK2 komplexem, který slouží pro ubiquitizaci F-box proteinu SKP2 (S-fáze kináza asociovaný protein 2) a jeho kofaktoru Cks 1. SKP 2 byl detekován jako protoonkogen, jehož overexprese může řídit nárůst p27 proteolýzy, a přičinit se tak o maligní transformaci buňky a progresi dysplazie v karcinom. Protein p27 je taktéž inaktivován adenovirovým E1A, MYCC a E7 onkoproteinem vysoce rizi-

kových lidských papilomavirů [23,24]. Goff et al ve své studii prokázali pokles exprese p27 pod 50 % u 31 % případů karcinomů děložního hrdla v souvislosti s nárůstem přítomnosti lymfovaskulární nádorové invaze. Pokles p27 nesouvisel s horší prognózou [25].

Protein p21

Protein p21 je CDK inhibitor. U neproliferujících buněk je často redukován či chybí. U proliferujících buněk může být zapojený v kontrole CDK aktivity. V buněčné odpovědi na poškození DNA se podílí na zastavení buněčného cyklu v G1/S fázi s aktivací reparačních mechanismů, v opačném případě na spuštění apoptózy. Protein p21 je pod transkripční kontrolou proteinu p53 a je považován za jeho hlavní mediátor. Není potřebný k p53 dependentní apoptóze. Váže i proliferační buněčný jaderný antigen (PCNA). Kim et al a Huang et al považují p21 za důležitý modulátor rezistence na chemoterapii a radioterapii. Jeho vysoké hladiny mohou indukovat růst a zabránit apoptóze. Autoři dále udávají roli p21 při konečné diferenciaci buněk. Protein p21 může být vázán a inaktivován onkogenem E7 u HPV typu 16 [20,26]. Van de Putte et al v norské studii detekovali u časných stadií spinocelulárních cervikálních karcinomů vysokou expresi p21 ve 20 % a p16 u 43 % případů, zatímco pokles či nízkou expresi p27 prokázali u 80 % pacientek [22].

Protein p16

Protein p16 je geneticky mapován v oblasti 9p21 chromozomu a patří mezi negativní regulátory buněčného cyklu. Působí přes cyklinD-cdk4/6RB. Kim et al přisuzují proteinu p16 význam v buněčném stárnutí. Řada genetických mechanismů (mutace, homozygotní delece, hypermetylace atd.) vede k inaktivaci tohoto proteinu, což hraje roli u mnoha zhoubných nádorů. Autoři popisují zvýšenou hladinu p16 již u dysplastických změn a tato narůstá s progresí léze do invazivního cervikálního karcinomu. Jeho exprese může být přímým důsledkem inaktivace antionkogenu pRb působením papilomavirového proteinu E7 [20]. Alterace genu p16 byly nalezeny u mnoha familiárně se vyskytujících ná-

dorů. Protein p16 dle studií ovlivňuje také angiogenezi [22].

Protein p53

Tumor supresorový gen p53 se nachází v oblasti 17p13 chromozomu kódující nukleární fosfoprotein p53, který reguluje buněčný růst ve fázi G1 a G2, reparaci DNA a apoptózu. Na rozdíl od většiny karcinomů ostatních lokalizací je mutace genu p53 u nádorů děložního hrdla vzácná. Yee et al popisují mutaci pouze u 1–6 % karcinomů [27]. Skupina vysoce rizikových lidských papilomavirů prostřednictvím svého časněho genu E6 kóduje onkoprotein E6. Díky zprostředkované vazbě E6-AP na protein p53 přes ubiquitin označí protein p53 k degradaci s následnou ztrátou jím zajišťované části kontroly buněčné proliferace a genomové integrity. Inaktivace proteinu p53 hraje hlavní roli v karcinogenezi děložního hrdla [28,29]. Lee-Wen Huang et al popsali souvislost mezi expresí p53 a FIGO stadiem onemocnění. Ve stadiu I byla exprese p53 prokázána u 23,9 %, ve stadiu II u 53,6 %, ve stadiu III a IV u 87,0 % karcinomů. Samotná overexprese tohoto genu není přímo v souvislosti s ostatními klinicko-patologickými faktory, nicméně v komplexu s nimi svědčí pro horší prognózu onemocnění [26]. Přímou úměru intenzity exprese p53 s histopatologickým stadiem cervikálních lézí popsali ve své studii i Berlin Grace et al [30].



Obr. 4. Preparát dělohy s karcinomem děložního hrdla a 3cm poševní manžetou. Foto Masarykův onkologický ústav.

Protein p63

Dle nejnovější dostupné literatury se p63 významně podílí na mnoha buněčných funkcích – buněčné proliferaci, diferenciaci, procesu stárnutí a apoptóze. Jeho gen je lokalizován v oblasti 3q27–29. Bergholz et al popsali produkty genu *TP63* jako mnohočetné isoformy, které buď mají N-terminální p53-homologní transkripční doménu – **TAp63 (transkripčně aktivní varianta)**, či tato doména může chybět – **ΔNp63**. Podle přítomnosti transkripční domény se zásadně liší spektrum proteinem ovlivňovaných genů. Melino se ve své práci zaměřuje na protichůdné vlastnosti těchto složek. TAp63 má funkci nádorového supresoru, který indukuje buněčnou smrt, ΔNp63 má naopak onkogenní vlastnosti a zvýšenou expresi u karcinomů. Poměr TAp63 a ΔNp63 ovlivňuje chemosenzitivitu. Klinické studie naznačují, že deficit proteinu p63, zejména složky TAp63, by mohl být kauzálním faktorem metastatického šíření. K deregulaci TAp63 přispívá vazba mutovaného proteinu p53 [31–33].

Cyklooxygenáza-2

Cyklooxygenáza (COX) je enzym, který se podílí na přeměně kyseliny arachidonové na prostaglandiny a tromboxany. V organismu se vyskytuje ve 2 formách. Funkcí COX-1 je syntéza prostagandinů. COX-2 hraje roli v inhibici buněčné apoptózy s následnou proliferací nádorových buněk s podporou angiogeneze. Její koncentrace stoupá při působení zánětlivých faktorů. Zvýšená exprese COX-2 je dle recentních studií spojena se špatnou prognózou v souvislosti s agresivnějším chováním nádoru, chemorezistencí a kratším DFI. Jako prognosticky nepříznivý se dle imunohistochemických měření jeví poměr COX-2 tumoru ku COX-2 ve stromatu větší než 1 (Ferandina et al) [34–38].

Vaskulární endoteliální růstový faktor

Vaskulární endoteliální růstový faktor (vascular endothelial growth factor – VEGF) je glykoprotein hrající důležitou roli v angiogenezi tumoru, maligní transformaci a nádorovém růstu. Zvyšuje vaskulární permeabilitu a působí jako en-

doteliální buněčný mitogen. Skupina australských vědců pod vedením Lebrechta et al detekovala přímou úměru mezi sérovým VEGF a velikostí tumoru. Souvislost s postižením lymfatických uzlin či histologickým gradingem nebyla ve studii prokázána [39]. Zablokování proteinu p53 může být důležitým krokem v up-regulaci VEGF. Vysoká exprese VEGF by mohla naznačovat horší prognózu onemocnění [40,41].

Transformační růstový faktor beta-1

TGF-beta-1 (transforming growth factor) je dimerický protein, který působí jako růstový inhibitor. Kim et al se zabývali supresí *MYCC* genu díky TGF-beta-1, čímž se inhiboval buněčný cyklus. Předpokládá se, že pokles TGF-beta-1 má tak určitý podíl na progresi nádoru [42].

Hormonální receptory

Zatímco Kwasniewska et al ve své práci poukazují na vyšší expresi hormonálních receptorů ve stromálních buňkách bez ohledu na přítomnost HPV infekce, histopatologický typ nádoru a grading, Monson et al tyto souvislosti naopak pozorují [43,44]. Monson et al analyzovali přítomnost estrogenových a progesteronových receptorů u cervikálních HPV- asociovaných lézí. U konydylomat v oblasti skvamózní metaplazie čípku a high grade cervikální intraepiteliální neoplazie (cervical intraepithelial neoplasia – CIN) byla detekována vysoká exprese hormonálních receptorů, zejména progesteronových (4,518 fmol/g tkáně). Naopak u spinocelulárního karcinomu byla exprese progesteronových receptorů velmi nízká. Vysoká hladina progesteronových receptorů korelovala s nálezem CIN vysokého stupně a s HPV typem 16 a 18 asociovaných lézí. Estrogenové receptory korelovaly s přítomností HPV typem 6 a 11 asociovaných lézí. Detekované hladiny byly nezávislé na věku, fázi hormonálního cyklu či užívání hormonální antikoncepce. Autoři předpokládají, že hormonální receptory, zejména progesteronové, mohou nepřímo působit na HPV infikované buňky epitelu a podílet se jako kofaktory u HPV asociovaných cervikálních neoplazií [44]. Webster et al se ve své práci zaměřili na vliv estrogenů a progeste-

ronů, které zvyšovaly stupeň indukované apoptózy pomocí HPV-16 E2 a E7 proteinů. HPV-16 E2 zodpovídá za replikaci a modulaci virové genové exprese a HPV-16 E7 za buněčnou transformaci. Antagonista estrogenového receptoru 3-hydroxytamoxifen blokuje tento účinek. Hormony na jedné straně působí protektivně up-regulací buněčné smrti, na druhé straně vlivem na lidský papilomavirus či buněčnou genovou expresi mohou vést ke karcinogenezi [45].

Chromozomální abnormality

Častými chromozomálními abnormalitami vyskytujícími se u nádorů bývají ztráty (delece) **3p, 11q, 13q, 6q, 4p** nebo zmnožení (amplifikace) **3q, 1q, 8q, 15q, 5p, Xq** genetického materiálu. U karcinomu děložního hrdla je nejčastější změnou zmnožení dlouhého raménka chromozomu **3 (3q)**, jehož region obsahuje gen pro RNA komponentu lidské telomerázy – gen *hTERC (3q26)* a gen *MYCC (8q24)*. Tyto změny byly detekovány i u některých cervikálních intraepiteliálních neoplazií – CIN II a CIN III [46–49]. Průkaz amplifikace může být tedy považován za jeden z prediktivních faktorů maligní transformace a progresu prekanceróz v karcinomy děložního hrdla.

Gen hTERC

Telomeráza je ribonukleoprotein zodpovědný za udržování konců chromozomů (telomer) a hraje důležitou roli během buněčného dělení. Skládá se ze dvou podjednotek, a to *hTERC (human telomerase RNA)*, která je důležitá pro syntézu telomer, a *hTERT (human telomerase reverse transcriptase)* katalyzující syntézu telomer. Gen *hTERC* se nachází v oblasti 3q26. Zmnožení tohoto úseku je považováno za „hybný motor“ v progresi prekancerózy v karcinomu. Heselmeyer et al detekovali amplifikaci 3q26 u 70 % karcinomů děložního hrdla [50]. Li et al se zabývali průkazem amplifikace *hTERC* u prekancerózních změn děložního hrdla a benigních nálezů cervixu. U normálních a zánětlivých buněk byla amplifikace *hTERC* v 6,1 %, u CIN I v 10,0 %, u CIN II v 66,7 %, u CIN III v 72,5 % a u cervikálních karcinomů ve 100 % případů. Užití

fluorescenční *in situ* hybridizace průkazu amplifikace měla vyšší specifitu diagnostiky vysokého stupně cervikálních intraepiteliálních neoplazií a cervikálních karcinomů než cytologická vyšetření stěrů děložního hrdla a HPV testace [47]. Gao et al prokázali pozitivní korelaci mezi amplifikací genu *hTERT* a cytologickým a histologickým gradingem. U pacientek s CIN I byla amplifikace přítomna u 28,6 % žen, s CIN II v 61,1 %, s CIN III v 75,0 % a u spinocelulárních karcinomů v 91,7 %. Přítomnost vysokého počtu kopií korelovala se stupněm high grade cervikální léze [48]. Li et al se snažili nalézt souvislosti mezi amplifikací *hTERT*, HPV infekcí, abnormálními cytologickými stěry a cervikální intraepiteliální neoplazií. Přítomnost amplifikace *hTERT* u CIN I byla nalezena v 5,4 % případů, CIN II v 50,0 %, CIN III v 77,8 % a ve 100 % invazivních cervikálních karcinomů. Přítomnost HPV infekce byla prokázána v souboru u 17,1 % pacientek. HPV pozitivní ženy měly vyjádřenou amplifikaci genu *hTERT* v 19,7 % oproti skupině HPV negativních s amplifikací v 6,5 % případů [49].

Gen MYCC

Transkripční faktor *MYCC* je kódován protoonkogenem *MYC*. Nachází se v oblasti 8q24 a podílí se na buněčné proliferaci a diferenciaci. *MYCC* aktivuje promotor *TERT*. Předpokládá se, že E6 reaguje přímo s *MYCC* a tento komplex aktivuje expresi *hTERT* [51]. Abba et al poukázali na souvislost zmožení *MYCC* s narůstajícím histologickým gradingem lézí a našli těsnou souvislost s výskytem HPV infekce typu 16 a amplifikací *MYCC*. Autoři předpokládají, že amplifikace *MYCC* má podíl nejen na progresi nádoru, ale i na buněčné transformaci [52]. Taktéž Golijow et al potvrdili souvislost mezi amplifikací genu *MYCC* a histologickým gradingem preinvazivních intraepiteliálních lézí děložního hrdla v souvislosti s vlivem *MYCC* na progresi a buněčnou transformaci [53]. Riou et al v souboru časných stádií cervikálních karcinomů detekovali souvislost amplifikací *MYCC* s vyšším rizikem relapsu onemocnění. Overexprese *MYCC* byla ve studii 6krát vyšší u pacientek se vzdálenými metastázami [54,55]. Na druhou stranu se

objevily studie, např. Ngana et al, v nichž byl analyzován vztah mezi *pan-ras*, *MYCC* a proteinem p53 u spinocelulárních karcinomů děložního hrdla ve stadiu IB a IIA. Přímá souvislost s prognózou zde nebyla prokázána [56].

Závěr

Komplexním zhodnocením klasických histopatologických faktorů v kombinaci s detekcí nových validních biomolekulárních markerů bychom mohli blíže predikovat biologické chování nádoru a prognózu pacientek s karcinomem děložního hrdla. U vysoce rizikových žen by tak mohla být primárně volena agresivnější terapie a intenzivnější follow-up. U pacientek v nízkém riziku by pak mohla být snížena radikalita léčby a mohlo by být dosaženo menší morbidity se zachováním kvality života. Můžeme očekávat, že další výzkum v této oblasti přinese nové charakteristiky karcinomu děložního hrdla a nová prognostická kritéria použitelná v široké praxi.

Poděkování

Autoři děkují za přečtení textu a kritické připomínky panu náměstkovi pro vědu, výzkum a výuku MUDr. Marku Svobodovi, Ph.D.

Literatura

- Freitag P. Rizikové a prognostické faktory. In: Cibula D, Petruželka L et al (eds). Onkogynekologie. 1. vyd. Praha: Grada 2009: 400.
- Jordan JA, Singer A, Jones H III et al (eds). The cervix. 2nd ed. Malden: Blackwell 2006.
- Safář P. Cervikální karcinom. Moderní gynekologie a porodnictví 2000; 9: 4.
- Alvarez RD, Soong SJ, Kinney WK et al. Identification of prognostic factors and risk groups in patients found to have nodal metastasis at the time of radical hysterectomy for early-stage squamous carcinoma of the cervix. Gynecol Oncol 1989; 35(2): 130–135.
- Raspagliesi F, Ditto A, Quattrone P et al. Prognostic Factors in microinvasive cervical squamous cell cancer: long-term results. Int J Gynecol Cancer 2005; 15(1): 88–93.
- Östör AG, Rome RM. Micro-invasive squamous cell carcinoma of the cervix. A clinico-pathologic study of 200 cases with long-term follow-up. Int J Gynecol Cancer 1994; 4(4): 257–264.
- Milam MR, Frumovitz M, Dos Reis R et al. Preoperative lympho-vascular space invasion in associated with nodal metastases in women with early-stage cervical cancer. Gynecol Oncol 2007; 106(1): 12–15.
- Berek JS, Hacker NF, Fu YS et al. Adenocarcinoma of the uterine cervix: histologic variables associated with lymph node metastasis and survival. Obstet Gynecol 1985; 65(1): 46–52.
- Lindahl B, Ranstam J, Willén R. Prospective malignancy grading of invasive squamous carcinoma of the uterine cervix. Prognostic significance in a long-term follow-up. Anticancer Res 2007; 27(4C): 2829–2832.

- Graflund M, Sorbe B, Hussein A et al. The prognostic value of histopathologic grading parameters and microvessel density in patients with early squamous cell carcinoma of the uterine cervix. Int J Gynecol Cancer 2002; 12(1): 32–41.
- Dundr P. Histopatologická klasifikace. In: Cibula D, Petruželka L et al (eds). Onkogynekologie. 1. vyd. Praha: Grada 2009: 394–399.
- Yasuda S, Kijima A, Maeno Y et al. Poor prognosis of patients with stage Ib1 adenosquamous cell carcinoma of the uterine cervix with pelvic lymph node metastasis. Kobe J Med Sci 2006; 52(1): 9–15.
- Creasman WT, Kohler MF. Is lymph vascular space involvement an independent prognostic factor in early cervical cancer? Gynecol Oncol 2004; 92(2): 525–529.
- Delgado G. Lymphovascular space involvement in cervical cancer: an independent risk factor. Gynecol Oncol 1998; 68(3): 219.
- Delgado G, Bundy B, Zaino R et al. Prospective surgical-pathologic study of disease-free interval in patients with stage Ib squamous carcinoma of the cervix: a Gynecologic Oncology Group study. Gynecol Oncol 1990; 38(3): 352–357.
- Morice P, Piovesan P, Rey A et al. Prognostic value of lymphovascular space invasion determined with hematoxylin-eosin staining in early cervical carcinoma: results of a multivariate analysis. Ann Oncol 2003; 14(10): 1511–1517.
- Roman LD, Felix JC, Muderspach LI et al. Influence of quality of lymphovascular space invasion on the risk of nodal metastases in women with early stage squamous cancer of the cervix. Gynecol Oncol 1998; 68(3): 220–225.
- Rob L, Svoboda B, Robová H et al. Guideline gynekologických zhoubných nádorů 2004/2005: Primární komplexní léčba operabilních stádií zhoubných nádorů děložního hrdla. Oncogynekologie.com. <http://www.onkogynekologie.com/wp-content/uploads/2011/03/C53.pdf>.
- Cantu De León D, Lopez-Graniel C, Frias Mendivil M et al. Significance of microvascular density (MVD) in cervical cancer recurrence. Int J Gynecol Cancer 2003; 13(6): 856–862.
- Kim YT, Zhao M. Abberant cell cycle regulation in cervical carcinoma. Yonsei Med J 2005; 46(5): 597–613.
- Bahnassy AA, Zekri AR, Saleh M et al. The possible of cell cycle regulators in multistep process of HPV-associated cervical carcinoma. BMC Clin Pathol 2007; 7: 4.
- van de Putte G, Holm R, Lie AK et al. Expression of p27, p21 and p16 protein in early squamous cervical cancer and its relation to prognosis. Gynecol Oncol 2003; 89(1): 140–147.
- Chen TP, Chen CM, Chang HW et al. Increased expression of SKP2 and phospho-MAPK/ERK1/2 and decreased expression of p27 during tumor progression of cervical neoplasia. Gynecol Oncol 2007; 104(3): 516–523.
- Dellas A, Schultheiss E, Leivas MR et al. Association of p27Kip1, cyclin E and c-MYC expression with progression and prognosis in HPV-positive cervical neoplasms. Anticancer Res 1998; 18(6A): 3991–3998.
- Goff BA, Sallin J, Garcia R et al. Evaluation of p27 in pre-invasive and invasive malignancies of the cervix. Gynecol Oncol 2003; 88(1): 40–44.
- Huang LW, Chou YY, Chao SL et al. p53 and p21 expression in precancerous lesions and carcinomas of the uterine cervix: overexpression of p53 predicts poor disease outcome. Gynecol Oncol 2001; 83(2): 348–354.
- Yee C, Krishnan-Hewlett I, Baker CC et al. Presence and expression of human papillomavirus sequences in human cervical cell lines. Am J Pathol 1985; 119(3): 361–366.
- Ahn WS, Bae SM, Lee KH et al. Recombinant adenovirus-p53 gene transfer and cell-specific growth suppression of human cervical cancer cells in vitro and in vivo. Gynecol Oncol 2004; 92(2): 611–621.

29. Gross GE, Barraso R (eds). Human papilloma virus infection: A clinical atlas. Ullstein: Mosby 1997.
30. Grace VM, Shalini JV, Sree Lekha TT et al. Co-overexpression of p53 and bcl-2 protein in HPV-induced squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Gynecol Oncol* 2003; 91(1): 51–58.
31. Melino G. p63 is a suppressor of tumorigenesis and metastasis interacting with mutant p53. *Cell Death Differ* 2011; 18(9): 1487–1499. doi:10.1038.81.
32. Bergholz J, Xiao ZX. Role of p63 in Development Tumorigenesis and Cancer Progression. *Cancer Microenviron*, 2012. www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22847008.
33. Houghton O, McCluggage WG. The expression and diagnostic utility of p63 in the female genital tract. *Adv Anat Pathol* 2009; 16(5): 316–321.
34. Distefano M, Ferrandina G, Smaniotto D et al. Concomitant radiochemotherapy plus surgery in locally advanced cervical cancer: update of clinical outcome and cyclooxygenase-2 as predictor of treatment susceptibility. *Oncology* 2004; 67(2): 103–111.
35. Ferrandina MG, Lauriola L, Distefano M et al. Increased cyclooxygenase-2 (COX-2) expression is associated with chemotherapy resistance and poor survival in cervical cancer patients. *J Clin Oncol* 2002; 20(4): 973–981.
36. Ferrandina G, Lauriola L, Zannoni GF et al. Expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) in tumor and stroma compartments in cervical cancer: clinical implications. *Br J Cancer* 2002; 87(10): 1145–1152.
37. Chen YJ, Wang LS, Wang PH et al. High cyclooxygenase-2 expression in cervical adenocarcinoma. *Gynecol Oncol* 2003; 88(3): 379–385.
38. Kim MH, Seo SS, Song YS et al. Expression of cyclooxygenase-1 and -2 associated with expression of VEGF in primary cervical cancer and metastatic lymph nodes. *Gynecol Oncol* 2003; 90(1): 83–90.
39. Lebrecht A, Ludwig E, Huber A et al. Serum vascular endothelial growth factor and serum leptin in patients with cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2002; 85(1): 32–35.
40. Lee JS, Kim HS, Jung JJ et al. Expression of vascular endothelial growth factor in adenocarcinomas of the uterine cervix and its relation to angiogenesis and p53 and c-erb-2 protein expression. *Gynecol Oncol* 2002; 85(3): 469–475.
41. Kissler A, Weich HA, Bandner G et al. Mutant p53 potentiates protein kinase C induction of vascular endothelial growth factor expression. *Oncogene* 1994; 9(3): 963–969.
42. Kim JW, Kim HS, Kim IK et al. Transforming growth factor-beta 1 induces apoptosis through down-regulation of c-MYC gene and overexpression of p27Kip1 protein in cervical carcinoma. *Gynecol Oncol* 1998; 69(3): 230–236.
43. Kwasniewska A, Postawski K, Gozdzicka-Jozefiak A et al. Estrogen and progesterone receptor expression in HPV-positive and HPV-negative cervical carcinomas. *Oncol Rep* 2011; 26(1): 153–160.
44. Monsonego J, Magdelenat H, Catalan F et al. Estrogen and progesterone receptors in cervical human papillomavirus related lesions. *Int J Cancer* 1991; 48(4): 533–539.
45. Webster K, Taylor A, Gaston K. Oestrogen and progesterone increase the levels of apoptosis induced by the human papillomavirus type E2 and E7 proteins. *J Gen Virol* 2001; 82(Pt 1): 201–213.
46. Guijon FB, Greulich-Bode K, Paraskevas M et al. Premalignant cervical lesions are characterized by dihydrofolate reductase gene amplification and c-MYC overexpression: possible biomarkers. *J Low Genit Tract Dis* 2007; 11(4): 265–272.
47. Li Y, Ye F, Lü WG et al. Detection of human telomerase RNA gene in cervical cancer and precancerous lesions: comparison with cytological and human papillomavirus DNA test findings. *Int J Gynecol Cancer* 2010; 20(4): 631–637.
48. Gao L, Zhu Y, Liu SP et al. Detection of human telomerase RNA component gene by fluorescent in situ hybridization for screening of cervical lesions. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi* 2011; 40(2): 104–107.
49. Li YB, Wulan N, Liu ZH et al. Amplification and clinical significance of hTERT gene in the cervical exfoliated cells from natural population in Shenzhen. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi* 2009; 30(9): 946–950.
50. Heselmeyer K, Macville M, Schröck E et al. Advanced-stage cervical carcinomas are defined by a recurrent pattern of chromosomal aberration revealing high genetic instability and a consistent gain of chromosome arm 3q. *Genes Chromosomes Cancer* 1997; 19(4): 233–240.
51. Veldman T, Liu X, Yuan H et al. Human papillomavirus E6 and MYC proteins associate in vivo and bind to and cooperatively activate the telomerase reverse transcriptase promoter. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(14): 8211–8216.
52. Abba MC, Laguens RM, Dulout FN et al. The c-MYC activation in cervical carcinomas and HPV 16 infections. *Mutat Res* 2004; 557(2): 151–158.
53. Golijow CD, Abba MC, Mourón SA et al. c-MYC gene amplification detected in preinvasive intraepithelial cervical lesions. *Int J Gynecol Cancer* 2001; 11(6): 462–465.
54. Riou GF, Bourhis J, Le MG. The c-MYC proto-oncogene in invasive carcinomas of the uterine cervix: clinical relevance of overexpression in early stages of the cancers. *Anticancer Res* 1990; 10(5A): 1225–1231.
55. Iwasaka T, Yokoyama M, Oh-uchida M et al. Detection of human papillomavirus genome and analysis of expression of c-MYC and Ha-ras oncogenes in invasive cervical carcinomas. *Gynecol Oncol* 1992; 46(3): 298–303.
56. Ngan HY, Cheung AN, Liu SS et al. Abnormal expression of pan-ras, c-MYC and tp53 in squamous cell carcinoma of cervix: correlation with HPV and prognosis. *Oncol Rep* 2001; 8(3): 556–561.