



UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
3. LÉKAŘSKÁ FAKULTA



Ústav: Ústav pro péči o matku a dítě v Praze Podolí

Nela Brabcová

**Prekancerózy endometria:
vyhledávání a prevence**
*Precursors of endometrial cancer:
screening and prevention*

Diplomová práce

Praha, 2010

Autor práce: Nela Brabcová

Studijní program: Všeobecné lékařství

Vedoucí práce: MUDr. Radovan Turyna

Pracoviště vedoucího práce: Ústav pro péči o matku a dítě
v Praze Podolí, oddělení gynekologie

Datum a rok obhajoby: 21. 1. 2010

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem předkládanou práci zpracovala samostatně a použila jen uvedené prameny a literaturu. Současně dávám svolení k tomu, aby tato diplomová práce byla použita ke studijním účelům.

V Praze dne 22. 12. 2009

Nela Brabcová

Poděkování:

Na tomto místě bych ráda poděkovala panu doktorovi Turynovi za námět a cenné rady k mé práci.

Obsah:

Úvod.....	5
1. Histopatologie a klasifikace prekanceróz.....	7
1.1 <i>Prekancerózy typu I karcinomu endometria.....</i>	7
1.1.1 <i>Endometriální intraepiteliální neoplazie (EIN).....</i>	9
1.2. <i>Prekancerózy typu II karcinomu endometria.....</i>	12
2. Faktory vzniku prekanceróz endometria.....	13
2.1 <i>Rizikové faktory.....</i>	13
2.2 <i>Protektivní faktory.....</i>	16
3. Výskyt prekanceróz endometria.....	17
4. Genetické alterace u prekanceróz a karcinomů endometria.....	19
5. Molekulární hlediska karcinogeneze endometria.....	27
5.1 <i>Iniciace karcinogeneze.....</i>	28
5.2 <i>Promoce karcinogeneze.....</i>	28
5.3 <i>Progrese karcinogeneze.....</i>	31
6. Diagnostika a screening prekanceróz endometria.....	34
6.1 <i>Technika odběru vzorku endometria.....</i>	36
6.2 <i>Příprava preparátu endometria na hodnocení.....</i>	38
6.3 <i>Biomarkery pro časnou detekci změn endometria.....</i>	38
7. Terapie prekanceróz endometria.....	41
7.1 <i>Konvenční terapie.....</i>	41
7.2 <i>Alternativní, molekulárně zaměřená terapie.....</i>	43
8. Prevence prekanceróz endometria.....	45
Závěr.....	48
Souhrn.....	49
Summary.....	50
Seznam použité literatury.....	51

Úvod

Téma mé diplomové práce jsem si vybrala z několika důvodů. Jedním z nich je neustále se zvyšující výskyt karcinomu endometria, velmi zhoubného onemocnění žen, jemuž prekancerózy předcházejí. V současné době bohužel neexistuje žádná diagnostická metoda, která by splňovala kritéria screeningového vyšetření a napomohla by tak časnému odhalování těchto lézí. Známe však rizikové skupiny žen, kterým je nutné věnovat zvýšenou pozornost. Díky moderním diagnostickým metodám založených na molekulární biologii byla odhalena cesta karcinogeneze prekanceróz, což jistě přispělo lepšímu porozumění patogenezi tohoto onemocnění. V současné době existuje v české odborné literatuře pouze pár zmínek o tomto onemocnění, proto jsem informace čerpala především z literatury anglické.

Prekancerózy endometria představují heterogenní skupinu abnormálních proliferací endometria. Morfologické změny jsou komplexní, postihují jak buněčné jádro, tak cytoplazmu a v různém stupni i architekturu žlázek. Prekancerózy endometria mohou vyústit až v karcinom endometria, který je po nádorech prsu nejčastější malignitou u žen. V České Republice můžeme ročně očekávat asi 1600 nově diagnostikovaných případů karcinomu endometria, incidence se aktuálně pohybuje kolem 30/100 000, za poslední léta je pozorován kontinuální nárůst incidence v ekonomicky vyspělých zemích. Důvodem tohoto nárůstu je prodlužující se věk populace a nárůst epidemiologických rizikových faktorů, které jsou těsně spjaty s životním stylem v těchto zemích [1].

Je známo mnoho rizikových faktorů a několik faktorů protektivních, které hrají významnou roli při vzniku jak prekanceróz, tak samotných karcinomů endometria. Nejrizikovějšími faktory jsou ty, jež mají přímou souvislost se zvýšenou a dlouhodobou stimulací endometria estrogény, jsou to tedy: neoponovaná estrogení terapie, obezita, anovulační cykly, pacientky se sterilitou, užívání tamoxifenu. Z protektivních faktorů je to

především efekt kombinovaných antikoncepčních preparátů na endometrium a také nikotinismus, kdy vedlejším efektem kouření tabákových výrobků je snížení hladiny volného estrogenu.

Patogeneze prekanceróz a následných karcinomů endometria je procesem multifaktoriálním. Podle ní jsou léze rozdělovány na typy I a II. Většinu z nich tvoří typ I, jenž je spjat se zvýšenou stimulací endometria estrogeny působícími zvýšenou proliferací endometria, vznik spontánních mutací, dochází k atypické hyperplazii a invazivnímu karcinomu. Známým prekurzorem je zde atypická hyperplazie endometria. Druhou skupinou lézí je typ II, estrogen-nondependentní, vznikající na atrofickém endometriu bez zjevného působení estrogenů. U léze typu II se v současné době uvažuje o prekurzoru nazvaném endometriální karcinom in situ.

Varující je zjištění vyplývající ze studie, kterou v roce 2006 uveřejnila Gynecologic Oncology Group Study, jež sledovala výskyt současného karcinomu endometria z provedené hysterektomie u pacientek, kterým byla v biopsii diagnostikována atypická hyperplazie endometria. Studii bylo zjištěno, že počet souběžného karcinomu endometria v analyzovaných vzorcích bylo 42,6 % (123 z 289 vzorků)! Ze zjištěných karcinomů 65 % (80 ze 123 vzorků) tumorů bylo omezeno na endometrium, 30,9 % (38 ze 123 vzorků) bylo myoinvazivních, a v 10,6 % (13 ze 123 vzorků) bylo postiženo vnějších 50 % myometria [2].

Klinickým příznakem prekanceróz a karcinomu endometria bývá nepravidelné anebo silné děložní krvácení. V diagnostice endometriálních lézí je metodou volby neinvazivní ultrazvukové vyšetření. K bioptickému ověření suspektní léze je k dispozici frakcionovaná kyretáž nebo hysteroskopie.

Cílená terapie je vyžadována při každé diagnóze hyperplazie. Způsob léčby je závislý na typu změn, na věku pacientky, u premenopauzálních žen také na tom, zda si pacientka přeje otěhotnět. V léčbě máme k dispozici metody konzervativní (hormonální) a ablativní.

1. Histopatologie a klasifikace prekanceróz

Dříve než popíši histologické charakteristiky prekanceróz endometria, zmíním se o dualistickém modelu karcinogeneze prekanceróz a karcinomů endometria, obecně nazývaného typ I a II. Tento model je založen na klasifikačním systému, za jehož základem stál v roce 1983 Bokhman. Tento model slouží jako užitečný způsob, jak tyto nádory zařadit z hlediska etiologie a klinického chování.

Karcinom endometria je nejběžnější gynekologickou malignitou, přibližně 90% karcinomů endometria jsou sporadické případy, zbývajících 10 % jsou případy dědičné. Většinu sporadických případů karcinomu endometria reprezentuje typ I; tvoří 70 – 80 % případů. Je endometrioidním typem asociovaným s expozicí neoponovaným estrogenům, hovoříme o estrogen-dependentním typu karcinomu. Vzniká na pozadí hyperplazie a běžně exprimuje estrogení a progesteronové receptory. Objevuje se u pre- a perimenopauzálních žen. Karcinom endometria tohoto typu bývá diferencovaný, málo invazivní, bývá časněji diagnostikován a má proto relativně dobrou prognózu.

Typ II karcinomu endometria je méně častý, představuje 10–20 % případů karcinomů endometria. Bývá nejčastěji non-endometrioidní, histologicky méně diferencovaný, obvykle jsou přítomny papilární serózní nebo jasné buňky. Typ II nesouvisí s expozicí estrogenům, je non-estrogen dependentní. Typicky vzniká na pozadí atrofického endometria, objevuje se u postmenopauzálních žen. Klinicky se vyznačuje rychlým agresivním průběhem, má sklon k předčasnému šíření, hluboké muskulární invazi, bývá později diagnostikován a mívá špatnou prognózu.

1.1 Prekancerózy typu I karcinomu endometria

Tato skupina prekanceróz endometria je jasně spjata se zvýšenou stimulací endometria estrogeny. Ty působí zvýšenou proliferaci endometria, v endometriu častěji vznikají spontánní mutace, dochází tak ke vzniku atypické hyperplazie a následně k invazivnímu karcinomu. I

přesto, že je dnes známa klíčová role hyperplazie v patogenezi karcinomu endometria typu I (estrogen-dependentního), zůstává nejasná histopatologická klasifikace hyperplazie a s tím související stanovení maligního potenciálu. Mezi kliniky i patology přetrvávají rozpaky v terminologii prekanceróz endometria.

Současná klasifikace WHO/ISGP (International Society of Gynecological Pathologists) rozlišuje tři typy hyperplazií – jednoduchá, komplexní a atypická. Hyperplazie je zvětšení tloušťky endometria, a to na podkladě zvýšení počtu a velikosti prolifерujících žlázek. Avšak na procesu hyperplazie se podílí nejen složka glandulární (čili proliferace žláz), ale také složka stromální. Hyperplazii dělíme podle architektury žlázek na jednoduchou a komplexní hyperplazii, a podle přítomnosti cytologických abnormalit na atypickou hyperplazii a hyperplazii bez atypií. Jako vlastní prekanceróza se v současnosti uvádí pouze hyperplazie s přítomností buněčných atypií. Protože ale všechny druhy hyperplazie spolu etiologicky velmi úzce souvisí, uvádím klasifikaci a histopatologickou charakteristiku všech.

Jednoduchá (simplexní) hyperplazie se vyznačuje těsně souvisejícími, malými, uniformními žlázkami, z nichž některé jsou cysticky dilatované. Poměr žlásky:stroma je normální. Žlásky mají rozšířená jádra, prominující jádérka; stratifikace jader a mitotická aktivita je srovnatelná s endometriem v časně proliferální fázi. Častěji ji nacházíme u premenopauzálních žen.

Komplexní hyperplazii bez atypií diagnostikujeme podle ztráty architektury žlázek; ty jsou velmi variabilní, mívají větší objem a nejasné ohraničení, cytologické atypie jsou však přítomny minimálně. Je zde narůstající poměr žlásky:stroma. Nejčastěji vzniká u peri- a postmenopauzálních žen.

Atypická hyperplazie má výrazné cytologické atypie (cytoplazmatické a jaderné), mezi něž patří: ztráta polarity jader, anizonukleóza, bizardní jádérka, deskvamace buněk. Cytoplazma bývá zvýšeně eozinofilní, poměr jádro:cytoplazma je zvětšený, jádra se

vyznačují nepravidelnou velikostí a tvarem, hyperchromazií a pravidelným uspořádáním chromatinu, jsou zvládněna jádérka. Buňky mohou vykazovat ještě zachovalý protáhlý tvar, cylindrický nebo okrouhlý. Atypická hyperplazie se nejčastěji objevuje v menopauze, naprosto vzácná je u mladých žen. Je vlastní prekancerózou I. typu karcinomu endometria (estrogen-dependentního).

Možnost přechodu jednotlivých typů hyperplazií endometria v invazivní karcinom je velmi závislá na přítomnosti nebo nepřítomnosti atypií. Některé klasifikace ještě v diagnostice u atypické hyperplazie rozlišují podjednotku hyperplazie atypické simplexní a komplexní, přičemž komplexita glandulární složky představuje větší riziko pro vznik neoplazie. Riziko přechodu simplexní hyperplazie bez atypií v invazivní karcinom je 0-1 %, komplexní hyperplazie bez atypií 3 %, simplexní atypické hyperplazie 8 % a komplexní atypické hyperplazie 29 % [1]. Ženy s atypickou hyperplazií endometria mají tedy 10 krát pravděpodobnější riziko progresu v invazivní karcinom endometria než ženy s hyperplazií bez atypií.

1.1.1 Endometriální intraepiteliální neoplazie (EIN)

V současné době zaznamenáváme snahy revidovat tuto stávající, relativně konzervativní, oficiální klasifikaci WHO/ISGP. Publikované GOG studie (Gynecologic Oncology Group) o kvalitě diagnózy atypické hyperplazie endometria prokázaly, že i mezi specialisty pro onkogynekologickou patologii existují v diagnostice této léze relativně značné interpersonální rozdíly. Návrhy těchto klasifikací odrážejí nové poznatky o rizikovosti hormonálního působení a nová fakta získaná ze studií na subcelulární, genetické úrovni. Syntézou těchto nových poznatků vznikla klasifikace rozlišující endometriální intraepiteliální neoplazii (EIN). Vznikla analogicky k cervikální nebo vulvární intraepiteliální neoplazii (CIN, VIN). Termín endometriální intraepiteliální neoplazie (EIN) byl navržen jako popisný termín pro monoklonální endometriální prekancerózu, která

vzniká na základě proliferace monoklonálně transformované, neoplastické buňky. Většina EIN lézí byla v systému WHO diagnostikována jako atypická hyperplazie endometria.

EIN je prekancerózou lišící se od normální tkáně, mající některé znaky karcinomu a zvyšující riziko jeho vzniku. Zůstane-li EIN neléčena, může progredovat v karcinom. Pacientky s EIN mají 45 krát vyšší pravděpodobnost progresu v karcinom endometria než ženy s benigním nálezem na endometriu. Jestliže však byly tyto ženy zařazeny do klasifikace WHO, měly pacientky s atypickou hyperplazií pouze 7 krát vyšší riziko rozvoje invazivního karcinomu než pacientky s diagnostikovanou hyperplazií endometria bez atypií. Bylo zjištěno, že EIN je statisticky významně asociovaný s nepravidelným menstruačním cyklem, graviditou, BMI, diabetem a hormonální terapií [3].

Klíčovými kritérii pro diagnostiku EIN jsou: poměr epiteliální a stromální složky léze (stromální objem je menší než u žláz), její velikost a cytologický charakter ve vztahu k okolní tkáni. EIN je diagnostikována přítomností cytologických abnormalit, architekturou přeplněných žláz, minimální velikostí 1 mm, a pečlivým vyloučením napodobujících lézí. Tato kritéria EIN jsou určena k použití pro stratum functionale endometria. Abnormální cytologie endometriální intraepiteliální neoplazie je v oblastech, kde jsou žlázy těsněji složeny, než je tomu v normálním endometriu. Cytologické změny EIN se značně liší a mohou zahrnovat vzrůstající variace ve velikosti a tvaru jader, shluklé nebo glandulární textury chromatinu, změny v nukleolech, změnu v poměru jádro/cytoplazma, a změněnou cytoplazmatickou diferenciaci. Úplný cytologický vzhled je také ovlivněn metodou zpracování tkání, rozsahem reaktivních/degenerativních změn a hormonálním prostředím.

Rozdíl mezi benigními lézemi (degenerativní změny nebo čisté hormonální efekty jako je anovulace) a EIN je největší výzvou v diagnostice. Diagnostická přesnost může být značně ohrožena exogenními progestiny obsaženými v hormonální léčbě. Je to proto, že v prostředí bohatém na progestin mají jádra nemaligních žláz tendenci ke

snižování velikosti a získávají nevýrazné chromatinové struktury, čímž se zdají být méně „atypické“. Paradoxně, jádra normálních žláz se stávají rozšířenými a zaoblenými, čímž získávají charakter spojený s atypií. Z tohoto důvodu by měla být primární diagnóza nebo následující kontrola ložisek suspektních z EIN založena na vzorku získaném tehdy, když pacientka není na hormonální léčbě. U pacientek na léčbě progestiny se tkáň k diagnóze získává po 2 až 4 týdnech po přerušení exogenní hormonální léčby po dokončení krvácení.

Endometriální intraepiteliální neoplazii lze hodnotit počítačovou morfometrií a imunohistochemií pomocí protilátek proti proteinu PTEN (viz. Kapitola 4 a 5). Morfometrická analýza endometriálních lézí známého klonálního složení ukázala, že většina monoklonálních domnělých prekanceróz má vysoké riziko D skóre, což je index počítačově měřených cytologických a architektonických vlastností, jež jsou velmi vhodné pro předpovídání výskytu souběžných nebo budoucích adenokarcinomů endometria. Ze tří proměnných, použitých k výpočtu D skóre, je zdaleka nejvíce prediktivní hodnotou vlastnost zvaná objemové procento stromatu (VPS = volume percentage stroma). V přeplněných žlázách monoklonálních prekanceróz klesne VPS pod hranici 55 % a prokazuje formální architektonické vlastnosti jako platná prediktivní kritéria EIN doplněná cytologií. Díky imunohistochemickým markerům byly prekancerózy endometria odhalovány na preklinické úrovni, což vedlo k detekci mnohem vyšší prevalence časných stádií onemocnění, než bylo původní podezření. Protože ztráta PTEN proteinu se objevuje v době před nebo při zahájení karcinogeneze (PTEN gen se chová jako „strážný“ v endometriální karcinogenezi, je jedním z prvních genetických změn v tomto procesu), premaligní a maligní endometriální žlázy lze rozlišit právě podle ztráty tohoto markeru. Tedy PTEN imunohistochemie ukazuje léze specifické na ztrátu PTEN proteinu v 63 % lézí endometriální intraepiteliální neplasie (EIN), potvrzující tak, že tyto pevně agregované žlázy jsou klonálními výrůstky geneticky abnormálních buněk.

Je třeba odlišovat karcinom od EIN, protože ten je nutné léčit chirurgicky a ne hormonálně. Je třeba mít na paměti, že nepřítomnost karcinomu v biopsii tkáně neznámá vyloučení možnosti, že by pacientka mohla mít současně karcinom, protože ten nemusí být v biopsii obsažen. Karcinomy bývají ve většině případů identifikovány jako oddělené od EIN přítomností solidní tkáně neoplastického epitelia, nebo mají vzhled plazivých nebo přerušovaných lumen, jež indikují porušení vztahu normálních žláz a stroma [4].

1.2 Prekancerózy typu II karcinomu endometria

U typu II (non-estrogen dependentního) karcinomu endometria se v současné době uvažuje o prekursoru nazvaném endometriální karcinom in situ, i když někteří autoři tento termín neuznávají. Endometriální karcinom in situ bývá diagnostikován v atrofickém endometriu spolu s nálezem serózního karcinomu endometria a ostatních agresivních typů. Jedna nebo více vrstev proliferujících obrovských buněk s výraznými jadernými atypii nahrazuje postižený povrch žlázového epitelu. U adenokarcinoma in situ je cytologická charakteristika výraznější a velmi připomíná obraz, v mnoha případech téměř neodlišitelný, vysoce diferencovaného karcinomu endometria. Jak změny progredují, přibývá ve struktuře buňky atypii, dochází k jejímu zvětšení a nepravidelným tvarům jader, hyperchromázii a nepravidelnosti chromatinu. Pravidlem je vakuolizace cytoplazmy. Buňky se shlukují do „clusterů“. Jsou to seskupení, v nichž jsou buňky uloženy nad sebou (tzv. palisádování). V těchto lézích můžeme často prokázat overexpresi antionkogenu p53 (viz. Kapitola 4). U serózního, papilárního karcinomu endometria byla prevalence antionkogenu p53 zaznamenána v 90% a v možném prekursoru v 78% [1]. Poznatky o patogenezi tohoto prekursoru však nejsou, i přes četné studie z genetiky, dostatečné.

2. Faktory vzniku prekanceróz endometria

2.1 Rizikové faktory

Nejrizikovějšími faktory, jež se uplatňují při vzniku prekanceróz a karcinomů endometria, jsou ty, které mají přímou souvislost se zvýšenou a dlouhodobou stimulací endometria estrogény. Ženy užívající *neoponovanou estrogenní terapii* mají 10-20 krát vyšší riziko vzniku endometriálních lézí. Hypotéza, že zvýšená stimulace endometria estrogény bez korektivního vlivu gestagenů vede ke vzniku prekanceróz a karcinomu endometria, vyplynula z empirie a observace rizikových obézních žen s dysfunkčním děložním krvácením. *U obézních žen* dochází totiž v periferní tukové tkáni ke konverzi androstendionu na estron, čímž dochází ke zvýšené stimulaci endometria i u postmenopauzálních žen (ty mají relativní riziko 2-5). S obezitou souvisí další rizikové faktory - *diabetes mellitus a hypertenze*.

V dřívějších dobách velké riziko představovalo *podávání sekvenční hormonální terapie*, kdy vysoké dávky estrogenů a nízké dávky slabého gestagenu vedly ke stimulaci endometria podobně jako v situaci léčby neoponovanými estrogény (neoponovaná ERT). Dalšími takovými rizikovými faktory jsou *anovulační cykly* (RR 2-5). Dlouhodobě anovulační cykly mají *ženy se syndromem polycystických ovárií* (sy PCO), u nichž se atypická hyperplazie endometria nebo karcinom může vyskytovat ve velmi mladém věku. Dále *ženy v období perimenopauzy* mají často anovulační cykly a nedostatek gestagenů, čímž může dojít k nežádoucí stimulaci endometria. V tomto období se karcinom endometria vyskytuje nejčastěji. *Sterilita* (RR 3-8), *nulliparita*, *nepravidelný cyklus*, *časné menarché a pozdní menopauza a hormonálně aktivní nádory ovaria* jsou dalšími rizikovými faktory. U časného menarché a pozdní menopauzy dochází k protrahované stimulaci endometria estrogény.

Dlouhodobé užívání tamoxifenu tvoří relativní riziko vzniku karcinomu endometria 2,53. Tamoxifen je antiestrogen používaný v adjuvantní terapii karcinomu prsu. Redukce tohoto rizika je možná pouze

zkrácením délky podávání tamoxifenu na 5 let, poté se již nedoporučuje tamoxifen podávat. Pokud na podkladě léčby tamoxifenem vznikne zhoubný nádor, má relativně dobrou prognózu. K analýze vlivu tamoxifenu je nutné zahrnout nejen jeho potencionální riziko pro endometrium, ale také jeho protektivní vliv na tkáň prsu, kdy téměř v 50% redukuje riziko relapsu karcinomu prsu. Z tohoto pohledu potencionální profit léčby převažuje nad rizikem.

Mezi obecné rizikové faktory můžeme zařadit *vyšší věk, obyvatelky vyspělých států, vyšší socioekonomický status, bílou rasu a přítomnost karcinomu endometria v rodině*. Prekancerózy a karcinomy endometria se rovněž významně častěji vyskytují u familiárních syndromů rakoviny tlustého střeva.

U *Peutzova Jeghersova syndromu* je zvýšený výskyt různých malignit (gastrointestinálních, pankreatu, plic, prsu, vaječníků, varlat), včetně malignit postihujících dělohu, častěji zde dochází ke vzniku prekanceróz endometria. Peutz-Jeghersův syndrom (PJS) je dědičné (AD) onemocnění, jehož incidence je 1/100 000. U Peutzova-Jeghersova syndromu dochází k mutaci v genu STK 11. Projevuje se mnohočetnými hamartomatózními polypy tlustého a tenkého střeva, jež mají vysokou tendenci k malignizaci, jejíž riziko roste s věkem postiženého, a pigmentovými skvrnami kůže a sliznic různého stupně na rtech, tvářích a nose, konečcích prstů rukou i nohou. Krvácení, obstrukce, intususcepce, únavnost a anémie jsou častými symptomy pacientů s PJS. Při podezření na toto onemocnění je indikováno endoskopické vyšetření střev. Jedinou účinnou terapií je včasné preventivní odstraňování střevních polypů (polypektomie). Je nutný pravidelný celoživotní screening rakoviny (koloskopie, gastrokopie, CT, MRI nebo UZ vyšetření slinivky břišní, RTG hrudníku, mamografie a UZ vyšetření pánve u ženy a varlat u mužů) [5].

Lynchův syndrom je označení pro familiární autozomálně dominantní nepolypózní kolorektální karcinom (HNPCC = hereditary nonpolyposis colorectal cancer), který je v některých případech provázen výskytem i jiných karcinomů, např. karcinomem endometria (ale i ovaria,

pankreatu atd.). U tohoto onemocnění dochází k mutaci genů způsobujících chybné DNA opravy. Mutace těchto genů představují 90 % HNPCC-souvisejících kolorektálních a endometriálních karcinomů.

Familiární adenomatózní polypóza (FAP) je autozomálně dominantně dědičné onemocnění tlustého střeva s výskytem mnohočetných polypů – adenomů v tlustém střevě a konečniku. U FAP dochází k mutaci v tzv. APC genu na 5. chromozomu. Adenomy se objevují v průběhu druhé dekády života a zhruba po 10 letech výskytu malignizují. Mohou se vyskytovat některé extraintestinální projevy onemocnění jako jsou osteomy, zubní anomálie, kongenitální hypertrofie pigmentového epitelu sítnice, a tumory mimo kolon (štítné žlázy, jater, žlučových cest a centrální nervové soustavy). U FAP je zvýšené riziko rozvoje prekanceróz a karcinomu endometria.

Prekancerózní léze endometria se mohou objevovat také u *pacientek s polypy dělohy*, a je třeba na to myslet. V roce 2003 byla v Itálii provedena studie zjišťující výskyt benigních, hyperplastických a maligních polypů. Soubor studie tvořilo 509 pacientek s polypy endometria, jež podstoupily hysteroskopické odstranění polypů. Hysteroskopická polypektomie je možností léčby, protože zajišťuje odstranění celé léze a přilehlé endometrium zachovává. Výsledky histologie přinesly tyto závěry: 358 polypů (70,3 %) bylo benigních (polypy atrofické, glandulocystické, s proliferačními nebo sekrečními změnami), u 131 polypů (25,7 %) byla nalezena simplexní anebo komplexní hyperplazie endometria, u 16 polypů (3,1 %) byla objevena hyperplazie s atypii a karcinom endometria se vyskytl u 4 případů polypů (0,8%). Polypy byly rozděleny do 2 skupin: A a B v závislosti na riziku malignity (skupina A: benigní, skupina B: atypická hyperplazie a karcinomy). Důvod tohoto rozdělení spočíval v odlišné tendenci k progresi v endometriální adenokarcinom: 0 nebo přibližně 1 % u skupiny A, variabilní od 25 do 100 % u skupiny B. Rizikové faktory jako věk, menopauza a hypertenze jasně asociovaly se skupinou B. Studie poukazovala na vzácnou progresi endometriálních polypů v maligní léze, ale mnohem běžnější výskyt hyperplastických změn. Věk, menopauza a

hypertenze mohou zvýšit riziko premaligních a maligních polypů. Hypertenze je prokázaným rizikovým faktorem na hormonech závislých tumorů u žen (jako je adenokarcinom endometria); může podpořit růst tumoru narušením apoptózy a poté ovlivňuje buněčný obrat [6].

2.2 Protektivní faktory

Současné kombinované antikoncepční preparáty (HATK) mají jednoznačně prokázaný protektivní efekt na endometrium. Ten je vysvětlován stabilními hormonálními hladinami, při kterých nedochází k neoponovanému působení estrogenů a tedy a ani ke kumulaci rizikových faktorů. Redukce rizika se uvádí na úrovni 11,7% za rok, po 5 letech je kumulativní redukce rizika kolem 46%. Po vysazení HATK trvá tato protekce 10 i více let.

Druhým známým, i když kontroverzním, protektivním faktorem je nikotinismus. Kouřením tabákových výrobků dochází ke snížení hladiny volného estrogenu, v důsledku toho je u aktuálních kuřaček popisována asi 50% redukce rizika vzniku endometriální neoplazie.

3. Výskyt prekanceróz endometria

Incidence prekanceróz a karcinomu endometria narůstá v Evropě, USA a jiných oblastech světa v posledních několika desetiletích velice rychle. Tento nárůst je spojen se zavedením terapie neoponovanými estrogeny u postmenopauzálních žen od roku 1960, dále prodlužující se očekávaná délka života, obezita spojená s moderním způsobem života, tamoxifen a adjuvantní terapie karcinomu prsu, která zvyšuje incidenci 6 až 8 krát.

Nejnovější údaje Mezinárodní agentury pro výzkum rakoviny (International Agency for Research on Cancer, IARC) dobře ilustrují velké geografické variace v incidenci karcinomu endometria. Zatímco incidence v Evropě a v USA jsou podobné, mnohem nižší jsou v zemích severní Asie (Japonsko, Korea). Největší výskyt karcinomu endometria celosvětově je v evropské populaci. I přes velké pokroky v časně detekci a léčbě tohoto onemocnění se zdá, že roční incidence a počet úmrtí spojený s karcinomem endometria opět stoupá. V Evropě je vyšší incidence karcinomu endometria mezi postmenopauzálními ženami v České Republice, Slovensku, Švédsku a Slovinsku, nejnižší je naopak ve Francii a Velké Británii. Současná incidence se pohybuje kolem 18 na 100,000 žen v České Republice, pro srovnání incidence ve Francii je 9,2 na 100,000 žen. Mortalita na toto onemocnění je 2-3 krát vyšší ve východní Evropě (Ukrajina, Lotyšsko, Rusko, Bělorusko) než v Evropě západní. Dle údajů z roku 2002 je mortalita v České Republice vůbec nejvyšší, 9,3 na 100,000 žen, opět pro srovnání ve Francii je mortalita 4,8 na 100,000 žen. Klesající mortalita je pozorována ve většině populací, i když v určitých oblastech východní Evropy začal pokles teprve nedávno, od 80. let 20. století.

Co se týče incidence a prevalence hyperplazie s atypii a bez atypii, existuje velmi málo informací. Soudí se, že hyperplazie endometria mohou být nalezeny až u 10 % asymptomatických postmenopauzálních žen, zatímco u premenopauzálních asymptomatických žen se zdají být hyperplazie nebo jiné endometriální léze velmi vzácné. U

perimenopauzálních žen, jež mají abnormální děložní krvácení (jiné než oligomenorrhoea a amenorrhoea), je vysoká incidence hyperplazie endometria a invazivního karcinomu endometria. Většina endometriálních hyperplazií ustupuje spontánně. Zhruba 10 % cystické nebo adenomatózní hyperplazie, a více než 25 % atypických hyperplazií progreduje v karcinom po 1–20 letech. Navíc 29,1 % pacientek s předpokládanou hyperplazií má koexistující karcinom endometria, zjištěný při provedení hysterektomie [7].

4. Genetické alterace u prekanceróz a karcinomů endometria

Kromě morfologických a klinických znaků popsaných v kapitole 1 se typ I a II karcinomu endometria odlišuje také genetickými změnami. Jsou asociovány s mutacemi nezávislé sady genů. U endometrioidních prekanceróz a karcinomů endometria (typu I) to jsou mutace PTEN, K-ras a β -kateninu, dále defekty v opravách DNA. Nonendometrioidní prekancerózy a karcinomy endometria (typ II) vykazují aneuploiditu a mutace antioonkogenu p53.

Typ I prekanceróz a karcinomu endometria je charakterizován růzností genetických alterací, nejčastěji *PTEN*. *PTEN*, lokalizovaný na chromozomu 10q23.3, kóduje protein s tyrozin kinázovou aktivitou a chová se jako tumor supresorový gen. Negativně reguluje funkci integrinů, které jsou důležitými proteiny adhezních a signalizujících receptorů zprostředkujících buněčnou migraci a invazi, a také za normálních podmínek ovládá cytoskeletální organizaci, buněčný růst a apoptózu. V důsledku vede ztráta nebo změna *PTEN* exprese k abnormálnímu růstu buněk a jejich úniku apoptóze (programované buněčné smrti). *PTEN* je často deletovaný nebo mutovaný v různých lidských malignitách. Překvapivým rysem v endometriálním profilu *PTEN* je vysoká frekvence (33 – 55 %) v tumorech spojených s mutacemi. *PTEN* inaktivace způsobená mutacemi (nejčastěji v obou alelách, což vede k úplné ztrátě funkce) vede ke ztrátě exprese a v menší míře i ke ztrátě heterozygoty. Protein kódovaný *PTEN* má jak lipidovou, tak fosfátovou aktivitu s různými funkcemi. Způsobuje zastavení buněčného cyklu na kontrolním bodě G1/S. Také upregulace proapoptotických mechanismů zahrnující AKT-dependentní mechanismus je zprostředkována skrze *PTEN*, stejně jako je downregulace antiapoptotických mechanismů zprostředkována skrze Bcl-2. Dále *PTEN* působí v opozici fosfatidylinositol-3-kinase (PI3KCA), čímž kontroluje hladiny fosforylované AKT. Mutace *PTEN* zvyšuje aktivaci

PI3KCA, což ústí ve fosforylaci AKT. Mutace PI3KCA je pozorována ve 36 % typu I karcinomu endometria a je nejčastější u nádorů s mutací PTEN. Protein kódovaný PTEN s fosfatázovou aktivitou se podílí na inhibici fokální adheze léze, buňky se šíří a migrují, a signalizuje také inhibici růstovým faktorem stimulovaným MAPK. Ztráta nebo změna PTEN exprese vede tedy k abnormálnímu růstu buněk a jejich úniku apoptóze. Někteří badatelé usuzují, že existuje také asociace MSI (mikrosatelitní instability) a PTEN mutace s karcinomy endometria, dosud ale nebyl prokázán žádný přesvědčivý důkaz vztahu příčina-důsledek pro tuto asociaci. V polovině všech MSI-pozitivních karcinomů endometria byly detekovány PTEN mutace jako krátké kódování mononukleotidových opakování, ústící v posunové mutace. Proto deficiencie v chybné opravě, která tvoří poslední krok v získávání MSI fenotypu, může vést k posunovým mutacím v PTEN genu a může být nejčasnějším dějem ve vícestupňové progresi endometriální karcinogeneze. Změny PTEN nastávají až u 83 % karcinomů endometria a u 55 % prekanceróz, jsou tedy časným dějem endometriální karcinogeneze. Prevalence PTEN mutací je celkem podobná mezi časnými klinickými stádii/dobře diferencovanými endometrioidními adenokarcinomy a pokročilými/špatně diferencovanými adenokarcinomy. Je pravděpodobně zahájena jako reakce na známé rizikové hormonální faktory (exprese PTEN reaguje na hormonální prostředí). Změněná PTEN exprese může být použita jako diagnostický marker (indikátor) nejčasnějších prekanceróz endometria. Avšak inaktivace PTEN genu je extrémně vzácná u nonendometrioidních typů karcinomů jako je papilární serózní a klarocelulární typ adenokarcinomu endometria.

43 % histologicky normálních endometrií u premenopauzálních žen obsahuje vzácně žlázy, které selhávají v expresi PTEN proteinu v důsledku mutace a/nebo delece (tzv. PTEN-nulové žlázy). Přetrvávají mezi menstruačními cykly. Endometrium je vysoce proliferační a cyklicky regenerující tkáň, ve které ztráta PTEN tumor supresorového genu značí začátek několikastupňové karcinogeneze. Je nepravděpodobné, že by

PTEN-nulové žlázy se získanou mutací vznikly při krátké expozici neoponovaným estrogenům během jediného abnormálního menstruačního cyklu. S větší pravděpodobností jsou PTEN-nulové žlázy vytvářeny během celého života, kdy menstruační cykly probíhají, a jsou zachovány po dlouhou dobu. Jednou vytvořené PTEN-nulové klony jsou buď trvale udržovány buněčnou populací, jestliže nejsou dostatečně odstraněny během menstruace, nebo regenerují během menstruačních cyklů. Ztráta PTEN proteinu v proliferačních žlázách nemůže být připisována ztrátě reakce na lokální estrogény, neboť si ponechávají estrogení a progesteronové receptory na normální úrovni. Ačkoliv se u přibližně 40 % premenopauzálních žen objeví PTEN-nulové žlázy, jen 2,4 % z nich onemocní někdy v budoucnu karcinomem endometria, nejvíce po menopauze. Je však také známo, že neoponované estrogény zvyšují riziko vzniku endometriálních neoplázií na několik let po expozici; toto riziko může být sníženo nebo úplně zrušeno následným užíváním orálních kontraceptiv. Opakované biopsie 11 postmenopauzálních žen užívajících kombinovanou HRT ukazují nižší prevalenci a menší rychlost vzniku PTEN-nulových žláz ve srovnání s endogenně cyklujícími premenopauzálními ženami. To může naznačovat buď s věkem související děj, nebo supresi PTEN-nulových klonů pomocí farmakologických prostředků.

Další genetické alterace u endometrioidních karcinomů a prekanceróz endometria (typ I) zahrnují *mikrosatelitní instabilitu* (MSI) a specifické mutace genů K-ras a β -catenin.

DNA mikrosatelit je jednoduchá sekvence opakování 1 až 6 nukleotidů rozmístěných po celém genomu. Mikrosatelitní nestabilita (MSI) je charakterizována změnami v délce mikrosatelitu, čili změnou počtu opakování elementů v mikrosatelitech. Je zjištělná pomocí metody PCR. Tento typ genetické nestability je nejspíše způsoben defektními geny chybné DNA opravy (MMR = DNA-mismatch repair genes). Mutace MMR genů hrají roli v patogenezi hereditárního nonpolypózního kolorektálního karcinomu (HNPCC = hereditary nonpolyposis colorectal cancer, Lynchův

syndrom). Některé geny, jako MSH2, MLH1, PMS1, PMS2 a GTBP, byly identifikovány, že jsou zapojeny do cesty chybné DNA opravy. Mutace těchto genů představují 90 % HNPCC-souvisejících kolorektálních a endometriálních karcinomů. Hypermetylace MLH1 promotéru způsobuje ztrátu MLH1 exprese a vede k nedostatku kapacity MMR. Hypermetylace MLH1-promotéru je nejčasnějším genetickým dějem v endometriální karcinogenezi a další geny chybné DNA opravy jsou sekundárně mutovány, což urychluje genomickou nestabilitu a akumulaci dalších mutací v karcinomu-příbuzných genech jako je PTEN a Ras, které jsou zahrnuty do časně karcinogeneze. Zděděné nebo somaticky získané mutace MSH6 (je to MMR gen), i když obecně méně časté u karcinomů endometria, jsou často pozorovány u MSI karcinomů endometria.

Mikrosatelitní instabilita byla prokázána ve 20 % případů sporadického karcinomu endometria typu I, rovněž v prekancerózních lézích a představuje tedy časný krok v endometriální karcinogenezi. Vyšší míra mutací PTEN genů (60 až 80 %) byla popsána u nádorů s MSI ve srovnání s nádory bez MSI (24 až 35 %). Navíc asociace mezi PTEN inaktivací a MSI byla dokumentována u prekursoru typu I karcinomu endometria, což naznačuje, že PTEN může být cílem pro mutace v souvislosti s deficitem reparací DNA. To poskytuje další podporu zjištění, že tyto mutace hrají časnou roli v karcinogenezi endometria.

Mutace genů K-ras a β -cateninů tvoří další genetické alterace dokumentované u typu I karcinomu endometria. Mezi protoonkogeny byla u karcinomů endometria podrobně popsána bodová *mutace aktivace K-ras genu*. Bodové mutace v kodonu 12 nebo 13 K-ras genu jsou detekovány v 10 – 37 % karcinomů endometria a v 6 – 16 % atypické hyperplazie, kdežto u simplexní nebo komplexní hyperplazie není K-ras gen aktivován. Incidence mutace odpovídá závažnosti hyperplazie: v 10 % u simplexní, 14 % u komplexní a 22 % u atypické hyperplazie. Vyšší frekvenci mutací K-ras se objevuje v MSI karcinomech. Aktivace proteinu (p21) odvozeného od Ras genu produkuje signál, který nakonec vede k buněčné proliferaci. Prognostický význam aktivace tohoto genu zůstává

neznámý. Aktivace K-ras genu se zřejmě objevuje v časných a počátečních fázích adenokarcinomu endometria. K-ras mutace se zdá být častější u dobře diferencovaného typu než u ostatních typů adenokarcinomu endometria. Takové mutace jsou vzácně detekovány u serózního nebo klarocelulárního adenokarcinomu (typ II).

Mutace genu β -catenin je pozorována ve 25 až 38 % případů endometriální neoplazie. Zatímco mutace PTEN, MIS, K-ras často koexistují spolu navzájem, mutace v β -cateninu jsou obvykle vidět samostatně. β -catenin, složka E-cadherinu, je nezbytný pro buněčnou diferenciaci a udržování normální architektury tkáně, hraje také významnou roli v transdukci (přenosu) signálu. Působí jako navazující transkripční aktivátor v cestě Wnt signální transdukce. Mutace β -cateninů ústí ve stabilizaci proteinu, takže odolává degradaci, vede k hromadění cytoplazmatického a jaderného materiálu a je konstitutivním cílem genové aktivity. Akumulace β -cateninů byla prokázána imunohistochemickými metodami. Několik studií analyzujících karcinomy endometria ukazují na jadernou akumulaci β -cateninů výrazně častěji u některých endometrioidních lézí (31 až 47 %) v porovnání s nonendometrioidními. Předpokládá se, že jaderná akumulace může být způsobena abnormalitami v jiných Wnt proteinech, nicméně přesná funkce β -cateninů v karcinogenezi endometria zůstává neznámá. Alterace v expresi β -cateninů byla také demonstrována v atypické hyperplazii endometria, a představuje tak časný krok při endometriální karcinogenezi.

U typu II karcinomu endometria se nejčastěji setkáváme s *genetickou alterací tumor supresorového genu, proteinu p53*. Tumor supresorové geny kódují proteiny, které normálně inhibují buněčnou proliferaci. Gen p53 je lokalizován na 17. chromozomu a je důležitý v prevenci množení buněk s poškozenou DNA, za normálních okolností tedy inhibuje progresi buněčného cyklu skrze transaktivaci regulátorů buněčného cyklu jako je cyklin-dependentní kinázový inhibitor, p21/waf1. Mutace p53 jsou přítomny v 90 % serózního karcinomu (typu II). Přesný

mechanismus vzniku mutace je stále nejasný. Po poškození DNA se hromadí nukleární p53 a způsobuje zastavení buněčného cyklu prostřednictvím fosforylace Rb genu, čímž podporuje apoptózu. Výsledkem mutace p53 je nefunkční protein, který se akumuluje v buňkách a funguje jako dvojnásobný negativní inhibitor neupraveného p53, vedoucí k množení abnormálních buněk. Mutace p53 je přítomna asi v 80 % endometriálních karcinomů in situ (endometriálních intraepiteliálních karcinomatózních lézí), považovaných za prekursor serózního karcinomu (typu II karcinomu endometria). Overexprese proteinu p53, která je spojena s přítomností bodové mutace, ale nikoliv s delecí nebo inzercí mutace, významně koreluje s pokročilým klinickým stádiem, muskulární invazí a extrauterinními metastázami. Proto se inaktivace p53 může objevovat jako latentní děj v endometriální karcinogenezi. Mutace jsou častější v hůře diferencovaných typech adenokarcinomu než v dobře- nebo mírně diferencovaných. Předpokládá se, že mutace v jedné alele se vyskytuje během počáteční fáze vývoje serózního karcinomu, ztráta druhé, normální alely se vyskytuje v pozdější fázi vývoje karcinomu.

Další časté genetické alterace u typu II karcinomu endometria jsou inaktivace p16 a overexprese HER-2/neu. P16 tumor supresorový gen je lokalizován na chromozomu 9p21 a kóduje protein regulující buněčný cyklus. Inaktivace p16 vede k nekontrolovanému buněčnému růstu. *P16 inaktivace* byla nalezena ve 45 % případů serózního karcinomu a v některých případech klarocelulárního karcinomu (karcinomu s přítomností jasných buněk).

HER-2/neu (human epidermal growth factor receptor 2) je onkogen kódující tyrosin kinázový transmembránový receptor zapojený do buněčné signalizace. Tento receptor je strukturálně podobný receptoru epidermálního růstového faktoru (EGF-R). *HER-2/neu overexprese* (exprese ve zvýšené míře) a *genová amplifikace* (zesílení) byla objevena v 45 až 70 % případů serózního karcinomu, celkově v 10 – 15 % karcinomů endometria. Overexprese je nezávislým faktorem spojeným se špatnou prognózou. Ostatní *onkogeny*, jako *Myb*, *fos*, *Myc* a *fms*, jsou

rovněž *overexprimovány* v některých karcinomech endometria, korelují s pokročilým klinickým stádiem a špatnou prognózou. Aktivace těchto onkogenů overexpresí nebo amplifikací stimuluje kaskádu molekulárních dějů, jež vedou k buněčné proliferaci a které se objevují jako pozdní děj v kontrastu k aktivaci K-ras genu.

DCC gen je tumor supresorový gen, jenž je často deletován v kolorektálním karcinomu. Tento gen má homologii s buněčnou adhezí molekuly N-CAM, a delece *DCC* genu je spojena s progresí kolorektální karcinogeneze. Ztráta exprese nebo ztráta heterozygosity (loss of heterozygosity = LOH) tohoto genu v endometriálních karcinomech se zdá být asociována se špatně diferencovanými adenokarcinomy endometria. Ostatní *tumor supresorové geny*, jako *RB*, *FHIT* a *p15*, jsou málo prozkoumány. Klinický význam role těchto faktorů v endometriální karcinogenezi zůstává nejasný.

Negativní a redukováná E-cadherin exprese se vyskytuje v 62 až 87 % případů serózního a klarocelulárního karcinomu. E-cadherin je transmembránový protein s pěti extracelulárními doménami a jednou intracelulární doménou, která spojuje aktin cytoskeletu přes komplex s cytoplazmatickým cateninem. Snížená exprese E-cadherinu je spojena se ztrátou soudržnosti buněk a dochází k motilitě nádorových buněk. E-cadherin negativní tumory jsou špatně diferencované či nonendometrioidní, nebo bývají spojeny se špatnou prognózou.

Pokroky v pochopení molekulárního základu vzniku prekanceróz a karcinomů endometria vedlo k identifikaci molekulárních cílů pro nové terapeutické strategie léčby. Molekulárně zaměřená cílená protinádorová terapie (viz. Kapitola 7) může zvyšovat benefit pacientek s karcinodem endometria. Společné cíle v terapii zahrnují léky ovlivňující apoptózu, přenos signálů, epigenetické modifikace, rezistenci na léky, syntézu a degradaci proteinů, progresi buněčného cyklu, aktivitu hormonálních receptorů a angiogenezi. Tyto nové cílené látky jsou zkoumány

samostatně a v kombinaci s konvenční terapií při léčbě karcinomu endometria [8].

Pro názorné srovnání výskytu jednotlivých genetických alterací u prekanceróz a karcinomů typu I a II připojuji následující tabulku (Tab. 1).

Tab. 1: Genetické alternace v karcinomech endometria: Frekvence genetických mutací identifikovaných u typu I a typu II karcinomu endometria [8]

Genetická alterace	Výskyt u typu I endom. karcinomu (%)	Výskyt u typu II endom. karcinomu (%)
Inaktivace PTEN	50-80	10
Mutace K-ras	15-30	0-5
Mutace β -catenin	20-40	0-3
Mikrosatelitní instabilita	20-40	0-5
Mutace p53	10-20	80-90
HER-2/neu	10-30	40-80
Inaktivace p16	10	40
E-cadherin	10-20	60-90

5. Molekulární hlediska karcinogeneze endometria

Moderní molekulární metody pro diagnózu prekanceróz rozšířily řady detekovatelných onemocnění na preklinické úrovni a umožnily poznat cestu karcinogeneze. Karcinogeneze je několikastupňový proces zahrnující po sobě jdoucí děje: zahájení (iniciaci), propagaci (promoci), a progresi léze od normálního epitelu přes benigní až maligní léze endometria. Každý krok je doprovázen různými biochemickými, morfologickými, genetickými a cytologickými změnami, které vyplývají buď z kvantitativních, nebo kvalitativních změn v různých buněčných genech. Známé geny zahrnují onkogenní, tumor supresorové geny (odvozeny od aktivace buněčných protoonkogenů mutací), chybné DNA opravy (DNA-mismatch repair), a efektorové geny zahrnující buněčnou nesmrtnost a růst. Tumor supresorové geny a geny chybných DNA oprav jsou inaktivovány mutacemi a/nebo aberantní (nenormální) metylací cílového místa genomu. V endometriu by mohly být změny v buňkách zahájeny genetickými aberacemi, a růst by mohl být stimulován tumorózními promotéry. Immortalita (nesmrtnost) by pak byla přenesena na buňky a došlo by ke klonální expanzi. Endometriální epiteliální buňky plně transformovány následně invadují do stromatu a svaloviny dělohy. Tento konečný proces je označován jako progrese.

Je dobře známo, že karcinomy endometria vznikají přes sérii prekursorových lézí. Jak uvádí ve své studii z roku 2001 japonský autor M. Inoue, prokázala nedávná pozorování změn na úrovni molekulární biologie existenci tří možných patologických cest endometriální karcinogeneze, a to hyperplazii, metaplazii a de novo cestu patogeneze [9]. Každá tato patologická cesta má vlastní histopatologickou a molekulární charakteristiku.

Klasické klinicko-patologické nálezy ukazují, že karcinom endometria typu I vzniká skrze sérii prekursorových lézí, a to simplexní, komplexní a atypickou hyperplazii. Tyto patologie vznikají a dále jsou podporovány v reakci na neoponovanou a prolongovanou stimulaci estrogeny, jež jsou klíčovým podporujícím faktorem koordinovaným

různými polypeptidovými růstovými faktory a cytokiny. Naopak typ II karcinomu endometria je estrogen-independentní (nezávislý). Současné důkazy založené na molekulární biologii naznačují, že karcinogeneze endometria se rozvíjí skrze několik patologických cest. Lepší porozumění molekulárním změnám u karcinomu endometria ukazuje, že klasický koncept endometriální karcinogeneze požaduje přehodnocení a vytvoření nové terminologie. Zlepšil by se tak pokrok ve screeningu a léčebných modalitách lézí endometria. Ačkoliv porozumění molekulární biologii gynekologických malignit stabilně vzrůstá, karcinomy endometria vyžadují podstatně více zkoumání.

5.1 Iniciace karcinogeneze

Prvotní změny v molekulární biologii zahrnují aktivaci onkogenů, mikrosatelitní instabilitu a inaktivaci tumor supresorových genů. Tato problematika je detailně popsána v Kapitole 4 zabývající se genetickými alteracemi u prekanceróz a karcinomů endometria.

5.2 Promoce karcinogeneze

Promoce, čili propagace, je sekundární etapou karcinogeneze, zahrnuje sérii obecně reverzibilních buněčných a tkáňových změn, včetně buněčné proliferace. Taková proliferace ústí v klonální expanzi iniciujících buňky pod vlivem tumorózních promotorů (stimulátorů) a vede k buněčné nesmrtelnosti.

Řada studií se zabývala *klonálním charakterem* gynekologických malignit, včetně karcinomů endometria. Klonální analýza byla provedena zkoumáním G6PD (glukóza-6-fosfátdehydrogenáza), nověji pomocí metod založených na molekulární biologii použitím RFLP (restriction fragment length polymorphism, polymorfismus délky restričních fragmentů) s X-chromozomem spojeným fosfoglycerokinázovým genem nebo genem androgenního receptoru a náhodnou metylovanou inaktivací jednoho X chromozomu u žen. Inaktivace X chromozomu a klonální propagace

změněných mikrosatelitů potvrdily, že většina karcinomů endometria a atypických hyperplazií je monoklonálními lézemi, zatímco normální tkáň je polyklonální. Monoklonální růst znamená získání růstové výhody vůči původní tkáni. Hypotéza, že premaligní tkáně jsou benigní monoklonální neoplasie, jež se přeměňují na agresivní fenotypy prostřednictvím další progresse změn, byla potvrzena analytickými metodami, které ukazují monoklonální charakter lézí dlouho klinicky rozpoznávaných jako premaligní, jako je cervikální intraepiteliální neoplasie, vulvární intraepiteliální neoplasie a atypická hyperplazie endometria. Ve všech těchto uvedených případech vznikají premaligní léze z tkáňového zdroje, který stejné analytické metody ukazují jako polyklonální.

Tab. Klonální růst lézí diagnostikovaný pomocí počítač. morfometrie [10]

Typ léze	Výsledek klonality	
	Monoklonální	Polyklonální
Benigní	5 %	95 %
Neurčité	33 %	67 %
Prekancerózy	75 %	25 %

Monoklonální růstový vzorec je konzistentní a měřitelnou vlastností premaligních a maligních endometriálních lézí, který odlišuje tyto neoplastické léze od jejich původních normálních polyklonálních nebo reaktivních tkání. Monoklonální růst a sdílení získaných genetických charakteristik s karcinomem definuje hlavní biologické vlastnosti prekanceróz endometria v souladu s modelem několikastupňové karcinogeneze [10].

Rakovinné buňky mohou mít kromě genetických alterací i jinou důležitou vlastnost, jakou je *immortalita*, *nesmrtelnost*. Ta může být odpovědná za udržení růstové schopnosti. Klíčový enzym buněčné nesmrtelnosti je telomeráza, buněčná reverzní transkriptáza, která katalyzuje syntézu a prodloužení telomerické DNA. Tento enzym je specificky aktivován ve většině maligních tumorů včetně karcinomů

endometria, ale je obvykle inaktivován v normálních somatických buňkách. V buňkách s vysokou regenerační schopností (hematopoetické progenitorové buňky, intestinální kryptové buňky, keratinocyty, endometriální buňky, a trofoblasty) je však telomeráza aktivní; aktivita telomerázy koreluje s proliferační aktivitou těchto buněk. Nejvýraznějším rysem endometria je konstitutivní exprese telomerázové aktivity, která je regulována v závislosti na fázi menstruačního cyklu. Aktivita je nejvyšší během proliferační fáze, klesá během fáze sekreční. Pohlavní hormony jsou zapojeny do regulace telomerázy v endometriu. Estrogen aktivuje telomerázu prostřednictvím přímé interakce ligandem-aktivovaným estrogením receptorem (ER) s estrogen-citlivou složkou (elementem) (ERE) v promotoru lidské telomerázové reverzní transkriptázy (hTERT), která je katalyzující podjednotkou telomerázy, jež je zodpovědná za enzymatickou aktivitu. Estrogen také aktivuje expresi c-myc, které je přímým aktivátorem hTERT promotéru. Progesteron má dvoufázové efekty na hTERT genovou expresi. Medroxyprogesteron acetát (MPA) významně indukuje hTERT mRNA expresi v krátkém čase skrze MPA kinázovou signalizaci patologické cesty. Naproti tomu dlouhodobá expozice MPA inhibuje estrogenem indukovanou aktivaci hTERT exprese pomocí možné aktivace cyklin-dependentním kinázovým inhibítozem p21/Waf1/Cip1. Imunohistochemická analýza ukázala, že PCNA exprese signifikantně koreluje s telomerázovou aktivitou v endometriálním epitelu. Tedy telomerázová aktivita koreluje s buněčnou proliferací a může hrát rozhodující roli v progresi nebo udržování maligního stavu, není však vyžadována při zahájení karcinogeneze.

Apoptóza je proces odstranění buňky vyžadující její aktivní účast na vlastní smrti. Když genetické mechanismy zapojené do procesu apoptózy jsou změněné, buňka nemůže zaniknout a neustále roste jako maligní fenotyp. Některé onkogenní proteiny, jako je mutovaný p53 a bcl-2, mohou *apoptózu inhibovat*. Abnormální bcl-2 exprese by mohla hrát roli v karcinogenezi a maligní progresi endometria. Jaderná bcl-2 exprese se ukázala jako významný prediktor přežití pacientek s karcinomem

endometria. Genové terapie, jež obnovují apoptózu, jsou slibnou terapií nádorových lézí [9].

5.3 Progrese karcinogeneze

Progrese spolu s invazí a metastazováním jsou závěrečnými kroky v karcinogenezi. Skládají se z minimálně 5 částí: proliferace, proteolýzy, adheze, migrace a angiogeneze. Iniciale a/nebo promoce genetické změny je sledována lokální invazí přilehlé tkáně nádorovými buňkami. Změny v bazální membráně jsou rozhodujícím histologickým markerem přechodu karcinomu in situ v invazivní karcinom. Degradace extracelulární matrix (ECM) je prvním rozhodujícím krokem na dlouhé cestě vzdálených metastáz. ECM se skládá z proteinů a sacharidů - kolagenu, fibronektinu, elastinu a proteoglykanů. Během invaze, při níž karcinomové buňky aktivují fibroblasty a makrofágy, buňky mikroprostředí hostitele nevhodně overexprimují jednu nebo více *proteolytických* thiol-, seryl-aspartyl, nebo metalloproteáz. Predominantními enzymy invaze jsou pravděpodobně matrixové metalloproteinázy (MMP) a/nebo seryl-protézy.

Matrixové metalloproteinázy představují genovou rodinu Zn^{2+} endopeptidáz, jež jsou složeny nejméně z 16 genových produktů, které jsou za různých patologických stavů zapojeny do degradace makromolekul extracelulární matrix s tkáňovým zničením. Většina MMP, s výjimkou membránového typu (MT-MMP) a MMP-11, jsou vylučovány jako aktivní zymogeny (proMMP) a jsou aktivovány extracelulárně. Současné studie ukázaly, že MT1-MMP hraje významnou roli v aktivaci ProMMP-2 v invazi a metastazování různých karcinomů. Overexprese MMP-9 (gelatináza B) a MMP-11 je také zapojena v lokální tumorózní invazi. Zymografická analýza MMP-2 a MMP-9 ukazuje, že obě gelatinózy jsou vylučovány v tkáních karcinomu endometria. MMP-1, -7, -8, a -9 jsou overexprimovány v tkáních karcinomů a imunoblotting, zymografie, RT-PCR a in situ hybridizace ukázaly, že aktivní podoba MMP-7 je významně aktivována v pokročilých karcinomech. Aktivita MMP je striktně regulována

tkáňovými inhibitory metalloproteináz (TIMP): TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 a TIMP-4. Produkce TIMP-1 je také rozšířená v tkáních karcinomu endometria. MMP-7 může být klíčovým proteolytickým enzymem při invazi a metastazování karcinomu endometria.

Aktivátor plasminogenu urokináza a tkáňový aktivátor plasminogenu jsou enzymy, které degradují proteiny v bazální membráně a v ECM. Aktivita aktivátoru plasminogenu může být ovlivněna urokinázovým receptorem, který je exprimován na povrchu buněk, a také inhibitory aktivátoru plasminogenu 1 a 2. Působení těchto enzymů umožňuje únik tumorózních buněk z lokálního prostředí a jejich metastazování, týká se to především karcinomu prsu a uroteliálních tumorů. U karcinomů endometria se musí tato schopnost ještě dále zkoumat.

Do udržování normální tkáňové morfologie jsou zapojeny *adhezivní molekuly*, jako je cadherin (a jeho submembranózní komponenta β -katenin), a integrin. Podílejí se na chování některých malignit. Expres těchto molekul je snížena ve spojení s postupem karcinomu endometria, i když současné informace jsou nedostatečné k dosažení přesvědčivých závěrů.

Angiogeneze je nezbytná na začátku i na konci metastatické kaskády karcinogeneze. Některé angiogenetické faktory jsou produkovány tumory, zatímco jiné produkují aktivované zánětlivé buňky (jako jsou makrofágy). Mikrocévní denzita (MVD = microvessels density) v tumorech a exprese některých genetických faktorů, zahrnujících vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF = vascular endothelial growth factor) a na destičkách závislý endoteliální buněčný růstový faktor (PD-EGF = platelet-dependent endothelial growth factor), byly prokázány v gynekologických malignitách. MVD je rovněž indikátorem vysokého gradu a hloubky invaze karcinomu endometria, a špatné prognózy pacientky. Růst a šíření karcinomu endometria je tedy závislé na angiogenezi, zároveň tu existuje určitý potenciál pro využití angiogenetických inhibitorů v terapii malignit endometria.

U některých epiteliálních tumorů, včetně endometriálních, byla pozorována exprese supresorových genů metastazování. Zatím však zůstává mechanismus těchto genů neznámý, v karcinomech plic, kolon a prostaty nebyly pozorovány vůbec [9].

Porozumění změnám na molekulární úrovni přispívá k revizi klasických histopatologických kritérií týkajících se endometriální karcinogeneze. To vede k potřebě vytvořit novou terminologii, což by mohlo do budoucna zlepšit metody screeningu a léčebné postupy pro prekancerózy a karcinomy endometria.

6. Diagnostika a screening prekanceróz endometria

Jako úvod do vyšetření je samozřejmostí pečlivá anamnéza všímající si možných rizikových faktorů. Klinický obraz tvoří nepravidelné anebo silné děložní krvácení, v mnoha případech však mohou léze endometria probíhat asymptomaticky. Současné diagnostické metody představují široké spektrum neinvazivních a invazivních vyšetřovacích postupů.

V diagnostice endometriálních lézí je metodou volby ultrazvukové vyšetření. Je indikováno při nepravidelném krvácení u premenopauzální ženy a při jakémkoli krvácení u ženy postmenopauzální. U postmenopauzální ženy, která neužívá hormonální léčbu, by měla být tloušťka endometria cca 2-3 mm. Tloušťka endometria nad 5 mm je považována za abnormální nález. Tato arbitrážní hodnota má 95-98 % senzitivitu pro nález endometriální patologie (hyperplazie, atypická hyperplazie, karcinom endometria). Při měření tloušťky endometria v probíhajícím menstruačním cyklu se za suspektní nález považuje tloušťka endometria 12 mm.

Při podezření na endometriální patologii je vhodné získat bioptický materiál z tkáně endometria. U mladých žen do 35 let s dysfunkčním krvácením, kde můžeme předpokládat hyperplazii endometria, není nutné toto doporučení dodržovat. V této věkové kategorii je nízká distribuce zhoubných nádorů endometria a naopak vysoká četnost nepravidelného krvácení. Proto by byl paušální diagnostický invazivní postup neospraveditelný. U těchto žen je metodou volby hormonální léčba a teprve při jejím neúspěchu přichází na řadu invazivní diagnostika.

Frakcionovaná kyretáž je standardním diagnostickým postupem. Hysteroskopie s cíleným odběrem biopsie ze suspektních ložisek je senzitivnější metodou. Současným trendem je posouvání vyšetřovacích metod do ambulantní péče. Zde jsou akceptabilní různé metody aspirace endometria pomocí pipet pouze v případě, že je vyloučeno podezření na invazivní nádor. Pomoci by mohla také ambulantní mikrohysteroskopie.

Specifický postup vyžadují pacientky s karcinomem prsu a antiestrogenní terapií tamoxifenem. Relativně často u těchto žen nacházíme patologický obraz endometria, které je při ultrazvukovém vyšetření vysoké, anizoechogenní a nepravidelné. Jeho průměrná tloušťka bývá 11 mm. Při následném bioptickém vyšetření je však v naprosté většině případů nález normální, bez atypií. Tento ultrazvukový fenomén je důsledkem efektu tamoxifenu na stroma endometria a vznik edému, což vytváří falešně pozitivní patologický ultrazvukový obraz. Následně jsou tyto ženy vystaveny zbytečným operačním zákrokům. Proto současný postup vychází ze zjištění, že riziková kumulativní dávka tamoxifenu je 35 g. To odpovídá přibližně pětiletému užívání tamoxifenu v dávce 20 mg denně. K bioptickému ověření u žen v tomto „bezpečnostním“ intervalu přistupujeme pouze v případech děložního krvácení, nálezů polypu (neboť podstatná část tamoxifenem indukovaných karcinomů je ve formě polypu) a při podezření na invazi karcinomu do myometria.

V současné době zůstává velkým problémem *screening prekanceróz endometria*. Nemáme k dispozici žádnou metodu, která by splňovala charakteristiky screeningu. Studie s odběrem cervikální nebo endometrální biopsie neprokázaly dostatečnou senzitivitu pro endometriální léze. Pravidelné sledování populace ultrazvukem nebo dokonce miniinvazivními odběry je nerealizovatelné jak z medicínského, tak hlavně z ekonomického důvodu. Doporučenou alternativou je pravidelné sledování ultrazvukového obrazu endometria u žen léčených tamoxifenem. Studie, jež porovnávají u těchto žen pravidelnou roční gynekologickou prohlídku, včetně UZ vyšetření malé pánve, a pravidelnou roční gynekologickou prohlídku s UZ vyšetřením malé pánve doplněnou biopsií endometria, neprokázaly efekt tohoto invazivnějšího postupu. K zamyšlení zůstává pravidelné sledování u žen s rizikovými faktory a genetickou zátěží. V USA se doporučuje pravidelné sledování nebo eventuálně přímo hysterektomie u žen s prokázaným HNPCC (hereditární nonpolypózní kolorektální karcinom) pro zvýšené riziko vzniku karcinomu endometria [1].

I přesto, že není k dispozici žádná metoda splňující charakteristiky screeningu prekanceróz endometria, je velká část zhoubných nádorů endometria „preventabilní“, a to obzvláště ty, jež vznikají na podkladě působení estrogenů. Přes 95 % zhoubných nádorů endometria vzniká u žen starších 40 let a 85-90 % z nich vzniká na podkladě stimulace endometria estrogeny přes stadium hyperplazií. Proto bedlivým sledováním žen s rizikovými faktory a důslednou terapií již detekovaných prekanceróz lze jistě mnoha nálezům invazivního karcinomu endometria zabránit.

6.1 Technika odběru vzorku endometria

Indikací k intrauterinnímu odběru vzorku endometria je přítomnost endometriálních buněk, normálních nebo atypických, v cervikálním nátěru u žen postmenopauzálních nebo u žen po 10. dni menstruačního cyklu, jež nás upozorňuje na patologii endometria. Nález by měl proto vést k vyšetření endometria ultrazvukem nebo hysteroskopií. Hysteroskopie umožňuje přehled o děložní dutině a zajišťuje cílený odběr buněk pro cytodiagnostiku, eventuálně histologii. Relativní indikací je intrauterinní odběr u symptomatické pacientky s krvácením v postmenopauze, a to jen v případě, kdy není možné provést terapeutickou kyretáž a histologické vyšetření. Jednoznačná indikace je při opakovaných kontrolních vyšetřeních po radioterapii karcinomů endometria nebo po ablaci endometria, pokud není k dispozici hysteroskopie. Jednorázové vyšetření v šesti a devítiměsíčním intervalu je indikována u všech případů s kontrolní kyretáží na histologické vyšetření.

Kolpitis, endocervicitis, zánětlivé procesy malé pánve a gravidita jsou kontraindikacemi intrauterinního odběru materiálu na cytologické vyšetření [11].

Metodami odběru jsou: *brush technika*, kdy se do dutiny děložní zavádějí různě tvarované kartáčky, spirály a mističky, jež jsou určeny k odběru cytologického materiálu; *prostá aspirace*, při které do dutiny

děložní aplikujeme 2 až 5 ml fyziologického nebo Ringerova roztoku a tekutinu poté aspirujeme stříkačkou zpět, takto získaný materiál se centrifuguje a vyšetřuje cytologicky (nátěrem na sklo) nebo histologicky (zalitím do bločku); *jet wash metoda* je aspirace zdokonalená zavedením negativního tlaku do dutiny děložní a její proplachování větším množstvím tekutiny pod tlakem, použitím podtlaku bráníme vniknutí tekutiny z dutiny děložní do dutiny břišní a při pozitivním nálezu takto zabráníme vzniku metastáz, získaný materiál v podobě velkých částí sliznice se opět zpracovává cytologicky a histologicky; aspirace *vakuumaspirátorem* používaným k miniinterrupcím, přístrojem s již zabudovaným podtlakem a sběrnou nádobkou na histologický materiál; *separovanou abrazi* získáváme materiál také pouze k histologickému vyšetření. Každá z metod má své klady a zápory, nevýhodou aspirace je především získání malého množství materiálu a jeho obtížné hodnocení, naproti tomu má vysoký záchyt v období menopauzy (kdy je záchyt prekanceróz a karcinomů větší než u abraze). Nutnost celkové anestezie a její časté opakování jsou nevýhodami abraze [12].

Zajištění pravidelného cytologického screeningu nejširších vrstev populace (tedy žen bez jakýchkoliv specifických indikací) by bylo ideální situací. Mohli bychom tak zachytit i asymptomatickou část populace, která je hodnocena jako riziková pro vznik karcinomu endometria. Musíme však mít na paměti, že je pouze malá pravděpodobnost možnosti detekce úplně asymptomatických forem karcinomu endometria z cytologického screeningového vyšetření. Vyplývá to z toho, že odlučování povrchových buněk z neoplazie endometria začíná až při určitém rozsahu procesu (ne při zcela počátečních formách). Pokročilé procesy na sebe zpravidla upozorňují symptomatologií, a to krvácením z dělohy různého rozsahu. Navíc, jak již bylo zmíněno, neprokázaly studie s odběrem endometriální biopsie dostatečnou senzitivitu pro léze endometria a pravidelné sledování populace miniinvazivními odběry je nerealizovatelné z důvodu medicínského a ekonomického. V současné době se při screeningu provádějí pouze stěry buněk z ektocervixu a endocervixu.

6.2 Příprava preparátu endometria na hodnocení

Histologické vyšetření je nutné provést, pokud se v postmenopauze objeví krvácení. Jako předběžná informace může předcházet cytologické vyšetření. Cytologické odběry z děložní dutiny nebo tzv. VCE stěry (stěry z postranní poševní klenby, endocervixu a endometria – Vagina, Cervix, Endometrium) se provádí pro preventivní cytologické vyšetření asymptomatické populace, kde existuje jisté riziko prekanceróz a karcinomu endometria. Neustále se zvyšuje praktické využití cytologie v diagnostice endometriálních atypií a v prevenci karcinomů endometria.

Nutným předpokladem jsou dobré znalosti techniky odběru a zpracování, kdy se osvědčila technika tzv. „liquid based“. Materiál odebraný z děložní dutiny získaný nejlépe brush technikou zpracujeme ponořením instrumentu do Tyrodova roztoku, v němž odběrový nástroj opereme. Tyrodův roztok poté centrifugujeme (centrifuga Shandon). Přenesením na sklo se připraví cytologický preparát pro fixaci a barvení.

Od cytologického vyšetření prozatím nemůžeme očekávat schopnost a možnost diagnostikovat a diferencovat přesně a jednoznačně ohraničenou škálu morfologických změn endometria, jeho prekanceróz, jednotlivých stupňů karcinomů, a karcinomu in situ [11].

6.3 Biomarkery pro časnou detekci změn endometria

Biomarkery jako slibné nástroje časně detekce a monitorování onemocnění podporují zkoumání jejich hladin v séru a asociaci s odpovědí na léčbu, relapsy onemocnění, komplikace a přežití pacientek. Pochopení role biomarkerů v etiologii a průběhu karcinogeneze endometria a kombinování zjištěných dat biomarkerů se známými rizikovými faktory má velký potenciál k usnadnění detekce časných lézí a modalit léčby tohoto náročného onemocnění [7].

Několik biomarkerů ukázalo souvislost s vývojem a progresí prekanceróz a karcinomů endometria. Jsou to biomarkery: p53, HIF-1 α ,

HIF-2 α (hypoxia-inducible factor α), VEGF (vascular endothelial growth factor), EGFR (epidermal growth factor receptor), HER 2/neu (human epidermal growth factor receptor 2). Zvýšené hladiny antigenů CA 125, CA 15-3 a CA 19-9 jsou spojeny s výrazně kratší dobou přežití pacientek s karcinomem endometria. CA 125 koreluje s velikostí tumoru a jeho stádiem a taktéž nezávisle předpovídá extrauterinní šíření karcinomu. TNF α (tumour necrosis factor α) je produkován endometriem a vykazuje cyklické změny během menstruačního cyklu. Hyperplastické buňky endometria produkují vyšší množství TNF α v porovnání s kontrolní skupinou.

Bylo navrženo několik biomarkerů, jež by mohly hrát významnou roli při časně detekci karcinomu endometria. Mezi ně patří prolaktin, eotaxin, růstový hormon, E-selectin a TSH (thyreotropní hormon). Mohly by být použity k monitorování úspěšnosti různých modalit terapie karcinomu endometria a hyperplazie endometria. Studie sérových a plazmatických biomarkerů zůstávají velkou nadějí pro zkoumání neinvazivních cest detekce a diagnózy časných karcinomů endometria a pro monitorování odpovědi na léčbu.

Několik biomarkerů bylo zkoumáno ve vztahu k výživě, fyzické aktivitě a úbytku hmotnosti. Zánětlivé markery, jako CRP (C-reaktivní protein) a IL-6 (interleukin-6), jsou úzce spojeny s inzulínovou rezistencí a obezitou. Současné studie popisují, že adiponektin, protein, jehož cirkulující hladiny jsou sníženy při obezitě, má protizánětlivé vlastnosti a posiluje účinek inzulínu, a má tedy, jakožto produkt tukové tkáně, vliv na glukózový metabolismus celého těla. Zdá se, že snížení hmotnosti může zlepšit systémovou zánětlivou odpověď spojenou s obezitou pomocí snížení produkce zánětlivých cytokinů tukovou tkání (byla pozorována redukce C-reaktivního proteinu, redukce markerů vaskulárního zánětu a inzulínové rezistence: IL-6, IL-8 a CRP). Avšak do jaké míry působí snížení váhy na biomarkery, je dosud sporné. Hodnocení hladin hormonů, cytokinů a antioxidantních substancí, jež souvisejí s tukovou tkání, může být velmi užitečné v pozorování vztahu snížení tělesné hmotnosti

pacientky a prekanceróz a karcinomu endometria. Zahrnují inzulín, leptin, resistin, IL-6, IGF-1 (insulin-like growth factor 1), TNF- α , adiponektin, CRP, glutation peroxidázu a isoprostan.

Bohužel nejsou v současné době k dispozici žádné použitelné sérové biomarkery pro screening prekanceróz a karcinomu endometria nebo pro jejich monitoring.

7. Terapie prekanceróz endometria

7. 1 Konvenční terapie

Při každé diagnóze hyperplazie je vyžadována cílená terapie. Způsob léčby je závislý na typu změn a na věku pacientky. K dispozici máme metody konzervativní (hormonální) a ablativní. V konzervativní léčbě je využíváno efektu gestagenů na estrogenny stimulované endometrium. Blokují proliferaci endometriálních žlázek.

U mladých premenopauzálních žen je při nálezu hyperplazie endometria bez atypií volba léčby závislá na tom, zda si pacientka přeje otěhotnět. Pokud si pacientka další graviditu nepřeje, přidáváme gestageny do 2. poloviny cyklu v dávce odpovídající 5-10 mg medroxyprogesteron acetátu (MPA) po dobu 10-14 dnů. Podání norehisteron acetátu (NES) se u těchto žen s hyperestrinismem nedoporučuje pro mírnou estrogení aktivitu NES. Po normalizaci cyklu se doporučuje nasazení hormonální antikoncepce (HATK). Zavedení intrauterinního systému (IUS) s levonorgesterolem představuje výhodnou alternativu. Lokální přítomnost gestagenu vyvolá atrofii endometria. Podání depotních gestagenů se v této indikaci nedoporučuje, protože v některých případech může být následováno kontinuálním krvácením.

U žen s atypickou hyperplazií, jež si přejí další graviditu, je nutno indukovat ovulační cykly. Zahajujeme kontinuální léčbu gestageny. Je doporučena vyšší dávka odpovídající 100-200 mg MPA v kontinuálním režimu po dobu 3 měsíců. Po ukončení terapie má následovat kontrolní hysteroskopické vyšetření, pokud je nález negativní, indukujeme ovulační cykly a eventuálně zařazujeme pacientku do programu IVF.

Nález atypických hyperplazií i v mladším věku je výrazný rizikový faktor pro další rozvoj patologií endometria, proto pokud si pacientka nepřeje otěhotnět, je i v této věkové kategorii na místě uvažovat o hysterektomii.

Častý je nález hyperplazie endometria *u perimenopauzálních žen* v důsledku hyperestrinních stavů. O způsobu léčby se rozhodujeme podle nálezu buď hyperplazie endometria bez atypií nebo s atypii.

Metodou volby u hyperplazií endometria bez atypií je gestagenní terapie MPA 5-10 mg/den po dobu 10-14 dnů v 2. polovině cyklu. Po stabilizaci nálezu můžeme dle hormonálního pozadí pokračovat buď v dané substituci gestageny, nebo přejdeme na nízkodávkovanou hormonální antikoncepci (HAKT) či cyklickou hormonální substituční terapii (HRT). Alternativou zde bývá opět zavedení IUS s levonorgesterolem. Podání HRT jako lék volby může být sporné, protože v již daném hyperestrinním stavu může podání kombinované HRT ještě více zvýšit estrogenní zátěž a podaná dávka gestagenu v preparátu nemusí být dostatečná k adekvátnímu pokrytí výsledné estrogenní stimulace. Ablační techniky, jako je hysteroskopická resekce endometria (TCRE) nebo termoablační odstranění endometria, přichází v úvahu, pokud je hormonální terapie bez efektu. Dlouhodobá úspěšnost těchto modalit se bohužel pohybuje pouze kolem 50 %. Hysterektomie je krajní alternativou.

Nález atypické hyperplazie je jasnou indikací k hysterektomii s bilaterální adnexetomií (BSO). V případech, že je operační léčba kontraindikována, nebo s ní žena nesouhlasí, se doporučuje podání MPA v dávce 100-200 mg po dobu 3-6 měsíců s následným bioptickým ověřením kvality endometria. K tomu používáme kyretáž nebo lépe hysteroskopii.

U postmenopauzálních žen je nález hyperplazie endometria indikací k podrobnému ultrazvukovému vyšetření orgánů malé pánve v první řadě a vyloučení eventuální ovariální patologie. Je to proto, že granulózový tumor ovaria může secernovat estrogeny a tím stimulovat endometrium, pak je relativně častým, vedlejším nálezem u těchto žen. Nález hyperplazie, a to především atypické, je ve většině případů indikován k operačnímu řešení, provádí se hysterektomie s bilaterální adnexetomií. Hormonální terapie je indikována pouze v případě

kontraindikací k operačnímu řešení, provádí se ve stejném dávkování, jak je popsáno v předchozím případě [1].

7. 2 Alternativní, molekulárně zaměřená terapie

Díky neustálému získávání nových poznatků při zkoumání molekulárních dějů, které vedou ke vzniku prekanceróz a rozvoji karcinomu endometria, došlo následně k rozvoji cílené protinádorové terapie. Tato terapie zahrnuje léky ovlivňující apoptózu, přenos signálů, epigenetické modifikace, rezistenci na léky, syntézu a degradaci proteinů, progresi buněčného cyklu, aktivitu hormonálních receptorů a angiogenezi.

Zkoumána byla látka rapamycin (*mTOR* = mammalian target of rapamycin, savčí cíl rapamycinu), což je serin/treonin kinasa sloužící jako centrální regulátor buněčného růstu, proliferace a apoptózy, která je řízena *AKT-PI3K-PTEN* cestou. Při ztrátě nebo změně *PTEN* exprese v důsledku mutace dochází k abnormálnímu růstu buněk a jejich úniku apoptóze. *mTOR inhibitory temsirolimus, everolimus a deforolimus* prokázaly v různých preklinických modelech lidských tumorů protinádorovou aktivitu. *Analogy epothilonu B* vyvolávají stabilizaci mikrotubulů, jejichž porucha hraje při karcinogenezi svoji roli. Bylo prokázáno, že u endometriální karcinogeneze jsou vysoce vyjádřeny receptory epidermálního růstového faktoru (*EGFR* = epidermal growth factor receptor) a *HER-2/neu* overexprese. Proto je v současné době zaměřena pozornost na *anti-EGFR* cílenou terapii a látku *trastuzumab* (a další), monoklonální protilátku namířenou *proti HER-2/neu*. Vaskulární endoteliální růstové faktory (*VEGF* = vascular endothelial growth factors) a jejich receptory hrají klíčovou roli v normální a patologické angiogenezi. Dále byly vyvinuty *antiangiogenetické látky* jako *bevacizumab* a *sorafenib* s cílem zamezit této cestě patogeneze. V buňkách se změněným genem pro fibroblast growth factor receptor 2 (*FGFR2*) dochází k buněčnému růstu. Tomu brání *inhibitory FGFR* a zároveň indukují buněčnou smrt [8].

Molekulárně cílená terapie je doposud ve stádiích výzkumu, a zdá se, že by v budoucnu mohla být využívána jako alternativní způsob léčby k dosavadní terapii konvenční.

8. Prevence prekanceróz endometria

Vzhledem k rostoucímu výskytu prekanceróz a karcinomu endometria po celém světě je potřeba více prozkoumat ovlivnitelné rizikové faktory a stanovit účinná preventivní opatření. Hlavními faktory, jež přispívají stoupající incidenci karcinomu endometria v posledních 20 letech jak v Evropě, tak v USA i celém světě, jsou: prodlužující se očekávaná délka života, obezita, jež zvyšuje cirkulující hladinu estrogenů, tamoxifen a široce předepisovaná adjuvantní terapie karcinomu prsu, která zvyšuje incidenci 6 – 8 krát. Ostatní rizikové faktory karcinomu endometria zahrnují věk při menarche, věk při menopauze, infertilitu, diabetes mellitus, terapii estrogeny, syndrom polycystických ovarií, předchozí radioterapii pánve, hereditární non-polypósní kolorektální karcinom a životní styl přijímaný ze západu.

Dosud velmi málo studií kriticky analyzovalo užitečnost prevence rizikových faktorů majících vliv na toto onemocnění. Ve studiích je hodnocena spojitost mezi rizikovými faktory a karcinomem endometria. Výsledky studií uvádějí jako upravitelné rizikové faktory a tedy jejich možnou prevenci: obezitu, životosprávu a výživu, fyzickou aktivitu a hormonální terapii [7].

Vliv *obezity a nadváhy* jako rizikového faktoru soustavně narůstá jak v Evropě a USA, tak na celém světě. Riziko karcinomu endometria se zvyšuje s narůstajícím BMI (body mass index) ve třetí, páté a sedmé dekádě věku. Hodnota BMI vyjadřuje množství tělesného tuku a spočítáme ji z hmotnosti dělené výškou pacienta na druhou. Normální hodnoty BMI jsou 18,5 – 25, nadváha je při hodnotách BMI 25 – 30 a obezita při hodnotách BMI více než 30. U obézních žen dochází v periferní tukové tkáni ke konverzi androstendionu na estron, čímž dochází ke zvýšené stimulaci endometria. Navíc s obezitou souvisí další rizikové faktory prekanceróz endometria - diabetes mellitus a hypertenze. Prevencí obezity je takový příjem vyvážené stravy, který nepřevyšuje energetický výdej, a dostatečná fyzická aktivita.

Co se týče *životosprávy a výživy* jako rizikového faktoru tohoto onemocnění, nejsou dosud studie v této oblasti jednotné a názorově se rozcházejí. V několika studiích je popsána asociace mezi karcinomem endometria a jídlem bohatém na tuky a cholesterol, jako je červené maso, margaríny a vejce, naopak jiné studie uvádějí, že přívod energie stravou a většina potravin živočišného původu nejsou vůbec nebo pouze slabě ve spojení s rizikem karcinomu endometria u postmenopauzálních žen. Epidemiologická a experimentální data však naznačují, že spotřeba potravin obsahujících sóju může chránit proti kardiovaskulárním chorobám a rovněž může snižovat riziko karcinomu prsu, prostaty a endometria. Deriváty sóji dodávají člověku velké dávky isoflavonů. Isoflavonové fytoestrogeny tvoří skupinu fytoestrogenů, které mají podobné vlastnosti jako selektivní modulátory estrogenních receptorů. Proto je na ně v posledních letech upoutána značná pozornost, zejména pro možnost alternativní hormonální substituční terapie (hormon replacement therapy, HRT) užívané postmenopauzálními ženami. Fytoestrogeny jsou chemickou strukturou nápadně podobné savčímu estrogenu estradiolu, a váží se na estrogenní receptory s preferencí ER beta. Obézní postmenopauzální ženy, které konzumují relativně nízké dávky fytoestrogenů, mají vyšší riziko karcinomu endometria v porovnání s neobézními postmenopauzálními ženami konzumujícími relativně velké množství isoflavonů. Dalšími faktory výživy, jež mohou snižovat riziko vzniku karcinomu endometria, jsou hrubé vlákniny, neškrobové polysacharidy, vitamin A, snad i vitamin C. Předběžná data rovněž naznačují souvislost mezi karcinomem endometria a příjmem vitamínu D v dietě.

Přestože existuje fakt, že redukce rizika karcinomu endometria je dosahováno zvýšeným příjmem zeleniny, ovoce, mořských plodů a celozrnných produktů, nepodpořila analýza rozsáhlé prospektivní studie tuto asociaci. Studie této oblasti byly dosud hlavně pozorovací a je tedy nutné provést velké kontrolní studie za účelem posouzení účinnosti

isoflavonů a ostatních dietních faktorů majících vliv na riziko karcinomu endometria.

Mnoho studií naznačuje souvislost mezi *fyzickou aktivitou*, inaktivitou a rizikem prekanceróz a karcinomu endometria. Bylo prokázáno, že ženy, které strávily 90 minut nebo více denně aktivním pohybem měly nižší riziko karcinomu endometria (relativní riziko, RR = 0,54) ve srovnání s ženami, jež pohybovou aktivitu prováděly po dobu kratší než 30 minut denně. Vysoký BMI a nízká fyzická aktivita jsou silné a nezávislé rizikové faktory karcinomu endometria. Nedávná recenze 14 z 18 studií uvedla, že fyzická aktivita, jakožto protektivní faktor, snižuje riziko okolo 30 %. Hypertenze a hyperglykemie jsou významnými markery rizika, obzvláště u velice obézních žen.

Neoponovaná estrogenní terapie je jasným rizikovým faktorem prekanceróz a karcinomu endometria jako důsledek mitogenního efektu estrogenů nedostatečně vyváženého progesterony. Faktory, které zvyšují expozici neoponovaným estrogenům (jako jsou terapie estrogeny, obesita, sterilita, nepravidelný menstruační cyklus, anovulační cykly, sy PCO), vedou ke zvýšení rizika vzniku onemocnění, zatímco faktory, které snižují expozici estrogenům nebo zvyšují hladiny progesteronu (hormonální antikoncepce, ale i kouření), jsou protektivní. Proto nastolení pravidelného menstruačního cyklu je primární prevencí prekanceróz endometria. Sekundární prevencí je důsledná léčba prekanceróz, pomocí níž můžeme zabránit progresi onemocnění v invazivní karcinom endometria.

Je nutné podotknout, že úprava tělesné hmotnosti, případného diabetu a zlepšení fyzické aktivity má jasně příznivý vliv na přežití pacientek s karcinomem endometria.

Závěr

V posledních letech jsme díky moderním diagnostickým metodám a četným výzkumům získali mnoho nových informací týkajících se patogeneze prekanceróz endometria, které neléčeny mohou progredovat v karcinom endometria. Ten je velice zhoubným onemocněním u žen a jeho incidence stále narůstá. Proto je třeba zabývat se touto problematikou i nadále a vynakládat další úsilí na vývoj diagnostiky a léčby. Velkým problémem současnosti je nemožnost screeningu prekanceróz endometria, nemáme tak možnost zachytit toto onemocnění v časných stádiích u všech asymptomatických žen a léčit je. Důvodem je absence diagnostické metody, která by splňovala charakteristiky screeningu, a také důvod medicínský a ekonomický – není v našich silách plošně vyšetřovat populaci žen ultrazvukem nebo dokonce miniinvazivním odběrem vzorků endometria. Dochází proto bohužel k situacím, kdy ačkoliv žena pravidelně dochází na preventivní gynekologické vyšetření, přesto se u ní karcinom endometria vyvine a v mnoha případech je zachycen, až když se u ženy objeví abnormální děložní krvácení.

Přesto díky pokroku v pochopení karcinogeneze tohoto onemocnění, díky znalostem rizikových faktorů, genetických alterací a jejich účasti na celé patogenezi bývá velká část prekanceróz a karcinomů preventabilní, zvláště ty, které vznikají při dlouhodobém neoponovaném působení estrogenů. Je známo, že většina zhoubných nádorů endometria vzniká u žen starších 40 let a to přes stadium hyperplazií na podkladě působení estrogenů. Dalším známým rizikem je léčba tamoxifenem. Důsledným sledováním rizikových skupin žen a terapií zjištěných prekanceróz můžeme mnoha invazivním karcinomům endometria zabránit. Velké naděje v léčbě skýtá výzkum molekulárně zaměřené terapie, to znamená takové, která by mohla účinně zasáhnout do patogeneze prekanceróz endometria ovlivněním apoptózy, přenosu signálu, syntézy a degradace proteinů a dalších mechanismů.

Souhrn

Prekancerózy endometria jsou heterogenní skupinou abnormálních proliferací endometria; morfologické změny jsou komplexní povahy – postihují buněčné jádro, cytoplazmu i architekturu žlázek. Prekancerózy mohou progredovat v karcinom endometria, který je po karcinomu prsu nejčastější malignitou u žen, a jehož incidence v posledních letech v ekonomicky vyspělých zemích kontinuálně narůstá.

Patogeneze prekanceróz je procesem multifaktoriálním, zahrnuje několik po sobě jdoucích dějů, které jsou provázeny změnami biochemickými, morfologickými a cytologickými, a které vyplývají ze změn v buněčných genech. Dle klinicko-patologických nálezů byly prekancerózy a karcinomy endometria rozděleny na dva typy. Typ I endometriálních neoplázií je tzv. estrogen-dependentní, je spjat s prolongovanou a neoponovanou estrogení stimulací působící zvýšenou proliferací endometria, dochází ke spontánním mutacím a vzniká atypická hyperplazie endometria, která je známým prekurzorem následného invazivního karcinomu. Naopak typ II endometriálních lézí je estrogen-nondependentní (nezávislý), vznikající na atrofickém endometriu bez zjevného působení estrogenů. U léze typu II se v současné době uvažuje o prekurzoru nazvaném endometriální karcinom in situ.

Klinickým příznakem prekanceróz a karcinomu endometria bývá abnormální děložní krvácení. V diagnostice se uplatňuje ultrazvukové vyšetření, frakcionovaná kyretáž a hysteroskopie.

Cílená terapie je vyžadována při každé diagnóze hyperplazie. V léčbě máme k dispozici metody konzervativní (hormonální) a ablativní.

Primární prevencí prekanceróz je nastolení pravidelného menstruačního cyklu, čímž vyloučíme hlavní rizikový faktor - zvýšenou a dlouhodobou stimulaci endometria estrogeny bez současného vlivu progestinů. Sekundární prevencí je důsledná léčba prekanceróz, pomocí níž můžeme zabránit progresi onemocnění v invazivní karcinom endometria.

Summary

Endometrial precancers are a heterogeneous group of abnormal endometrial proliferation; the nature of morphological changes is complex – they affect cell nucleus, cytoplasm and architecture of glands. Precancers may progress in endometrial cancer, which is the most common malignancy after breast cancer in women, and whose incidence has been increasing continuously in economically developed countries in recent years.

Precancers pathogenesis is a multifactorial process involving several consecutive events, which are accompanied by biochemical, morphological and cytological changes and which result from changes in cellular genes. According to clinical-pathological findings, the endometrial precancers and cancers were divided into two types. Type I of endometrial neoplasia is called estrogen-dependent, it is adherent to prolonged and unopposed estrogen stimulation causing increased proliferation of the endometrium, then there are spontaneous mutations and there arises atypical endometrial hyperplasia, which is well-known precursor of subsequent invasive cancer. On the contrary type II of endometrial lesions is estrogen-independent arising from atrophic endometrium with no apparent effect of estrogens. In lesions type II, a precursor called endometrial carcinoma in situ is being considered currently.

Clinical symptom of endometrial precancers and cancer is abnormal uterine bleeding. There is ultrasound examination, fractionated curettage and hysteroscopy applied in the diagnosis.

Targeted therapy is required at each diagnosis of hyperplasia. We can use a conservative (hormonal) and ablative methods in treatment.

Primary prevention of precancers is the establishment of regular menstrual cycle, whereby we can exclude the major risk factor – increased and long-term stimulation of the endometrium by estrogens without concurrent effect of progestins. Secondary prevention is consistent treatment of precancers through which we can prevent disease progression in the invasive carcinoma of the endometrium.

Seznam použité literatury:

1. Pluta, M. Prekancerózy endometria, *Moderní gynekologie a porodnictví*, 2003, roč. 12, č. 4, s. 680-685.
2. Trimble, Cornelia L. et al. Concurrent Endometrial Carcinoma in Women with a Biopsy Diagnosis of Atypical Endometrial Hyperplasia, A Gynecologic Oncology Group Study, *Cancer*, 2006, vol. 106, p. 812-819.
3. Lacey, James V. Jr et al. Risk of Subsequent Endometrial Carcinoma Associated With Endometrial Intraepithelial Neoplasia Classification of Endometrial Biopsies, *Cancer*, 2008, vol. 113, no. 8, p. 2073-2081.
4. Mutter, G. L. Diagnosis of Premalignant Endometrial Disease, *Journal of clinical pathology*, 2002, vol. 55, p. 326-331.
5. Kopacova, M. Peutz-Jeghers syndrome: diagnostic and therapeutic approach, *World Journal of Gastroenterology*, 2009 No. 21, Vol. 15(43), p. 5397-5408.
6. Savelli, Luca et al. Histopathologic Features and Risk Factors for Benignity, Hyperplasia, and Cancer in Endometrial Polyps, *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2003, vol. 188, no. 4, p. 927-93.
7. Linkov, F. et al. Endometrial Hyperplasia, Endometrial Cancer and Prevention: Gaps in Existing Research of Modifiable Risk Factors, *European Journal of Cancer*, 2008, vol. 44, p. 1632-1644.
8. Bansal, N. et al. The Molecular Biology of Endometrial Cancers and the Implications for Pathogenesis, Classification, and Targeted Therapies, *Cancer Control*, 2009, vol. 16, no.1, p.8-13.
9. Inoue, M. Current Molecular Aspects of the Carcinogenesis of the Uterine Endometrium, *International Journal of Gynecological Cancer*, 2001, vol. 11, p. 339-348.
10. Mutter, G. L. et al Endometrial Precancer Diagnosis by Histopathology, Clonal Analysis, and Computerized Morphometry, *Journal of Pathology*, 2002, vol. 190, p. 462-469.

11. Kobilková, J., Dušková, J., *Základy cytopatologie, Část I. – Gynekologie a porodnictví*, Praha: Karolinum, 2003. 197 s. ISBN 80-246-0608-9.
12. Roztočil, A. *Vybrané kapitoly z gynekologie a porodnictví, I.část – Gynekologie*, Brno: IDVPZ, 1994. ISBN 80-7013-167-5.
13. Mutter, G. L. Diagnosis of Premalignant Endometrial Disease, *Journal of clinical pathology*, 2002, vol. 55, p. 326-331.
14. Mutter, G. L. et al. Endometrial Precancer Diagnosis by Histopathology, Clonal Analysis, and Computerized Morphometry, *Journal of Pathology*, 2002, vol. 190, p. 462-469.
15. Rob, L. et al. *Gynekologie*, Praha: Galén, 2008. 319 s. ISBN 978-80-7262-501-7.
16. Mutter, G. L. et al. Molecular Identification of Latent Precancers in Histologically Normal Endometrium, *Cancer Research*, 2001, vol. 61, no. June 1, p. 4311-4314.
17. Ferrazzi, E. et al. How Often Are Endometrial Polyps Malignant in Asymptomatic Postmenopausal Woman? A Multicenter Study, *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2009, vol. 200, p. 235.e1-235.e6.