

P R A C E O R Y G I N A L N E
ginekologia

Rak błony śluzowej trzonu macicy u młodych kobiet – aspekty kliniczne i molekularne

Endometrial cancer in young women – clinical and molecular aspects

Sylwia Łapińska-Szumczyk¹, Anna Supernat², Anna J Żaczek², Hanna Majewska³,
Jacek Gulczyński⁴, Sambor Sawicki¹, Wojciech Biernat³, Dariusz Wydra¹¹ Katedra i Klinika Ginekologii, Ginekologii Onkologicznej i Endokrynologii Ginekologicznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, Gdańsk, Polska² Katedra Biotechnologii Medycznej, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, Gdańsk, Polska³ Zakład Patomorfologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, Gdańsk, Polska⁴ Zakład Patologii i Neuropatologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, Gdańsk, Polska

Streszczenie

Cel pracy: Celem pracy była analiza kliniczna i molekularna grupy młodych kobiet chorych na raka błony śluzowej trzonu macicy oraz ich analiza porównawcza w stosunku do grupy chorych starszych przy przyjęciu granicy wiekowej poniżej oraz powyżej 45 r.ż.

Materiał i metody: Materiał stanowiło 456 fragmentów tkanki nowotworowej pobranej od pacjentek operowanych z powodu raka błony śluzowej trzonu macicy. Analiza molekularna objęła oznaczenie liczby kopii 10 genów (TOP2A, ERBB1, ERBB2, ERBB3, ERBB4, MYC, CCND1, ESR1, PIK3CA, RAD21) metodą ilościowego PCR, oznaczenie ekspresji 6 genów (SCGB2A2, RAD21, RUNX1, SNAI1, SNAI2, PROM1) metodą ilościowego PCR poprzedzonego odwrotną transkrypcją oraz analizę ekspresji 8 białek (PGR, ESR1, ERBB1, ERBB2, ERBB3, ERBB4, TOP2A, pAKT1) za pomocą immunohistochemii.

Wyniki: Młodsza grupa pacjentek cechowała się rzadziej występującym nadciśnieniem tętniczym ($p < 0,00001$), mniejszym naciekiem endometrium ($p = 0,002$) i dłuższym czasem przeżycia ($p = 0,003$). Oprócz częstszych aberracji genu RAD21 u młodszych pacjentek ($p = 0,02$), nie stwierdzono znamienych statystycznie różnic molekularnych pomiędzy badanymi grupami.

Wnioski: Przeprowadzone badania nie wykazały odmienności molekularnej raka trzonu macicy występującego w młodym wieku oraz występującego w wieku przyjętym jako charakterystyczny dla tego nowotworu. Dane dotyczące zarówno znaczenia prognostycznego, jak i predykcyjnego RAD21 w raku trzonu macicy są nadal niewystarczające. Profil kliniczny młodszych pacjentek z rakiem endometrium był korzystniejszy w stosunku do chorych starszych, a czas przeżycia dłuższy.

Słowa kluczowe: **rak błony śluzowej trzonu macicy / kobiety / analiza kliniczna /
/ analiza molekularna /**

Abstract

Objectives: The aim the study was to compare two groups of endometrial cancer patients (below and above 45 years of age) in the aspect of clinicopathological and molecular data.

Material and Methods: The study encompassed 456 primary tumour samples retrospectively collected from a cohort of endometrial cancer patients, primarily treated by surgery.

Adres do korespondencji:

Sylwia Łapińska-Szumczyk
Katedra i Klinika Ginekologii, Ginekologii Onkologicznej i Endokrynologii Ginekologicznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
ul. Kliniczna 1A, 80-402 Gdańsk, Polska
tel. 605 407 184
mail: slapin@wp.plOtrzymano: 22.01.2014
Zaakceptowano do druku: 14.05.2014

Sylvia Łapińska-Szumczyk et al. Rak błony śluzowej trzonu macicy u młodych kobiet – aspekty kliniczne i molekularne.

Molecular analysis covered: copy number variations of 10 genes (TOP2A, ERBB1, ERBB2, ERBB3, ERBB4, MYC, CCND1, ESR1, PIK3CA, RAD21) analyzed by quantitative PCR; mRNA expression of 6 genes (SCGB2A2, RAD21, RUNX1, SNAI1, SNAI2, PROM1) analyzed with the use of reverse transcription quantitative PCR; protein expression analysis of 8 markers (PGR, ESR1, ERBB1, ERBB2, ERBB3, ERBB4, TOP2A, pAKT1) performed with the use of immunohistochemistry

Results: The younger group of patients was characterized by less frequent hypertension ($p < 0.00001$), less frequent myometrial infiltration ($p = 0.002$) and longer overall survival ($p = 0.003$). Apart from RAD21 gene aberrations, which were more frequent in younger patients ($p = 0.02$), the study revealed no statistically significant differences between the groups.

Conclusions: The study showed no molecular differences in the profile of younger and older endometrial cancer patients. Data on both the prognostic and predictive significance of RAD21 in endometrial cancer are still insufficient. The clinical profile of younger patients with endometrial carcinoma was slightly better when compared to elderly patients. Younger patients were characterized by longer overall survival.

Key words: **endometrial cancer / woman / clinopathological data / molecular data /**

Wstęp

Rak błony śluzowej trzonu macicy jest obecnie na świecie drugim, po raku szyjki macicy, najczęściej wykrywanym nowotworem złośliwym narządów płciowych, natomiast w krajach wysoko rozwiniętych dominuje nad nim liczebnie [1]. Według doniesień, 75%-80% chorych jest w wieku pomenopauzalnym (średnio w 6. dekadzie życia). Około 65 r.ż. – 70 r.ż. ryzyko rozwoju nowotworu spada, aby następnie ponownie zacząć wzrastać, co tłumaczy się najczęstszym występowaniem II typu etiopatogenetycznego raka trzonu macicy (*non-endometrioides*) w tej grupie kobiet [2-4].

Uważa się, że rak błony śluzowej trzonu macicy u kobiet młodych jest schorzeniem rzadkim – według różnych doniesień, poniżej 40 r.ż. stanowi on od 2% do 14% wszystkich przypadków *carcinoma endometria* [5-8]. Jedną z najmłodszych opisanych w literaturze pacjentek z rakiem trzonu macicy była 16-letnia chora z patologiczną otyłością od 2 roku życia, zespołem policystycznych jajników oraz zaburzeniami miesiączkowania, u której stwierdzono *Adenocarcinoma endometrioides* w stopniu IA (bez nacieku mięśniówki macicy) [9]. Ze względu na rzadkość występowania raka trzonu macicy u kobiet młodych podejmuje się próby odpowiedzi na pytanie, czy istnieje odmiennosc na poziomie klinicznym i molekularnym tej grupy chorych w stosunku do chorych starszych.

Cel pracy

Celem pracy była analiza kliniczna i molekularna grupy młodych kobiet chorych na raka błony śluzowej trzonu macicy oraz ich analiza porównawcza w stosunku do grupy chorych starszych przy przyjęciu granicy wiekowej poniżej oraz powyżej 45 r.ż. Podjęto próbę odpowiedzi na pytanie, czy w przypadku raka trzonu macicy występującego w młodym wieku można mówić o jego odmiennosci w aspekcie czynników klinicznych oraz molekularnych. Wśród ocenianych czynników molekularnych znalazły się: aberracje genów *TOP2A* (DNA topoisomerase II alpha 170kDa), *ERBB1* (epidermal growth factor receptor; *ERBB2* (v-erb-b2 erythroblastic leukaemia viral oncogene homolog 2, zwany również *HER2*), *ERBB3* (receptor tyrosine-protein kinase erbB-3), *ERBB4* (v-erb-b2 avian erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 4), *MYC* (v-myc avian myelocytomatosis viral oncogene homolog), *CCND1* (cyclin D1), *ESR1* (estrogen re-

ceptor 1), *PIK3CA* (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase), *RAD21* (*RAD21* homolog, *S. pombe*); poziom ekspresji mRNA genów: *SCGB2A2* (secretoglobin, family 2A, member 2, zwany również mammaglobina), *RAD21*, *RUNX1* (runt-related transcription factor 1), *SNAI1* (snail family zinc finger 1), *SNAI2* (snail family zinc finger 2), *PROM1* (prominin 1); poziom ekspresji białek: *PGR* (progesterone receptor), *ESR1*, *ERBB1*, *ERBB2*, *ERBB3*, *ERBB4*, *TOP2A*, *pAKT1* (phosphorylated v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1).

Materiał i metodyka

Materiał stanowiło 456 fragmentów tkanki nowotworowej pobranej od pacjentek operowanych z powodu raka błony śluzowej trzonu macicy w obecnej Katedrze i Klinice Ginekologii, Ginekologii Onkologicznej i Endokrynologii Ginekologicznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego w latach 2000-2010. U każdej chorej pierwszym etapem leczenia był zabieg usunięcia macicy z przydatkami, w niektórych przypadkach uzupełniony o usunięcie regionalnych węzłów chłonnych oraz tkanek zmienionych nowotworowo.

W celu analizy porównawczej wyodrębniono 2 grupy chorych – ze względu na małą liczebnościowo grupę chorych młodszych jako punkt odcięcia przyjęto 45 rok życia.

Analizy klinicznej dokonano w oparciu o bazę danych pacjentek uzyskaną z historii chorób archiwizowanych w Gdańskim Uniwersytecie Medycznym. W obu powyższych grupach dokonano analizy następujących parametrów klinicznych: występowanie otyłości, nadciśnienia tętniczego i cukrzycy, postać histologiczna nowotworu, stopień zróżnicowania histologicznego (*grading*), stopień zaawansowania klinicznego wg FIGO 2009, głębokość nacieku mięśniówki macicy, naciek szyjki macicy, obecność przerzutów. Pacjentki z indeksem BMI (ang. *Body Mass Index*) wyższym niż 30 sklasyfikowane było jako otyłe. Dane informujące o zgonach pacjentek uzyskano z Centrum Personalizacji Dokumentów Ministerstwa Spraw Wewnętrznych Rzeczypospolitej Polskiej, dokumentacji medycznej Przychodni Przyklinicznej Kliniki Ginekologii Onkologicznej oraz informacji od członków rodzin pacjentek. Projekt badawczy został zrealizowany po uzyskaniu zgody Niezależnej Komisji Bioetycznej do Spraw Badań Naukowych przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym (zgoda nr NKEBN/269/2009 z dnia 14.09.2009).

Kryterium wyłączenia z badania stanowił wiek poniżej 18. roku życia i brak zgody na leczenie operacyjne.

Analiza molekularna objęła oznaczenie liczby kopii 10 genów (*TOP2A, ERBB1, ERBB2, ERBB3, ERBB4, MYC, CCND1, ESR1, PIK3CA, RAD21*) metodą ilościowego PCR (ang. *quantitative Polymerase Chain Reaction, qPCR*), oznaczenie ekspresji 6 genów (*SCGB2A2, RAD21, RUNX1, SNAI1, SNAI2, PROM1*) metodą ilościowego PCR poprzedzonego odwrotną transkrypcją (RT-qPCR) oraz analizę ekspresji 8 białek (PGR, ESR1, ERBB1, ERBB2, ERBB3, ERBB4, TOP2A, pAKT1) za pomocą immunohistochemii (IHC).

Badania liczby kopii genów oraz ekspresji na poziomie mRNA zostały wykonane wg protokołów opisanych wcześniej [10-12].

Z blozków parafinowych pochodzących od chorych pobrano fragmenty o średnicy 1,5 mm (cztery z każdego guza), które następnie użyto do konstrukcji mikromacierzy tkankowych (ang. *tissue microarrays, TMA*). Morfologicznie reprezentatywne fragmenty tkanki nowotworowej barwionej hematoksyliną/eoźyną zidentyfikowano pod mikroskopem. Następnie fragmenty umieszczono w odpowiednich odstępach w jednym bloczku parafinowym przy użyciu specjalnego urządzenia (MTAI, Beecher Instruments, Silver Spring, MD, USA). Wykorzystana technologia konstrukcji mikromacierzy pozwoliła na umieszczenie w jednym bloczku parafinowym do kilkudziesięciu fragmentów. Barwienie immunohistochemiczne mikromacierzy tkankowych zostało wykonane przy użyciu dostępnych komercyjnie przeciwciał monoklonalnych przeciwko: PGR (klon 1E2, Roche), ESR1 (klon SP1, Roche), ERBB1 (klon EGFR113, Novocastra), ERBB2 (klon 4B5, Roche), ERBB3 (klon DAK-H3-IC, DAKO), ERBB4 (klon HFR1, Abcam), TOP2A (klon Ki-S1, DAKO), pAKT1 (klon D9E, Cell Signaling). System detekcyjny oparty był na aktywności peroksydazy chrzastkowej, dla której substrat stanowi roztwór diaminobenzydyny (Dako REAL™ EnVision™ Detection System). Kryteria interpretacji wyników uwzględniały intensywność barwienia oraz proporcje komórek wykazujących pozytywną reakcję. System zliczania sygnału został dostosowany do charakterystyki barwienia danego białka, a wartości odcinające zostały wyznaczone w oparciu o uzyskane wyniki barwienia. Dla standardowo oznaczanych markerów (ERBB2, ESR1, PGR) przyjęto kryteria stosowane rutynowo w Zakładzie Patomorfologii GUMed (HerceptTest™ dla ERBB2 z wynikiem 3 traktowanym jako pozytywny oraz skala Allreda dla ESR1 i PGR z punktem odcięcia 3 dla wyników pozytywnych).

Analiza statystyczna została wykonana przy zastosowaniu programu STATISTICA dla Windows, wersja 10.0 PL. Poprzedzona była sprawdzeniem ewentualnej zgodności rozkładów wyników uzyskanych dla badanych parametrów z rozkładem normalnym za pomocą testu Shapiro-Wilka.

Do porównania wartości oznaczanego markera w dwóch lub kilku grupach stosowany był odpowiednio test Mann-Whitney'a lub test analizy wariancji dla rang Kruskala-Wallisa. Związek pomiędzy cechami badanymi w skalach nominalnych lub porządkowych analizowany był za pomocą testu chi-kwadrat (χ^2) Pearsona z ewentualną poprawką Yatesa dla małej liczebności prób oczekiwanych, natomiast związek pomiędzy cechami badanymi w skalach interwałowych zbadany został przez wyznaczenie współczynnika korelacji rang Spearmana. Za poziom istotności statystycznej przyjęto prawdopodobieństwo testowe $p < 0,05$.

Tabela I. Analiza parametrów klinicznych pacjentek poniżej i powyżej 45 roku życia.

Parametr	Pacjentki < 45 r. ż.	Pacjentki > 45 r. ż.	Poziom istotności statystycznej p
	N = 26	N = 430	
Otyłość			
brak	17 (65,4%)	202 (47,3%)	0,07
obecna	9 (34,6%)	225 (52,7%)	
Nadciśnienie tętnicze			
brak	22 (84,6%)	140 (32,7%)	<0,00001
obecne	4 (15,4%)	288 (67,3%)	
Cukrzyca			
brak	25 (96,2%)	319 (74,5%)	0,12
obecna	1 (3,8%)	109 (25,5%)	
Typ histologiczny			
I (endometrioides)	18 (72,0%)	301 (70,2%)	0,85
II (non-endometrioides)	7 (28,0%)	128 (29,8%)	
Zaawansowanie kliniczne według FIGO 2009			
IA-IB	15 (60,0%)	296 (69,5%)	0,52
II	6 (24,0%)	57 (13,4%)	
IIIA-IIIC	3 (12,0%)	56 (13,1%)	
IVA-IVB	1 (4,0%)	17 (4,0%)	
Stopień zróżnicowania histologicznego (grading)			
G-1	17 (70,8%)	194 (46,5%)	0,07
G-2	5 (20,8%)	168 (40,3%)	
G-3	2 (8,0%)	55 (13,2%)	
Naciekanie szyjki			
brak	18 (72,0%)	316 (74,5%)	0,78
obecne	7 (28,0%)	108 (25,5%)	
Naciekanie myometrium			
≤1/2	20 (80,0%)	209 (49,2%)	0,002
>1/2	5 (20,0%)	216 (50,8%)	
Przerzuty			
brak	14 (58,3%)	278 (66,7%)	0,40
obecne	10 (41,7%)	139 (33,3%)	

Czas przeżycia został wyliczony od dnia zabiegu do dnia zgonu lub daty ostatniej wizyty kontrolnej. Czas przeżycia oceniany był za pomocą krzywych przeżycia Kaplana-Meiera. Do oceny różnic pomiędzy krzywymi przeżycia wykorzystano test Coxa.

Wyniki

Najmłodsza pacjentka z rakiem błony śluzowej trzonu macicy miała w chwili zabiegu operacyjnego 26 lat, najstarsza liczyła 89 lat. Mediana wieku w badanej grupie kobiet wynosiła 63 lata. Grupę chorych poniżej 45 roku życia stanowiło 26 kobiet (5,7% wszystkich pacjentek), grupę chorych powyżej 45 roku życia – 430 kobiet (94,3%). Dokonano analizy parametrów klinicznych w grupie chorych poniżej i powyżej 45 roku życia (Tabela I).

Ponad połowę chorych powyżej 45 r.ż. stanowiły kobiety otyłe (52,3%), w grupie pacjentek młodszych otyłość cechowała około 1/3 kobiet (34,6%). Również w grupie chorych powyżej 45 r.ż. zdecydowanie częściej w stosunku do chorych młodszych

Tabela II. Analiza wyników qPCR u pacjentek poniżej i powyżej 45 roku życia.

Analizowany gen	Pacjentki < 45 rż		Pacjentki > 45 rż		Poziom istotności statystycznej p
	liczba przypadków	średni poziom dawki genu±SD	liczba przypadków	średni poziom dawki genu±SD	
<i>ERBB1</i>	5	0,99±0,08	149	1,00±0,15	0,95
<i>ERBB2</i>	5	1,02±0,28	152	1,03±0,45	0,69
<i>ERBB3</i>	5	0,95±0,10	149	1,03±0,31	0,63
<i>ERBB4</i>	5	0,96±0,12	152	1,00±0,17	0,83
<i>CCND1</i>	5	1,01±0,13	149	1,01±0,14	0,88
<i>TOP2A</i>	5	0,99±0,29	149	1,01±0,17	0,27
<i>PIK3CA</i>	5	1,05±0,07	152	1,02±0,25	0,13
<i>RAD21</i>	5	1,22±0,22	152	1,020±29	0,02
<i>MYC</i>	5	1,32±0,50	152	1,04±0,34	0,16
<i>ESR1</i>	5	1,19±0,39	148	1,03±0,51	0,35

Tabela III. Analiza wyników RT-qPCR u pacjentek poniżej i powyżej 45 roku życia.

Analizowany gen	Pacjentki < 45 rż		Pacjentki > 45 rż		Poziom istotności statystycznej p
	liczba przypadków	średni poziom ekspresji±SD	liczba przypadków	średni poziom ekspresji±SD	
<i>SCGB2A2</i>	5	10,46±20,57	152	24,67±87,01	0,90
<i>RAD21</i>	5	1,23±0,32	152	1,14±0,58	0,34
<i>RUNX1</i>	5	3,12±3,92	152	1,81±2,09	0,41
<i>PROM1</i>	5	0,98±1,02	151	2,48±2,97	0,18
<i>SNAI1</i>	5	2,08±1,24	151	1,44±1,97	0,07
<i>SNAI2</i>	5	1,71±0,86	151	1,41±1,70	0,13

występowała cukrzyca (25,5% vs 3,8%) oraz nadciśnienie tętnicze (67,3 vs 15,4%). Nie stwierdzono statystycznie znamiennej różnicy, jeżeli chodzi o współistnienie innych schorzeń nowotworowych w obu grupach chorych.

Nie stwierdzono również statystycznie znamiennej różnicy jeżeli chodzi o częstość występowania I i II typu etiopatogenetycznego (*endometrioid* i *non-endometrioid*) raka trzonu macicy w obu grupach pacjentek.

Stopień zaawansowania klinicznego według FIGO 2009 był zbliżony w obu analizowanych grupach chorych. Jednak wśród pacjentek młodszych stwierdzono większy, w stosunku do grupy starszej, odsetek przypadków, kiedy naciek nowotworowy nie przekraczał połowy głębokości mięśniówki macicy (50,8% vs 20,0%). Jednocześnie w grupie kobiet młodszych stwierdzono nieznacznie częstsze zajęcie przez proces nowotworowy szyjki macicy w stosunku do grupy kobiet powyżej 45 r.ż. (28,0% vs 25,5%).

Łączny odsetek przerzutów do narządów sąsiednich, regionalnych węzłów chłonnych oraz przerzutów odległych był zbliżony w obu grupach chorych – odpowiednio 41,7% oraz 33,3% ($p=0,40$).

Wśród pacjentek młodszych częściej stwierdzono występowanie wysokozróżnicowanej postaci gruczolakoraka endometrium w stosunku do chorych powyżej 45 r.ż. (70,8% vs 46,5%). Postać średniozróżnicowana występowała częściej w grupie pacjentek starszych w stosunku do kobiet poniżej 45 r.ż. (40,3% vs 20,8%). Częstość występowania niskozróżnicowanego gruczolaka

koraka był zbliżony w obu grupach chorych – odpowiednio 8,0% oraz 13,2% ($p=0,07$).

Dokonano analizy molekularnej, która objęła oznaczenie liczby kopii 10 genów (*TOP2A*, *HER1*, *HER2*, *HER3*, *HER4*, *MYC*, *CCND1*, *ESR1*, *PI3K*, *RAD21*), oznaczenie ekspresji 6 genów (*MGB1*, *RAD21*, *RUNX1*, *SNAI1*, *SLUG*, *CD133*) oraz analizę ekspresji 8 białek (PgR, ER, HER1, HER2, HER3, HER4, TOP2A, pAkt), nie stwierdzając statystycznie znamiennej różnicy w obu grupach chorych. Jedynie w grupie pacjentek poniżej 45 r.ż. stwierdzono zwiększoną ekspresję *RAD21*. Wyniki przeprowadzonych badań molekularnych przedstawia Tabela II, III oraz IV.

Dokonując oceny przeżycia obu grup chorych na raka trzonu macicy stwierdzono dłuższe przeżycie w grupie pacjentek poniżej 45 r.ż. w stosunku do kobiet starszych (Rycina 1).

Dyskusja

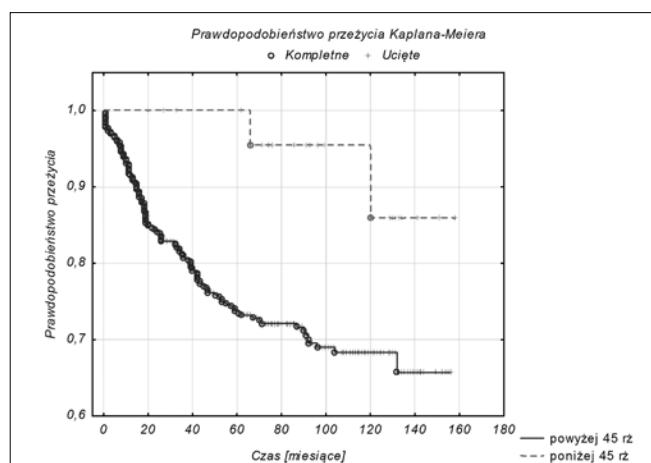
W analizowanej grupie chorych z rakiem trzonu macicy pacjentki młodsze (poniżej 45 r.ż.) stanowiły 5,7% całej grupy, co jest zgodne z doniesieniami z piśmiennictwa [5, 6, 7, 8].

Poszczególne badacze przedstawiają różnorodne, niekiedy całkowicie odmienne doniesienia dotyczące profilu klinicznego młodych kobiet ze stwierdzonym rakiem trzonu macicy.

Ciekawe doniesienia opublikowali Parslow i wsp. oraz Peterson prowadząc wieloczynnikową analizę na dużych grupach kobiet z rakiem trzonu macicy (Parslow i wsp. – 237 kobiet duńskich, Peterson – 650 pacjentek operowanych w *Medical Center*

Tabela IV. Analiza wyników IHC u pacjentek poniżej i powyżej 45 roku życia.

Analizowane białko	Pacjentki < 45 rż	Pacjentki > 45 rż	Poziom istotności statystycznej p
	liczba przypadków (%)	liczba przypadków (%)	
Status ERBB1			
negatywny	4 (17,4%)	45 (11,8%)	0,42
pozytywny	19 (82,6%)	337 (88,2%)	
Status ERBB2			
negatywny	22 (91,7%)	328 (85,7%)	0,42
pozytywny	2 (8,3%)	54 (14,1%)	
Status ERBB3			
negatywny	15 (62,5%)	248 (64,9%)	0,81
pozytywny	9 (37,5%)	134 (35,1%)	
Status ERBB4			
negatywny	11 (45,8%)	167 (43,7%)	0,84
pozytywny	13 (54,2%)	215 (56,3%)	
Status ESR1			
negatywny	4 (16,7%)	44 (11,6%)	0,46
pozytywny	20 (83,3%)	335 (88,4%)	
Status PGR			
negatywny	5 (20,8%)	49 (13,0%)	0,27
pozytywny	19 (79,2%)	329 (87,0%)	
Status pAKT1			
negatywny	19 (79,2%)	307 (80,4%)	0,89
pozytywny	5 (20,8%)	75 (19,6%)	



Rycina 1. Krzywe Kaplana-Meiera ilustrujące prawdopodobieństwo przeżycia pacjentek poniżej i powyżej 45 rż. (p=0,003).

University of Michigan) [9, 13]. Według Parslowa i wsp. nadwaga stanowiła czynnik ryzyka głównie u kobiet starszych, co tłumaczono faktem, iż u kobiet w wieku premenopauzalnym jajnikowa produkcja estrogenów przeważa nad produkcją w tkance tłuszczowej. Stosowanie doustnej antykoncepcji przez okres 1-5 lat w grupie kobiet młodszych zmniejszało ryzyko zachorowania na raka trzonu macicy. Również inni autorzy nie stwierdzili częstszego występowania otyłości, nadciśnienia tętniczego czy

cukrzycy wśród młodych kobiet z rakiem trzonu macicy [5, 7]. Odmienne wyniki podał Peterson: 5% badanych miało poniżej 40 lat, zaś cechą charakterystyczną badanej grupy była otyłość (81%) oraz różnego rodzaju zaburzenia miesiączkowania. Autor wykazał również ścisły związek zespołu Stein-Leventhala z rakiem błony śluzowej trzonu macicy w młodym wieku. Podobne doniesienia opublikowali Kim i wsp. [14]. Niektórzy badacze obserwowali wśród kobiet młodszych wyższe stopnie klinicznego zaawansowania raka trzonu macicy, co próbowali tłumaczyć faktem, iż prawdopodobnie są one diagnozowane z większym opóźnieniem, ponieważ w tej grupie wiekowej nie oczekuje się u nich takiego rozpoznania [15]. Jednak większość autorów uważa, że kobiety młodsze cechuje lepsze rokowanie, ponieważ występują u nich wysokozróżnicowane postaci nowotworu o niewielkim stopniu naciekania mięśniówki macicy [5, 7, 14, 15].

Badania własne nie potwierdziły częstszego występowania otyłości, nadciśnienia tętniczego i cukrzycy w grupie chorych poniżej 45 rż., co mogłoby stanowić czynnik ryzyka rozwoju raka trzonu macicy u kobiet młodych. W grupie kobiet starszych zaobserwowano statystycznie znamienne częstsze występowanie nadciśnienia tętniczego (p<0,00001) oraz trend do częstszego występowania cukrzycy i otyłości.

Wśród chorych młodszych częściej niż w porównywanej grupie pacjentek powyżej 45 rż. stwierdzano wysokozróżnicowanego gruczolakoraka o niewielkim stopniu naciekania mięśniówki macicy. Nie wykazano również wyższej agresywności biologicznej cechującej proces nowotworowy trzonu macicy przebiegający u kobiet młodszych. Odsetek przerzutów do narządów sąsiednich, regionalnych węzłów chłonnych oraz przerzutów odległych był zbliżony w obu analizowanych grupach – odpowiednio 38,5% oraz 32,3% (p=0,40).

Niektórzy autorzy traktują wiek kobiet z rakiem trzonu macicy jako niezależny czynnik prognostyczny [16, 17]. Jednocześnie wykazano, iż wraz z zaawansowaniem wieku chorych spada prawdopodobieństwo przeżycia i wzrasta liczba zgonów z powodu tego nowotworu [16, 17, 18]. Współczynnik umieralności kobiet w przedziale wiekowym 15-39 lat, chorych na ten nowotwór, wynosi 0,01 na 100,00, w przedziale wiekowym 55-60 lat wynosi już 5,8 na 100,00, zaś dla chorych powyżej 75 rż. ocenia się go aż na 19,1 [1, 3]. Abacjew - Chmyłko, na podstawie badań własnych, zaobserwowała, iż wszystkie chore na raka trzonu macicy pomiędzy 31. a 60 rż. przeżywały podobnie długo (12-13 lat od momentu rozpoznania i leczenia choroby nowotworowej), a śmiertelność w tej grupie nie przekraczała 30%. W grupie chorych po 61 rż. długość przeżycia skracala się z równoczesnym wzrostem śmiertelności, co autorka tłumaczyła zmniejszającą się wydolnością organizmu oraz współistnieniem i stopniowym nasilaniem się dodatkowych schorzeń internistycznych [19].

Badania własne również wykazały dłuższe przeżycie pacjentek poniżej 45 rż., co można tłumaczyć zarówno występowaniem w tej grupie przede wszystkim dobrze rokujących postaci histologicznych o niskim stopniu naciekania mięśniówki macicy, jak i rzadszym współistnieniem schorzeń internistycznych (otyłości, nadciśnienia tętniczego i cukrzycy, charakteryzujących grupę chorych starszych). Krótsze przeżycie chorych powyżej 45 rż. może być spowodowane zarówno większą progresją choroby nowotworowej (większy odsetek pacjentek z głębokim naciekaniami mięśnia macicy), jak i zgonami z przyczyn nienowotworowych lub wystąpieniem innych nowotworów. Młodsze pacjentki,

w okresie obserwacji, w większości nie miały dodatkowych schorzeń internistycznych lub innych nowotworów, mogących wpłynąć na czas przeżycia. Jednocześnie, ze względu na brak danych, nie było możliwości oceny przyczyn zgonów w obu analizowanych grupach chorych. Niektórzy autorzy sugerują odmienną biologię raka trzonu macicy występującego u kobiet młodszych i starszych. Według Abelera i wsp. u kobiet starszych występują gorzej zróżnicowane postacie histologiczne [16]. Odmienną opinię prezentują Duska i wsp. [6], którzy twierdzą, iż niekorzystne postacie histologiczne raka trzonu macicy, o wyższym stopniu zaawansowania klinicznego, mają występować właśnie u kobiet młodych, ale bez współistniejącej otyłości.

Interesujący wydaje się być fakt, iż przeprowadzone badania własne nie wykazały różnic na poziomie molekularnym charakteryzujących proces nowotworowy trzonu macicy przebiegający w analizowanej grupie chorych młodszych (poniżej 45 r.ż.) i starszych. (Tabela II, III, IV). Chociaż wykazano, że nadekspresja genu *ERBB2* ma związek z całkowitym przeżyciem chorych [20], badania własne nie wykazały korelacji pomiędzy statusem tego genu a wiekiem pacjentek. Jedyną statystycznie znamienne różnica dotyczyła zwiększonej liczby aberracji genu *RAD21* u młodszych pacjentek. Białko RAD21, kodowane przez gen z regionu 8q24, jest jednym z głównych białek kompleksu kohezyjny odpowiedzialnej za łączenie się siostrzanych chromatyd aż do momentu anafazy, kiedy to proteolityczne cięcie przez separazę umożliwia rozdzielenie chromatyd. Białko RAD21 jest istotnym czynnikiem mitotycznym. Odgrywa również rolę w procesie naprawy uszkodzeń DNA, zaś po cięciu proteolitycznym przez kaspazę powstały fragment C-terminalny RAD21 o wielkości 64 kDa może indukować apoptozę [21]. Rola RAD21 w procesie karcinogenezy nie jest do końca poznana. Jego zwiększony poziom, w postaci amplifikacji genu lub zwiększonej produkcji białka obserwuje się w płaskonabłonkowym raku jamy ustnej o wysokim stopniu inwazyjności i potencjale tworzenia przerzutów odległych oraz hormonoopornym raku prostaty [21]. Zaobserwowano również podwyższony poziom transkryptu *RAD21* w rakach trzonu macicy z przerzutami do węzłów chłonnych [22]. Powyższe doniesienia wskazywałyby na zwiększoną ekspresję RAD21 w przypadkach różnych histologicznie i narządowo nowotworów, ale charakteryzujących się bardziej agresywnym przebiegiem i wysokim potencjałem do tworzenia przerzutów. Stąd niezwykle interesujące wydaje się stwierdzenie statystycznie znamiennej większej liczby aberracji genu *RAD21* w grupie młodszych chorych na raka trzonu macicy, która to grupa, w badaniach własnych, cechuje się w stosunku do chorych starszych, korzystniejszym profilem klinicznym, częstszym występowaniem dobrze rokującej, wysokokrótnicowanej postaci gruczolakoraka o niewielkim stopniu naciekania mięśniówki macicy i dłuższym przeżyciem (Tabela I).

Wnioski

Przeprowadzone badania nie wykazały odmienności molekularnej raka trzonu macicy występującego w młodym wieku oraz występującego w wieku przyjętym jako charakterystyczny dla tego nowotworu. Dane dotyczące zarówno znaczenia prognostycznego, jak i predykcyjnego RAD21 w raku trzonu macicy są nadal niewystarczające. Profil kliniczny młodszych pacjentek z rakiem endometrium był korzystniejszy w stosunku do chorych starszych, a czas przeżycia dłuższy.

Authors' Contribution:

1. Sylvia Łapińska-Szumczyk – concept, analysis and interpretation of data, article draft, corresponding author.
2. Anna Supernat – concept, study design, acquisition of data, analysis and interpretation of data, revised article critically.
3. Anna J. Żączek – concept, study design, acquisition of data, analysis and interpretation of data, revised article critically.
4. Hanna Majewska – study design, acquisition of data, analysis and interpretation of data.
5. Jacek Gulczyński – acquisition of data, analysis and interpretation of data.
6. Sambor Sawicki – analysis and interpretation of data, revised article critically.
7. Wojdech Biernat – concept, study design, acquisition of data.
8. Dariusz Wydra – analysis and interpretation of data, revised article critically.

Authors' statement

This is to certify, that the publication will not violate the copyrights of a third party, as understood according to the Act in the matter of copyright and related rights of 14 February 1994, Official Journal 2006, No. 90, Clause 63, with respect to the text, data, tables and illustrations (graphs, figures, photographs);

there is no 'conflict of interests' which occurs when the author remains in a financial or personal relationship which unjustly affects his/her actions associated with the publication of the manuscript;

any possible relationship(s) of the author(s) with the party/parties interested in the publication of the manuscript are revealed in the text of the article;

the manuscript has not been published in or submitted to any other journal.

Source of financing: KBN grant N N407 571538.

Piśmiennictwo

1. Bray F, Ren JS, Masuyer E, Ferlay J. Estimates of global cancer prevalence for 27 sites in the adult population in 2008. *Int J Cancer*. 2013, 132 (5), 1133-1145. doi: 10.1002/ijc.27711.
2. Copeland LJ (red.). *Textbook of Gynecology*. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1993.
3. Markowska J, Pawłowska M. Epidemiologia i etiopatogeneza raka endometrium. W: *Zarys ginekologii onkologicznej*. t.2. Red. Markowska J, Mądry R. Poznań: *Termedia Wydawnictwa Medyczne*, 2012, 11-28.
4. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin*. 2010, 60, 277-300.
5. Crissman JD, Azoury RS, Barnes AE, Schellhas HF. Endometrial carcinoma in women 40 years of age or younger. *Obstet Gynecol*. 1981, 57, 699-704.
6. Duska LR, Garrett A, Rueda BR, [et al.]. Endometrial cancer in women 40 years old or younger. *Gynecol Oncol*. 2001, 83, 388-393.
7. Gallup DG, Stock RJ. Adenocarcinoma of the endometrium in women 40 years of age or younger. *Obstet Gynecol*. 1984, 64, 417-420.
8. Ota T, Yoshida M, Kimura M, Kinoshita K. Clinicopathologic study of uterine endometrial carcinoma in young women aged 40 years and younger. *Int J Gynecol Cancer*. 2005, 15, 657-662.
9. Peterson EP. Endometrial carcinoma in young women. A clinical profile. *Obstet Gynecol*. 1968, 31, 702-707.
10. Supernat A, Łapińska-Szumczyk S, Majewska H, [et al.]. A multimer qPCR platform for the characterisation of endometrial cancer. *Oncol Rep*. 2014, 31, 1003-1013.
11. Supernat A, Łapińska-Szumczyk S, Majewska H, [et al.]. Epithelial-mesenchymal Transition and Cancer Stem Cells in Endometrial Cancer. *Anticancer Res*. 2013, 33, 5461-5469.
12. Supernat A, Łapińska-Szumczyk S, Sawicki S, [et al.]. Deregulation of RAD21 and RUNX1 expression in endometrial cancer. *Oncol Lett*. 2012, 4, 727-732.
13. Parslov M, Lidegaard O, Klinton S, [et al.]. Risk factors among young women with endometrial cancer: a Danish case-control study. *Am J Obstet Gynecol*. 2000, 182, 23-29.
14. Kim YB, Holschneider CH, Ghosh K, [et al.]. Progesterone alone as primary treatment of endometrial carcinoma in premenopausal women. Report of seven cases and review of the literature. *Cancer*. 1997, 79, 320-327.
15. Kaku T, Matsuo K, Tsukamoto N, [et al.]. Endometrial carcinoma in women aged 40 years or younger: a Japanese experience. *Int J Gynecol Cancer*. 1993, 3, 147-153.
16. Abeler VM, Kjørstad KE. Endometrial adenocarcinoma in Norway. *A study of a total population*. *Cancer*. 1991, 67, 3093-3103.
17. Salvesen HB, Akslen LA, Iversen T, Tversen OE. Recurrence of endometrial carcinoma and the value of routine follow up. *Br J Obstet Gynaecol*. 1997, 104, 1302-1307.
18. Rose PG. Endometrial carcinoma. *N Engl J Med*. 1996, 335, 640-649.
19. Abacjew - Chyłko A. Wielośrodkowa analiza wyników leczenia raka błony śluzowej trzonu macicy. Gdańsk: Rozprawa doktorska. 2010, 96-97.
20. Grosman-Dziewięcki P, Dziegiel P, Zabel M. Zaburzenia ekspresji genów w raku endometrium jako cel terapii. *Ginekol Pol*. 2011, 82, 276-280.
21. Yamamoto G, Irie T, Aida T, [et al.]. Correlation of invasion and metastasis of cancer cells, and expression of the RAD21 gene in oral squamous cell carcinoma. *Virchows Arch*. 2006, 448, 435-441.
22. Bidus MA, Risinger JJ, Chandramouli GV, [et al.]. Prediction of lymph node metastasis in patients with endometrioid endometrial cancer using expression microarray. *Clin Cancer Res*. 2006, 12, 83-88.