

P R A C E P O G L Ą D O W E  
*ginekologia*

# Rak jajnika – nowe spojrzenie na pochodzenie i histogenezę

## Ovarian cancer – modern approach to its origin and histogenesis

Nowak-Markwitz Ewa, Spaczyński Marek

Klinika Onkologii Ginekologicznej, Katedra Ginekologii, Położnictwa i Onkologii Ginekologicznej, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, Polska

### Streszczenie

Rak jajnika jest heterogenną grupą patologii, która tradycyjnie jest klasyfikowana ze względu na typ histologiczny oraz stopień zróżnicowania. Zakładano, że powstaje on z nabłonka pokrywającego jajnik (NPJ) lub z nabłonka cyst inkluzyjnych (IC). Niestety, hipoteza ta, nigdy nie została poparta dowodami klinicznymi czy molekularnymi, które połączyłyby karcinogenezę z NPJ i została obalona. Badania genów z rodziny HOX, markerów różnicowania się nabłonka Muellrowskiego wykazały ich ekspresję w rakach jajnika i brak ekspresji w NPJ. Obserwacje epidemiologiczne oraz ocena mikroskopowa wykazała, że rak jajnika w zespole BRCA powstaje w strzępkach jajowodu. Nieco później potwierdzono ten fakt także dla raków sporadycznych. Prekursorami raka endometrioidalnego mogą być ogniska endometriozy lub endometrium. Raki śluzowe dzielą szereg wspólnych cech morfologicznych z rakami przewodu pokarmowego i tam należy szukać ich prekursorów. Rak jasnokomórkowy może rozwijać się z komórek gruczołowych kanału szyjki macicy lub także z ognisk endometriozy. W 2004 roku zaproponowano nowy podział raków jajnika na typ I i typ II. Typ II raka jajnika obejmuje niskozróżnicowane guzy surowicze, endometrioidalne, raki niezróżnicowane i mięsakoraka. Ta grupa obejmuje 75% zachorowań, rozpoznawane są w III i IV stopniu, wcześniej dają nawroty i rokowanie jest złe. Pozostałe raki jajnika zaliczono do typu I. Rozpoznawane są w niższych stopniach, a rokowanie jest znacznie lepsze.

Wykazano, że raki surowicze i endometrioidalne G3 cechuje nadekspresja TP53 a raki surowicze i endometrioidalne typu I wspólnie wykazują mutacje w genach BRAS i KRAS. Różne też są zaburzenia szlaków molekularnych charakteryzujące karcinogenezę w dwóch typach raka jajnika. Nowe spojrzenie na histogenezę raka jajnika niesie za sobą konieczność weryfikacji metod stosowanych do jego rozpoznawania i leczenia.

Słowa kluczowe: **rak jajnika / histogeneza / geny / rozpoznanie /**

### Adres do korespondencji:

Ewa Nowak-Markwitz  
Klinika Onkologii Ginekologicznej, Katedra Ginekologii, Położnictwa i Onkologii Ginekologicznej  
Uniwersytet Medyczny w Poznaniu,  
Polska, 60-535 Poznań, ul. Polna 33  
tel.: +48 61 8419434; fax:+48 61 8419465  
e-mail: ewamarkwitz@poczta.fm

Otrzymano: 08.12.2011  
Zaakceptowano do druku: 14.05.2012

**Abstract**

*Ovarian cancers (OC) belong to a heterogeneous group of pathologies and are traditionally classified with regard to histological type and degree of differentiation. OC was hypothesized to originate from ovarian surface epithelium (OSE) and inclusion cysts epithelium (IC). Unfortunately, this theory was never supported by any clinical or molecular evidence linking carcinogenesis with OSE and was refuted. OC subtypes demonstrate morphologic features that resemble Müllerian duct-derived epithelia of the genital tract. Investigations of the HOX gene family, Müllerian epithelial differentiation markers, confirmed the HOX genes expression in many subtypes of OC but not in OSE. The first step towards connecting OC origin with other than OSE genital tract structures were epidemiological observations indicating a minor OC risk after tubal ligation in women with the BRCA mutation. The first in situ carcinoma was found in the Fallopian tube fimbriae. Further research confirmed the same mechanism in sporadic OC. Endometriosis and endometrium cells may be a highly probable place of endometrioid OC initiation. Mucinous types share common features with gastrointestinal tract cancers and there one needs to search for their precursors. Clear cell carcinoma may arise from glandular epithelium of endocervix or from endometrioid foci. The new classification of OC was proposed in 2004, suggesting to divide all OC into two types: I and II. Type II includes serous and endometrioid G3 subtypes, carcinosarcomas and undifferentiated OC. They are responsible for 75% of OC morbidity, identified usually in FIGO stages III or IV, have poor prognosis and relapse early. The remaining histotypes, with better prognosis and earlier FIGO stages at time of diagnosis, were classified as type I. Serous and endometrioid poorly differentiated ovarian cancers demonstrate mutation in TP53 gene (type II) and highly differentiated ones, generally, in BRAS and KRAS genes (type I). The differences in molecular pathways also confirm different patterns of carcinogenesis of both OC types. Modern approach to OC histogenesis and origin emphasizes the necessity to verify OC screening, detection and treatment methods.*

Key words: **ovarian cancer / histogenesis / gene / screening /**

W 1872 roku sir Spencer Wells po raz pierwszy przedstawił koncepcję powstawania raka jajnika. Teoria zakłada, czy raczej zakładała, że z pojedynczej warstwy nabłonka pokrywającego jajnik (NPJ) pod wpływem różnych czynników stymulujących dochodzi do inicjacji procesu karcinogenezy i powstaje rak, który potem pod wpływem innych czynników mikrośrodowiska różnicuje się w raka surowiczego, śluzowego, jasnokomórkowego, endometrioidalnego i przejściowego (guz Brennera), których utkanie naśladuje to spotykane w jajowodzie, przewodzie pokarmowym, *endometrium*, kanale szyjki macicy i pęcherzu moczowym. Hipoteza ta przetrwała ponad 120 lat. Poszukiwano różnych czynników, które zdolne byłyby zapoczątkować karcinogenezę w NPJ [1]. Powstały teorie próbujące wyjaśnić patogenezę tak pojmowanego raka jajnika. Wskazywano, między innymi, na proces starzenia się jajników, na niekorzystny wpływ stymulacji gonadotropinami, które wykazują działanie silnie proliferacyjne i antyapoptotyczne na NPJ, czy na niekorzystne oddziaływanie owulacji, która prowadząc do comiesięcznych uszkodzeń NPJ była jednocześnie przyczyną jego naprawy na drodze metaplastji, co mogło zapoczątkować karcinogenezę [2, 3]. Jednak żadnej z teorii nie udało się udowodnić w sposób satysfakcjonujący zarówno w badaniach epidemiologicznych jak i genetycznych oraz molekularnych. Karcinogeneza jest wieloetapowym procesem, który musi zostać zainicjowany przez jakiś czynnik (wirus, promieniowanie jonizujące, czynniki chemiczne) i następnie, krok po kroku, dochodzi do zmian genetycznych, w pierw w DNA, potem w cyklu komórkowym a następnie w populacji komórek, które finalnie dają początek tkance nowotworowej. Ten proces jest dobrze poznany w odniesieniu np. do raka szyjki macicy, gdzie wirus brodawczaka ludzkiego (HPV) inicjuje proces karcinogenezy zakażając komórki nabłonka szyjki macicy a potem łącząc swoje DNA z DNA komórki nabłonkowej powoduje, że odczyt z matrycy genetycznej jest fałszywy i w końcu komórka zaczyna

się dzielić w sposób niekontrolowany – powstaje rak. Kluczowe na różnych etapach karcinogenezy raka szyjki widzimy różne zmiany morfologiczne w nabłonku. Rozpoznajemy nieprawidłowości w samych komórkach (nieprawidłowy wynik badania cytologicznego) a potem histologicznie wewnątrz nabłonkową neoplazję, która jest stanem przedrakowym. Niestety, dotychczas nigdy nie rozpoznano takich zmian w NPJ. Wynika z tego, że proces karcinogenezy w jajniku przebiega w inny sposób.

Lekarze zajmujący się leczeniem raka jajnika od dawna obserwują ogromną heterogenność tej choroby. Wyróżniamy jej pięć podstawowych typów histologicznych: raka surowiczego, śluzowego, endometrioidalnego, jasnokomórkowego oraz niezróżnicowanego. Rak jajnika przedstawia także niespotykaną w innych narządach płciowych różnorodność kliniczną. W czasie wykonywania laparotomii widzimy, że może przybierać postać np. jednego dużego guza obejmującego jajnik lub, poprzez wiele form pośrednich, może być rozsiaany w jamie brzusznej z mikroskopowymi tylko naciekami w jajnikach. Niektóre chore nawet w III stopniu zaawansowania nie mają nigdy nawrotu choroby a u innych, ze znacznie mniej zaawansowanym procesem łatwo i szybko dochodzi do nawrotu choroby po leczeniu, a jest ono prowadzone jest w taki sam sposób u wszystkich chorych. Rak śluzowy prawie nigdy nie wydziela CA 125 a rak surowiczy bardzo duże ilości. Nie dopracowano się też metod wczesnego wykrywania raka jajnika, zwykle rozpoznajemy go, gdy jest już za późno na trwałe wyleczenie.

Mimo, że od dawna znamy te wszystkie niespójne fakty, przez wiele lat, raczej próbowano znaleźć wspólny mianownik dla wszystkich typów histologicznych i klinicznych raka jajnika niż zacząć poszukiwać różnic, które pozwoliłyby zdefiniować na nowo poszczególne jednostki określane wspólnym terminem – rak jajnika.

W 1999 roku Dubeau w swoim artykule pod znamienym tytułem („Czy król jest nagi?”) zasugerował, że rak jajnika nie pochodzi z komórek mezotelialnych, z których zbudowany jest NPJ, a z komórek pochodzenia Muellerowskiego. W rozwoju embrionalnym z przewodów Muellera wykształcają się macica, szyjka macicy, jajowody i gonada, jednak NPJ embrionalnie pochodzi z pośredniego *mezotelium*. Dubeau poddał analizie od dawna znane fakty i pokazał, że nabłonek niezłośliwych surowicznych gruczolaków jajnika jest bardzo podobny do nabłonka wyścielającego jajowód a gruczolaków śluzowych przypomina nabłonek kanału szyjki macicy, zaś endometrioidalny – endometrium, i są one zupełnie różne od niskich kuboidalnych komórek mezotelialnych wyścielających jajnik i narządy jamy brzusznej [4]. Dubeau zwrócił także uwagę na inne struktury pochodzenia Muellerowskiego obecne w bardzo bliskim sąsiedztwie lub nawet na powierzchni jajnika, które mogą ulegać przemianie złośliwej, a co udowodniono wiele lat temu w badaniach na szczurach [5]. Jest to tzw. wtórny system Muellerowski, na który składają się drobne tubularne struktury przylegające do jajowodu i jajnika a nawet wnikaące w jego wnękę, gdzie tworzą tzw. sieć jajnika (prawdopodobnie są to embrionalne resztki przewodów Wolfa) [6].

Teoria ta, odważna, bo obalająca prawie całą naszą wiedzę o histogenezie raka jajnika, wydająca się jednak niezwykle logiczną, wymagała zebrania dowodów naukowych na jej potwierdzenie. Nie łatwo było tego dokonać, ponieważ nie bardzo wiadano, w jaki sposób i gdzie szukać początków i kolejnych etapów karcinogenezy, ponieważ samo porównanie obrazów morfologicznych nie jest żadnym dowodem w tej kwestii. Należało poszukać, przede wszystkim, procesów łączących obecność, powszechnych w nabłonkach narządów płciowych komórek Muellerowskich w guzach jajnika oraz wyjaśnić, w jaki sposób znajdują się one nagle na powierzchni NPJ lub otrzewnej.

Z pomocą przyszedł, jak często bywa w biologii, przypadek. W 2001 roku Narod wraz z zespołem, zajmujący się pacjentkami, nosicielkami mutacji w genach *BRCA* spostrzegli, że kobiety, którym podwiązano jajowody znacznie rzadziej zapadały na raka jajnika (RR – 0,36). Jednak Narod nie powiązał faktu zamknięcia drogi transferu komórek z jajowodu do jajnika z hipotezą Dubeau [7, 8]. Tę zależność dostrzegli Pieck z zespołem z Uniwersytetu w Amsterdamie, którzy w odpowiedzi na badania Naroda oraz własne spostrzeżenia poczynione u nosicielek mutacji zasugerowali, że pierwotnym ogniskiem dla surowiczego raka jajnika może być jajowód [9]. W dopowiedzi na te sugestie Narod przeprowadził retrospektywnie ocenę morfologiczną profilaktycznie usuniętych jajowodów i potwierdził obecność wewnątrz nabłonkowych raków jajowodu przy braku ognisk nowotworu w NPJ oraz także współistniejących z rakiem jajnika [10]. Pierwszy krok do udowodnienia teorii Dubeau został uczyniony, znaleziono raki na bardzo wczesnym etapie ich rozwoju. Rok później wykazano, że rak surowiczy najczęściej rozwija się w strzępkach jajowodu [11]. Stało się wtedy jasne, że rak zainicjowany w jajowodzie u kobiet z zespołem *BRCA* może być tym samym surowiczym rakiem spostrzeganym w pełnoobjawowej chorobie.

W tym momencie, zdano sobie sprawę, że teoria Dubeau ma dużą szansę, aby zostać pozytywnie zweryfikowaną i zmienić nasze postrzeganie raka jajnika. Rozpoczął się czas intensywnych badań genetycznych i molekularnych, które miały krok po kroku wyjaśnić karcinogenezę raka jajnika. W 2005 roku wykazano,

że ekspresja genów z rodziny *HOX*, markerów różnicowania się nabłonka Muellerowskiego, jest powszechnie obecna w rakach jajnika, nie ma jej natomiast w NPJ [12]. W 2006 roku zbadano poszczególne etapy inicjacji i progresji karcinogenezy w jajowodzie. Wykazano, że prawidłowe morfologicznie komórki strzępek jajowodu wykazują ogniskową nadekspresję TP53. Mikrodysekcja tych komórek i dalsze badania DNA potwierdziły w nich obecność  $\gamma$ -H2AX, czyli ufosforylowanej formy rdzenia histonu H2AX, która pojawia się w bliskim sąsiedztwie uszkodzeń DNA. Wykazano także, że takie same mutacje w genie *TP53* są obecne ogniskowo w prawidłowym nabłonku (70% zgodności), w raku *in situ* jajowodu oraz w raku jajnika (100% zgodności) u nosicielek mutacji w *BRCA* [13]. To odkrycie potwierdziło ciągłość procesu karcinogenezy surowiczego raka jajnika G3 (taki występuje w zespole *BRCA*), który zostaje zainicjowany w strzępkach jajowodu. W 2007 roku ten sam zespół badaczy opublikował wyniki badań, w których potwierdzono identyczny model procesu karcinogenezy w rakach sporadycznych jajnika, nie związanych z mutacjami *BRCA* [14]. Jednak współistnienie raka *in situ* jajowodu i raka jajnika lub otrzewnej stwierdzono u 71% chorych. Świadczy to o tym, że pewna część surowicznych raków jajnika nie rozwija się pierwotnie w jajowodzie i należy szukać ich punktu wyjścia w innych strukturach.

Zwrócono uwagę, że możliwy jest też inny mechanizm rozwoju raka surowiczego w jajniku. Komórki strzępek jajowodu łatwo odłączają się od podścieliska i osadzają się w bliskim sąsiedztwie, czyli na powierzchni NPJ lub/i w narządach jamy brzusznej. Mogą trafić w miejsce uszkodzenia NPJ po przebytej owulacji, gdzie utworzą torbiel inkluzyjną wysłaną nabłonkiem Muellerowskim. Nie wiadomo, czy w tych torbielach też może rozwijać się rak, chociaż ostatnio udowodniono, że kobiety z torbielami inkluzyjnymi nie mają większego ryzyka zachorowania na raka jajnika [15]. Jednak torbiele były oceniane tylko w badaniu ultrasonograficznym, nie prowadzono ich oceny morfologicznej. W wielu innych badaniach wykazano, że pewna część raków surowicznych posiada wspólne molekularne cechy z rakami endometrioidalnymi. Są to mutacje w genach *KRAS* i *BRAS*, które doprowadzają do zwiększonej aktywności kinazy MAPK. Wiele wskazuje, że prekursorami tych raków są niezłośliwe nowotwory jajnika, które poprzez guzy graniczne przekształcają się w raka surowiczego lub endometrioidalnego. Ciągłość tego procesu potwierdzają właśnie badania szlaków molekularnych [16]. Prekursorami raka endometrioidalnego mogą być także ogniska endometriozy lub samo endometrium [17]. Rak śluzowy dzieli szereg wspólnych cech morfologicznych z rakami przewodu pokarmowego i tam należy szukać ich prekursorów. Rak jasno-komórkowy może rozwijać się z komórek gruczolowych kanału szyjki macicy lub także z ognisk endometriozy.

Nie wszystko jeszcze wiemy, wiele elementów procesu karcinogenezy, szczególnie w odniesieniu do innych typów niż surowiczy rak jajnika na zostało zweryfikowanych w badaniach molekularnych i biologicznych. Jednak powyższe odkrycia utwierdzają w przekonaniu, że teoria Dubeau jest słuszna. W 2004 roku, gdy pojawiły się już pierwsze doniesienia potwierdzające tezę o różnej histogenezie raków jajnika, Kurman zaproponował nowy ich podział [18]. (Tabela I). Zostały w nim powiązane znane fakty kliniczne, histologiczne i molekularne.

Raki typu I są klinicznie mniej złośliwe, zwykle rozpoznawane we wcześniejszych stadiach klinicznego zaawansowania.

Tabela I.

Typ I (25% zachorowań)	Typ II (75% zachorowań)
Rak surowiczy G1 i G2 Rak endometrioidalny G1 i G2 Rak śluzowy Rak jasnokomórkowy Rak Brennera	Rak surowiczy G3 Rak endometrioidalny G3 Rak niezróżnicowany G3 Mięsakorak
Mutacje <i>KRAS</i> , <i>PTEN</i> , <i>BRAS</i> , <i>PAX8</i>	Mutacje <i>TP53</i>
Rozpoznawane mniej zaawansowane	Rozpoznawane w III i IV stopniu zaawansowania
Wolny wzrost	Szybki wzrost
Mała wrażliwość na chemioterapię	Duża wrażliwość na chemioterapię
Rzadsze nawroty	Szybkie nawroty
Rokowanie dobre (80% 5-letnich przeżyć)	Rokowanie złe (90% chorych umiera)

Najczęściej są to raki surowicze i endometrioidalne. Rak typu II, odpowiedzialny jest za 75% zachorowań i ma bardzo niekorzystny przebieg kliniczny. Większości chorych nie udaje się wyleczyć.

Naukowcy są dzisiaj zgodni, że rak jajnika nie jest już homogeną jednostką chorobową. Należy wyróżnić kilka jego typów różniących się histogenezą, obrazem morfologicznym i klinicznym. Różne też są zaburzenia szlaków molekularnych charakteryzujące karcinogenezę w dwóch typach raka jajnika. Nowe spojrzenie na histogenezę raka jajnika niesie też za sobą konieczność weryfikacji metod stosowanych do jego rozpoznania i leczenia:

- Klasyfikacja raka do typu I lub II powinna być oparta na badaniu histologicznym, badaniach molekularnych i obrazie klinicznym.
- Niestety, obecnie stosowane metody wykorzystywane w skrinigu raczej nie mają racji bytu, co udowodniono już w dwóch dużych badaniach [19, 20].
- Należy prowadzić intensywne badania molekularne (genetyczne, transkryptomyczne i proteomiczne) w celu znalezienia brakujących ogniw rozwoju wszystkich typów raka jajnika; poznane już i udowodnione defekty genetyczne w rakach typu I mogą stać się celem skrinigu i terapii.
- Należy także zweryfikować nasze postępowanie kliniczne, poprzez ponowną ewaluację badań klinicznych, wyniki mogą być zaskakujące, może nie wszystkie raki jajnika będziemy leczyć chemioterapią (stosując skojarzone leczenie radioterapią i chemioterapią w rakach typu I uzyskano 40% redukcję śmiertelności chorych) [21].
- Należy także odnieść się do działań profilaktycznych w zakresie wykonywania salpingektomii nie tylko w zespołach BRCA – potrzebne są badania kliniczne w tym zakresie.

I na koniec pozostaje jeden, niezwykle interesujący element do wyjaśnienia: w jaki sposób antykoncepcja hormonalna, czyli zahamowanie owulacji ma tak wielką wartość protekcyjną w zachorowaniach na raka jajnika? Ten element, na razie, nie pasuje do wzoru.

## Piśmiennictwo

1. Nowak-Markwitz E, Jankowska A, Spaczyński M. Gonadotropiny a rak jajnika. *Ginekol Pol.* 2005, 76, 153-162.
2. Fathala M. Incessant ovulation – a factor in ovarian neoplasia? *Lancet.* 1971, 2, 163.
3. Jäger W, Wildt L, Lang N. Some observation on the effect of a GnRH analogue in ovarian cancer. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1989, 32, 137-148.
4. Dubeau L. The cell origin of ovarian epithelial tumors and the ovarian surface epithelium dogma: does the emperor have no clothes? *Gynecol Oncol.* 1999, 72, 437-442.
5. Rutgers J, Scully R. Cysts (cystadenomas) and tumors of the rete ovarii. *Int J Gynecol Pathol.* 1988, 7, 330-342.
6. Luchlan S. The secondary Mullerian system. *Obstet Gynecol.* 1972, 27, 133-146.
7. Narod S, Sun P, Ghardirian P, [et al.]. Tubal ligation and risk of ovarian cancer in carriers of BRCA1 and BRCA2 mutations: a case-control study. *Lancet.* 2001, 357, 1467-1470.
8. Colgan T, Murphy J, Cole D, [et al.]. Occult carcinoma in prophylactic oophorectomy specimens: prevalence and association with BRCA germline mutation status. *Am J Surg Pathol.* 2001, 25, 1283-1289.
9. Piek J, van Diest P, Zweemer R, [et al.]. Tubal ligation and risk of ovarian cancer. *Lancet.* 2001, 358, 844.
10. Finch A, Shaw P, Rosen B, [et al.]. Clinical and pathological findings of prophylactic salpingo-oophorectomies in 159 BRCA1 and BRCA2 carriers. *Gynecol Oncol.* 2006, 100, 58-64.
11. Medeiros F, Muto M, Lee Y, [et al.]. The tubal fimbria is a preferred site for early adenocarcinomas in women with familial ovarian cancer syndrome. *Am J Surg Pathol.* 2006, 30, 230-236.
12. Cheng W, Liu J, Yoshida H, [et al.]. Lineage infidelity of epithelial ovarian cancer is controlled by HOX genes that specify regional identity in the reproductive tract. *Nature Med.* 2005, 11, 531-537.
13. Lee Y, Miron A, Drapkin R, [et al.]. A candidate precursor to serous carcinoma that originates in the distal fallopian tube. *J Pathol.* 2007, 211, 26-35.
14. Kindelberger D, Lee Y, Miron A, [et al.]. Intraepithelial carcinoma of the fimbria and pelvic serous carcinoma: evidence for causal relationship. *Am J Surg Pathol.* 2007, 31, 161-169.
15. Sharma A, Gentry-Maharaj A, Burnell M, [et al.]. Assessing the malignant potential of ovarian inclusion cysts in postmenopausal women within the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS): a prospective cohort study. *BJOG.* 2011, 118, 1471.
16. Cho K, Shih I-M. Ovarian cancer. *Ann Rev Pathol Mech Dis.* 2009, 4, 287-313.
17. Dinulescu D, Ince T, Quade B, [et al.]. Role of K-ras and Pten in the development of mouse models of endometriosis and endometrioid ovarian cancer. *Nat Med.* 2005, 11, 63-70.
18. Shih I, Kurman R. Ovarian tumorigenesis: a proposed model based on morphological and molecular genetic analysis. *Am J Pathol.* 2004, 164, 1511-1518.
19. Menon U, Gentry-Maharaj A, Hallett R, [et al.]. Sensitivity and specificity of multimodal and ultrasound screening for ovarian cancer, and stage distribution of detected cancers: results of the prevalence screen of the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS) *Lancet Oncology.* 2009, 10, 327-340.
20. Partridge E, Kreimer A, Greenlee R, [et al.]. Results from four rounds of ovarian cancer screening in a randomized trial. *Gynecol Oncol.* 2009, 113, 775-782.
21. Swenerton K, Santos J, Gilks C, [et al.]. Histotype predicts the curative potential of radiotherapy. *Ann Oncol.* 2011, 22, 341-347.