

(A)

Από το Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής
Τομέας: Μορφολογικός-Κλινικοεργαστηριακός
Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: Καθηγητής Ν. Ι. Αγγάντη



202

ΑΝΟΣΟΙΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ

(ορμονικών υποδοχέων, δεικτών πολ/σμού, ογκογονιδίων και ογκοκατασταλτικών
γονιδίων, αντιαποπτωτικής πρωτεΐνης bcl-2, καθεψίνης D, μεταλλοθειονίνης και της
πρωτεΐνης p21) ΣΤΟ ΑΔΕΝΟΚΑΡΚΙΝΩΜΑ ΤΟΥ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟΥ

Ευαγγελία Γ. Κίτσιου

Ιατρός Παθολογοανατόμος

Διδακτορική διατριβή

Ιωάννινα 2000



«Η έγκριση της Διδακτορικής Διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα». Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2.



Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Νίκη Ι. Αγνά ν τ η

Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής
(Επιβλέπουσα)

Βασιλική Δ. Μαλάμου-Μήτση

Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής

Δημήτριος Λώλης

Καθηγητής Μαιευτικής - Γυναικολογικής Κλινικής



Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή

1. Νίκη Ι. Αγκάντη, Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρικής Σχολής, Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
2. Βασιλική Δ. Μαλάμου-Μήτση, Αναπληρωτής Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
3. Δημήτριος Λώλης, Καθηγητής Μαιευτικής - Γυναικολογίας, Ιατρικής Σχολής, Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
4. Ιωάννης Βαράκης, Καθηγής Ανατομίας-Ιστολογίας-Εμβρυολογίας, Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Πατρών.
5. Δημήτριος Στεφάνου, Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογικής Ανατομίας, Ιατρικής Σχολής, Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
6. Ευάγγελος Παρασκευαΐδης, Αναπληρωτής Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας, Ιατρικής σχολής, Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
7. Μαρία Μπάη, Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.



Θεωρώ καθήκον μου να εκφράσω την ευγνωμοσύνη και τις άπειρες ευχαριστίες μου προς την Καθηγήτριά της Παθολογικής Ανατομικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων Κα Νίκη Αγγάνη για την ανάθεση της παρούσας μελέτης, το αδιάπτωτο ενδιαφέρον και την καθοδήγησή της, καθώς και την παρασχεθείσα ευχέρεια εργαστηριακών μέσων.

Θερμότατα ευχαριστώ την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής Κα Βασιλική Μαλάμου-Μήτση, για την πολλαπλή βοήθεια και την εποικοδομητική εποπτεία, καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της παρούσας μελέτης.

Επίσης θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου, στον Καθηγητή Κο Δημήτριο Λώλη για τη συμμετοχή του στην τριμελή και επταμελή εξεταστική επιτροπή.

Θερμότατα επίσης ευχαριστώ τη Σεβαστή Διδάσκαλο και Διευθύντριά μου, Διευθύντρια της Παθολογικής Ανατομικής του ΓΠΝ «Γ. Χατζηκώστα» Κα Στέλλα Στεφανιάκη, για την ακούραστη συμπαράστασή της τόσο σε επιστημονικό όσο και σε προσωπικό επίπεδο, καθώς επίσης και για την εξασφάλιση του μεγαλύτερου μέρους του υλικού.

Ευχαριστώ θερμά επίσης την Διευθύντρια του Παθολογοανατομικού Εργαστηρίου ΓΠΑΝΠ-Μεταξά Κα Αραπαντώνη-Δαδιώτη Πετρούλα και την Επιμελήτρια Α' Κα Λέκκα Ιωάννα, για τη μεγάλη τους συμπαράσταση και βοήθεια στην ολοκλήρωση του υλικού.

Ιδιαίτερα ευχαριστώ επίσης την Επιμελήτρια Α' του Παθολογοανατομικού Εργαστηρίου του ΓΠΠΝΙ Κα Ιωακείμ Είλη για την πολλαπλώς προσφερθείσα επιστημονική βοήθεια, τις κατευθύνσεις και την μετά πολλού ενδιαφέροντος παρακολούθηση της όλης εργασίας.

Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω τη συνάδελφο Κα Καρασαβόγλου Αικατερίνη και τους παρασκευαστές του Παθολογοανατομικού Εργαστηρίου του Γεν. Περ. Νοσοκ. «Γ. Χατζηκώστα» και του Πανεπιστημιακού Παθολογοανατομικού Εργαστηρίου: Κα Ελένη Ιωάννου, Κα Αντιγόνη Χριστοδούλου και τον Κο Μιχάλη Αλεξίου για τη συμβολή τους στη διεκπεραίωση του τεχνικού μέρους της εργασίας.

Τέλος οφείλω ευχαριστίες στα μέλη της επταμελούς εξεταστικής επιτροπής για τις τελικές υποδείξεις του παρόντος κειμένου.



ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η ανάπτυξη και η εισαγωγή καθώς επίσης και η αυξανόμενη χρησιμοποίηση των μονοκλωνικών αντισωμάτων στην Ιατρική έναντι των πρωτεϊνών των ογκογονιδίων, των αντιογκογονιδίων ή και άλλων παραγόντων, όπως ορμονών, εκτός του γεγονότος ότι απέτέλεσε μεγάλη συμβολή, στην προσέγγιση της κατανόησης του πολυσταδιακού μηχανισμού της καρκινογένεσης, επέτρεψε και τον προσδιορισμό-τεκμηρίωση παραγόντων συσχετιζομένων με την πρόγνωση διαφόρων καρκινωμάτων, συμπεριλαμβανομένου και του ενδομητρίου καρκινώματος. Η μελέτη και η εφαρμογή αυτών των μονοκλωνικών αντισωμάτων σε συνδυασμό με άλλες κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους συνέβαλε αξιολογικά στην προσέγγιση της κατανόησης της ανάπτυξης του αφ' ενός, και αφ' ετέρου στον προσδιορισμό της πρόγνωσης του καθώς επίσης και στη θεραπευτική αντιμετώπισή του. Στα πλαίσια αυτών των ερευνών, με την παρούσα εργασία μελετάται η ανοσοϊστοχημική διερεύνηση ογκογονιδίων, αντιογκογονιδίων, δεικτών πολλαπλασιασμού, ορμονικών υποδοχέων και άλλων πιθανών προγνωστικών δεικτών στο αδενοκαρκίνωμα του ενδομητρίου σε σχέση και με κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους. Σκοπός είναι αφ' ενός μεν η πιθανή αιτιοπαθογενετική προσέγγιση της καρκινογένεσης του ενδομητρίου, αφ' ετέρου δε η προγνωστική αξιολόγηση των δεικτών αυτών σε σχέση με τη θεραπευτική αντιμετώπιση της νόσου.



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Σελίδα

ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ.....	2
ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟ	4
I. ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΑ	4
II. ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ	5
- Ορμονική ρύθμιση και ανταπόκριση του ενδομητρίου	6
- Φυσιολογικός καταμήνιος κύκλος	7
III. ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΑ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟΥ.....	9
A. Υπερπλασίες	9
B. Ενδομητρικές μεταλλάξεις.....	10
Γ. Ενδομητρικό καρκίνωμα	12
ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ.....	17
- Υποδοχείς στεροειδών ορμονών ενδομητρίου	17
- Δείκτες πολλαπλασιασμού.....	20
- Ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια	22
- Εκφραση του ογκογονιδίου c-erbB-2	23
- Εκφραση της p53 πρωτεΐνης.....	24
- Γονίδιο του ρετινοβλαστώματος (Rb).....	26
- Απόπτωση και εμπλεκόμενα γονίδια	27
- Εκφραση της bcl-2 πρωτεΐνης.....	28
- Εκφραση της καθεψίνης D	30
- Εκφραση της Μεταλλοθειονίνης	31
- Εκφραση της πρωτεΐνης p21.....	32



ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	35
ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ.....	35
Στατιστική επεξεργασία	38
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	39
1. Ανοσοϊστοχημική χρώση έκφρασης υποδοχέων οιστρογόνων (ER) και προγεστερόνης (PR).....	40
2. Ανοσοϊστοχημική χρώση έκφρασης δεικτών πολλαπλασιασμού MIB1 (Ki-67) και PCNA.....	41
3. Ανοσοϊστοχημική χρώση έκφρασης της c-erbB-2 πρωτεΐνης	44
4. Ανοσοϊστοχημική χρώση έκφρασης της p53 πρωτεΐνης.....	46
5. Ανοσοϊστοχημική χρώση έκφρασης της Rb πρωτεΐνης.....	47
6. Ανοσοϊστοχημική χρώση έκφρασης της bcl-2 πρωτεΐνης.....	50
7. Ανοσοϊστοχημική χρώση έκφρασης της καθεψίνης D.....	53
8. Ανοσοϊστοχημική χρώση έκφρασης της μεταλλοθειονίνης (ΜΘ).....	57
9. Ανοσοϊστοχημική χρώση έκφρασης της p21 πρωτεΐνης	60
Συνοπτικά αποτελέσματα	65
Συζήτηση	67
Περίληψη	75
Abstract	76
Βιβλιογραφία.....	79
 ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	
Εικόνες-Ιστογράμματα	



ΕΙΣΑΓΩΓΗ

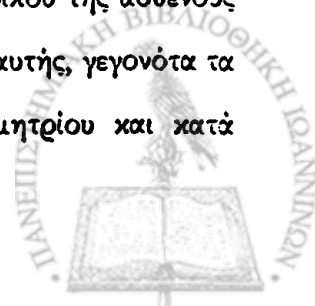
Το ενδομήτριο είναι ένας ορμονοεξαρτώμενος ιστός και χαρακτηρίζεται όλων των άλλων ιστών του οργανισμού μέσω της διαρκούς και κυκλικής μεταβολής της δομής του και της λειτουργίας του. Αποτελεί συχνά τον τόπο εκδήλωσης πολυάριθμων ορμονικών ή ιστικών ανωμαλιών καθώς επίσης και τον τόπο ενός συχνά εμφανιζόμενου καρκινώματος. Ως ορμονοεξαρτώμενος ιστός απετέλεσε το αντικείμενο εκτεταμένων ερευνών με σκοπό αφ' ενός μεν την αναζήτηση βιολογικών παραμέτρων πιθανόν εμπλεκομένων στην πολυσταδιακή διαδικασία της καρκινογένεσης και αφ' ετέρου την τεκμηρίωση παρουσίας δυνατών αλληλεπιδράσεων, οι οποίες θα μπορούσαν να συμβάλουν στην πρόγνωση, στη θεραπεία και ενδεχομένως στην πρόληψη των επερχομένων παθολογικών καταστάσεων του ενδομητρίου. Παρ' όλα αυτά οφείλει να σημειωθεί ότι η γνώση για τις γενετικές αλλοιώσεις που συνδέονται με την ανάπτυξη και πρόοδο του καρκινώματος είναι ακόμη περιορισμένη. Κατόπιν μελετών ταυτοποιήθηκαν μοριακές αλλοιώσεις ογκογονιδίων, οι οποίες πιθανόν να παίζουν ρόλο στην ανάπτυξη του ενδομητρικού καρκινώματος¹⁻⁷. Εκ των παραρμετρων αυτών μερικές συσχετίστηκαν με την παρουσία προχωρημένου σταδίου, υψηλού βαθμού κακοηθείας και φτωχής πρόγνωσης καρκινώματος.

Υπό το πρίσμα των ανωτέρω εκτεθέντων ερευνητικών μελετών στην παρούσα εργασία μελετάται η ανοσοϊστοχημική ανίχνευση ογκογονιδίων, αντιογκογονιδίων και άλλων πιθανών προγνωστικών δεικτών, η συσχέτιση με γνωστές κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους, με υποδοχείς οιστρογόνων και προγεστερόνης καθώς επίσης και με δείκτες πολυπλοκασισμού. Σκοπός είναι η προσπάθεια προσδιορισμού της σημασίας των δεικτών αυτών στη βιολογική συμπεριφορά του αδενοκαρκινώματος του ενδομητρίου, της πιθανής συμβολής τους σε αιτιοπαθογενετικές προσεγγίσεις της καρκινογένεσης του ενδομητρίου και κατά συνέπεια της πρόγνωσης της νόσου. Συγκριτικά μελετήθηκαν επίσης το φυσιολογικό και παθολογικό (υπερπλαστικό) ενδομήτριο.



ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Η πρώτη περιεκτική ανατομική περιγραφή της μήτρας έγινε από τον Έλληνα ιατρό Σωρανό της Εφέσου κατά το 2^ο αιώνα⁸. Κατά την περίοδο της αναγέννησης στην Ευρώπη επικρατούσαν κατά καιρούς διαφορετικές, ενίοτε λανθασμένες, απόψεις αναφορικά της ανατομικής δομής και της λειτουργίας της μήτρας. Επιστεύετο π.χ. ότι ο τράχηλος της τελευταίας ήταν σπογγώδους όψης-παρόμοιας-εξείνης των πνευμόνων και ότι συνέβαλε στη λειτουργία της αναπνοής. Σύμφωνα με τη θεωρία κατά την οποία η μήτρα αποτελείτο από πολλά διαμερίσματα (multi compartmentalized) επιστεύετο ακόμη, ότι η μήτρα απαρτήζετο από 7 θαλάμους. Η άποψη αυτή επικρατούσε για αιώνες, έως ότου και μέσω εισαγωγής στην ιατρική πράξη των νεκροτομών επετεύχθη καλύτερη μελέτη της ανατομίας και της δομής. Ο Leonardo da Vinci στο 15^ο αιώνα και ο Versalius στο 16^ο αιώνα κατέδειξαν ότι η ανθρώπινη μήτρα αποτελείται από μία μονήρη κοιλότητα, η οποία επενδύεται από φθαρτό και περιβάλλεται από μυϊκό τοίχωμα. Στο 18^ο αιώνα ο William Hunter περιέγραψε εγκυμονούσα μήτρα, περιλαμβανομένων του πλακούντα και του μητροπλακουντιακού αγγειακού συστήματος. Η ανάπτυξη της ιστολογίας και η δυνατότητα μικροσκοπικού ελέγχου της μήτρας οδήγησαν σε θεαματική αύξηση της γνώσης και ως εκ τούτου στη λεπτομερή περιγραφή της εμβρυολογίας αυτής στο 19^ο αιώνα. Αργότερα οι ορμονικά ελεγχόμενες και κυκλικά εμφανιζόμενες ενδομητρικές αλλοιώσεις περιεγράφησαν από τον Hirschmann και τον Adler⁹ και αργότερα από τον Robert Schroder στην αρχή του 20^{ου} αιώνα¹⁰⁻¹². Γενικώς η σημασία της μήτρας-ενδομητρίου ήτο σχεδόν πάντα με μυστήρια και ασάφειες συνδεδεμένη π. χ. η ορμονική ρυθμική κυκλική απάντηση του ενδομητρίου θεωρείτο ως φλεγμονώδης αλλοίωση. Αργότερα και συνεπεία της ορμονικής εξάρτησης του ενδομητρίου και των ποικίλων απαντήσεων αυτού στα διάφορα ερεθίσματα κατέστη αναγκαίος ο καθορισμός αυστηρών κριτηρίων για το διαχωρισμό των φυσιολογικών και παθολογικών καταστάσεων του. Μεγάλης σημασίας είναι ως εκ τούτου έως και σήμερα η γνώση της φυσιολογίας και παθολογίας του ενδομητρίου, ο ακριβής χρονικός προσανατολισμός ή και αποκλίσεις αυτού αναφορικά του κλινικού ιστορικού της ασθενούς καθώς επίσης και η προθυμία του ιατρού να ασχοληθεί με το πρόβλημα αυτής, γεγονότα τα οποία συμβάλλουν στη σωστή διάγνωση των αλλοιώσεων του ενδομητρίου και κατά



συνέπεια στη σωστή θεραπευτική αντιμετώπιση αυτών. Σημαντικό σαφώς ρόλο παίζουν επίσης η ικανότητα σύνθεσης των αλληλεπιδράσεων, η γνώση των νέων μεθόδων εξέτασης, η ανταλλαγή απόψεων σε διεθνές επίπεδο, η διαρκής μετεκπαίδευση με τη γνώση παλαιών και νεοεμφανιζόμενων νοσημάτων καθώς επίσης και η γνώση των νεοαναπτυχθέντων θεραπευτικών μεθόδων.

Αυτή λοιπόν η δυσκολία της ορμονικής επιβίεψης του ενδομητρίου έγκειται ακόμη έως και σήμερα γεγονός το οποίο επιτάσσει επιπρόσθετα και τη στενή συνεργασία του παθολογιο-ανατόμου και του κλινικού ιατρού.



ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟ

Το ενδομήτριο αποτελεί τμήμα των έσω γεννητικών οργάνων της γυναίκας και παριστά:

- Τον τόπο εμφύτευσης του γονιμοποιημένου ωαρίου.
- Ένα ιστικό υπόστρωμα της εμμήνου ρύσεως συμπεριλαμβανομένων και των ανωμαλιών του.
- Έναν δείκτη και συγχρόνως τον τόπο εκδήλωσης πολυάριθμων ανωμαλιών της ορμονικής ρύθμισης.
- Τον τόπο ανάπτυξης ενός συχνά εμφανιζόμενου καρκινώματος.

I. ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΑ

Το γεννητικό σύστημα του θήλεος περιλαμβάνει πρωτεύοντα, δευτερεύοντα και παραπληρωματικά όργανα. Πρωτεύοντα όργανα είναι οι ωθήκες, δευτερεύοντα οι σάλπιγγες, η μήτρα και ο κόλπος, παραπληρωματικά δε οι μαστοί.

Η μεσοβλάστη μετά την δημιουργία της διαφοροποιείται σε τρεις μοίρες

α) το πλάγιο πέταλο β) τη νωτιαία μοίρα, η οποία μεταμερίζεται σε αλληλοδοχικά τμήματα τους σωμίτες και γ) τη νεφρογόνο ταινία, η οποία διαχωρίζεται σε μικρά τμήματα, τα νεφροτόπια. Το ουριαίο τμήμα της νεφρογόνου ταινίας δεν μεταμερίζεται και καλείται νεφρογόνο βλάστημα. Εκ των νεφροτομιών διαπλάσσονται ο πρόνεφρος και ο μεσόνεφρος, εκ δε του νεφρογόνου βλαστήματος η εκκριτική μοίρα του μονίμου νεφρού. Από τα επτά αυχενικά νεφροτόπια τα οποία συμβάλλουν στη δημιουργία του προνέφρου δημιουργούνται αμφοτερόπλευρα ισάριθμα σωληνώδη, τα οποία συνεννούνται σχηματίζουν τους πόρους του Wolff. Από την εσωτερική πλευρά του μεσονέφρου και μέσω πάχυνσης του επικαλυπτικού αυτής επιθηλίου σχηματίζεται η γεννητική ταινία, η οποία μαζί με το μεσέγχυμα δημιουργεί τη γεννητική πτυχή. Από τη γεννητική πτυχή δημιουργούνται τα γονοκύτταρα ή βλαστικά κύτταρα, τα οποία μεταναστεύουν μέσα στις φλοιώδεις δοκίδες ή δοκίδες των Valentin-Pfluger. Αυτές κατανέμονται με τη μεσολάβηση του συνδετικού ιστού και σχηματίζονται έτσι τα πρωτογενή ωοθυλάκια. Το σύνολο αυτών των ωοθυλακίων με το συνδετικό υπόστρωμα και τα αγγεία αποτελούν την ωθήκη.



Κατά την 4^η εβδομάδα της εμβρυϊκής ζωής σχηματίζονται οι πόροι του Muller από την εξέλιξη ενός προσθίου νεφροτομίου. Από τα ανώτερα τμήματα των πόρων του Muller σχηματίζονται οι σάλπιγγες, ενώ από τα κατώτερα η μήτρα και ο κόλπος¹³⁻¹⁵.

II. ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ

Το ενδομήτριο του σώματος της μήτρας αποτελείται από:

1) Τη βασική μοίρα, η οποία υπάρχει πάντα ως στιβάδα αναγέννησης αυτού, μετά από κάθε έμμηνο ρύση και

2) Την υπερκείμενη αυτής λειτουργική μοίρα, η οποία κατά το 2^ο ήμισυ του καταμήνιου κύκλου διαφοροποιείται σε μια επιφανειακή συμπαγή και σε μια υποκείμενη σπογγώδη μοίρα, η οποία φθάνει έως την βασική. Η κάθε μοίρα του ενδομητρίου αποτελείται από:

α) ένα επιθηλιακό στοιχείο υπό την μορφή του αδενικού και του επιφανειακού επιθηλίου και

β) ένα μεσεγγυματικό στοιχείο υπό τη μορφή πολυδύναμων στρωματικών κυττάρων. Τα δομικά αυτά στοιχεία υφίστανται διάφορες αλλαγές κατά τη διάρκεια του κύκλου.

α) Επιθήλιο (αδενικό - επιφανειακό)

Το αδενικό επιθήλιο, το ύψος του οποίου ποικίλει ανάλογα της λειτουργικής κατάστασης αποτελείται από ένα στοιχείο κυλινδρικών κυττάρων. Κατά την παραγωγική φάση οι πυρήνες είναι επιμήκεις, πυκνοχρωματικοί, βασικά τοποθετημένοι και με μεγίστη DNA-περιεκτικότητα μεταξύ 10⁷⁵ και 16⁷⁵ μέρας του κύκλου¹⁶⁻²¹. Κατά την εκκριτική φάση οι πυρήνες γίνονται στρογγύλοι, ασκοειδείς, κεντρικά τοποθετημένοι με σταδιακά μειωμένη DNA-περιεκτικότητα. Το επιφανειακό επιθήλιο διαφέρει τόσο μορφολογικά όσο και λειτουργικά του αδενικού (Ackermann 1989). Ομοιότης παρατηρείται μόνον κατά την παραγωγική φάση.

β) Στρώμα

1) Στρωματικά κύτταρα

Πρόκειται για πολυδύναμα μεσεγγυματικά κύτταρα, τα οποία βρίσκονται σ'ένα χαλαρό υπόστρωμα δικτυωτών ινών, συνδεδεμένα μεταξύ τους μέσω κυτταροπλασματικών αποφυάδων. Αυτά κατά την πρώιμη παραγωγική φάση είναι ομοιόμορφα, ατρακτόμορφα, αδιαφοροποίητα με επιμήκεις πλούσιους σε χρωματίνη πυρήνες υποδηλώνοντας έτσι σαφή



DNA-νεοσχηματισμό¹⁹. Κατά το 2^ο ήμισυ της εκκριτικής φάσης τα στρωματικά κύτταρα της συμπαγούς μοίρας διαφοροποιούνται κατόπιν απώλειας της μιτωτικής τους δραστηριότητας προς δύο κατευθύνσεις²²:

α) Τα προφθαρικά κύτταρα και

β) Τα ενδομήτρια κοκκιοκύτταρα

Η προέλευση και η λειτουργία των κυττάρων αυτών έχουν ευρέως συζητηθεί στο παρελθόν. Εικάζεται, ότι είναι κοκκιώδη λεμφοκύτταρα (T- κυτταρικής αρχής), τα οποία πιθανόν εμπλέκονται στην ανοσολογική αντίδραση μεταξύ μητρικού και εμβρυϊκού ιστού. Εκτός των δύο αυτών διαφοροποιημένων κυτταρικών στοιχείων απαντώνται και άλλα κυτταρικά στοιχεία του στρώματος σε μικρό αριθμό, όπως λεμφοκύτταρα, ιστιοκύτταρα, μαστοκύτταρα, πλασματοκύτταρα και ηωσινόφιλα πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα

2) Δικτυωτές ίνες, η περιεκτικότητα των οποίων (ιδιαίτερα της λειτουργικής μοίρας) υφίσταται κατά τη διάρκεια του καταμηνίου κύκλου σημαντικές διακυμάνσεις.

3) Αγγεία. Κυκλικές ορμονικές μεταβολές υφίστανται τα αγγεία της λειτουργικής μοίρας του ενδομητρίου, συμπεριλαμβανομένων των τριχοειδών και των φλεβών, σε αντίθεση με τα αγγεία της βασικής μοίρας αυτού. Αυτά διαφέρουν τόσο ως προς τη δομή τους όσο και ως προς τη γρήγορη και ευαίσθητη αντίδρασή τους έναντι ορμονικών ερεθισμάτων, από τα αγγεία άλλων οργάνων και ιστών²³⁻²⁴.

Ορμονική ρύθμιση και ανταπόκριση του ενδομητρίου

1. Υποθάλαμο-ωθηχικός άξονας. Ο μηχανισμός της ρυθμικής αλληλεπίδρασης και διακύμανσης (Feedback) των υπό του υποθαλάμο-υποφυσιο-ωθηχικού άξονα εκκρινόμενων ουσιών (Releasing Hormones, GnRH), γοναδοτρόπων ορμονών (FSH, LH) οιστρογόνων και προγεστερόνης διακρίνεται σε θετικό και αρνητικό²⁵ και έχει ως σκοπό την δια των ωθηχικών ορμονών ανταπόκριση των τμημάτων του γεννητικού συστήματος (κόλπου, μήτρας και σαλπίνγων) ώστε να επέλθει πλήρης ωρίμανση αυτού, η οποία εκδηλώνεται με την εμφάνιση της εμμήνου ρύσεως.



2. Μοριακή βιολογία στεροειδών ορμονών ενδομητρίου

Οι στεροειδείς ορμόνες λόγω του χαμηλού τους ΜΒ, μπορούν να ανευρεθούν σ' όλα τα σωματικά κύτταρα, επιδρούν όμως μόνον σε όργανα στόχους. Αυτή λοιπόν η υψηλή έλξη έναντι των οργάνων δράσης, οφείλεται στην ικανότητα των κυττάρων των οργάνων αυτών σχηματισμού κυτταροπλασματικών πρωτεϊνών, των υποδοχέων, μετά των οποίων επιτυγχάνεται η σύνδεση των πρωτεϊνών. Οι υποδοχείς έχουν δύο βασικές λειτουργίες²⁶. 1) την αναγνώριση και την επιλογή της ειδικής ορμόνης στο ιστικό υγρό και 2) τη μεταφορά αυτής στον πυρήνα, όπου μέσω επίδρασης στο γένωμα μπορεί να προκαλέσει ειδικές κυτταρικές μεταβολές.

Η κυτταροπλασματική εντόπιση των υποδοχέων αμφισβητήθηκε από μερικούς ερευνητές²⁷.

Φυσιολογικός καταμήνιος κύκλος

Περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1908 από τους Hitschmann και Adler⁹.

Το ενδομήτριο χαρακτηρίζεται κυρίως όλων των άλλων ιστών του οργανισμού μέσω της διαρκούς και κυκλικής μεταβολής της δομής του και της λειτουργίας του. Ως όργανο αποδέκτης και επίδρασης των ωοθηκικών ορμονών, το ενδομήτριο αντιδρά με χρονικά ακριβείς δομικές αλλαγές των αδενίων του και του στρώματός του. Ο καταμήνιος κύκλος χωρίζεται έτσι σε δύο φάσεις διαρκείας 14 ημερών εκάστη α) την παραγωγική φάση, η οποία είναι υπό την επίδραση των παραγομένων στο ωοθυλάκιο οιστρογόνων και β) τη μετα-ωοθυλακιορρηχτική-εκκριτική φάση, η οποία είναι υπό την επίδραση και των δύο ορμονών, ιδιαίτερα δε από την στο ωχρό σωματίο σχηματιζόμενη προγεστερόνη.

Η παραγωγική φάση κάτω από φυσιολογικές συνθήκες υπόκειται διακυμάνσεων και ανέρχεται περίπου σε 10-20 ημέρες, χωρίζεται δε σε τρεις φάσεις: την πρώιμη ή αρχόμενη, τη μέση και την προχωρημένη.

-Η αρχόμενη παραγωγική φάση (1^η-7^η ημέρα επί κύκλου διαρκείας 28 ημερών) χαρακτηρίζεται από ολιγάριθμα, ευθέα, αδένια επικαλυπτόμενα από χαμηλό κυλινδρικό επιθήλιο, ευρισκομένων σε ένα πυκνό ατρακτοκυτταρικό στρώμα.

-Μέση παραγωγική φάση (8^η-10^η ημέρα επί κύκλου διαρκείας 28 ημερών)



Το ενδομήτριο καθίσταται παχύτερον, λόγω του εκτεταμένου στρωματικού οιδήματος, οφειλομένου στην οιστρογονική επίδραση. Τα αδένια αυξάνονται σε αριθμό και μέγεθος, είναι ελικοειδή, επικαλύπτονται από υψηλό κυλινδρικό επιθήλιο και εμφανίζουν μεγάλη μιτωτική δραστηριότητα. Τα στρωματικά κύτταρα είναι ατρακτοειδή και παρουσιάζουν επίσης ικανή μιτωτική δραστηριότητα.

-Προχωρημένη παραγωγική φάση (11^η-14^η ημέρα επί κύκλου διάρκειας 28 ημερών)

Χαρακτηρίζεται από την υποστροφή του οιδήματος, το οποίο οδηγεί παροδικά σε μείωση του πάχους του ενδομητρίου και από εμφανέστερη ελίκωση των διαρκώς αυξανόμενων αδενίων, που επικαλύπτονται από φαινομενικά στιβαδοποιημένο επιθήλιο.

Κατ' ακολουθίαν η εκκριτική ή ωχρινική φάση διαρκεί 14 ημέρες (± 1). Αύξηση ή μείωση κατά δύο ημέρες του χρονικού αυτού ορίου χαρακτηρίζεται ως παθολογική. Πρέπει να τονισθεί ότι οι ορμονικά προκληθείσες ιστολογικές και κυτταρικές αλλαγές στο ενδομήτριο δεν είναι πάντα ομοιόμορφες αλλά εστιακά εμφανίζουν διαφορετικά στάδια διαφοροποίησης. Οι διαφορές αυτές οφείλονται στη διαφορετική τοπική αιμάτωση, στο ποσοστό ορμονών των κυττάρων στόχος και γενικότερα στο μεταβολισμό των κυττάρων. Ως εκ τούτου ο καθορισμός της ημέρας απαιτεί την ανεύρεση των αναφερομένων αλλαγών στην πλειονότητα των κυττάρων.

Τα αδένια συνεχίζουν να επιμηκύνονται προσλαμβάνοντας μια περισσότερο ελκώδη εμφάνιση, με παρουσία υποπυρηνικών ή υπερπυρηνικών κενотоπιών, λόγω σχηματισμού γλυκογόνου. Το στρώμα εμφανίζει διακυμάνσεις με την παρουσία οιδήματος, των σπειροειδών αρτηριών και την φθαρτοειδή μετατροπή των στρωματικών κυττάρων καθώς και την παρουσία μικρών ενδομητρικών κοκκιοκυττάρων²². Οι αρτηρίες ενώ κατά την παραγωγική φάση έχουν ευθεία πορεία, στην εκκριτική φάση υπό την επίδραση της προγεστερόνης επιμηκύνονται, παχύνονται και γίνονται σπειροειδείς. Ενώ ο συνολικός όγκος του ενδομητρίου κατά την εκκριτική φάση διπλασιάζεται, ο όγκος των αγγείων τριπλασιάζεται και το μήκος των σπειροειδών αρτηριών πενταπλασιάζεται.

3. Εμμηνορρύση

Είναι η έκφραση μιας κυκλικά ορμονικής διέγερσης του ενδομητρίου, απουσία σύλληψης και υποδηλώνει το τέλος και την αρχή ενός ωοθητικού κύκλου.



Χαρακτηρίζεται από αιμορραγική διαπότιση του επιφανειακού στρώματος, την παρουσία ουδετεροφίλων πολυμορφοπυρήνων λευκοκυττάρων, την απώλεια υγρών, την συρρίκνωση του ενδομητρίου, τη σύμπτωση των σπειροειδών αρτηριών και φλεβών, την ενεργοποίηση των ινδοδολυτικών ενζύμων και τέλος τη διάσπαση των στρωματικών ινών^{22, 28-36}.

III. ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΑ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟΥ

A. Υπερπλασίες

Η υπερπλασία του ενδομητρίου αποτελεί μία ετερογενή ομάδα ανώμαλων αυξητικών καταστάσεων, μερικές εκ των οποίων είναι πρόδρομοι του ενδομητρικού καρκινώματος και οφείλονται στην παρατεταμένη οιστρογονική διέγερση αυτού ελλείψει μιας αντιρροπιστικής προγεστερονικής δράσης. Πρόκειται για μια πολύπλοκη διεργασία και αναπαριστά συνδυασμό αρχιτεκτονικής, πυρηνικής και κυτταρολογικής μεταβολής. Χαρακτηρίζεται από υπερπλασία των αδενίων, ακανονίστου μεγέθους και μορφής και από αύξηση της σχέσης αδενίων/στρώματος, συγκριτικά με παραγωγικό φυσιολογικό ενδομήτριο. Είναι διάχυτη χωρίς όμως να είναι απαραίτητη όλη η κατάληψη του ενδομητρίου. Απαντάται κυρίως περιεμμηνοπαυσιακά και εκδηλούται υπό τη μορφή δυσλειτουργικών αιμορραγιών.

Διακρίνονται δύο κατηγορίες υπερπλασίας ενδομητρίου

-Υπερπλασία χωρίς κυτταρική ατυπία και

-Υπερπλασία με κυτταρική ατυπία

Παλαιότερα οι υπερπλασίες διακρίνονταν σε απλή (simple) και σύνθετη (complex) σε σχέση με την πολυπλοκότητα και την κατανομή των αδενίων. Η ταξινόμηση των υπερπλασιών βασίζεται στη φυσική εξέλιξη της νόσου, όπως κατεδείχθη κατόπιν μακροχρόνιων μελετών³⁷⁻³⁹. Η προταθείσα σήμερα από τη Διεθνή Εταιρεία των εξειδικευμένων Παθολογοανατόμων στη Γυναικολογία (International Society of Gynecological Pathologists) και την Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας (World Health Organisation-WHO) ταξινόμηση βασίζεται σε κυτταρολογικές και αρχιτεκτονικές διαταραχές.



Έτσι η υπερπλασία του ενδομητρίου χωρίζεται σε:

- Απλή υπερπλασία χωρίς ατυπία
- Απλή υπερπλασία με ατυπία
- Σύνθετη υπερπλασία χωρίς ατυπία
- Σύνθετη υπερπλασία με ατυπία

Αίτια υπερπλασίας

1. Επίμονο ωοθυλάκιο, που διατηρεί υψηλά τα επίπεδα των οιστρογόνων για μεγάλο χρονικό διάστημα²².
2. Επαναλαμβανόμενοι ανωορρηκτικοί κύκλοι με περιορισμένη παραμονή των ωοθυλακίων (πολυκυστική νόσος) (Stein-Leventhal syndrome) (Ackerman 1989)
3. Σοβαρή ωχρινική ανεπάρκεια ή ανεπαρκές ωοθυλάκιο με παραγωγή ανδρογόνων (Novak and Woodruff 1979)
4. Επαναλαμβανόμενα άτρητα ωοθυλάκια με υπερπλασία των οιστρογόνο-εκκριτικών κυττάρων της θήκης
5. Εξωγενείς παράγοντες: οιστρογόνο-θεραπεία (Ackerman 1989)
6. Ενδογενείς παθολογικές καταστάσεις όπως:
 - Στρωματική υπερπλασία ωοθηκών
 - Αντιδραστικές μορφές γύρω από μη οιστρογόνο-παραγωγούς όγκους της ωοθήκης⁴³.
 - Υπερπλασία κυττάρων της πύλης της ωοθήκης
 - Θηλώματα και κοκκιοκυτταρικοί όγκοι ωοθήκης

Το πλέον σημαντικό στην εκτίμηση της ενδομητρικής υπερπλασίας είναι η παρουσία ή μη της κυτταρικής ατυπίας, καθ' ότι αποτελεί αξιόλογο στοιχείο στον καθορισμό της δυνητικότητας εξέλιξης αυτής σε καρκίνωμα ενδομητρίου⁴¹⁺⁴². Η κυτταρική ατυπία χαρακτηρίζεται από στιβαδοποίηση, διαταραχή προσανατολισμού, αύξηση της σχέσης πυρήνα-κυτταροπλάσματος και ποικίλει τόσο ποιοτικά όσο και ποσοτικά. Η διαβάθμιση αυτής σε ήπια, μέτρια και ικανή είναι υποκειμενική. Η μέση διάρκεια εξέλιξης μιας υπερπλασίας χωρίς ατυπία σε καρκίνωμα ανέρχεται σε περίπου 10 έτη³⁹ και σε 4 έτη μιας άτυπης υπερπλασίας. Πρέπει να αναφερθεί ότι η άτυπη υπερπλασία δεν είναι ο πρόδρομος όλων των τύπων ενδομητρικού καρκινώματος, αλλά ενός τύπου που χαρακτηρίζεται από αργή ανάπτυξη και χαμηλή επιθετικότητα.



Τα καρκινώματα τα αναπτυχθέντα σε έδαφος υπερπλασίας έχουν καλύτερη πορεία^{39,43} σε σύγκριση με εκείνα που δεν σχετίζονται με υπερπλασία. Ενίοτε είναι δύσκολη η διαφορική διάγνωση μιας άτυπης υπερπλασίας από ένα καλά διαφοροποιημένο καρκίνωμα ενδομητρίου. Αν και έχουν ταυτοποιηθεί διάφορα αντιγόνα στο υπερπλαστικό ενδομήτριο, κανένα εξ αυτών δεν φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στην πρόγνωση της υπερπλασίας ή στη διαφορική διάγνωση μεταξύ της άτυπης υπερπλασίας και ενός καλά διαφοροποιημένου καρκινώματος. Το αυτό ισχύει και για τις τεχνικές της μοριακής βιολογίας σχετικά με τη διάγνωση και την πρόγνωση της υπερπλασίας.

Η θεραπεία είναι αποτέλεσμα συνεκτίμησης κλινικών στοιχείων και μικροσκοπικών ευρημάτων⁴⁴. Τα πλέον σημαντικά στοιχεία είναι η ηλικία (προεμμηνοπαυσιακές, περιεμμηνοπαυσιακές και μετεμμηνοπαυσιακές) καθώς και η παρουσία κυτταρικής ατυπίας. Σε περιπτώσεις απλής ή σύνθετης υπερπλασίας, χωρίς ατυπία, ακολουθείται συντηρητική αγωγή ακόμη και αν ο κίνδυνος εξέλιξης σε καρκίνωμα είναι μικρός (1-2%). Στην περίπτωση αυτή παρακολούθηση και περιοδικές διαγνωστικές αποξέσεις επαρκούν³⁹. Σε περιπτώσεις άτυπης υπερπλασίας εφαρμόζεται ορμονική θεραπεία, παρακολούθηση με περιοδικές διαγνωστικές αποξέσεις ή και υστερεκτομή λαμβανομένων υπ' όψιν και άλλων παραγόντων επικινδυνότητας.

B. Ενδομητρίκες μεταλλάξεις

Μετάπλαση ορίζεται ως η αντικατάσταση ενός τύπου ωρίμου ιστού από έναν άλλο, ο οποίος φυσιολογικά δεν απαντάται στην περιοχή αυτή και αναπαριστά μία ποικιλία αρχιτεκτονικών και κυτταροπλασματικών αλλοιώσεων. Απαντώνται σε φυσιολογικά ενδομήτρια και μπορεί να είναι εστιακές ή και διάχυτες όταν συνυπάρχουν με υπερπλασία, καθ' ότι οφείλονται σε εξωγενή ή ενδογενή υπεροιστρογονισμό⁴⁵⁻⁴⁷.

Σύμφωνα με την ταξινόμηση της WHO οι μεταλλάξεις διακρίνονται σε: πλακώδη, βλενώδη, σαλπγγική, με προπίπτοντες πυρήνες (hobnail), διαυγοκυτταρική, ηωσινοφιλική, επιφανειακή συγκυτιακή και θηλώδη.

Οι ηωσινοφιλικές μεταλλάξεις είναι οι πλέον συχνές και είναι αβλαβείς.



Η πλακώδης μετάπλαση μπορεί να εμφανισθεί σ' όλους τους τύπους της υπερπλασίας ή και σε καρκινώματα. Είναι συχνότερη στις άτυπες ενδομητρικές υπερπλασίες και σπανιότερη σε φυσιολογικό ενδομήτριο ή σε απλή και σύνθετη υπερπλασία χωρίς ατυπία.

Συχνά συνυπάρχει με ηωσινόφιλη μετάπλαση, γεγονός που υποδηλώνει τη στενή σχέση αυτών των αλλοιώσεων.

Η σκίπιγγική μετάπλαση απαντάται περιστασιακά σε μεμονωμένα αδένια ατροφικού ή ανενεργούς ενδομητρίου ή σε πολύποδες απουσία υπερπλασίας.

Εκκριτική και διαυγοκυτταρική μετάπλαση μπορεί να απαντηθεί σε φυσιολογικό ενδομήτριο, αλλά συνυπάρχει περισσότερο με υπερπλασία ή καρκίνωμα⁴⁸⁻⁴⁹.

Η βλενώδης μετάπλαση είναι σπάνια, με εστιακή κατανομή και συνήθως συνδυάζεται με άτυπη υπερπλασία.

Συχνή είναι η ανάμειξη διαφόρων τύπων μεταπλασιών.

Θα πρέπει να τονισθεί ότι η ταυτοποίηση των μεταπλασιών έχει σημασία στη διαφορική διάγνωση μιας υπερπλασίας ή ενός καρκινώματος.

Γ. Ενδομητρικό καρκίνωμα

Είναι το πλέον συχνό διηθητικό νεόπλασμα του γεννητικού συστήματος των γυναικών και το 4^ο σε συχνότητα διαγνωσθέν καρκίνωμα στις Η.Π.Α.

Σε παγκόσμια κλίμακα διαγιγνώσκονται ετησίως περίπου 150.000 νέες περιπτώσεις⁵², γεγονός που οδηγεί στη διαπίστωση, ότι το ενδομητρικό καρκίνωμα αποτελεί το 5^ο σε συχνότητα καρκίνωμα των γυναικών. Η παρουσία των ενδομητρικών καρκινωμάτων ποικίλει ευρέως ανά τον κόσμο. Στις αναπτυσσόμενες χώρες (Ασία, Αφρική και Ν. Αμερική) καθώς και στην Ιαπωνία είναι 4-5 φορές χαμηλότερα εκείνης των βιομηχανικά ανεπτυγμένων χωρών της Ευρώπης και της Βόρειας Αμερικής⁵¹. Κατόπιν μελετών παρατηρήθηκε υψηλή επίπτωση ενδομητρικού καρκινώματος μεταξύ συγγενών⁵²⁻⁵⁴ και υποστηρίχθη ότι υπάρχει γενετική προδιάθεση. Μόνο 2% των καρκινωμάτων του σώματος της μήτρας αφορούν ηλικίες κάτω των 40 ετών⁵⁵⁻⁵⁶, ενώ σπάνια αναπτύσσονται σε συνδυασμό με ενδομήτρια κύηση⁵⁷ και σε κορίτσια κάτω των 12 ετών⁵⁸. Κατεδείχθη ότι γυναίκες που ελάμβαναν μόνον



οιστρογόνα για πλέον των 2 ετών έχουν 2-3 φορές αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ενδομητρίου καρκινώματος, συγκριτικά με γυναίκες που ελάμβαναν και προγεστερόνη σε συνδυασμό με οιστρογόνα⁵⁹. Πτώση του ποσοστού του ενδομητρίου καρκινώματος παρατηρήθηκε σε γυναίκες ηλικίας 50 ετών, ενώ αυξητική τάση του ποσοστού παρατηρήθηκε σε γυναίκες ηλικίας άνω των 60 ετών. Η αύξηση του ενδομητρίου καρκινώματος, που εμφανίζεται στις περισσότερες χώρες οφείλεται ακόμη εν μέρει στο μεγαλύτερο μέσο όρο ζωής του πληθυσμού και προφανώς δεν συνδέεται με την έκθεση σε οιστρογόνα. Άλλοι παράγοντες, οι οποίοι συνδέονται με την καρκινογένεση και μπορούν να αυξήσουν τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκινώματος είναι η παχυσαρκία, επαναλαμβανόμενοι ανωορρηκτικοί κύκλοι⁶²⁻⁶³, η υπέρταση, πιθανόν ο σακχαρώδης διαβήτης⁶¹⁻⁶² καθώς και διαιτητικοί παράγοντες, όπως η κατανάλωση μεγάλων ποσοτήτων ζωϊκού λίπους^{64,65}. Αντιθέτως παράγοντες που ελαττώνουν τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκινώματος είναι προγεστερόνη στην θεραπεία υποκατάστασης, η λήψη αντισυλληπτικών ή το κάπνισμα^{66,67}. Στην καρκινογένεση του ενδομητρίου καρκινώματος η λήψη Ταμοξιφαίνης φαίνεται επίσης ότι ενοχοποιείται.

Διακρίνουμε δύο τύπους ενδομητρίου καρκινώματος διαφορετικών επιδημιολογικά, από την παρουσία και την εξέλιξή τους. 1) ένα ορμονοεξαρτώμενο (οιστρογονοεξαρτώμενο), το οποίο εμφανίζεται σε νεαρές, περιεμμηνόπαυσιακές γυναίκες και τείνει να είναι χαμηλού βαθμού κακοηθείας (type I)⁶⁸⁻⁶⁹ και 2) ένα μη οιστρογονοεξαρτώμενο καρκίνωμα, το οποίο εμφανίζεται σε μετεμμηνόπαυσιακές γυναίκες^{70,71} (type II) και είναι συχνά υψηλού βαθμού κακοηθείας συγκριτικά με του τύπου I. Τα καρκινώματα τύπου I συνδέονται συχνά με συνυπάρχουσα άτυπη υπερπλασία απ' ότι του τύπου II⁷². Κατόπιν μελετών η υπερπλασία θεωρήθηκε ως μια προκαρκινοματώδης κατάσταση. Το ¼ των άτυπων υπερπλασιών εξελίσσονται σε καλά διαφοροποιημένα ενδομητρικά καρκινώματα, υποδηλώνοντας έτσι ότι αυτή αποτελεί πρόδρομο του ενδομητρίου καρκινώματος³⁹ και μάλιστα τύπου I.



Κατά την World Health Organization (WHO) και την International Society of Gynecological Pathologists (ISGYP)⁷³ η ταξινόμηση των ενδομητρίων καρκινωμάτων

έχει ως εξής :

Ενδομητριοειδές αδενοκαρκίνωμα

-Λαχνοαδενικό

-Εκκριτικό

-Κροσσωτό

-Ενδομητριοειδές με πλακώδη διαφοροποίηση

Ορώδες καρκίνωμα

Διαυγοκυτταρικό καρκίνωμα

Βλενώδες καρκίνωμα

Πλακώδες καρκίνωμα

Μικτοί τύποι καρκινώματος

Αδιαφοροποίητο καρκίνωμα

Ενδομητριοειδές καρκίνωμα

Είναι ο πλέον συχνός τύπος του ενδομητρίου καρκινώματος ανερχόμενος σε $\frac{3}{4}$ όλων των περιπτώσεων. Εξ' ορισμού ο τύπος αυτός δεν περιέχει εστίες πλέον του 10% πλακώδους, ορώδους, βλενώδους ή διαυγοκυτταρικής διαφοροποίησης. Ο μέσος όρος ηλικίας εμφάνισης του καρκινώματος είναι το 59^ο έτος. Η πλειονότητα των γυναικών είναι μετεμμηνοπαυσιακές (σπάνια σε νεαρές γυναίκες). Σε νέες γυναίκες οι όγκοι είναι γενικώς χαμηλού βαθμού κακοηθείας, ελάχιστα διηθητικοί και έχουν αρίστη πρόγνωση⁷⁴.

Τα περισσότερα ενδομητριοειδή καρκινώματα είναι καλά διαφοροποιημένα. Ο βαθμός διαφοροποίησης του όγκου, βασίζεται στο αρχιτεκτονικό πρότυπο ανάπτυξης, στην πυρηνική ατυπία ή και στα δύο. Ο αρχιτεκτονικός βαθμός κακοηθείας καθορίζεται από τη συμμετοχή συμπαγών ή αδενικών σχηματισμών όπως φαίνεται στον Πίνακα 1. Σε ενδομητριοειδή καρκινώματα με πλακώδη διαφοροποίηση θα πρέπει να αποκλείονται οι περιοχές αυτές στον καθορισμό του βαθμού διαφοροποίησης.



Πίνακας 1: Αρχιτεκτονικός βαθμός κακοηθείας ενδομητρίου καρκινώματος

Grade 1: Συμπαγείς περιοχές: < 5% του όγκου

Grade 2: Συμπαγείς περιοχές: 6%-50% του όγκου

Grade 3: Συμπαγείς περιοχές > 50% του όγκου

Ο πυρηνικός βαθμός κακοηθείας καθορίζεται από την ποικιλία του μεγέθους και σχήματος του πυρήνα, την κατανομή της χρωματίνης και το μέγεθος του πυρήνιου. Η μιτωτική δραστηριότητα είναι μία ανεξάρτητη ιστολογική παράμετρος και είναι αυξημένη, με την παρουσία και άτυπων μιτώσεων, αυξανόμενου του πυρηνικού βαθμού κακοηθείας (Πίνακας 2)

Πίνακας 2: Πυρηνικός βαθμός κακοηθείας ενδομητρίου καρκινώματος

Grade 1: Κύτταρα με ωοειδείς πυρήνες και ομαλή κατανομή χρωματίνης

Grade 2: Κύτταρα με πυρήνες, οι οποίοι έχουν χαρακτηριστικά μεταξύ grade 1 και 3

Grade 3: Κύτταρα με σαφώς ευμεγέθεις πολύμορφους πυρήνες, ανομοιογενή κατανομή της χρωματίνης και εμφανή ηωσινόφιλα πυρήνια.

Σύμφωνα με την πλέον πρόσφατη αναθεώρηση του συστήματος σταδιοποίησης της Διεθνούς Ένωσης Γυναικολόγων-Μαιευτήρων (International-Federation of Gynecology and Obstetrics-FIGO)⁷⁵ και της WHO για την ιστολογική ταξινόμηση του βαθμού διαφοροποίησης των ενδομητρίων καρκινωμάτων θα πρέπει να λαμβάνονται υπ' όψιν και τα δύο κριτήρια, ο αρχιτεκτονικός και ο πυρηνικός βαθμός κακοηθείας.

Ετερογένεια του βαθμού διαφοροποίησης μπορεί να παρατηρηθεί μεταξύ ξεσμάτων και δειγμάτων υστερεκτομής σε 20 έως 30% των περιπτώσεων^{49,76-78}.

Το στάδιο του καρκινώματος αντικατοπτρίζει την έκταση της νόσου κατά τη στιγμή της διάγνωσης. Είναι βασική η σταδιοποίηση του όγκου για τον καθορισμό της πρόγνωσης και της θεραπείας. Η προταθείσα σήμερα ταξινόμηση της FIGO βασίστηκε σε προηγούμενη σταδιοποίηση του 1988 (Πίνακας 3)⁷⁵.



Η παθολογοανατομική ανάλυση περιλαμβάνει, το βαθμό διαφοροποίησης του όγκου, το βάθος διήθησης του μυομητρίου, τον καθορισμό της ενδοτραχηλικής ανάπτυξης, των εξαρτημάτων, την εκτίμηση των πυελικών και παρααορτικών λεμφαδένων καθώς επίσης και του περιτοναϊκού υγρού.

Πίνακας 3: Σταδιοποίηση ενδομητρικού καρκινώματος κατά FIGO 1988

- Ia Ογκος περιοριζόμενος στο ενδομήτριο
- Ib Διήθηση < 1/2 του μυομητρίου
- Ic Διήθηση > 1/2 του μυομητρίου
- IIa Διήθηση μόνο του ενδοτραχηλικού επιθηλίου
- IIb Διήθηση του στρώματος του ενδοτραχήλου
- IIIa Διήθηση του ορογόνου και/ή των εξαρτημάτων και/ή θετική περιτοναϊκή κυτταρολογία
- IIIb Κολπικές μεταστάσεις
- IIIc Μεταστάσεις στην πύελο και/ή παρααορτικούς λεμφαδένες
- IVa Διασπορά ή διήθηση της ουροδόχου κύστης ή του εντερικού βλεννογόνου
- IVb Απομακρυσμένες μεταστάσεις συμπεριλαμβανομένων των ενδοκοιλιακών και / ή λαγόνιων λεμφαδένων.

Οι παράγοντες, οι οποίοι καθορίζουν την πορεία της νόσου διακρίνονται σε α) ενδομητρικούς (ιστολογικός τύπος, βαθμός διαφοροποίησης, βάθος διήθησης μυομητρίου, τραχηλική ανάπτυξη, αγγειακή διήθηση, παρουσία άτυπης ενδομητρικής υπερπλασίας, επίπεδα υποδοχέων προγεστερόνης και αναλύσεις DNA και β) εξωμητρικούς (επέκταση στα εξαρτήματα, ενδοπεριτοναϊκή μετάσταση, θετική περιτοναϊκή κυτταρολογία, θετικοί πυελικοί και παρααορτικοί λεμφαδένες⁷⁹, ηλικία, φυλή καθώς και κοινωνιοοικονομική κατάσταση^{80,81}).

Το κύριο πρόβλημα στη διαφορική διάγνωση, είναι η διάκριση ενός χαμηλού βαθμού κακοηθούς ενδομητρικού καρκινώματος από την άτυπη υπερπλασία, το άτυπο πολυποδοειδές αδενώμα, την υπερπλασία με ποικίλους τύπους μεταπλάσεων, την αντίδραση Arias-Stella και το εμμηνορυσιακό ενδομήτριο.



Πρόβλημα διαφορικής διάγνωσης τίθεται επίσης και στη διάκριση ενός ενδομητρίου καρκινώματος από ένα πρωτοπαθές καρκίνωμα ενδοτραχήλου. Η παρουσία ενδομητρίου υπερπλασίας συνηγορεί υπέρ ενός πρωτοπαθούς καρκινώματος ενδομητρίου, ενώ η παρουσία πλακώδους ενδοεπιθηλιακής αλλοίωσης υπέρ καρκινώματος του τραχήλου. Η διάκριση ενός πρωτοπαθούς ενδομητρίου καρκινώματος από ένα μεταστατικό εξωμητρίου προέλευσης καρκίνωμα αποτελεί επίσης πρόβλημα διαφορικής διάγνωσης. Διαφοροδιαγνωστικό πρόβλημα προκύπτει επίσης μεταξύ ενός υψηλού βαθμού κακοηθούς ενδομητριοειδούς καρκινώματος και ενός κακοήθους μικτού μεσοδερματικής προέλευσης όγκου. Ο τελευταίος είναι πολύ επιθετικό νεόπλασμα με πολύ κακή πρόγνωση απ' ό,τι τα επιθηλιοειδή νεοπλασμάτα. Το ενδομητριοειδές καρκίνωμα μεθίσταται λεμφογενώς, αιματογενώς, κατά συνέχεια ιστών, μέσω περιτοναίου ή διασαλπινγικά⁸². Λεμφογενείς μεταστάσεις είναι 3 φορές συχνότερες απ' ό,τι οι αιματογενείς⁸³. Βασική θεραπεία στο ενδομητρικό καρκίνωμα είναι η ολική υστερεκτομή. Κατά καιρούς εφαρμόστηκε προεγχειρητική ή μετεγχειρητική ακτινοθεραπεία και χημειοθεραπεία. Η νέα σύγχρονη αντιμετώπιση είναι να θεραπεύονται όλοι οι ασθενείς με υστερεκτομή, εφ' όσον είναι δυνατόν και συμπληρωματικά μετεγχειρητική ακτινοθεραπεία, για ασθενείς με δυσμενείς προγνωστικούς παραμέτρους, οι οποίοι συνηγορούν για έναν αυξημένο κίνδυνο υποτροπής. Μελέτες που πρότειναν τη χρήση της βοηθητικής ορμονικής ή κυτταροτοξικής χημειοθεραπείας δεν έδειξαν βελτίωση της επιβίωσης συγκριτικά εκείνης της χειρουργικής αφαίρεσης ή της ακτινοβολίας και συνεπώς προς το παρόν δεν αναφέρονται ως σταθερή θεραπεία. Σε αντίθεση, ακτινοβολία, ορμονική θεραπεία και κυτταροτοξική χημειοθεραπεία χρησιμοποιούνται σε ασθενείς με υποτροπιάζοντες όγκους⁸⁴.



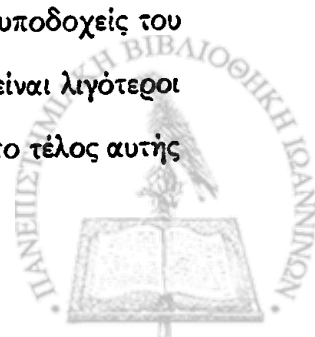
ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Μετρήσεις DNA: Τα 2/3 των ενδομητρίων καρκινωμάτων είναι διπλοειδικά. Ανευπλοειδισμός εμφανίζεται σε μόνο 16% των όγκων σταδίου I. Το 1/2 των όγκων που υποτροπιάζουν είναι ανευπλοειδικοί⁸⁵. Αν και ο πλοειδισμός του DNA (DNA-ploidy) συσχετίζεται με το βαθμό κχοηθείας, το βάθος διήθησης του μυομητρίου και το επίπεδο των ορμονικών υποδοχέων⁸⁵, πολυπαραγοντικές αναλύσεις δείχνουν ότι είναι ανεξάρτητος παράγων επικινδυνότητας^{86,87}. Σε μια μεγάλη μελέτη βρέθηκε, ότι σε κλινικό στάδιο III και IV μετρήσεις DNA στη φάση S του κυτταρικού κύκλου, αποτελούσαν ισχυρό προγνωστικό παράγοντα για την έκβαση της νόσου⁸⁸.

Κυτταρογενετικές μεταβολές: Αν και τα πλείστα των ενδομητρίων καρκινωμάτων είναι διπλοειδικά σε αναλύσεις κυτταρομετρίας ροής, κατεδείχθη, ότι και οι δύο υπο- και υπερδιπλοειδικοί πληθυσμοί είναι εξίσου συχνοί^{89,90}. Τρισωμία ή τετρασωμία του μακρού σκέλους του χρωμοσώματος 1 είναι η πλέον συχνή ανιχνευθείσα ανωμαλία^{91,92} αλλά και μια ποικιλία άλλων ανωμαλιών έχουν βρεθεί^{71,93-95}. Η προγνωστική τους όμως αξία δεν έχει ακόμη προσδιορισθεί.

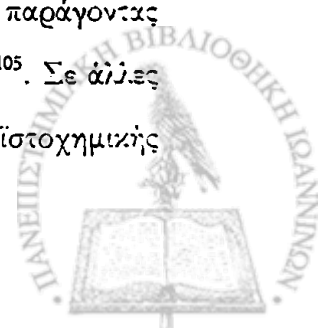
Υποδοχείς στεροειδών ορμονών ενδομητρίου

Ο αριθμός υποδοχέων των οιστρογόνων (ER) και προγεστερόνης (PR) παρουσιάζει διακυμάνσεις κατά τη διάρκεια του καταμήνιου κύκλου. Έχει βρεθεί ότι δείγματα ενδομητρίου από διαφορετικές θέσεις της μήτρας, παρουσιάζουν διαφορές στην ποσότητα της δεσμευμένης οιστραδιόλης⁹⁶, προφανώς λόγω της διαφορετικής αγγειακής παροχής και της διαφορετικής κατανομής των ενδογενών ορμονών. Η συγκέντρωση υποδοχέων οιστρογόνων και προγεστερόνης είναι υψηλότερη στην περιοχή του πυθμένα συγκριτικά με τις άλλες περιοχές της μήτρας. Κατά την παραγωγική φάση του κύκλου παρατηρείται σταδιακή αύξηση με επίτευξη των υψηλότερων επιπέδων υποδοχέων οιστραδιόλης (ER) κατά το τέλος αυτής⁹⁷. Η αύξηση αφορά τους πυρηνικούς υποδοχείς, ενώ οι υποδοχείς του κυτταροπλάσματος παραμένουν σταθεροί. Οι υποδοχείς της προγεστερόνης είναι λιγότεροι σε αριθμό εκείνων των οιστρογόνων στην αρχόμενη παραγωγική φάση, ενώ στο τέλος αυτής



αυξάνονται σημαντικά⁹⁸ συμβαδίζοντας έτσι με την αύξηση της οιστραδιόλης του πλάσματος. Με την είσοδο της εκκριτικής φάσης παρατηρείται απότομη πτώση των ολικών υποδοχέων οιστραδιόλης, η οποία οφείλεται στη μείωση των κυτταροπλασματικών υποδοχέων. Η μείωση αυτή συνεχίζεται και στο τέλος αυτής παρατηρούνται τα χαμηλότερα επίπεδα υποδοχέων οιστραδιόλης²². Μείωση παρατηρείται και των ολικών υποδοχέων προγεστερόνης με απότομη πτώση των κυτταροπλασματικών υποδοχέων. Οι πυρηνικοί υποδοχείς προγεστερόνης παραμένουν στα υψηλότερα επίπεδα, συμβαδίζοντας έτσι με την έκκριση της προγεστερόνης από το ωχρό σώμα. Στο τέλος της εκκριτικής φάσης ελαττώνονται και οι πυρηνικοί υποδοχείς φθάνοντας στα επίπεδα της αρχόμενης παραγωγικής φάσης του κύκλου. Αξιοσημείωτο είναι ότι η βασική μοίρα του ενδομητρίου εμφανίζει μία σταθερή συγκέντρωση υποδοχέων, ανεξάρτητα από τη φάση του κύκλου.

Οι ορμονικοί υποδοχείς μπορούν να προσδιορισθούν με ανοσοϊστοχημικές τεχνικές και τη χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων και δίδουν κυρίως ενδοπυρηνική αντίδραση. Αν και δεν έχει ακόμη πλήρως διευκρινισθεί η σημασία των ER και PR, όπως στο καρκίνωμα του μαστού, εν τούτοις φαίνεται ότι τα επίπεδα των ER/PR έχουν προγνωστική σημασία στους γυναικολογικούς όγκους και ιδιαίτερα στο καρκίνωμα του ενδομητρίου⁹⁹. Η πλέον ακριβής μέθοδος καθορισμού μέτρησης των ER/PR στους ιστούς είναι η βιοχημική, η οποία απαιτεί τομές ψυκτικού. Αν και η λειτουργία των υποδοχέων είναι εντελώς ασθενής, εν τούτοις έχουν ανιχνευθεί ανοσολογικά επιτόπια των ER/PR μετά από μονιμοποίηση των ιστών με φορμόλη και έγκλειση αυτών σε παραφίνη. Έτσι λοιπόν είναι δυνατή η χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων για ER και PR και η εφαρμογή ανοσοϊστοχημικών τεχνικών και ως εκ τούτου η ανίχνευση αυτών¹⁰⁰. Και οι δύο ER και PR δείχνουν κυρίως ενδοπυρηνική χρώση. Ανοσοϊστοχημικές μέθοδοι ανίχνευσης των ER και PR έχουν επιπρόσθετα το πλεονέκτημα δυνατότητας καθορισμού της κατανομής αυτών τόσο στον νεοπλασματικό ιστό όσο και στον παρακείμενο φυσιολογικό ιστό¹⁰¹. Σε μερικές περιπτώσεις η βιοχημική μέθοδος μπορεί να δώσει εσφαλμένα θετικά αποτελέσματα όταν το προς εξέταση δείγμα συμπεριέχει φυσιολογικό μυομήτριο¹⁰²⁻¹⁰⁴. Σε μερικές μελέτες η ανοσοϊστοχημική ανίχνευση των ER ήταν ο πλέον σημαντικός προγνωστικός παράγοντας όσον αφορά την επιβίωση και πλεονεκτούσε έναντι της βιοχημικής μεθόδου^{104,105}. Σε άλλες μελέτες ανεφέρθη μια καλή συσχέτιση μεταξύ της βιοχημικής και ανοσοϊστοχημικής



μεθόδου καθορισμού των ER και PR. Στο παραγωγικό ενδομήτριο η έκφραση ER/PR ήταν μεγαλύτερη απ' ό,τι στο εκκριτικό¹⁰⁶. Έκφραση ER παρόμοια με του κυκλικού ενδομητρίου παρατηρείται και στις εστίες ενδομητρίωσης¹⁰⁶. Η έκφραση των PR είναι συχνά περισσότερο θετική στην υπερπλασία χωρίς ατυπία απ' ό,τι στην άτυπη¹⁰⁷. Στο ενδομητρικό καρκίνωμα η PR έκφραση είναι περισσότερο ετερογενής και εκφράζεται ασθενέστερα συγκριτικά με εκείνη της υπερπλασίας του ενδομητρίου¹⁰⁷. Διαφορετική έκφραση των ER/PR έχει αναφερθεί μεταξύ πρωτοπαθών και μεταστατικών καρκινωμάτων του ενδομητρίου, γεγονός το οποίο μπορεί να έχει σημασία στον καθορισμό της απάντησης αυτών στην ορμονική θεραπεία¹⁰⁸. Η έκφραση των ER/PR είναι περισσότερο συχνή στα καλά διαφοροποιημένα καρκινώματα¹⁰⁹ και σχετίζεται με καλύτερη πρόγνωση^{103,110-113}. Σε μία άλλη μελέτη βρέθηκε ότι ενδομητρικά καρκινώματα σχετιζόμενα με υπερπλασία είναι περισσότερο πιθανόν να είναι οιστρογονοεξαρτώμενα και έχουν μία σημαντικά υψηλότερη επικράτηση της PR- έκφρασης και καλύτερη πρόγνωση¹¹⁴. Αν και υπάρχει η άποψη ότι ER/PR θετικά ενδομητρικά καρκινώματα απαντούν περισσότερο συχνά στην ορμονοθεραπεία, για την τεκμηρίωση αυτής της άποψης απαιτούνται περισσότερες μελέτες. Έχει βρεθεί ότι η ανοσοϊστοχημική θετικότητα για ER και PR συσχετίζεται θετικά με το στάδιο, το βαθμό κακοήθειας, και την επιβίωση^{105,109,111,115}. Σε άλλη μελέτη βρέθηκε ότι αρνητική έκφραση των υποδοχέων προγεστερόνης, τόσο προεγχειρητικά όσο και μετεγχειρητικά, συσχετίστηκε με την παρουσία λεμφαδενικών μεταστάσεων και θεωρήθηκε ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης του καρκινώματος του ενδομητρίου¹¹⁶.

Δείκτες πολλαπλασιασμού

Ο καθορισμός της αυξητικής δραστηριότητας σε όγκους, έχει θεωρηθεί σαν ένας χρήσιμος προγνωστικός δείκτης σε πολλά κακοήθη νεοπλασμάτα, μεταξύ των οποίων και το ενδομητρικό καρκίνωμα. Σε ανοσοϊστοχημικό επίπεδο, η εκτίμηση του ρυθμού πολλαπλασιασμού των κυτταρικών στοιχείων, επιτυγχάνεται με την ανίχνευση δύο γνωστών αντιγόνων: του Ki-67 και του PCNA.

Το μονοκλωνικό αντίσωμα Ki-67, το οποίο για πρώτη φορά περιγράφηκε από τον Gerdes¹¹⁷ το 1983, ανιχνεύει ένα πυρηνικό αντιγόνο, το οποίο είναι παρόν σε όλες τις φάσεις

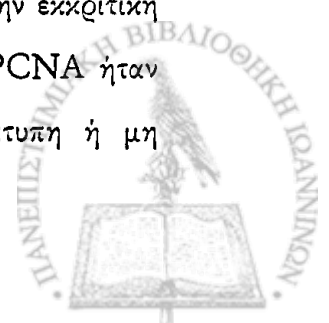


του κυτταρικού κύκλου, εκτός από την φάση G₀. Η ανοσοϊστοχημική ανίχνευση του Ki-67 ήταν δυνατή αρχικά μόνο σε τομές ψυκτικού, ενώ πρόσφατα επιτυγχάνεται και σε τομές παραφίνης. Το μονοκλωνικό αντίσωμα MIB1 μπορεί να ανιχνεύσει αυτόν το δείκτη πολλαπλασιασμού, με καλά αποτελέσματα σε τομές παραφίνης. Η ανοσοϊστοχημική του έκφραση συνδυάζεται με ανευπλοειδικούς όγκους, με υψηλό μιτωτικό δείκτη, υψηλό βαθμό κακοηθείας, και απουσία οιστρογονικών και προγεστερονικών υποδοχέων και φαίνεται να αποτελεί έναν ανεξάρτητο, δυσμενή προγνωστικό παράγοντα για τον καρκίνο του μαστού.

Σε καρκινώματα ενδομητρίου εκτίμησαν τους δείκτες πολλαπλασιασμού Ki-67 και PCNA σε μια προσπάθεια συσχέτισης της έκφρασης αυτών με διάφορες ιστοπαθολογικές παραμέτρους.

Αυξημένη έκφραση του δείκτη Ki-67 συσχετίζεται με το βαθμό κακοηθείας, αρχιτεκτονικό και πυρηνικό^{88,118,119}, το στάδιο του καρκινώματος¹¹⁸, τον ιστολογικό τύπο¹¹⁸, με ανευπλοειδικούς όγκους¹¹⁹ και αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη, που σχετίζεται με την επιβίωση¹¹⁸⁻¹²⁰. Μειωμένη έκφραση του δείκτη Ki-67 έχει παρατηρηθεί, σε θέσεις πλακώδους διαφοροποίησης σε σχέση με το παρακείμενο καρκίνωμα^{122,123}, καθώς και σε καρκινώματα ενδοκρινικής διαφοροποίησης¹²³. Επίσης έχει βρεθεί ότι μετά από θεραπεία με προγεστερόνη, παρατηρήθηκε μείωση της έκφρασης του Ki-67 και ως εκ τούτου θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σαν δείκτης ανταπόκρισης στη θεραπεία¹²². Υπερέκφραση του δείκτη Ki-67 ήταν ανεξάρτητη της θεραπευτικής αγωγής με Ταμοξιφαίνη¹²⁴. Άλλες μελέτες έδειξαν ότι δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση της έκφρασης του δείκτη Ki-67 με το στάδιο ή τον ιστοπαθολογικό υπότυπο του καρκινώματος¹¹⁹.

Η πρωτεΐνη PCNA είναι μία βοηθητική πρωτεΐνη της DNA πολυμεράσης, είναι απαραίτητη για τη σύνθεση του DNA και εκφράζεται σε μεγάλη συγκέντρωση κατά την διάρκεια του κυτταρικού κύκλου¹²⁵. Συντίθεται κατά το τέλος της G₁ και S φάσης του κυτταρικού κύκλου και συνεπώς συσχετίζεται με τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων^{126,127}. Η ανίχνευση του PCNA σε τομές παραφίνης, που μονιμοποιήθηκαν σε φορμόλη επιτυγχάνεται με το μονοκλωνικό αντίσωμα PC10^{125,128}. Στο φυσιολογικό ενδομήτριο η έκφραση του PCNA είναι μέγιστη στην παραγωγική φάση σε αντίθεση με την εκκριτική φάση του κύκλου ή με μετεμμηνοπαυσιακά ενδομήτρια¹²⁹. Η έκφραση του PCNA ήταν σημαντικά υψηλότερη σε ενδομητρικά καρκινώματα σε σχέση με την άτυπη ή μη

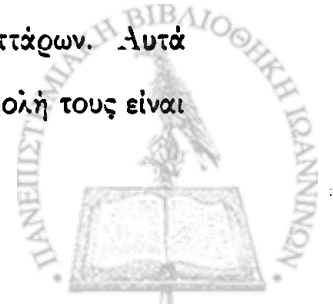


υπερπλασία¹³⁰, ενώ σε άλλη μελέτη παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά της έκφρασης του PCNA των προεμμηνοπαυσιακών ενδομητρικών καρκινωμάτων από εκείνη της παραγωγικής φάσης του κύκλου και της υπερπλασίας¹²⁹. Σε μετεμμηνοπαυσιακά ενδομητρικά καρκινώματα η έκφραση του PCNA ήταν σημαντικά υψηλότερη εκείνης του φυσιολογικού μετεμμηνοπαυσιακού ενδομητρίου¹²⁹. Μειωμένη έκφραση του δείκτη PCNA βρέθηκε σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες¹³¹ και μάλιστα σε γυναίκες που είχαν λάβει θεραπεία υποκατάστασης με οιστρογόνα, συγκριτικά με γυναίκες οι οποίες ποτέ δεν έλαβαν οιστρογονική θεραπεία¹³². Σε καρκινώματα ενδομητρίου βρέθηκε ότι αυξημένη έκφραση του PCNA συσχετίστηκε με το βαθμό κακοηθείας^{119,129,133}, το στάδιο του καρκινώματος^{129,133,134}, τη διήθηση αγγείων¹²⁹, την παρουσία λεμφαδενικών μεταστάσεων¹²⁹, και την επιβίωση^{121,129,133,135}.

Άλλοι συγγραφείς δεν βρήκαν συσχέτιση του δείκτη PCNA με το βαθμό κακοηθείας¹³⁴, το στάδιο του όγκου^{119,132}, την ύπαρξη λεμφαδενικών μεταστάσεων¹¹⁶, τον ιστοπαθολογικό υπότυπο¹¹⁹ και την επιβίωση^{119,135}. Η σημαντικότης λοιπόν αυτών των ευρημάτων δεν είναι σαφής. Ανοσοϊστοχημικές μελέτες για κατανόηση των αντιγόνων που σχετίζονται με τον κυτταρικό κύκλο όπως το Ki-67 και PCNA αντιγόνο¹³⁶, καθώς και η μέθοδος αργύρου^{137,138}, δεν βοήθησαν στη διαφορική διάγνωση μεταξύ μιας άτυπης υπερπλασίας και ενός καλά διαφοροποιημένου καρκινώματος. Πάντως παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση των δύο δεικτών μεταξύ τους σε καρκινώματα ενδομητρίου καθώς και συσχέτιση αυτών με την φάση S του κυτταρικού κύκλου με μεθόδους κυτταρομετρίας ροής¹¹⁹.

Ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια

Ως ογκογονίδια χαρακτηρίζονται τα γονίδια εκείνα των οποίων η ανώμαλη έκφραση ή το αλλοιωμένο γονιδιακό προϊόν τους καθορίζει άμεσα την επαγωγή κακοήθους φαινοτύπου. Στην ανακάλυψη των ογκογονιδίων συνετέλεσαν μακρόχρονες μελέτες των ογκογόνων RNA-ρετροϊών¹³⁹ και τα περισσότερα εξ αυτών απομονώθηκαν από τους τελευταίους¹⁴⁰. Τα ογκογονίδια θεωρούνται η ενεργοποιημένη μορφή των ονομαζομένων πρωτοογκογονιδίων, τα οποία απαντώνται στο γενετικό υλικό όλων των ευκαρυωτικών κυττάρων. Αυτά αποκωδικοποιούν πληροφορίες σύνθεσης πρωτεϊνών και ως εκ τούτου η συμβολή τους είναι



μεγάλη στην ανάπτυξη και διαφοροποίηση του κυττάρου. Οι πρωτεΐνες αυτές λειτουργούν ως παράγοντες ανάπτυξης, ως μεταβιβαστές σημάτων της κυτταρικής μεμβράνης και ως πυρηνικές πρωτεΐνες, οι οποίες ρυθμίζουν την έκφραση άλλων γονιδίων^{139,141}. Κατόπιν των μηχανισμών, της γνωστής, ως ενεργοποίηση του ογκογονιδίου, διεργασίας, επιτυγχάνεται η μετατροπή του πρωτοογκογονιδίου σε ογκογονίδιο γεγονός γενετικά κρίσιμο, το οποίο συμμετέχει στη νεοπλασματική μετατροπή¹⁴¹. Υπάρχουν διάφοροι μηχανισμοί ενεργοποίησης των πρωτοογκογονιδίων και μετατροπής τους σε ογκογονίδια^{140,142,143} και σε μερικά εξ αυτών έχει αποδειχθεί η νεοπλασματική τους δράση¹⁴¹ και η σχέση τους με την εμφάνιση καρκίνου στον άνθρωπο¹³⁹. Τα ογκογονίδια διακρίνονται σε δύο είδη α) τα εξωγενή ή ιικά (viral ή v-oncogenes) και β) τα ενδογενή ή κυτταρικά (cellular ή c-oncogenes)¹⁴³. Οι πρωτεΐνες που κωδικοποιούνται από τα γονίδια, ανευρίσκονται και ανιχνεύονται είτε στον πυρήνα, είτε στο κυτταρόπλασμα είτε στην κυτταροπλασματική μεμβράνη ή και στον εξωκυττάριο ακόμη χώρο¹⁴¹.

Ως αντιογκογονίδια ορίζονται τα γονίδια εκείνα των οποίων η καταστολή, η απενεργοποίηση, η δυσλειτουργία ή η εξάλειψη οδηγεί στην κυτταρική μετατροπή και ως ογκοκατασταλτικά ογκογονίδια τα γονίδια εκείνα των οποίων η ύπαρξη ή η ενεργοποίηση οδηγεί στην παρακάλυψη ή στην καταστολή του ογκογόνου φαινοτύπου¹⁴¹.

Η ανίχνευση των πρωτεϊνών των ογκογονιδίων και αντιογκογονιδίων, επιτυγχάνεται με μονοκλωνικά αντισώματα γεγονός που επιτρέπει την ακριβή μελέτη αυτών και ως εκ τούτου την πιθανή χρησιμοποίησή τους ως προγνωστικών ή προληπτικών δεικτών.

Έκφραση του ογκογονιδίου c-erbB-2

Το ογκογονίδιο c-erbB-2 εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 17 στη θέση 21 (17q21) και κωδικοποιεί την έκφραση μιας διαμεμβρανικής φωσφογλυκοπρωτεΐνης, με ΜΒ 185 kDa, με δράση κινάσης της τυροσίνης και ρόλο υποδοχέα αυξητικών παραγόντων¹⁴⁴. Η πρωτεΐνη αυτή εμφανίζει παρόμοια δομή αλλά διαφορετική βιολογική συμπεριφορά από τον υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR). Ποιούς αυξητικούς παράγοντες δευμεύει παραμένει ακόμη ασαφές. Η ταυτοποίησή της γίνεται με ανοσοϊστοχημικές μεθόδους.



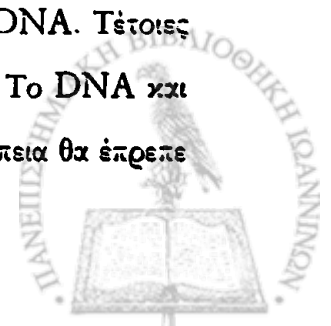
Το c-erbB-2 για πρώτη φορά αναγνωρίστηκε σαν ένα ογκογονίδιο, που σχετίστηκε με ογκογένεση σε ποντίκια εκτεθειμένα σε τερατογόνους παράγοντες. Η ενεργοποίηση του c-erbB-2 ογκογονιδίου σχετίστηκε με την πρόγνωση ορμονοεξαρτώμενων όγκων, όπως του μαστού και της ωοθήκης^{145,146}. Στη συνέχεια ακολούθησαν μελέτες και σε άλλους όγκους περιλαμβανομένου και του καρκινώματος του ενδομητρίου^{147,148}.

Έκφραση του ογκογονιδίου c-erbB-2 έχει βρεθεί σε διάφορα καρκινώματα και σε μερικές περιπτώσεις συσχετίστηκε με πτωχή πρόγνωση.

Υπερέκφραση του c-erbB-2 ανιχνεύθηκε σε 10-15% των ενδομητρίων καρκινωμάτων¹⁴⁹. Η έκφραση αυτή ήταν μεγαλύτερη στα καρκινώματα του ενδομητρίου σε σχέση με το φυσιολογικό ενδομήτριο¹⁴⁹. Σε χαμηλότερα ποσοστά έκφραση του c-erbB-2 διαπιστώθηκε σε άτυπες υπερπλασίες σε σχέση με τα καρκινώματα, ενώ απουσίαζε από το φυσιολογικό ενδομήτριο¹⁵⁰. Στο ενδομητρικό καρκίνωμα θετικότητα του c-erbB-2 σχετίστηκε με τον τύπο του καρκινώματος και ιδιαίτερα με το διαυγοκυτταρικό τύπο^{151,152}. Οι περισσότεροι ερευνητές βρήκαν, ότι η έκφραση του c-erbB-2 στο ενδομητρικό καρκίνωμα δεν συσχετίστηκε με το βαθμό κακοηθείας του όγκου¹⁵¹, το στάδιο του καρκινώματος^{133,151}, τη διήθηση αγγείων¹⁵¹, την επιβίωση^{133,151,153}, την ύπαρξη λεμφαδενικών μεταστάσεων¹⁵⁴ και την υποτροπή της νόσου¹⁵⁴. Μερικοί ερευνητές υποστηρίζουν ότι η έκφραση του c-erbB-2 σχετίζεται με προχωρημένο στάδιο^{149,150}, μεταστατική νόσο^{148,149}, αυξημένη θνησιμότητα¹⁴⁹, μειωμένη έκφραση υποδοχέων οιστρογόνων¹⁴⁹ και υψηλό δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού^{150,155}. Κατ' άλλους ερευνητές η υπερέκφραση αυτού του γονιδίου συσχετίστηκε με μια επιβραδυνόμενη επιθετικότητα των ελεύθερων νόσου διαστημάτων¹⁵⁶.

Έκφραση της p53 πρωτεΐνης

Η φυσιολογική πρωτεΐνη p53 (wild type) είναι μια φωσφοπρωτεΐνη, η οποία ασκεί ρυθμιστική-ανασταλτική δράση στην καρκινογένεση, δρώντας έγκαιρα στη φάση G₁ του κυτταρικού κύκλου¹⁵⁷. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η φυσιολογική αυτή πρωτεΐνη καθυστερεί τη μίτωση στην φάση G₁ του κυτταρικού κύκλου όταν υπάρχουν βλάβες στο DNA. Τέτοιες βλάβες προκαλούνται κυρίως σε περιπτώσεις αυξημένου οξειδωτικού στρες. Το DNA και το RNA, αν και είναι τα βασικότερα συστατικά των κυττάρων και κατά συνέπεια θα έπρεπε



να είναι καλύτερα προστατευόμενα, είναι ευαίσθητα και υπόκεινται σε βλάβες προκαλούμενες από ελεύθερες ρίζες *in vivo*. Οξειδωτικές τροποποιήσεις αυτών των νουκλεϊκών πολυμερών συνεπάγονται την αναστολή τόσο της μεταγραφής όσο και του διπλασιασμού του DNA ή ακόμη και πρόκληση μεταλλάξεων οι οποίες μπορούν να οδηγήσουν στο θάνατο του κυττάρου. Το ποσοστό των οξειδωτικών βλαβών στο DNA, ακόμη και κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, είναι αρκετά υψηλό και υπολογίζεται ότι μια βάση στις 130.000 είναι τροποποιημένη οξειδωτικά. Οι βλάβες στο μιτοχονδριακό DNA φαίνεται να είναι περισσότερες και υπολογίζονται σε μια τροποποιημένη βάση ανά 80.000. Η δράση της πρωτεΐνης p53 μπορεί να παρέχει τον απαιτούμενο χρόνο σε ένζυμα επιδιόρθωσης του DNA έτσι ώστε να απαλείψουν τις βλάβες πριν συνεχισθεί η μίτωση. Στην περίπτωση κατά την οποία οι βλάβες στο DNA είναι πολλές και πιθανόν μη επιδιορθώσιμες τότε το p53 προκαλεί την απόπτωση του κυττάρου. Μεταλλαγμένο p53 επιτρέπει σε DNA με βλάβες να προχωρήσει στον κυτταρικό κύκλο, με αποτέλεσμα την ανάπτυξη όγκων στις περισσότερες περιπτώσεις¹⁵⁸. Ταυτόχρονες μελέτες με PCR (για την μετάλλαξη του p53) και ανοσοϊστοχημείας σε καρκινώματα ενδομητρίου έδειξαν αντικρουόμενα αποτελέσματα. Μερικοί συγγραφείς πιστεύουν ότι υπερέκφραση της p53 πρωτεΐνης δεν συνοδεύεται πάντοτε από αντίστοιχες γονιδιακές μεταλλάξεις^{159,160}, γεγονός που μπορεί να οφείλεται στη σταθεροποίηση της πρωτεΐνης, πιθανώς μέσω του mdm2 γονιδίου, ενώ άλλοι πιστεύουν, ότι συνυπάρχουν και μεταλλάξεις του p53 γονιδίου¹⁶¹⁻¹⁶³. Η παρουσία των τελευταίων βρέθηκε ότι συσχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ενδομητρικού καρκινώματος¹⁶⁴ και με χειρότερη πρόγνωση του καρκινώματος¹⁶⁵. Η υπερέκφραση της p53 πρωτεΐνης έχει μειωτηθεί εκτεταμένα σε καρκινώματα ενδομητρίου και όπως και στα περισσότερα κακοήγη νεοπλασμάτα συσχετίστηκε με επιθετική συμπεριφορά. P53 πρωτεΐνη εκφράστηκε σε μεγαλύτερα ποσοστά σε άτυπη υπερπλασία και σε καρκινώματα ενδομητρίου απ' ότι σε καλοήθεις καταστάσεις¹⁶⁶, ενώ απουσία υπερέκφρασης ή ελάχιστη έκφραση αυτής σημειώθηκε σε άτυπες υπερπλασίες από άλλους ερευνητές^{155,167-170}. Το τελευταίο εύρημα υποδηλώνει την εμπλοκή του p53 γονιδίου σε τελικά στάδια της καρκινογένεσης του ενδομητρικού καρκινώματος^{168,170,171}.

Οι περισσότεροι ερευνητές συμφωνούν, ότι υπερέκφραση της p53 πρωτεΐνης συσχετίζεται με το βαθμό διαφοροποίησης του όγκου^{135,150,151,164-166,172-178}, το στάδιο του



καρκινώματος^{116,133,135,150,151,162,171,174,178,179} τη διήθηση αγγείων¹⁷⁸, την ύπαρξη λεμφαδενικών μεταστάσεων^{150,166,171,177}, την πλακώδη διαφοροποίηση¹⁶⁶, την επιβίωση^{118,133,135,151,153,165,171,174,176,180} και το αυξητικό δυναμικό του όγκου^{133,150,155,176,177}. Η έκφραση της p53 πρωτεΐνης συσχετίστηκε με τον τύπο του καρκινώματος και συγκεκριμένα βρέθηκε, ότι ήταν μεγαλύτερη στα ορώδη^{135,171,173,179,181-183} και θηλώδη^{151,165,171,179,184} καρκινώματα απ' ότι στα ενδομητριοειδή, ενώ τα διαυγοκυτταρικά καρκινώματα δεν παρουσίαζαν υπερέκφραση της p53 πρωτεΐνης¹⁷⁷. Συσχέτιση της υπερέκφρασης της p53 πρωτεΐνης παρατηρήθηκε επίσης με την έκφραση του c-erbB-2^{133,135,150}. Υπερέκφραση της p53 πρωτεΐνης ήταν περισσότερο συχνή σε οιστρογονοανεξάρτητα καρκινώματα ενδομητρίου¹⁸⁵, ενώ αντίστροφη συσχέτιση διαπιστώθηκε με τους υποδοχείς προγεστερόνης^{171,172,176,177}. Κατ' άλλους ερευνητές η έκφραση της p53 πρωτεΐνης δεν συσχετίστηκε με το στάδιο του καρκινώματος¹⁶⁶ ή συσχετίστηκε με πρώιμο στάδιο^{170,183,183}, την ύπαρξη λεμφαδενικών μεταστάσεων¹⁵⁴, την υποτροπή του όγκου¹⁵⁴, τη διήθηση αγγείων¹⁵¹, τους οιστρογονικούς υποδοχείς¹⁷¹ και την επιβίωση^{173,177,187}.

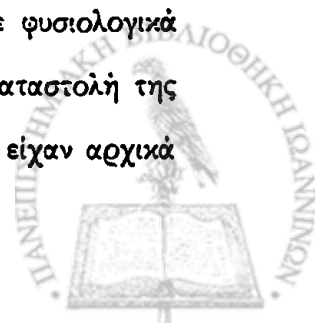
Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι χαμηλή έκφραση της p53 πρωτεΐνης συσχετίστηκε με την απόπτωση^{133,188}.

Τα ανωτέρω ευρήματα υπαινίσσονται, ότι η υπερέκφραση p53 πρωτεΐνης αποτελεί επιβαρυντικό στοιχείο στην ενδομητρική καρκινογένεση.

Γονίδιο του ρετινοβλαστώματος (Rb)

Η πολυσταδιακή διαδικασία της καρκινογένεσης συνδέεται με τη συσσώρευση πολυγονιδιακών μεταβολών που περιλαμβάνουν την ενεργοποίηση ογκογόνων γονιδίων και την απώλεια δραστηριότητας ογκοκατασταλτικών γονιδίων. Από τα ογκοκατασταλτικά γονίδια τα πλέον μελετημένα είναι το γονίδιο του ρετινοβλαστώματος (Rb) και το γονίδιο p53.

Το γονίδιο Rb που εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 13, στην θέση 14 (13q14) κωδικοποιεί την έκφραση μιας πυρηνικής φωσφοπρωτεΐνης (pRb), η οποία εκφράζεται σε φυσιολογικά κύτταρα¹⁵⁹ και εμπλέκεται στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου και στην καταστολή της ανάπτυξης των όγκων¹⁹⁰. Μεταβολές του γονιδίου του ρετινοβλαστώματος είχαν αρχικά



αναγνωρισθεί σε οικογενή ρετινοβλαστώματα, αλλά μεταγενέστερα και σε άλλους όγκους. Μεταλλάξεις ή απώλειες του γονιδίου Rb μπορεί να έχουν σαν αποτέλεσμα την απενεργοποίηση της κατασταλτικής του πρωτεΐνης, με πιθανό αποτέλεσμα την καρκινογένεση. Η μέσω μεταλλάξεων απενεργοποίηση του Rb έχει παρατηρηθεί σε ποικίλους μεσεγχυματογενείς (οστεοσαρκώματα κ.α) και επιθηλιακούς όγκους (καρκίνωμα μαστού, προστάτη, πνεύμονα κ.α)¹⁹¹⁻¹⁹⁷.

Στο καρκίνωμα του ενδομητρίου οι ανοσοϊστοχημικές μελέτες έκφρασης του γονιδίου του ρετινοβλαστώματος είναι σχετικά περιορισμένες και με αντικρουόμενα αποτελέσματα και δείχνουν ότι μεταβολές του ογκοκατασταλτικού αυτού γονιδίου είναι πιθανόν να εμπλέκονται στην ενδομήτρια καρκινογένεση και μάλιστα σε τελικά στάδια^{166,198-200}.

Απόπτωση και εμπλεκόμενα γονίδια

Η σημασία του κυτταρικού θανάτου έχει έλθει στην επιφάνεια τα τελευταία χρόνια και συγκεντρώνει έντονες ερευνητικές προσπάθειες από πολλές ερευνητικές ομάδες σε όλα τα μέρη του κόσμου. Αυτή η απότομη αύξηση του ενδιαφέροντος για τον κυτταρικό θάνατο έχει προέλθει κυρίως από την κατανόηση, ότι ο κυτταρικός θάνατος είναι εξίσου σημαντικός με τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό για τη διατήρηση της ζωής των πολυκυττάρων οργανισμών. Η έννοια προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος ήταν γνωστή αρκετές δεκαετίες, αλλά μόνο στις αρχές της δεκαετίας του 70 έγινε μια σχετικά ακριβής περιγραφή της ακολουθίας των γεγονότων, η οποία ήταν φανερά διαφορετική από τον νεκρωτικό κυτταρικό θάνατο. Η δημιουργία του όρου «απόπτωση» έγινε αργότερα και προέρχεται από την ελληνική λέξη, η οποία περιγράφει τη διαδικασία της πτώσης των φύλλων στα δένδρα. Σήμερα με τον όρο απόπτωση αναφέρονται οι χαρακτηριστικές εκείνες αλλαγές, οι οποίες προκαλούνται σε ορισμένα κύτταρα με σκοπό την αυτοκαταστροφή τους, όταν δεν χρειάζονται ή όταν έχουν υποστεί σοβαρές βλάβες. Κατά τη διάρκεια της απόπτωσης τα κύτταρα υφίστανται μείωση του όγκου τους, κερματισμό του πυρηνικού DNA σε νουκλεοσώματα, συμπύκνωση της χρωματίνης, διάσπαση του πυρήνα και δημιουργία κυστιδίων, τα οποία περιβάλλονται από μεμβράνη (αποπτωτικά σωματίδια) με τελικό αποτέλεσμα τον θάνατο των κυττάρων. Τα αποπτωτικά σωματίδια φαγοκυτταρώνονται

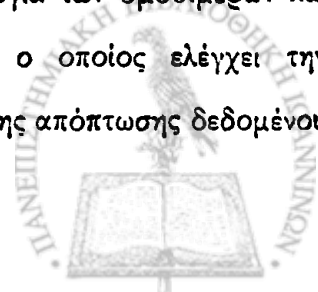


γρήγορα από μακροφάγα ή γειτονικά κύτταρα. Εδώ βρίσκεται και η κύρια διαφορά στην απόπτωση από τη νέκρωση, έναν παθολογικό τύπο κυτταρικού θανάτου με λύση και απελευθέρωση του κυτταροπλασματικού υλικού, το οποίο συχνά πυροδοτεί φλεγμονώδεις αντιδράσεις. Πολλά και διαφορετικά μηνύματα, τα οποία μπορεί να προέρχονται τόσο από το εσωτερικό όσο και από το εξωτερικό του κυττάρου φαίνεται να μπορούν να επηρεάζουν την απόφαση μεταξύ ζωής και θανάτου. Τα μηνύματα αυτά μπορεί να είναι γενετικές πληροφορίες, ή κυτταρικές βλάβες, οι οποίες προέρχονται από ποκίλους παράγοντες ορμόνες, αλληλεπιδράσεις μεταξύ των κυττάρων κ. α. Πιστεύεται ότι τα διαφορετικά αυτά σήματα τελικά συγκλίνουν σε έναν κοινό μηχανισμό, ο οποίος παίζει τον ρόλο διαμεσολαβητή μεταξύ των πληροφοριών και της απόπτωσης.

Γονίδια και πρωτεΐνες οι οποίες σχετίζονται με την απόπτωση: Η όλη διαδικασία της απόπτωσης βρίσκεται κάτω από γενετικό έλεγχο, γεγονός το οποίο σημαίνει ότι η πρόκληση της απόπτωσης είναι δυνατή κατόπιν ενεργοποίησης ειδικών γονιδίων. Έντονος και διαρκώς αυξανόμενος αριθμός διαφορετικών πρωτεϊνών και γονιδίων φαίνεται να εμπλέκονται σ' αυτή τη διαδικασία. Πολλά από αυτά αποδείχθηκε ότι ήταν ογκογονίδια όπως το bcl-2, η p53 και το c-myc.

Εκφραση της bcl-2 πρωτεΐνης

Το γονίδιο bcl-2 ανήκει στην οικογένεια των γονιδίων bcl-2 η οποία αποτελείται από μια ομάδα γονιδίων, τα οποία ρυθμίζουν την απόπτωση και εμφανίζουν ομολογία αλληλουχίας με το bcl-2. Τα γονίδια αυτά κωδικοποιούν πρωτεΐνες με ανταγωνιστική λειτουργία ως προς την απόπτωση και ανάλογα με τη δράση τους υποδιαιρούνται σε δύο ομάδες. Σε αυτές οι οποίες προάγουν την απόπτωση (προ-αποπτωτικές: bax, bcl-xs, bak και bad) και σε εκείνες οι οποίες την αναστέλλουν (αντι-αποπτωτικές: bcl-2, bcl-xL, Mcl-1 και A1). Η δράση τους φαίνεται να επιτυγχάνεται μέσω αλληλεπιδράσεων και σχηματισμού ομοδιμερών μεταξύ μορίων της ίδιας πρωτεΐνης (bcl-2-bcl-2 ή bax-bax) και ετεροδιμερών μεταξύ μορίων ανταγωνιστικών πρωτεϊνών (bcl-2-bax). Η σχετική αναλογία των ομοδιμερών και ετεροδιμερών δρα σαν ένα είδος ενδοκυττάρου ρεοστάτη, ο οποίος ελέγχει την απόπτωση^{201,202}. Επιπρόσθετα η p53 εμπλέκεται στο μηχανισμό της απόπτωσης δεδομένου

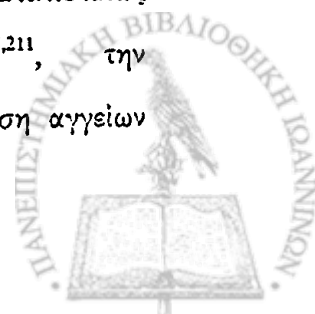


ότι η φυσιολογική αφ' ενός επάγει το bax σε επίπεδο μεταγραφής και αφ' ετέρου λειτουργεί ως αρνητικός ρυθμιστής της έκφρασης του bcl-2²⁰³.

Έχει προταθεί ότι η πρωτεΐνη bcl-2 (το προϊόν του γονιδίου bcl-2) έχει αντιοξειδωτικές ιδιότητες και μέσω αυτών προστατεύει τα κύτταρα από την τοξική δράση των δραστικών μορφών οξυγόνου και ειδικότερα του H₂O₂. Το bcl-2 ήταν το πρώτο ογκογονίδιο, το οποίο αποδείχθηκε ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην απόπτωση και έχει διαπιστωθεί ότι η υπερέκφραση αυτού σε ορισμένα κύτταρα αναστέλλει την απόπτωση και τα καθιστά ανθεκτικά σε κυτταροτοξικά φάρμακα. Επί πλέον η πρωτεΐνη την οποία εκφράζει ευρίσκεται σε υψηλά επίπεδα σε διάφορα είδη καρκινικών κυττάρων. Η εξήγηση η οποία επικρατεί είναι ότι η υπερέκφραση του bcl-2 προκαλεί την δημιουργία όγκων, όχι λόγω της αύξησης του πολλαπλασιασμού των κυττάρων, αλλά λόγω της αναστολής της απόπτωσης. Πρόσφατες εργασίες έδειξαν ότι το bcl-2 είναι μέλος μιας μεγαλύτερης οικογένειας συγγενών γονιδίων, τα οποία πολλές φορές ευνοούν την απόπτωση. Ένα τέτοιο γονίδιο είναι το bax. Φαίνεται ότι η ισορροπία της έκφρασης προ-αποπτωτικών και αντι-αποπτωτικών γονιδίων καθορίζει την οριστική τύχη την οποία θα έχει το κύτταρο. Άλλα γονίδια τα οποία εμπλέκονται στην διαδικασία της απόπτωσης είναι τα p53 και c-myc.

P53 και bcl-2 συμμετέχουν στη ρύθμιση της απόπτωσης. Η p53 εισάγει την απόπτωση και μπορεί να μειωθεί ή να μπλοκαριστεί τελείως από την bcl-2 αφ' ενός και αφ' ετέρου η p53 μπορεί να μειώσει την έκφραση της bcl-2¹⁷².

Όσον αφορά την έκφραση της bcl-2 πρωτεΐνης σε αλλοιώσεις ενδομητρίου έχει βρεθεί μειωμένη έκφραση σε άτυπη υπερπλασία και στο ενδομητρικό καρκίνωμα σε αντίθεση με το φυσιολογικό παραγωγικό ενδομήτριο^{130,204,206}. Η έκφραση της bcl-2 πρωτεΐνης ήταν μεγαλύτερη στα ενδομητριοειδή καρκινώματα απ' ό,τι στα μη ενδομητριοειδή^{165,179,207}. Οι περισσότερες μελέτες (τόσο σε ανοσοϊστοχημικό επίπεδο όσο και με την μέθοδο PCR) υποστηρίζουν ότι δεν υπάρχει συσχέτιση του bcl-2 με το βαθμό διαφοροποίησης^{177,178,204,206,208} και το στάδιο του καρκινώματος^{177,178,204,206,208} σε αντίθεση με άλλες, οι οποίες αναφέρουν, ότι μειωμένη έκφραση του bcl-2 σχετίζεται με το βαθμό διαφοροποίησης^{122,172,177, 188,207} και το στάδιο του καρκινώματος^{172,207,209,210}. Στατιστικώς σημαντική συσχέτιση δεν βρέθηκε με την υποτροπή της νόσου^{154,207,211}, την επιβίωση^{206,207,209,210}, την ύπαρξη λεμφαδενικών μεταστάσεων¹⁵⁴ και τη διήθηση αγγείων



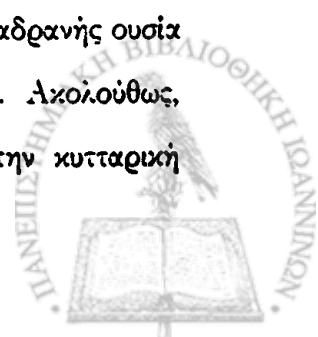
^{178,188}. Αντικρουόμενα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν όσον αφορά την έκφραση της bcl-2 πρωτεΐνης με το επίπεδο των ορμονικών υποδοχέων. Μερικές μελέτες υποστηρίζουν τη συσχέτιση της bcl-2 πρωτεΐνης με μειωμένη έκφραση υποδοχέων οιστρογόνων¹²² και προγεστερόνης^{122,172} δίδοντας μάλιστα μεγαλύτερη έμφαση στη σχέση με τους υποδοχείς προγεστερόνης, και προτείνοντας έτσι το bcl-2 σαν ένα χρήσιμο κλινικό δείκτη ορμονοθεραπείας¹²² σε αντίθεση με άλλους συγγραφείς, οι οποίοι πιστεύουν, ότι δεν υπάρχει συσχέτιση της έκφρασης αυτής με τους υποδοχείς οιστρογόνων και προγεστερόνης²⁵⁴.

Δεν παρατηρήθηκε επίσης συσχέτιση της έκφρασης της bcl-2 με την p53 πρωτεΐνη^{178,206,238} όπως έχει παρατηρηθεί σε άλλους όγκους, ενώ συσχέτιση βρέθηκε με τον κυτταρικό πολύπλοκισμό¹²². Ο Taskin et al¹⁷² παρατήρησε, ότι η υπερέκφραση της bcl-2 πρωτεΐνης ήταν αντιστρόφως ανάλογη της p53 πρωτεΐνης, σε καλά διαφοροποιημένα καρκινώματα (grade I), γεγονός το οποίο θα μπορούσε να παρέχει πληροφορίες ως προς την πρόγνωση αυτής της κατηγορίας του ενδομητρίου καρκινώματος.

Επιπλέον σε καρκινώματα με θέσεις πλακώδους διαφοροποίησης και αντίστοιχα προς αυτές διαπιστώθηκε μειωμένη έκφραση της bcl-2 πρωτεΐνης σε σχέση με το παρακείμενο νεόπλασμα¹²². Εκτός από κυτταροπλασματική έκφραση της bcl-2 πρωτεΐνης παρατηρήθηκε και πυρηνική έκφραση αυτής σε μερικές περιπτώσεις άτυπης υπερπλασίας και σε καρκινώματα. Η πυρηνική αυτή έκφραση συσχετίστηκε με επιθετικότερη συμπεριφορά όπως διήθηση αγγείων, ύπαρξη λεμφαδενικών μεταστάσεων, επιβίωση και μεγαλύτερη αυξητική δραστηριότητα του όγκου^{155,209}

Έκφραση καθεψίνης D

Η διηθητική και μεταστατική ικανότητα ενός νεοπλασματος εξαρτάται από την αποδόμηση της βασικής μεμβράνης και του εξωκυτταρίου στρώματος. Η διαδικασία αυτή επιτυγχάνεται με την έκκριση προτεολυτικών ενζύμων μεταξύ των οποίων βασικό ρόλο έχει η καθεψίνη D. Πρόκειται για μια λυσοσωματική ενδοπεπτιδάση, η οποία απομονώνεται σε πλήθος φυσιολογικών και νεοπλασματικών ιστών. Αρχικά, παράγεται μια πρόδρομη αδρανής ουσία με MW 52kDa, η παραγωγή της οποίας επάγεται από τα οιστρογόνα. Ακολούθως, σχηματίζεται μια ενδιάμεση πρωτεϊνική μορφή, η οποία συνδέεται με την κυτταρική



μεμβράνη, από την οποία τελικά σχηματίζεται η ενεργός καθεψίνη D, MB 42 kDa, η οποία ανευρίσκεται στα λυσοσώματα.

Με βιοχημικές και ανοσοϊστοχημικές μεθόδους κατέστη δυνατή η απομόνωση της καθεψίνης D τόσο από τα επιθηλιακά όσο και από τα μη επιθηλιακά (μεσεγχυματογενή) στοιχεία του όγκου, όπως τα μακροφάγα, τα πολυμορφοπύρρηνα και τα λεμφοκύτταρα.

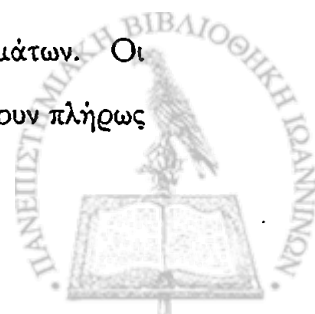
Οι μελέτες έκφρασης της καθεψίνης D στο ενδομήτριο είναι πολύ περιορισμένες. Έχει βρεθεί ότι η έκφραση της καθεψίνης D ήταν μεγαλύτερη στα καρκινώματα απ' ό,τι σε περιπτώσεις υπερπλασίας, ενώ το φυσιολογικό ενδομήτριο δεν παρουσίαζε έκφραση¹⁵³.

Κατ' άλλους όμως ερευνητές η έκφραση της καθεψίνης D ήταν αυξημένη τόσο σε εκκριτικό ενδομήτριο όσο και σε καρκινώματα ενδομητρίου. Στα τελευταία δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση με ορμονικούς υποδοχείς, ενώ διαπιστώθηκε συσχέτιση με την επιβίωση¹⁵³ και το βάθος διήθησης του μυομητρίου¹⁵³. Συγκεκριμένα, υψηλά επίπεδα καθεψίνης D συσχετίστηκαν με περισσότερο διηθητικά καρκινώματα, γεγονός που υποδηλεί την δυνατότητα χρησιμοποίησής της σαν πιθανού δείκτη πρόγνωσης²¹².

Άλλοι ερευνητές, χρησιμοποιώντας κυτταρόλυμα (cytosol), δεν διεπίστωσαν συσχέτιση του επιπέδου της καθεψίνης D με το βαθμό διαφοροποίησης του όγκου, το στάδιο του καρκινώματος, την επιβίωση και τους υποδοχείς οιστρογόνων και προγεστερόνης¹⁷¹.

Έκφραση της Μεταλλοθειονίνης

Οι μεταλλοθειονίνες (MT) είναι ένδοκυττάρειες πρωτεΐνες χαμηλού μοριακού βάρους πλούσιες σε κυστεΐνη. Η λειτουργία τους σχετίζεται με την απορρόφηση, μεταφορά και εναποθήκευση ιχνοστοιχείων στο κύτταρο²¹³⁻²¹⁵. Συντίθενται σε μια ποικιλία ιστών, τόσο από ιόντα μετάλλων όσο και από ενδογενείς παράγοντες όπως: γλυκοκορτικοειδή, ιντερφερόνες, ιντερλευκίνη-1 και βιταμίνη D. Επιπλέον οι μεταλλοθειονίνες εμπλέκονται στην αντιμετώπιση στρεσογόνων παραγόντων, παρέχοντας έναν κυτταροπροστατευτικό μηχανισμό έναντι των πιθανών καταστροφών που προκαλούν οι δραστικές μορφές οξυγόνου. Εκτός από την ανίχνευση μεταλλοθειονίνης σε φυσιολογικούς ιστούς οι ισότυποι I και II έχουν εντοπισθεί ανοσοϊστοχημικά σε διάφορους τύπους καρκινωμάτων. Οι βιολογικοί μηχανισμοί υπερέκφρασης της μεταλλοθειονίνης στους όγκους δεν έχουν πλήρως



διευκρινισθεί. Έχει βρεθεί ότι ο βαθμός έκφρασης της μεταλλοθειονίνης, σχετίζεται με την πρόγνωση σε μερικά καρκινώματα, στα περισσότερα εκ των οποίων με δυσμενή προγνωστική σημασία²¹⁶⁻²¹⁹, ενώ σε μερικά εξ αυτών με ευνοϊκότερη²²⁰. Οι μεταλλοθειονίνες συσχετίστηκαν επίσης με ταχέως πολλαπλασιαζόμενους ιστούς όπως σε έμβρυα και νεογνά²²¹. Αναφέρονται ακόμη μηχανισμοί μέσω των οποίων μεταλλοθειονίνη και p53 πιθανόν να αλληλοεπιδρούν στη ρύθμιση της κυτταρικής διαίρεσης. Έχει υποθεθεί ότι υπερέκφραση μεταλλαγμένης μεταλλοθειονίνης μπορεί να παρεμβαίνει στη λειτουργία μεταγραφικών παραγόντων, οι οποίοι εμπλέκονται στη ρύθμιση της έκφρασης διαφόρων γονιδίων, τα οποία σχετίζονται με τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την απόπτωση, συμπεριλαμβανομένου και του p53^{222,223}.

Από μία πρόσφατη, γνωστή στην προσιτή διεθνή βιβλιογραφία μελέτη, σε καρκινώματα ενδομητρίου, βρέθηκε ότι υψηλή έκφραση της μεταλλοθειονίνης συσχετίστηκε με δυσμενείς προγνωστικούς παραμέτρους όπως: υψηλός βαθμός κακοηθείας, προχωρημένο στάδιο της νόσου καθώς και τύπος καρκινώματος²²⁴.

Έκφραση της πρωτεΐνης p21

Η p21 πρωτεΐνη αναστέλει τις κινάσες οι οποίες εξαρτώνται από την κυκλίνη και είναι το προϊόν του γονιδίου WAF-1²²⁵ του γνωστού και ως CIP 1 γονιδίου²²⁶. Η ανακάλυψη ότι η p21 πρωτεΐνη, επάγεται από τον φυσιολογικό τύπο του p53 και όχι από τον μεταλλαγμένο τύπο, υποδηλώνει ότι η ογκοκατασταλτική δράση του p53 μπορεί να οφείλεται στη μεσολάβηση της p21 πρωτεΐνης²²⁶, αν και πρόσφατες μελέτες υποστηρίζουν ότι η ενεργοποίηση της p21 πρωτεΐνης είναι ανεξάρτητη της μεταλλαγμένης και μη p53 πρωτεΐνης²²⁷⁻²²⁹. Επιπλέον, η p21 πρωτεΐνη, με τη μεσολάβηση του p53, παίζει σημαντικό ρόλο στην αυξητική δραστηριότητα και στην τελική διαφοροποίηση των κυττάρων, αναστέλλοντας τον κυτταρικό κύκλο, μετά από καταστροφή του DNA. Έτσι παρέχεται στα κύτταρα με αλλοιωμένο DNA, ο απαραίτητος χρόνος να το επιδιορθώσουν, πριν από την είσοδό τους στην S- φάση, ή να οδηγήσουν τα προσβληθέντα κύτταρα σε απόπτωση, εμποδίζοντας την καρκινική ανάπτυξη^{230,231}. Η μελέτη της έκφρασης της p21 πρωτεΐνης σε κακοήθη νεοπλάσματα είναι κατά συνέπεια ενδιαφέρουσα, όχι μόνο για την ερμηνεία των



αποτελεσμάτων της αντίστοιχης έκφρασης της p53 πρωτεΐνης, αλλά και για τη διερεύνηση πιθανής συμβολής της στη βιολογική συμπεριφορά αυτών των νεοπλασμάτων.

Στο ενδομητρικό καρκίνωμα, έχει βρεθεί ότι η έκφραση της p21 πρωτεΐνης ήταν ανεξάρτητη της υπερέκφρασης της p53 πρωτεΐνης ή της μετάλλαξης του p53 γονιδίου¹⁶⁵.

Παρόμοια αποτελέσματα έχουν βρεθεί και σε άλλα είδη καρκινωμάτων όπως μη μικροκυτταρικά καρκινώματα πνεύμονα και καρκινώματα παγκρέατος²³²⁻²³⁴. Ασθενείς με έκφραση της p21 πρωτεΐνης αναφέρεται ότι είχαν καλύτερη πρόγνωση σε σχέση μ' εκείνους οι οποίοι δεν εμφάνιζαν έκφραση αυτής¹⁶⁵.



The first part of the document discusses the general principles of the law of contract. It states that a contract is a legally binding agreement between two or more parties. The law of contract is concerned with the formation, performance, and breach of contracts.

The second part of the document discusses the formation of a contract. It states that a contract is formed when there is an offer and acceptance. The offer must be made by a person who is capable of entering into a contract. The acceptance must be made by the person to whom the offer is made.

The third part of the document discusses the performance of a contract. It states that a contract is performed when the parties to the contract do what they have promised to do. If a party fails to perform its obligations under a contract, it is in breach of the contract.

The fourth part of the document discusses the breach of a contract. It states that a contract is breached when a party fails to perform its obligations under the contract. The law of contract provides remedies for breach of contract, including damages and specific performance.

Contract Law

The law of contract is a branch of the law that deals with the legal consequences of agreements between individuals or organizations. It is a fundamental part of the legal system and is essential for the functioning of a free society.

The law of contract is based on the principle of freedom of contract. This principle allows individuals to enter into agreements with others as they see fit, provided that the agreements do not violate the law. The law of contract provides a framework for the enforcement of these agreements.

The law of contract is also based on the principle of reciprocity. This principle requires that each party to a contract must perform its obligations under the contract. If one party fails to perform its obligations, the other party may be entitled to a remedy.

The law of contract is a complex and evolving field. It is constantly being shaped by new legal developments and court decisions. It is essential for individuals and organizations to understand the law of contract in order to protect their interests and to enforce their agreements.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Για τον προσδιορισμό των ανοσοϊστοχημικών δεικτών και το ρόλο τους στη βιολογική συμπεριφορά των νεοπλασματικών αλλοιώσεων του ενδομητρίου, πραγματοποιήθηκε η ανοσοϊστοχημική αυτή μελέτη με τη μέθοδο του συμπλέγματος της Αβιδίνης-Βιοτίνης (ABC) σε τομές παραφίνης.

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Το υλικό μας αποτελείται από 64 περιπτώσεις ολικής υστερεκτομής ασθενών, οι οποίες χειρουργήθηκαν για ενδομητρικό καρκίνωμα χωρίς προηγηθείσα ακτινοβολία πυέλου, καθώς και 28 δείγματα ξεσμάτων ασθενών με καρκίνωμα ενδομητρίου. Μελετήθηκαν επίσης 35 περιπτώσεις υπερπλασίας ενδομητρίου (11 περιπτώσεις απλής υπερπλασίας, 16 σύνθετης και 8 άτυπης υπερπλασίας). Επιπλέον χρησιμοποιήθηκαν 18 περιπτώσεις παραγωγικής φάσης και 15 περιπτώσεις εκκριτικής φάσης του κύκλου ως ομάδες ελέγχου. Η ηλικία των ασθενών με καρκίνωμα ενδομητρίου κυμαινόνταν από 38 έως 77 έτη (μέση ηλικία = 58,89). Τα δείγματα των βιοψιών και των παρασκευασμάτων μονιμοποιήθηκαν σε διάλυμα φορμόλης 10%, αφυδατώθηκαν και εγκλείστηκαν σε παραφίνη. Οι ληφθείσες τομές ήταν πάχους 5μm. Μια τομή από κάθε περίπτωση χρώστηκε με ηωσίνη-αιματοξυλίνη και χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση του ιστολογικού τύπου των αλλοιώσεων. Οι υπόλοιπες τομές χρησιμοποιήθηκαν για ανοσοϊστοχημική χρώση με τη μέθοδο του συμπλέγματος αβιδίνης-βιοτίνης. Η τελευταία τεχνική βασίζεται στην υψηλή συγγένεια της βιοτίνης προς την αβιδίνη, για τη δέσμευση της υπεροξειδάσης στο πρωταρχικό αντίσωμα. Έτσι είναι δυνατή η ανίχνευση αντιγόνων σε τομές παραφίνης, η οποία βασίζεται στη δυνατότητα εύκολου προσδιορισμού, με το κοινό μικροσκόπιο του μελετημένου αντιγόνου, εφ' όσον προστεθεί ένας ιστοχημικά γνωστός δείκτης/αντίσωμα έναντι του άγνωστου αντιγόνου. Με τη χρησιμοποίηση και των δύο θέσεων σύνδεσης του αρχικού αντισώματος (Τμήμα Fc και Fab), των αντισωμάτων ενός ενδιάμεσου αντιορού και του συμπλέγματος PAP επιτυγχάνεται η δημιουργία μιας αλυσιδωτής δέσμευσης αντισωμάτων και η έμμεση εντόπιση του αντιγόνου. Τα πρωταρχικά αντισώματα που χρησιμοποιήθηκαν, η προέλευσή τους, η αραιώσή τους και ο χρόνος επώασης φαίνονται στον πίνακα 1.



Αναλυτικά, η ανοσοϊστοχημική μέθοδος του συμπλέγματος αβιδίνης-βιοτίνης περιελάμβανε τα κατωτέρω στάδια:

- Τομές παραφίνης πάχους 5 μm τοποθετήθηκαν σε κλίβανο, σε θερμοκρασία 60°C κατά την διάρκεια της προηγούμενης νύχτας, για να αποξηρανθούν
- Αποπαραφίνωση με εμβύθιση των τομών σε ξυλόλη για 20'. Αλλαγή της ξυλόλης έγινε στα πρώτα 10'
- Ενυδάτωση των τομών σε κατιόντα οιοπνεύματα και απεσταγμένο νερό
- Εμβύθιση των τομών σε απόλυτη μεθανόλη, η οποία περιέχει 3% H₂O₂ για 30'
- Εκπλυση με ρυθμιστικό διάλυμα Tris -saline (TBS) pH = 7,6
- Επικάλυψη των τομών με φυσιολογικό ορό κουνελιού, αραιωμένο 1/50 [normal rabbit serum-Dako (Καλλιφρονάς)], ή με φυσιολογικό ορό χοίρου, παρομοίας αραιώσης [normal swine serum - Dako (Καλλιφρονάς)], ανάλογα με το αν επρόκειτο για μονοκλωνικό ή πολυκλωνικό αντίσωμα αντίστοιχα για 10'
- Απομάκρυνση του ορού από τις τομές
- Επικάλυψη των τομών με τον εκάστοτε πρωταρχικό αντιορό για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου ή ολονύχτια στους 4° C
- Εκπλυση των τομών με διάλυμα TBS
- Επικάλυψη των τομών με αντιορό κουνελιού έναντι ανοσοσφαιρίνης του ποντικιού σε αραιώση 1: 500 [rabbit anti-mouse biotinylated -Dako (Καλλιφρονάς)] ή με αντιορό χοίρου έναντι ανοσοσφαιρίνης του κουνελιού [swine anti-rabbit biotinylated - Dako (Καλλιφρονάς)], ανάλογα με το αν επρόκειτο για μονοκλωνικό ή πολυκλωνικό αντίσωμα αντίστοιχα για 30'
- Εκπλυση των τομών με διάλυμα TBS
- Επικάλυψη των τομών με το αντιδραστήριο του συμπλέγματος αβιδίνης - βιοτίνης [ABC complex -Dako (Καλλιφρονάς)] για 60'
- Εκπλυση των τομών με διάλυμα TBS
- Επικάλυψη των τομών με φρέσκο διάλυμα χρωμογόνου, που περιέχει 0,035% διαμινοβενζιδίνη (DAB), σε 10ml ρυθμιστικού διαλύματος Tris (ενεργοποιημένου από υπεροξείδιο του υδρογόνου) και έλεγχος των πλακιδίων με το κοινό μικροσκόπιο, μέχρι εμφάνισης φαιού χρώματος των κυττάρων



- Εκπλυση των τομών με απεσταγμένο νερό
- Χρώση των τομών με αιματοξυλίνη Harris για 4'
- Εκπλυση των τομών με νερό βρύσης
- Αφυδάτωση των τομών σε ανιόντα οιοπνεύματα
- Καθαρισμός των τομών σε ξυλόλη
- Επικάλυψη των τομών

Επιπλέον, για τη βελτίωση και την αύξηση της ευαισθησίας έχουν βρεθεί ποικίλοι μέθοδοι με σκοπό την ανακάλυψη αντιγονικών θέσεων, οι οποίες ενδεχομένως καλύπτονται από τη διαδικασία της μονιμοποίησης σε φορμαλδεΐδη. Τέτοιες τεχνικές περιλαμβάνουν μεταξύ των άλλων επώαση με ποικιλία πρωτεολυτικών ενζύμων και τη χρήση φούρνου μικροκυμάτων. Επώαση με πρωτεολυτικά ένζυμα και στη συγκεκριμένη περίπτωση προνάση [0,1% (Dako) για 10' σε θερμοκρασία δωματίου] εφαρμόστηκε για την ανίχνευση της έκφρασης της καθεψίνης D, ενώ χρήση φούρνου μικροκυμάτων εφαρμόστηκε για την ανίχνευση των Rb, p53, bcl-2, και MIB1. Πριν από το στάδιο της εμβύθισης των τομών σε απόλυτη μεθανόλη αναμειγμένη με H₂O₂, που έχει σκοπό την δέσμευση της ενδογενούς υπεροξειδάσης, οι τομές εμβυθίστηκαν σε διάλυμα κιτρικού οξέος 10mM (σε απεσταγμένο νερό, pH = 6) και υποβλήθηκαν σε ακτινοβολία μικροκυμάτων 700 W για 10'. Ως αρνητικοί μάρτυρες για όλα τα αντιγόνα που αναφέρθηκαν χρησιμοποιήθηκαν παράλληλες τομές παραφίνης από τους ίδιους όγκους, οι οποίες χρώστηκαν με την ίδια ακριβώς μέθοδο, παραλείποντας όμως τον πρωταρχικό αντιορό και αντικαθιστώντας τον από ένα μη άνοσο ορό. Η εκτίμηση των ανοσοϊστοχημικών δεικτών, οι οποίοι χρησιμοποιήθηκαν για τον καθορισμό των ανοσοφαινοτυπικών χαρακτηριστικών των υπό εξέταση όγκων, έγινε με βάση την ύπαρξη θετικής αντίδρασης των κυττάρων του όγκου, ανεξάρτητα του απολύτου αριθμού αυτών των κυττάρων ή της πιθανής ετερογένειας της χρωστικής αντίδρασης. Έτσι με την παρουσία ενός έστω και μικρού αριθμού θετικών κυττάρων ο όγκος χαρακτηριζόταν θετικός στο εκάστοτε αντιγόνο. Σημειώνουμε επίσης ότι σε αρκετές περιπτώσεις το ρόλο του θετικού μάρτυρα στο αντιγόνο τον έπαιζαν παρακείμενοι του όγκου φυσιολογικοί ιστοί οι οποίοι συμπεριλαμβανόταν στην τομή. Η βαθμολόγηση των ανοσοϊστοχημικών δεικτών έγινε από δύο παρατηρητές ανεξαρτήτως μεταξύ τους και με βάση τα κριτήρια από προηγούμενες μελέτες επί των ιδίων παραμέτρων.



Σε όλες τις περιπτώσεις εκτιμήθηκε η εκατοστιαία αναλογία των θετικών κυττάρων και για στατιστική ανάλυση οι περιπτώσεις χωρίστηκαν σε ομάδες ανάλογα με την έκφραση της ανοσοαντίδρασης. Οι διακυμάνσεις της έντασης της θετικής χρωστικής αντίδρασης σημειώνονται με (+), όταν πρόκειται για ελαφρώς θετική χρωστική αντίδραση, με (++) όταν πρόκειται για μέτρια χρωστική αντίδραση και (+++) όταν πρόκειται για έντονα θετική χρώση. Αμφίβολη χρωστική αντίδραση θεωρήθηκε η χρώση η οποία δεν ήταν δυνατόν να προσδιορισθεί με σαφήνεια, είτε λόγω χρώσης και του γύρω υποστρώματος, είτε λόγω ασθενέστατης χρωστικής αντίδρασης αυτού. Τέλος, αρνητική χρωστική αντίδραση θεώρηθηκε εκείνη κατά την οποία δεν παρατηρήθηκε καμμία χρωστική αντίδραση, παρουσίας άλλων θετικών κυτταρικών στοιχείων, γνωστών ότι εκφράζουν το ανιχνευόμενο αντιγόνο (εσωτερικοί μάρτυρες).

Πίνακας 1: Χρησιμοποιούμενα αντισώματα, προέλευση, αραιώση και χρόνος επώασης.

Αντισώματα	Προέλευση	Αραιώση	Χρόνος επώασης
ER	Dako	1:50	1 ώρα
PR	Dako	1:75	1 ώρα
MIB1#	Ylem	1 :5	Ολονύχτια*
PC-10	Dako	1: 50	1 ώρα
C-erbB-2 (OM-11-925)	ICI, Cambridge	1: 500	1 ώρα
P53 (DO-7 , IgG2b)	Ylem	1:200	1 ώρα
Rb (AB-5)#	Oncogene	1: 80	Ολονύχτια*
Anti-bcl-2#	Dako	1: 40	Ολονύχτια*
Cathepsin D (013A) ⊗	Dako	1:300	30'
Metallothionein, E9	Dako	1: 50	1 ώρα
P21	Dako	1: 40	1 ώρα

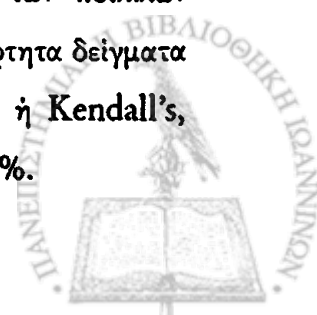
* Χρήση φούρνου μικροκυμάτων

Εμβύθιση σε διάλυμα κιτρικού οξέος

⊗ Επώαση με προνάση

Στατιστική επεξεργασία

Τα ευρήματα αυτής της μελέτης εισήχθησαν σε ηλεκτρονικό υπολογιστή και η στατιστική επεξεργασία έγινε με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS. Οι συσχετίσεις των ποικίλων παραμέτρων καθορίστηκαν με τη χρήση παραμετρικού test για δύο ή ανεξάρτητα δείγματα ή με τη χρήση αναλογικής συσχέτισης δύο παραμέτρων κατά Spearman ή Kendall's, Tau-b. Στατιστικώς σημαντικό θεωρήθηκε το αποτέλεσμα της τάξης $p < 0,05\%$.



ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Α. Χρώση Ηωσίνη – Αιματοξυλίνη: Εξετάστηκαν με το κοινό μικροσκόπιο οι τομές των περιπτώσεών μας, οι οποίες επεξεργάστηκαν με τη μέθοδο ρουτίνας και με τη χρώση ηωσίνης – αιματοξυλίνης. Στις περιπτώσεις των καρκινωμάτων εκτιμήθηκαν ο τύπος του νεοπλάσματος, η παρουσία μεταπλάσεων, η ύπαρξη νέκρωσης, η μιτωτική δραστηριότητα (αριθμός μιτώσεων ανά 10 οπτικά πεδία μεγάλης μεγέθυνσης X 400), καθώς και ο βαθμός αρχιτεκτονικής και πυρηνικής κακοηθείας. Στις περιπτώσεις υστερεκτομής εκτιμήθηκε το στάδιο του καρκινώματος σύμφωνα με το Διεθνές σύστημα ταξινόμησης (International Federation of Gynecology and Obstetric system).

Όλες οι περιπτώσεις καρκινωμάτων ήταν ενδομητριοειδούς τύπου. Εξ' αυτών 15,7 % εμφάνιζαν εστίες μετάπλασης. Πλακώδη μετάπλαση παρουσίαζαν 92,9%, ενώ 7,1% σαλπγγικού τύπου. Ο βαθμός διαφοροποίησης και το στάδιο των καρκινωμάτων φαίνονται στον πίνακα 2.

Πίνακας 2 Βαθμός διαφοροποίησης και στάδιο καρκινωμάτων

Στάδιο	Βαθμός διαφοροποίησης		
	Grade:1	Grade:2	Grade:3
Iab	13	11	4
Ic	6	4	5
IIab		7	3
IIIabc		4	4
IV		1	2

Iab= διήθηση < 1/2 μυομητρίου

Ic = διήθηση > 1/2 μυομητρίου

IIab= διήθηση τραχήλου

IIIabc= διήθηση ορογόνου, παραμητρίων, περιτονίου, πύελου και παρααορτικών λεμφαδένων

IV= διήθηση ουροδόχου κύστης κ.α.

Οι περιπτώσεις υπερπλασίας ταξινομήθηκαν σε απλή (11), σύνθετη (16) και άτυπη (8) υπερπλασία.

Β. Ανοσοϊστοχημική Χρώση: Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής για τον καθένα χωριστά από τους χρησιμοποιηθέντες ειδικούς βιολογικούς δείκτες περιγράφονται κατωτέρω αναλυτικά.



1. **Ανοσοϊστοχημική χρώση έκφρασης υποδοχέων οιστρογόνων (ER) και προγεστερόνης (PR):** Η χρώση ήταν σαφώς πυρηνική με τις ανωτέρω αναφερόμενες διακυμάνσεις της έντασης και με ετερογενή κατανομή στο υπό εξέταση δείγμα. Στις περισσότερες περιπτώσεις η χρωστικότητα περιοριζόταν στον πυρήνα των επιθηλιακών κυττάρων νεοπλασματικών και μη, ενώ σε αρκετές περιπτώσεις παρατηρήθηκε χρωστική αντίδραση τόσο στο υπόστρωμα όσο και στα κύτταρα του μυομητρίου.

Η έκφραση των υποδοχέων οιστρογόνων και προγεστερόνης στις διάφορες ομάδες που εξετάστηκαν φαίνεται στις εικόνες 1-8.

Για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων ελήφθη υπ' όψιν μόνο η επιθηλιακή έκφραση. Σύμφωνα με τους Segreti et al²³⁵ θετικότητα υποδοχέων θεωρείται η έκφραση > του 10% των επιθηλιακών κυττάρων.

Φυσιολογικό ενδομήτριο

α) *Παραγωγική φάση:* θετικοί (+) υποδοχείς οιστρογόνων εκφράστηκαν σε 16/17 (94,1%) και θετικοί (+) υποδοχείς προγεστερόνης σε 13/17 (76,5%) των περιπτώσεων.

β) *Εκκριτική φάση:* θετικοί υποδοχείς οιστρογόνων παρατηρήθηκαν σε 1/14 (7,1%) και θετικοί υποδοχείς προγεστερόνης σε 1/15 (6,7%) των περιπτώσεων.

Υπερπλαστικό ενδομήτριο

Θετικοί υποδοχείς οιστρογόνων εκφράστηκαν σε 32/35 (91,4%) και θετικοί υποδοχείς προγεστερόνης σε 25/35 (71,4%) των περιπτώσεων υπερπλασίας.

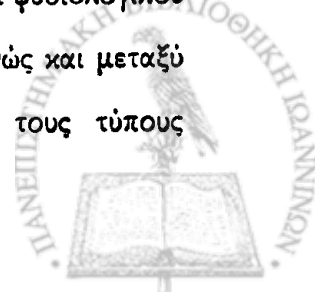
Ενδομητρικό Καρκίνωμα

Θετικοί υποδοχείς οιστρογόνων εκφράστηκαν σε 12/72 (22,2%) και θετικοί υποδοχείς προγεστερόνης σε 18/86 (20,9%) των καρκινωμάτων.

Οι μέσες τιμές των υποδοχέων ER και PR στις διάφορες ομάδες που εξετάστηκαν φαίνονται στον πίνακα 3 και η έκφραση αυτών στο ιστόγραμμα 1.

Παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των υποδοχέων οιστρογόνων και προγεστερόνης στις περιπτώσεις υπερπλασίας ($p=0.0028$) και καρκινωμάτων ($p=0.002$).

Στατιστικώς σημαντική διαφορά των υποδοχέων οιστρογόνων παρατηρήθηκε μεταξύ παραγωγικής και εκκριτικής φάσης του κύκλου ($p=0.0001$), υπερπλασίας και φυσιολογικού ενδομητρίου ($p=0.0.02$), καρκινωμάτων και υπερπλασίας ($p<0.0001$) καθώς και μεταξύ υπερπλασίας και φυσιολογικού ενδομητρίου ($p<0.0001$). Οσον αφορά τους τύπους



υπερπλασίας, διαπιστώθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ σύνθετης χωρίς ατυπία και άτυπης υπερπλασίας ($p=0.01$).

Πίνακας 3. Μέσες τιμές των υποδοχέων ER και PR σε φυσιολογικό ενδομήτριο (παραγωγική-εκκριτική φάση), υπερπλασίες και καρκινώματα.

ER %	Μέση τιμή	Σταθερά απόκλιση	Ελάχιστη τιμή	Μέγιστη τιμή	Αριθμός περιπτώσεων
Παραγωγική φάση	46.88	23.60	2.00	80.00	17
Εκκριτική φάση	7.14	19.66	0.00	75.00	14
Υπερπλασίες	41.76	23.63	0.50	90.00	35
Καρκινώματα	8.06	15.15	0.00	65.00	72
PR %					
Παραγωγική φάση	41.29	26.47	0.00	70.00	17
Εκκριτική φάση	2.53	7.72	0.00	30.00	15
Υπερπλασίες	16.08	14.59	0.00	55.00	35
Καρκινώματα	7.55	16.06	0.00	70.00	86

Στατιστικώς σημαντική διαφορά των υποδοχέων προγεστερόνης διαπιστώθηκε μεταξύ παραγωγικής και εκκριτικής φάσης του κύκλου ($p < 0.0001$), καρκινωμάτων και υπερπλασίας ($p < 0.0001$) καθώς επίσης και μεταξύ καρκινωμάτων και φυσιολογικού ενδομητρίου ($p = 0.0057$). Οσον αφορά τους τύπους της υπερπλασίας διαπιστώθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά των τιμών ER και PR μεταξύ απλής και σύνθετης υπερπλασίας ($p = 0.06$).

Στατιστικώς σημαντικές συσχετίσεις δεν παρατηρήθηκαν μεταξύ των ER, PR, ER/PR και των λοιπών κλινικοπαθολογοανατομικών παραμέτρων στα καρκινώματα ενδομητρίου.

Τέλος παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση των υποδοχέων οιστρογόνων και προγεστερόνης μεταξύ τους στις περιπτώσεις καρκινωμάτων ($p = 0,002$) και υπερπλασίας ($p = 0,028$), ενώ δεν διαπιστώθηκε στο φυσιολογικό παραγωγικό και εκκριτικό ενδομήτριο.

2. Ανοσοϊστοχημική χρώση έκφρασης δεικτών πολλαπλασιασμού MIB1 (Ki-67) και PCNA

Η χρώση ήταν σαφώς πυρηνική και για τους δύο δείκτες και με ετερογενή κατανομή. Στις περισσότερες περιπτώσεις η χρωστικότητα περιοριζόταν στον πυρήνα των επιθηλιακών



κυττάρων νεοπλασματικών και μη, ενώ σε αρκετές περιπτώσεις παρατηρήθηκε χρωστική αντίδραση και στο στρώμα και ιδιαίτερα στο φυσιολογικό ενδομήτριο.

Η έκφραση των δεικτών πολλαπλασιασμού στις διάφορες ομάδες που εξετάστηκαν φαίνεται στις εικόνες 9-16.

Για την στατιστική ανάλυση και για την σύγκριση των δεικτών πολλαπλασιασμού με τους λοιπούς πιθανούς προγνωστικούς δείκτες στην ομάδα των καρκινωμάτων, οι περιπτώσεις χωρίστηκαν σε δύο ομάδες < 10% και > 10% για τον δείκτη MIB1 και σε 3 ομάδες < 10%, 10-50% και > 50% για τον δείκτη PCNA ανάλογα με την κατανομή των τιμών στην υπό εξέταση ομάδα.

Οι μέσες τιμές των δεικτών πολλαπλασιασμού MIB1 και PCNA στις διάφορες ομάδες που εξετάστηκαν φαίνονται στον πίνακα 4 και η έκφραση αυτών στο ιστόγραμμα 2.

Πίνακας 4. Μέσες τιμές των δεικτών πολλαπλασιασμού MIB1 (Ki-67) και PCNA σε φυσιολογικό ενδομήτριο (παραγωγική-εκκριτική φάση), υπερπλασίες και καρκινώματα.

MIB1 %	Μέση τιμή	Σταθερά απόκλιση	Ελάχιστη τιμή	Μέγιστη τιμή	Αριθμός περιπτώσεων
Παραγωγική φάση	17.01	19.87	0.00	60.00	18
Εκκριτική φάση	1.15	4.16	0.00	0.00	13
Υπερπλασίες	3.19	9.49	0.00	50.00	35
Καρκινώματα	4.53	8.01	0.00	40.00	88
PCNA %					
Παραγωγική φάση	12.79	19.57	0.00	60.00	18
Εκκριτική φάση	0.05	0.14	0.00	0.50	13
Υπερπλασίες	1.56	0.50	1.00	2.00	34
Καρκινώματα	26.99	28.11	0.00	98.00	89

Οι τιμές του δείκτη MIB1 ήταν περισσότερο αυξημένες στο παραγωγικό ενδομήτριο σε σχέση με το εκκριτικό ($p=0.0001$) και στα καρκινώματα σε σχέση με τις υπερπλασίες ($p=0.009$) και το φυσιολογικό εκκριτικό ενδομήτριο ($p=0.0064$). Επίσης οι τιμές του δείκτη PCNA ήταν περισσότερο αυξημένες στο παραγωγικό ενδομήτριο σε σχέση με το εκκριτικό ($p=0.0001$), στα καρκινώματα σε σχέση με υπερπλασίες ($p=0.056$) και το φυσιολογικό (παραγωγικό και εκκριτικό) ενδομήτριο ($p<0.0001$) καθώς επίσης και στις υπερπλασίες σε σχέση με το φυσιολογικό εκκριτικό ενδομήτριο ($p=0.002$).



Δεν διαπιστώθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές και των δύο δεικτών πολλαπλασιασμού με τους διάφορους τύπους υπερπλασίας.

Στις περιπτώσεις καρκινωμάτων ο δείκτης πολλαπλασιασμού MIB1 συσχετίστηκε με το βαθμό διαφοροποίησης του όγκου ($p=0.034$) και με τους υποδοχείς προγεστερόνης PR ($p=0.014$), ενώ ο δείκτης πολλαπλασιασμού PCNA συσχετίστηκε μόνο με το βαθμό διαφοροποίησης του όγκου ($p=0.0018$).

Η σχέση των δεικτών πολλαπλασιασμού MIB1 και PCNA με τις διάφορες κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους και τους ορμονικούς υποδοχείς ER, PR και ER/PR στην ομάδα των καρκινωμάτων, φαίνεται στους κατωτέρω πίνακες 5 και 6.

Παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση των δύο δεικτών μεταξύ τους στις περιπτώσεις καρκινωμάτων ($p=0,002$), υπερπλασίας ($p=0,028$) και παραγωγικού ενδομητρίου, ενώ δεν διαπιστώθηκε στο φυσιολογικό εκκριτικό ενδομήτριο.

Πίνακας 5. Σχέση της έκφρασης του δείκτη πολ/σμού MIB1 με τις κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους και ER, PR, ER/PR σε καρκινώματα ενδομητρίου

		Έκφραση MIB1		p
		< 10%	> 10%	
Ηλικία	< 45	5		p > 0.05
	45-55	17	2	
	> 55	49	9	
Βαθμός διαφοροποίησης	1	24	2	p = 0.034
	2	37	3	
	3	14	8	
Στάδιο κατά FIGO	I	39	3	p > 0.05
	II	9	1	
	III	8		
	IV	2	1	
ER	< 10	50	6	p > 0.05
	> 10	14	2	
PR	< 10	60	8	p = 0.014
	> 10	13	5	
ER/PR	< 10	59	8	p > 0.05
	> 10	5		



Πίνακας 6. Σχέση της έκφρασης του δείκτη πολ./σμού PCNA με τις κλινικοπαθολογο-ανατομικές παραμέτρους και ER, PR, ER/PR σε καρκινώματα ενδομητρίου

		Έκφραση PCNA			p
		< 10%	10-50%	> 50%	
Ηλικία	< 45	4	1		p > 0.05
	45-55	11	3	5	
	> 55	21	24	13	
Βαθμός διαφοροποίησης	1	18	5	4	p = 0.0018
	2	16	16	8	
	3	4	8	10	
Στάδιο κατά FIGO	I	21	15	7	p > 0.05
	II	2	4	4	
	III	4	4		
	IV	2		1	
ER	< 10	26	19	11	p > 0.05
	> 10	8	2	6	
PR	< 10	33	19	16	p > 0.05
	> 10	5	8	5	
ER/PR	< 10	31	20	16	p > 0.05
	> 10	3	1	1	

3. Ανοσοϊστοχημική χρώση έκφρασης της c-erbB-2 πρωτεΐνης: Η χρωστικότητα περιορίζονταν στην κυτταροπλασματική μεμβράνη των νεοπλασματικών και μη κυττάρων.

Η έκφραση του c-erbB-2 σε φυσιολογικό, υπερπλαστικό και καρκινωμάτωση ενδομήτριο φαίνεται στις εικόνες 17-20 και στο ιστόγραμμα. 3.

Ως θετική χρώση για c-erbB-2 θεωρήθηκε η > 25% έκφραση των επιθηλιακών κυττάρων σύμφωνα με τους De Pottet et al²³⁶.

Το φυσιολογικό ενδομήτριο και οι περιπτώσεις υπερπλασίας έδειξαν περιορισμένη έκφραση της c-erbB-2 πρωτεΐνης (< 25% θετικότητα των επιθηλιακών κυττάρων), ενώ οι περιπτώσεις καρκινωμάτων παρουσίασαν θετικότητα (> 25% θετικών νεοπλασματικών κυττάρων) σε 10/85 (11.8%). Στις τελευταίες περιπτώσεις η έκφραση της c-erbB-2 πρωτεΐνης συσχετίστηκε μόνο με τον δείκτη πολλαπλασιασμού PCNA (p < 0.0001).

Η σχέση της έκφρασης της c-erbB-2 πρωτεΐνης με τις διάφορες κλινικοπαθολογο-ανατομικές παραμέτρους και τους λοιπούς δείκτες, στην ομάδα των καρκινωμάτων, φαίνεται στους κατωτέρω δύο πίνακες 7 και 8.



Πίνακας 7. Σχέση της έκφρασης της c-erbB-2 πρωτεΐνης με τις κλινικοπαθολογικο-ανατομικές παραμέτρους σε καρκινώματα ενδομητρίου

		Έκφραση της c-erbB-2 πρωτεΐνης		p
		< 25%	> 25%	
Ηλικία	< 45	5		p > 0.05
	45-55	17		
	> 55	48	8	
Βαθμός διαφοροποίησης	1	20	4	p < 0.0001
	2	38		
	3	16	6	
Στάδιο κατά FIGO	I	33	6	p > 0.05
	II	10	1	
	III	8		
	IV	2	1	
Διήθηση αγγείων	(-)	37	4	p > 0.05
	(+)	15	3	
Γλακώδης μετάπλαση	(-)	63	8	p > 0.05
	(+)	11	1	

Πίνακας 8. Σχέση της έκφρασης της c-erbB-2 πρωτεΐνης με πιθανούς προγνωστικούς δείκτες σε καρκινώματα ενδομητρίου

		Έκφραση της c-erbB-2 πρωτεΐνης		p
		< 25%	> 25%	
ER	< 10	49	4	p > 0.05
	> 10	14	2	
PR	< 10	59	8	p > 0.05
	> 10	16	2	
ER/PR	< 10	58	6	p > 0.05
	> 10	5		
MIB1	< 10	65	7	p > 0.05
	> 10	10	3	
PCNA	< 10	34	3	p < 0.0001
	10-50	25	2	
	> 50	16	5	



4. Ανοσοϊστοχημική χρώση έκφρασης της p53 πρωτεΐνης: Η χρώση ήταν σαφώς πυρηνική και περιορίζονταν κυρίως στο επιθηλιακό στοιχείο των υπό εξέταση δειγμάτων.

Η έκφραση της p53 πρωτεΐνης στο παραγωγικό, εκκριτικό, υπερπλαστικό και καρκινωματώδες ενδομήτριο φαίνεται στις εικόνες 21-22 και στο ιστόγραμμα 3.

Θετικότητα του p53 θεωρήθηκε όταν υπήρχε ανοσοαντίδραση σε περισσότερο του 5% των επιθηλιακών κυττάρων. Το φυσιολογικό ενδομήτριο και οι περιπτώσεις υπερπλασίας παρουσίασαν περιορισμένη έκφραση του p53 (< 5% των επιθηλιακών κυττάρων), ενώ οι περιπτώσεις καρκινωμάτων έδειξαν θετικότητα σε 15/87 (17.2%). Στα τελευταία παρατηρήθηκε ετερογένεια της έκφρασης p53 στο υπό εξέταση δείγμα. Οι τιμές του p53 ήταν περισσότερο αυξημένες σε καρκινώματα χαμηλού βαθμού διαφοροποίησης σε σχέση με υψηλού βαθμού διαφοροποίησης ($p=0 < 0.0001$).

Παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική αναλογική συσχέτιση του p53 με τους δείκτες πολλαπλασιασμού MIB1 ($p=0.0011$) και PCNA ($p=0.0003$).

Η σχέση του δείκτη p53 με τις διάφορες κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους και τους λοιπούς δείκτες, στην ομάδα των καρκινωμάτων, φαίνεται στους πίνακες 9 και 10.

Πίνακας 9. Σχέση της έκφρασης της p53 πρωτεΐνης με τις κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους σε καρκινώματα ενδομητρίου

		Έκφραση της p53 πρωτεΐνης		p
		< 5%	> 5%	
Ηλικία	< 45	5		p > 0.05
	45-55	15	4	
	> 55	48	8	
Βαθμός διαφοροποίησης	1	22	2	p < 0.0001
	2	37	3	
	3	12	10	
Στάδιο κατά FIGO	I	38	3	p > 0.05
	II	9	2	
	III	6	2	
	IV	2	1	
Διήθηση αγγείων	(-)	36	5	p > 0.05
	(+)	17	3	
Γλακώδης μετάπλαση	(-)	60	13	p > 0.05
	(+)	11	1	



Πίνακας 10. Σχέση της έκφρασης της p53 πρωτεΐνης με πιθανούς προγνωστικούς δείκτες σε καρκινώματα ενδομητρίου

		Έκφραση της p53 πρωτεΐνης		p
		<5%	>5%	
<i>ER</i>	<10	46	8	p > 0.05
	>10	16		
<i>PR</i>	<10	58	9	p > 0.05
	>10	12	5	
<i>ER/PR</i>	<10	57	8	p > 0.05
	>10	5		
<i>c-erbB-2</i>	<25	62	11	p > 0.05
	>25	7	3	
<i>MIB1</i>	<10	65	9	p = 0.0011
	>10	7	6	
<i>PCNA</i>	<10	36	2	p = 0.0003
	10-50	24	4	
	>50	12	9	

5. Ανοσοϊστοχημική χρώση έκφρασης της Rb πρωτεΐνης: Η χρώση ήταν σαφώς πυρηνική και με στερογενή κατανομή στα υπό εξέταση δείγματα. Σε μερικές περιπτώσεις σημειώθηκε αμυδρά κυτταροπλασματική χρωστική αντίδραση, η οποία δεν ελήφθη υπ' όψιν στην αξιολόγηση των αποτελεσμάτων. Στις περισσότερες περιπτώσεις η χρωστικότητα περιοριζόταν στον πυρήνα των νεοπλασματικών και μη επιθηλιακών κυττάρων, ενώ σε λίγες περιπτώσεις διαπιστώθηκε και χρωστική αντίδραση των στρωματικών κυττάρων του ενδομητρίου και των κυττάρων του μυομητρίου. Πυρηνική χρωστικότητα παρατηρήθηκε επίσης σε ενδοθηλιακά κύτταρα αγγείων, λεμφοκύτταρα και ινοβλάστες, που θεωρήθηκαν και σαν εσωτερικοί μάρτυρες για την επιβεβαίωση της αποτελεσματικότητας της χρώσης.

Η έκφραση της πρωτεΐνης Rb (pRb) στις διάφορες ομάδες οι οποίες εξετάστηκαν φαίνεται στις εικόνες 23 -26.

Η έκφραση της pRb ήταν υψηλότερη στο παραγωγικό ενδομήτριο σε σχέση με το εκκριτικό. Παρατηρήθηκε απώλεια της έκφρασης της pRb στην ομάδα των καρκινωμάτων σε σχέση με τις περιπτώσεις υπερπλασίας και το φυσιολογικό ενδομήτριο. Οι μέσες τιμές



της pRb στις διάφορες ομάδες οι οποίες εξετάστηκαν φαίνονται στον πίνακα 11 και η έκφραση αυτής στο ιστόγραμμα 4.

Πίνακας 11. Μέσες τιμές της pRb σε φυσιολογικό ενδομήτριο (παραγωγική-εκκριτική φάση), υπερπλασίες και καρκινώματα.

pRb%	Μέση τιμή	Σταθερά απόκλιση	Ελάχιστη τιμή	Μέγιστη τιμή	Αριθμός περιπτώσεων
Παραγωγική φάση	9.57	9.14	0.00	30.00	16
Εκκριτική φάση	1.8	5.35	0.00	20.00	15
Υπερπλασίες	7.83	14.77	0.00	55.00	35
Καρκινώματα	5.55	11.37	0.00	50.00	89

Πυρηνική pRb ανοσοαντίδραση ($> 10\%$ των επιθηλιακών κυττάρων παρατηρήθηκε σε 6/16 (37,5%) του παραγωγικού ενδομητρίου και μόνο σε 1/15 (6.75%) του εκκριτικού ενδομητρίου. Στις περιπτώσεις υπερπλασίας 8/35 (22.9%) έδειξαν θετικότητα στην pRb, ενώ στις περιπτώσεις των καρκινωμάτων 15/89 (16.9%).

Παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά της έκφρασης της πρωτεΐνης Rb μεταξύ απλής και σύνθετης υπερπλασίας ($p=0.008$).

Η έκφραση της pRb στις διάφορες ομάδες που εξετάστηκαν φαίνονται στον πίνακα 12.

Πίνακας 12. Έκφραση της pRb σε φυσιολογικό ενδομήτριο (παραγωγικό, εκκριτικό) στους διάφορους τύπους υπερπλασίας και σε καρκινώματα

pRb	Καρκινώματα	Υπερπλασίες	Παραγωγική φάση	Εκκριτική φάση
(-)	53/89 (59.6%)	23/35 (65.7%)	4/16 (25%)	13/15 (86.7%)
< 10	21/89 (23.6%)	4/35 (11.4%)	6/16 (37.5%)	1/15 (6.7%)
> 10	15/89 (16.9%)	8/35 (22.9%)	6/16 (37.5%)	1/15 (6.7%)

Στις περιπτώσεις των καρκινωμάτων η έκφραση της pRb συσχετίστηκε με τους ορμονικούς υποδοχείς ER ($p=0.008$), PR ($p<0.0001$), ER/PR ($p=0.0003$), το p53 ($p=0.001$) και το δείκτη πολλαπλασιασμού PCNA ($p=0.0001$). Δεν διαπιστώθηκε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση της έκφρασης της pRb με το βαθμό διαφοροποίησης και το στάδιο του καρκινώματος.



Πίνακας 13. Σχέση έκφρασης της pRb με κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους σε καρκινώματα ενδομητρίου

		Έκφραση της Rb πρωτεΐνης			p
		(-)	<10%	>10%	
Ηλικία	<45	3	2		p > 0.05
	45-55	10	6	3	
	>55	36	11	11	
Βαθμός διαφοροποίησης	1	17	5	4	p > 0.05
	2	23	12	5	
	3	12	4	6	
Στάδιο κατά FIGO	I	28	9	5	p > 0.05
	II	8	3		
	III	6	1	1	
	IV	2	1		
Διήθηση αγγείων	(-)	27	11	4	p > 0.05
	(+)	15	3	2	
Πλακώδης μετάπλαση	(-)	42	18	15	p > 0.05
	(+)	9	3		

Πίνακας 14. Σχέση έκφρασης της pRb με πιθανούς προγνωστικούς δείκτες σε καρκινώματα ενδομητρίου

		Έκφραση της Rb πρωτεΐνης			p
		(-)	<10%	>10%	
ER	<10	38	11	7	p = 0.008
	>10	9	6	1	
PR	<10	46	14	8	p < 0.0001
	>10	6	7	5	
ER/PR	<10	44	15	8	p = 0.0003
	>10	3	2		
p53	<5	45	18	9	p = 0.001
	>5	6	3	6	
c-erbB-2	<25	47	17	11	p > 0.05
	>25	5	3	3	
MIB1	<10	49	15	12	p > 0.05
	>10	4	6	3	
PCNA	<10	30	7	2	p = 0.0001
	0-50	15	8	6	
	>50	8	6	7	



Στις περιπτώσεις υπερπλασίας η έκφραση της pRb συσχετίστηκε με τους υποδοχείς προγεστερόνης ($p=0,016$) και με τον δείκτη πολλαπλασιασμού MIB1 ($p<0,0001$).

Στο φυσιολογικό παραγωγικό ενδομήτριο η έκφραση της pRb συσχετίστηκε με τους υποδοχείς προγεστερόνης ($p=0,006$) και τους δύο δείκτες πολλαπλασιασμού PCNA ($p=0,042$) και MIB1 ($p=0,02$).

Στο φυσιολογικό εκκριτικό ενδομήτριο η έκφραση της pRb συσχετίστηκε με τους υποδοχείς προγεστερόνης ($p=0,001$) καθώς επίσης και με τους δύο δείκτες πολλαπλασιασμού PCNA ($p=0,012$) και MIB1 ($p<0,0001$).

6. Ανοσοϊστοχημική χρώση έκφρασης της bcl-2 πρωτεΐνης: Η χρώση ήταν κυτταροπλασματική με διακυμάνσεις στην ένταση της χρωστικότητας και με ετερογενή κατανομή κυρίως στην ομάδα των καρκινωμάτων. Σε μερικές περιπτώσεις σημειώθηκε αμυδρά κυτταροπλασματική χρωστική αντίδραση των στρωματικών κυττάρων του ενδομητρίου και των κυττάρων του μυομητρίου. Σε 3 περιπτώσεις καρκινωμάτων και σε 2 περιπτώσεις υπερπλασίας ανιχνωρίστηκε πυρηνική έκφραση των επιθηλιακών κυττάρων, ενώ σε μία περίπτωση καρκινώματος παρατηρήθηκε πυρηνική στρωματική αντίδραση. Χρωστικότητα παρατηρήθηκε επίσης σε λεμφοκύτταρα, τα οποία θεωρήθηκαν και σαν εσωτερικοί μάρτυρες για την επιβεβαίωση της αποτελεσματικότητας της χρώσης.

Η έκφραση της πρωτεΐνης bcl-2 στις διάφορες ομάδες οι οποίες εξετάστηκαν φαίνεται στις εικόνες 27-30.

Παρατηρήθηκε απώλεια της έκφρασης της bcl-2 πρωτεΐνης στην ομάδα των καρκινωμάτων σε σχέση με τις περιπτώσεις υπερπλασίας και το φυσιολογικό ενδομήτριο. Οι μέσες τιμές της bcl-2 πρωτεΐνης στις διάφορες ομάδες οι οποίες εξετάστηκαν φαίνονται στον πίνακα 15 και η έκφραση αυτής στο ιστόγραμμα 4.



Πίνακας 15. Μέσες τιμές της bcl-2 πρωτεΐνης σε φυσιολογικό ενδομήτριο (παραγωγική-εκκριτική φάση), υπερπλασίες και καρκινώματα.

Bcl-2%	Μέση τιμή	Σταθερά απόκλιση	Ελάχιστη τιμή	Μέγιστη τιμή	Αριθμός περιπτώσεων
Παραγωγική φάση	17.94	23.75	0.00	90.00	18
Εκκριτική φάση	3.79	4.39	0.00	15.00	14
Υπερπλασίες	23.21	22.03	0.00	70.00	35
Καρκινώματα	6.75	16.46	0.00	98.00	87

Κυτταροπλασματική θετική ανοσοαντίδραση για bcl-2 πρωτεΐνη (> 10% των επιθηλιακών κυττάρων παρατηρήθηκε σε 10/18 (55,5%) του παραγωγικού ενδομητρίου και μόνο σε 2/14 (14,3%) του εκκριτικού ενδομητρίου. Στις περιπτώσεις υπερπλασίας 21/35 (60%) έδειξαν θετικότητα στην bcl-2 πρωτεΐνη, ενώ στις περιπτώσεις των καρκινωμάτων 19/87 (21,8%). Η έκφραση της bcl-2 πρωτεΐνης ήταν σαφώς μικρότερη στην ομάδα των καρκινωμάτων σε σχέση με τις περιπτώσεις υπερπλασίας και του φυσιολογικού ενδομητρίου ($p < 0.0001$). Η έκφραση της bcl-2 πρωτεΐνης στις διάφορες ομάδες οι οποίες εξετάστηκαν φαίνεται στον πίνακα 16.

Πίνακας 16. Έκφραση της bcl-2 πρωτεΐνης σε φυσιολογικό ενδομήτριο (παραγωγικό, εκκριτικό) στους διάφορους τύπους υπερπλασίας και σε καρκινώματα

Bcl-2	Καρκινώματα	Υπερπλασίες	Παραγωγική φάση	Εκκριτική φάση
< 10	68/87 (78.2%)	14/35 (40.00%)	8/18 (44.4%)	12/14 (85.7%)
10-50	16/87 (18.4%)	16/35 (45.7%)	8/18 (44.4%)	2/14 (14.3%)
> 50	3/87 (3.4%)	5/35 (14.3%)	2/18 (11.1%)	

Στις περιπτώσεις των καρκινωμάτων η έκφραση της bcl-2 πρωτεΐνης συσχετίστηκε με τον δείκτη πολλαπλασιασμού MIB1 ($p = 0,026$). Δεν διαπιστώθηκε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση της έκφρασης της bcl-2 πρωτεΐνης με το βαθμό διαφοροποίησης και το στάδιο του καρκινώματος.

Η σχέση της bcl-2 πρωτεΐνης με τις διάφορες κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους και τους πιθανούς προγνωστικούς δείκτες στην ομάδα των καρκινωμάτων φαίνεται στους πίνακες 17 και 18.

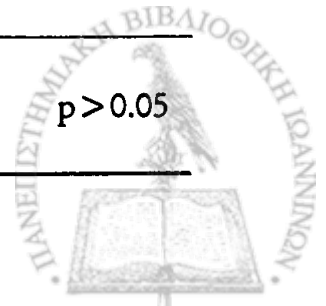


Πίνακας 17. Σχέση έκφρασης της bcl-2 πρωτεΐνης με κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους σε καρκινώματα ενδομητρίου

		Έκφραση της bcl-2 πρωτεΐνης			p
		<10%	10-50%	>50%	
<i>Ηλικία</i>	<45	4	1		p > 0.05
	45-55	13	5	1	
	>55	45	10	1	
<i>Βαθμός διαφοροποίησης</i>	1	17	7	1	p > 0.05
	2	34	6		
	3	16	3	2	
<i>Στάδιο κατά FIGO</i>	I	30	7	3	p > 0.05
	II	8	2		
	III	8			
	IV	1	2		
<i>Διήθηση αγγείων</i>	(-)	32	7	1	p > 0.05
	(+)	13	3	2	
<i>Γλακώδης μετάπλαση</i>	(-)	57	15	1	p > 0.05
	(+)	10	1	1	

Πίνακας 18. Σχέση έκφρασης της bcl-2 πρωτεΐνης με πιθανούς προγνωστικούς δείκτες σε καρκινώματα ενδομητρίου

		Έκφραση της bcl-2 πρωτεΐνης			p
		<10%	10-50%	>50%	
<i>ER</i>	<10	43	11	1	p > 0.05
	>10	9	3		
<i>PR</i>	<10	54	10	2	p > 0.05
	>10	12	6		
<i>ER/PR</i>	<10	52	13	1	p > 0.05
	>10	4	1		
<i>p53</i>	<5	57	14	1	p > 0.05
	>5	10	2	2	
<i>Rb</i>	0	42	8	2	p > 0.05
	<10	17	4		
	>10	9	4	1	
<i>c-erbB-2</i>	<25	60	13	1	p > 0.05
	>25	5	3	1	
<i>MIB1</i>	<10	60	12	2	p = 0.026
	>10	8	4	1	
<i>PCNA</i>	<10	30	7	2	p > 0.05
	10-50	25	3		
	>50	13	6	1	



Στις περιπτώσεις υπερπλασίας παρατηρήθηκε αντίστροφη συσχέτιση της έκφρασης της bcl-2 πρωτεΐνης με τον δείκτη πολλαπλασιασμού PCNA ($p=0,019$) και αναλογική συσχέτιση με τους υποδοχείς προγεστερόνης ($p=0,007$).

Στο φυσιολογικό παραγωγικό ενδομήτριο η έκφραση της bcl-2 πρωτεΐνης συσχετίστηκε με τον δείκτη πολλαπλασιασμού PCNA ($p=0,026$) ενώ στο φυσιολογικό εκκκριτικό ενδομήτριο η έκφραση αυτής συσχετίστηκε με τους υποδοχείς οιστρογόνων ($p=0,042$).

7. Ανοσοϊστοχημική χρώση έκφρασης καθεψίνης D. Η χρώση ήταν κυτταροπλασματική, υπό μορφή λεπτών κοκκίων ή βολίων, με ποκίλουσα κατανομή. Στις περισσότερες περιπτώσεις παρατηρήθηκε διάχυτη κυτταροπλασματική κατανομή της ανοσοαντίδρασης, ενώ σε μερικές περιπτώσεις η χρωστικότητα εντοπιζόταν κυρίως στην βάση ή στην παρυφή των νεοπλασματικών κυττάρων. Το τελευταίο πρότυπο παρατηρήθηκε κυρίως σε καλής διαφοροποίησης νεοπλάσματα. Εκτός από τα καρκινωματώδη κύτταρα θετικότητα στην καθεψίνη D διαπιστώθηκε και σε στρωματικά κύτταρα, η οποία εκτιμήθηκε χωριστά ημιποσοτικά και οι περιπτώσεις ταξινομήθηκαν σε τρεις ομάδες. 1) \pm , όταν δεν υπήρχε στρωματική αντίδραση ή ελάχιστα στρωματικά κύτταρα έδειξαν θετικότητα στην καθεψίνη D, 2) ++, όταν μέτριος αριθμός στρωματικών κυττάρων παρουσίαζε θετικότητα και 3) +++, όταν ικανός αριθμός στρωματικών κυττάρων εμφάνιζε θετικότητα στην καθεψίνη D.

Η έκφραση της καθεψίνης D στις διάφορες ομάδες οι οποίες εξετάστηκαν φαίνεται στις εικόνες 31-34.

Οι μέσες τιμές της καθεψίνης D στις διάφορες ομάδες που εξετάστηκαν φαίνονται στον πίνακα 19 και η έκφραση αυτής στο ιστόγραμμα 5.

Πίνακας 19. Μέσες τιμές της καθεψίνης D σε φυσιολογικό ενδομήτριο (παραγωγική-εκκκριτική φάση), υπερπλασίες και καρκινώματα.

Καθεψίνη D %	Μέση τιμή	Σταθερά απόκλιση	Ελάχιστη τιμή	Μέγιστη τιμή	Αριθμός περιπτώσεων
Παραγωγική φάση	10.89	9.85	1.00	40.00	18
Εκκκριτική φάση	32.50	29.76	2.00	80.00	14
Υπερπλασίες	9.95	11.57	0.00	45.00	35
Καρκινώματα	7.42	12.46	0.00	70.00	90



Φυσιολογικό ενδομήτριο

Παραγωγική φάση: Κυτταροπλασματική θετική ανοσοαντίδραση για την καθεψίνη D (> 10% των επιθηλιακών κυττάρων) παρατηρήθηκε σε 9/18 (50%) του παραγωγικού ενδομητρίου ενώ μικρή θετικότητα σε (< 10% των επιθηλιακών κυττάρων) διαπιστώθηκε σε 8/18 (44,4%) και σε μία περίπτωση η ανοσοαντίδραση ήταν εντελώς αρνητική.

Εκκριτική φάση: Κυτταροπλασματική ανοσοαντίδραση σε (> 10% των επιθηλιακών κυττάρων) στην καθεψίνη D παρατηρήθηκε σε 10/14 (71,4%) και μικρή θετικότητα (< 10% των επιθηλιακών κυττάρων) διαπιστώθηκε σε 4/14 (28,6%).

Υπερπλαστικό ενδομήτριο: Κυτταροπλασματική θετική ανοσοαντίδραση για την καθεψίνη D (> 10% των επιθηλιακών κυττάρων) παρατηρήθηκε σε 13/35 (37,1%) των υπερπλασιών, μικρή θετικότητα (< 10% των επιθηλιακών κυττάρων) διαπιστώθηκε σε 16/35 (45,7%), ενώ 6/35 (17,1%) ήταν εντελώς αρνητικές.

Καρκινώματα: Κυτταροπλασματική θετική ανοσοαντίδραση για την καθεψίνη D (> 10% των νεοπλασματικών κυττάρων) παρατηρήθηκε σε 26/90 (28,9%) των καρκινωμάτων, μικρή θετικότητα (< 10% των επιθηλιακών κυττάρων) διαπιστώθηκε σε 30/90 (33,3%), ενώ 34/90 (37,85%) των περιπτώσεων ήταν εντελώς αρνητικές.

Παρατηρήθηκε βαθμιαία απώλεια της καθεψίνης D στην ομάδα των καρκινωμάτων σε σχέση με τις περιπτώσεις υπερπλασίας ($p=0,02$) και το φυσιολογικό ενδομήτριο ($p< 0,0001$) και χαμηλότερη έκφραση αυτής διαπιστώθηκε στις περιπτώσεις υπερπλασίας απ' ότι στο φυσιολογικό ενδομήτριο ($p = 0,02$). Τέλος το φυσιολογικό παραγωγικό ενδομήτριο έδειξε μικρότερη έκφραση της καθεψίνης D απ' ότι το εκκριτικό ενδομήτριο ($p=0,07$).

Η έκφραση της καθεψίνης D στις διάφορες ομάδες που εξετάστηκαν φαίνεται στον πίνακα 20.

Πίνακας 20. Έκφραση της Καθεψίνης D σε φυσιολογικό ενδομήτριο (παραγωγικό, εκκριτικό) στους διάφορους τύπους υπερπλασίας και σε καρκινώματα

Καθεψίνη D	Καρκινώματα	Υπερπλασίες	Παραγωγική φάση	Εκκριτική φάση
(-)	34/90 (37.8%)	6/35 (17.1%)	1/18 (5.6%)	
< 10	30/90 (33.3%)	16/35 (45.7%)	8/18 (44.4%)	4/14 (28.6%)
> 10	26/90 (28.9%)	13/35 (37.1%)	9/18 (50%)	10/14 (71.4%)

Στις περιπτώσεις των καρκινωμάτων η έκφραση της καθεψίνης D των νεοπλασματικών κυττάρων συσχετίστηκε αναλογικά με το δείκτη πολλαπλασιασμού MIB1 ($p=0,018$) και με το c-erbB-2 ($p=0,022$). Αντίστροφη συσχέτιση της έκφρασης της καθεψίνης D παρατηρήθηκε σε σχέση με την έκφραση της Rb πρωτεΐνης ($p=0,02$). Στατιστικώς σημαντική συσχέτιση της έκφρασης της καθεψίνης D δεν διαπιστώθηκε με το βαθμό διαφοροποίησης και το στάδιο του καρκινώματος.

Η έκφραση της καθεψίνης D των στρωματικών κυττάρων συσχετίστηκε αναλογικά μόνο με το δείκτη πολλαπλασιασμού PCNA ($p=0,017$).

Η σχέση της καθεψίνης D με τις διάφορες κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους και τους πιθανούς προγνωστικούς δείκτες στην ομάδα των καρκινωμάτων φαίνεται στους πίνακες 21 και 22.

Πίνακας 21. Σχέση έκφρασης της καθεψίνης D με κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους σε καρκινώματα ενδομητρίου

		Έκφραση καθεψίνης D των Νεοπλασματικών κυττάρων			Έκφραση της καθεψίνης D των στρωματικών κυττάρων		
		0	<10	>10	±	++	+++
<i>Ηλικία</i>	<45	2	2	1	3	2	
	45-55	6	10	3	13	2	4
	>55	23	17	18	39	13	6
<i>Βαθμός διαφοροποίησης</i>	1	8	11	8	19	5	3
	2	15	12	13	32	4	4
	3	11	6	5	11	8	3
<i>Στάδιο κατά FIGO</i>	I	14	14	15	30	10	3
	II	4	3	3	5	5	
	III		4	4	6	1	1
	IV	1		2	3		
<i>Διήθηση αγγείων</i>	(-)	14	15	14	31	8	4
	(+)	4	5	9	11	7	
<i>Πλακώδης μετάπλαση</i>	(-)	28	26	21	55	12	8
	(+)	5	3	4	6	4	2

Στις περιπτώσεις υπερπλασίας δεν παρατηρήθηκε καμία συσχέτιση της έκφρασης της καθεψίνης D με τις ανωτέρω παραμέτρους.



Στο φυσιολογικό παραγωγικό ενδομήτριο παρατηρήθηκε ανάλογική συσχέτιση της έκφρασης της καθεψίνης D με τους υποδοχείς οιστρογόνων ($p=0,015$), ενώ στο φυσιολογικό εκκριτικό παρατηρήθηκε αντίστροφη συσχέτιση αυτής με τους υποδοχείς προγεστερόνης ($p=0,049$).

Πίνακας 22. Σχέση έκφρασης της καθεψίνης D με πιθανούς προγνωστικούς παραμέτρους σε καρκινώματα ενδομητρίου.

		Έκφραση καθεψίνης D των Νεοπλασματικών κυττάρων			Έκφραση της καθεψίνης D των στρωματικών κυττάρων		
		0	<10	>10	±	++	+++
<i>ER</i>	<10	19	20	17	40	10	8
	>10	8	4	4	11	4	1
<i>PR</i>	<10	24	20	24	46	14	8
	>10	8	8	2	13	3	2
<i>ER/PR</i>	<10	25	21	21	45	13	9
	>10	2	3		4	1	
<i>c-erbB-2</i>	<25	29	26	20	52	13	10
	>25	2	2	6	6	4	
<i>p53</i>	<5	27	23	22	53	12	7
	>5	6	6	3	8	5	2
<i>Rb</i>	0	19	14	20	35	11	7
	<10	7	10	4	16	4	1
	>10	8	5	2	11	2	2
<i>bcl-2</i>	<10	26	22	20	79	15	9
	10-50	6	7	3	39	3	1
	>50	1		2	8	2	
<i>MIB1</i>	<10	26	25	25	53	15	8
	>10	8	4	1	9	2	2
<i>PCNA</i>	<10	16	10	13	31	5	3
	10-50	6	13	10	22	4	3
	>50	12	7	3	9	9	4



8. Ανοσοϊστοχημική χρώση έκφρασης της μεταλλοθειονίνης (ΜΘ). Η χρώση ήταν κυτταροπλασματική και πυρηνική στις περισσότερες περιπτώσεις, ενώ σε σπάνιες περιπτώσεις παρατηρήθηκε και μικρή ανοσοαντίδραση σε στρωματικά κύτταρα.

Η έκφραση της μεταλλοθειονίνης στις διάφορες ομάδες που εξετάστηκαν φαίνεται στις εικόνες 35-38. Οι μέσες τιμές της μεταλλοθειονίνης στις διάφορες ομάδες οι οποίες εξετάστηκαν φαίνονται στον πίνακα 23 και η έκφραση αυτής στο ιστόγραμμα 5.

Πίνακας 23. Μέσες τιμές της μεταλλοθειονίνης σε φυσιολογικό ενδομήτριο (παραγωγική-εκκριτική φάση), υπερπλασίες και καρκινώματα.

Μεταλλοθειονίνη	Μέση τιμή	Σταθερά απόκλιση	Ελάχιστη τιμή	Μέγιστη τιμή	Αριθμός περιπτώσεων
Παραγωγική φάση	2.06	5.16	0.00	20.00	18
Εκκριτική φάση	19.56	26.63	0.00	90.00	14
Υπερπλασίες	0.15	0.86	0.00	5.00	34
Καρκινώματα	3.12	9.32	0.00	60.00	92

Φυσιολογικό ενδομήτριο

Παραγωγικό ενδομήτριο: Έκφραση της μεταλλοθειονίνης (> 10% των επιθηλιακών κυττάρων) παρατηρήθηκε σε 1/18 (5,6%) του παραγωγικού ενδομητρίου, μικρή εστιακή θετικότητα (< 10% των επιθηλιακών κυττάρων) σε 4/18 (22,2%), ενώ 13/18 (72,25) των περιπτώσεων η ανοσοαντίδραση ήταν εντελώς αρνητική.

Εκκριτικό ενδομήτριο: Έκφραση της μεταλλοθειονίνης (> 10% των επιθηλιακών κυττάρων) διαπιστώθηκε σε 6/14 (42,9%) του εκκριτικού ενδομητρίου, μικρή εστιακή θετικότητα (< 10% των επιθηλιακών κυττάρων) σε 7/14 (50%), ενώ μία περίπτωση ήταν εντελώς αρνητική στη μεταλλοθειονίνη.

Υπερπλαστικό ενδομήτριο: Μικρή εστιακή θετικότητα (< 10% των επιθηλιακών κυττάρων) παρατηρήθηκε σε 2/34 (5,9%) περιπτώσεις υπερπλαστικού ενδομητρίου, ενώ 32/34 (94,1%) των περιπτώσεων ήταν εντελώς αρνητικές.

Καρκινώματα ενδομητρίου: Έκφραση της μεταλλοθειονίνης (> 10% των νεοπλασματικών κυττάρων) διαπιστώθηκε σε 11/92 (12%) καρκινωμάτων, μικρή εστιακή θετικότητα



(< 10% των νεοπλασματικών κυττάρων) σε 11/92 (12%), ενώ 70/92 (76,1%) των περιπτώσεων ήταν εντελώς αρνητικές στη μεταλλοθειονίνη.

Η έκφραση της μεταλλοθειονίνης ήταν μεγαλύτερη στα καρκινώματα σε σχέση με τις υπερπλασίες ($p=0,03$), ενώ το φυσιολογικό ενδομήτριο έδειξε υπεροχή έναντι των καρκινωμάτων ($p=0,02$) και των υπερπλασιών ($p=0,001$). Σαφώς υψηλότερη ήταν η έκφραση της μεταλλοθειονίνης στην εκκριτική φάση σε σχέση με την παραγωγική ($p=0,0002$).

Η έκφραση της μεταλλοθειονίνης στις διάφορες ομάδες οι οποίες εξετάστηκαν φαίνεται στον πίνακα 24.

Πίνακας 24. Έκφραση της μεταλλοθειονίνης σε φυσιολογικό ενδομήτριο (παραγωγικό, εκκριτικό) στους διάφορους τύπους υπερπλασίας και σε καρκινώματα

ΜΘ	Καρκινώματα	Υπερπλασίες	Παραγωγική φάση	Εκκριτική φάση
(-)	70/92 (76.1%)	32/34 (94.1%)	13/18 (72.2%)	1/14 (7.1%)
< 10	11/92 (12%)	2/34 (5.9%)	4/18 (22.2%)	7/14 (50%)
> 10	11/92 (12%)		1/18 (5.6%)	6/14 (42.9%)

Στις περιπτώσεις των καρκινωμάτων η έκφραση της μεταλλοθειονίνης συσχετίστηκε με το βαθμό κακοηθείας του όγκου ($p=0,003$), ειδικότερα, όγκοι χαμηλής διαφοροποίησης παρουσίαζαν μεγαλύτερη έκφραση μεταλλοθειονίνης απ' ότι καλής και μέτριας διαφοροποίησης. Στατιστικώς σημαντική συσχέτιση της έκφρασης της μεταλλοθειονίνης δεν διαπιστώθηκε με το στάδιο του καρκινώματος.

Σε σχέση με τους λοιπούς δείκτες αυξημένη έκφραση της μεταλλοθειονίνης συσχετίστηκε μόνο με αυξημένη έκφραση του c-erbB-2 ($p=0,001$). Η σχέση της μεταλλοθειονίνης με τις διάφορες κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους και τους πιθανούς προγνωστικούς δείκτες στην ομάδα των καρκινωμάτων φαίνεται στους πίνακες 25 και 26.

Στις περιπτώσεις υπερπλασίας δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση της έκφρασης της μεταλλοθειονίνης με τον τύπο της υπερπλασίας, ενώ θετική συσχέτιση διαπιστώθηκε με την έκφραση της Rb πρωτεΐνης ($p=0,024$).



Στο φυσιολογικό παραγωγικό ενδομήτριο παρατηρήθηκε αντίστροφη συσχέτιση με την έκφραση των υποδοχέων προγεστερόνης ($p=0,038$), ενώ στο φυσιολογικό εκκριτικό ενδομήτριο στατιστικώς σημαντική αναλογική συσχέτιση παρατηρήθηκε με την έκφραση της καθεψίνης D ($p=0,048$).

Πίνακας 25. Σχέση έκφρασης της μεταλλοθειονίνης με κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους σε καρκινώματα ενδομητρίου

		Έκφραση της μεταλλοθειονίνης			p
		(-)	<10%	>10%	
Ηλικία	<45	20	2	3	p > 0.05
	45-55	28	5	5	
	>55	57	4	3	
Βαθμός διαφοροποίησης	1	23	1	3	p = 0.003
	2	34	4	2	
	3	10	6	6	
Στάδιο κατά FIGO	I	34	4	5	p > 0.05
	II	7	2	2	
	III	7	1		
	IV	2	1		
Διήθηση αγγείων	(-)	34	5	4	p > 0.05
	(+)	15	2	3	
Γλακώδης μετάπλαση	(-)	57	10	8	p > 0.05
	(+)	11	1	2	
ER	<10	42	7	7	p > 0.05
	>10	14	1	1	
PR	<10	50	9	9	p > 0.05
	>10	14	2	2	
ER/PR	<10	51	8	8	p > 0.05
	>10	5			



Πίνακας 26. Σχέση έκφρασης της μεταλλοθειονίνης με πιθανούς προγνωστικούς δείκτες σε καρκινώματα ενδομητρίου

		Έκφραση της μεταλλοθειονίνης			p value
		(-)	<10%	>10%	
<i>p53</i>	< 5	58	7	7	p > 0.05
	> 5	7	4	4	
<i>Rb</i>	0	42	5	6	p > 0.05
	< 10	16	3	2	
	> 10	9	3	3	
<i>c-erbB-2</i>	< 25	59	9	7	p = 0.001
	> 25	4	2	4	
<i>bcl-2</i>	< 10	54	8	6	p > 0.05
	10-50	10	2	4	
	> 50	1	1	1	
<i>MIB1</i>	< 10	61	8	7	p > 0.05
	> 10	6	3	4	
<i>PCNA</i>	< 10	32	3	4	p > 0.05
	10-50	24	3	2	
	> 50	12	5	5	
Καθεψίνη D	0	27	5	2	p > 0.05
	< 10	24	2	4	
	> 10	17	4	5	

9. Ανοσοϊστοχημική χρώση έκφρασης πρωτεΐνης p21: Η χρώση ήταν σαφώς πυρηνική και με ετερογενή κατανομή στα υπό εξέταση δείγματα.

Η έκφραση της p21 στις διάφορες περιπτώσεις οι οποίες εξετάστηκαν φαίνεται στις εικόνες 39-42. Οι μέσες τιμές της p21 πρωτεΐνης στις διάφορες ομάδες που εξετάστηκαν φαίνονται στον πίνακα 27 και η έκφραση αυτής στο ιστόγραμμα 3.



Πίνακας 27. Μέσες τιμές της p21 πρωτεΐνης σε φυσιολογικό ενδομήτριο (παραγωγική-εκκριτική φάση), υπερπλασίες και καρκινώματα.

p21 πρωτεΐνη	Μέση τιμή	Σταθερά απόκλιση	Ελάχιστη τιμή	Μέγιστη Τιμή	Αριθμός περιπτώσεων
Παραγωγική φάση	0.03	0.12	0.00	0.50	17
Εκκριτική φάση	0.00	0.00	0.00	0.01	14
Υπερπλασίες	0.45	1.23	0.00	5.00	34
Καρκινώματα	6.05	14.40	0.00	60.00	89

Φυσιολογικό ενδομήτριο

Παραγωγικό - εκκριτικό ενδομήτριο: Μικρή έκφραση της p21 πρωτεΐνης παρατηρήθηκε σε μεμονωμένα επιθηλιακά κύτταρα του παραγωγικού ενδομητρίου, ενώ το εκκριτικό ενδομήτριο ήταν σχεδόν αρνητικό.

Υπερπλαστικό ενδομήτριο: Μικρή θετικότητα στην p21 πρωτεΐνη παρατηρήθηκε σε 4/34 (11,8%) περιπτώσεις υπερπλαστικού ενδομητρίου, ενώ 30/34 (88,2%) των περιπτώσεων ήταν εντελώς αρνητικές ή παρουσίαζαν μεμονωμένα θετικά κύτταρα.

Καρκινώματα ενδομητρίου: Ικανή έκφραση της p21 πρωτεΐνης (> 50% των νεοπλασματικών κυττάρων) διαπιστώθηκε σε 5/89 (5,6%) περιπτώσεις καρκινωμάτων, μικρή έως μέτρια εστιακή θετικότητα (< 50% των νεοπλασματικών κυττάρων) σε 25/89 (28,1%), ενώ 59/89 (66,3%) των περιπτώσεων ήταν εντελώς αρνητικές ή παρουσίαζαν μεμονωμένα θετικά κύτταρα.

Η έκφραση της p21 ήταν μεγαλύτερη στα καρκινώματα σε σχέση με τις υπερπλασίες και το φυσιολογικό ενδομήτριο. Στατιστικώς σημαντική διαφορά της έκφρασης της p21 πρωτεΐνης παρατηρήθηκε μεταξύ των καρκινωμάτων και του φυσιολογικού ενδομητρίου ($p=0,0053$), ενώ οι διαφορές της έκφρασης των καρκινωμάτων και υπερπλασιών καθώς και υπερπλασιών με το φυσιολογικό ενδομήτριο δεν ήταν στατιστικώς σημαντικές. Η έκφραση της p21 στις διάφορες ομάδες οι οποίες εξετάστηκαν φαίνεται στον πίνακα 28.



Πίνακας 28: Έκφραση της πρωτεΐνης p21 σε φυσιολογικό ενδομήτριο (παραγωγικό, εκκριτικό) στους διάφορους τύπους υπερπλασίας και σε καρκινώματα

P21	Καρκινώματα	Υπερπλασίες	Παραγωγική φάση	Εκκριτική φάση
< 1	59/89 (66.3%)	30/34 (88.2%)	17/17 (100%)	14/14 (100%)
1-50	25/89 (28.1%)	4/34 (11.8%)		
> 50	5/89 (5.6%)			

Στις περιπτώσεις των καρκινωμάτων η έκφραση της p21 πρωτεΐνης συσχετίστηκε με τον βαθμό κακοηθείας του όγκου ($p=0,019$), ειδικότερα, όγκοι χαμηλής διαφοροποίησης παρουσίαζαν μεγαλύτερη έκφραση της p21 πρωτεΐνης απ' ότι οι καλής και μέτριας διαφοροποίησης. Μικρότερη έκφραση της p21 πρωτεΐνης ($p=0,047$) διαπιστώθηκε σε καρκινώματα με πλακώδη διαφοροποίηση, ενώ δεν διαπιστώθηκε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση της έκφρασης αυτής με το στάδιο του καρκινώματος.

Σε σχέση με τους λοιπούς δείκτες, η έκφραση της p21 συσχετίστηκε με την έκφραση της p53 πρωτεΐνης ($p=0,009$), τους δείκτες πολλαπλασιασμού MIB1 ($p<0,0001$) και PCNA ($p<0,0001$), το c-erbB-2 ($p=0,005$), το Rb ($p<0,0001$) και την έκφραση της μεταλλοθειονίνης ($p=0.02$).

Η σχέση της p21 πρωτεΐνης με τις διάφορες κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους και τους πιθανούς προγνωστικούς δείκτες στην ομάδα των καρκινωμάτων φαίνεται στους πίνακες 29 και 30.

Στις περιπτώσεις υπερπλασίας η έκφραση της p21 πρωτεΐνης ήταν υψηλότερη σε περιπτώσεις άτυπης υπερπλασίας σε σχέση με απλής ($p=0,015$) και σύνθετης ($p=0,03$). Στατιστικώς σημαντική συσχέτιση της έκφρασης της p21 πρωτεΐνης παρατηρήθηκε με την έκφραση της Rb πρωτεΐνης ($p=0.005$), της μεταλλοθειονίνης ($p=0.034$) και του δείκτη πολλαπλασιασμού MIB1 ($p=0.019$). Τάση συσχέτισης παρατηρήθηκε ακόμη και με το δείκτη πολλαπλασιασμού PCNA ($p=0.065$).

Στο φυσιολογικό παραγωγικό ενδομήτριο δεν παρατηρήθηκε καμία συσχέτιση της έκφρασης της p21 πρωτεΐνης με τις ανωτέρω παραμέτρους, ενώ στο φυσιολογικό εκκριτικό ενδομήτριο παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική αναλογική συσχέτιση με την έκφραση



των υποδοχέων οιστρογόνων ($p=0,004$), της αντιαποπτωτικής πρωτεΐνης bcl-2 ($p=0,038$) και αντίστροφη συσχέτιση με την έκφραση της καθεψίνης D ($p=0,05$).

Πίνακας 29. Σχέση έκφρασης της πρωτεΐνης p21 με κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους σε καρκινώματα ενδομητρίου

		Έκφραση της πρωτεΐνης p21			p value
		(-)	< 50%	> 50%	
<i>Ηλικία</i>	< 45	5			$p > 0.05$
	45-55	15	3	1	
	> 55	33	21	4	
<i>Βαθμός διαφοροποίησης</i>	1	21	4	1	$p = 0.019$
	2	25	12	3	
	3	12	9	1	
<i>Στάδιο κατά FIGO</i>	I	32	8	2	$p > 0.05$
	II	7	4		
	III	5	2	1	
	IV	1	2		
<i>Διήθηση αγγείων</i>	(-)	34	6	2	$p > 0.05$
	(+)	10	9	1	
<i>Πλακώδης μετάπλαση</i>	(-)	46	24	5	$p = 0,047$
	(+)	12			
<i>ER</i>	< 10	40	12	4	$p > 0.05$
	> 10	10	6		
<i>PR</i>	< 10	47	19	2	$p > 0.05$
	> 10	10	5	3	
<i>ER/PR</i>	< 10	46	17	4	$p > 0.05$
	> 10	4	1		



Πίνακας 30. Σχέση έκφρασης της πρωτεΐνης p21 με πιθανούς προγνωστικούς δείκτες σε καρκινώματα ενδομητρίου

		Έκφραση της πρωτεΐνης p21			p value
		(-)	<50%	>50%	
<i>p53</i>	<5	50	19	3	p=0.009
	>5	7	6	2	
<i>Rb</i>	0	43	9	1	p<0.0001
	<10	11	9	1	
	>10	5	7	3	
<i>c-erbB-2</i>	<25	53	17	5	p=0.005
	>25	3	7		
<i>bcl-2</i>	<10	47	18	3	p>0.05
	10-50	9	5	2	
	>50	2	1		
Καθεψίνη D	(-)	24	7	3	p>0.05
	<10	19	10		
	>10	16	8	2	
Μεταλλοθειονίνη	(-)	49	16	2	p=0.02
	<50	5	4	2	
	>50	5	5	1	
<i>MIB1</i>	<10	56	17	3	p<0.0001
	>10	3	8	2	
<i>PCNA</i>	<10	33	5	1	p<0.0001
	10-50	18	9	2	
	>50	8	11	2	



Συνοπτικά τα αποτελέσματα έδειξαν:

- ◊ Έκφραση των υποδοχέων οιστρογόνων και προγεστερόνης (> 10% των νεοπλασματικών κυττάρων) παρατηρήθηκε σε 22,2% και 20,9% των καρκινωμάτων αντίστοιχα. Η έκφραση αυτή ήταν μειωμένη στα καρκινώματα σε σχέση με τις περιπτώσεις υπερπλασίας και το φυσιολογικό παραγωγικό ενδομήτριο (σε επίπεδο στατιστικώς σημαντικό).
- ◊ Η έκφραση των δεικτών πολλαπλασιασμού MIB1 και PCNA ήταν μεγαλύτερη στα καρκινώματα σε σχέση με τις υπερπλασίες και το φυσιολογικό εκκριτικό ενδομήτριο.
- ◊ Μembranική (κυτταροπλασματική) έκφραση του c-erbB-2 (> 25% των νεοπλασματικών κυττάρων) παρατηρήθηκε σε 11,8% των καρκινωμάτων, ενώ όλες οι περιπτώσεις υπερπλασίας και φυσιολογικού ενδομητρίου παρουσίαζαν μικρή έκφραση (< 25% των επιθηλιακών κυττάρων)
- ◊ Πυρηνική έκφραση της p53 πρωτεΐνης (> 5% των νεοπλασματικών κυττάρων) ανιχνεύτηκε σε 17,2% των καρκινωμάτων, ενώ όλες οι περιπτώσεις υπερπλασίας και φυσιολογικού ενδομητρίου παρουσίασαν ελάχιστη έκφραση αυτής (< 5% των επιθηλιακών κυττάρων) ή ήταν αρνητικές.
- ◊ Πυρηνική έκφραση της Rb πρωτεΐνης (> 10% των νεοπλασματικών κυττάρων) παρατηρήθηκε σε 16,9% των καρκινωμάτων. Η έκφραση αυτή ήταν μικρότερη στα καρκινώματα σε σχέση με τις περιπτώσεις υπερπλασίας και φυσιολογικού παραγωγικού ενδομητρίου.
- ◊ Κυτταροπλασματική έκφραση της bcl-2 πρωτεΐνης (> 10% των νεοπλασματικών κυττάρων) παρατηρήθηκε σε 21,8% των καρκινωμάτων. Η έκφραση αυτή ήταν μικρότερη στα καρκινώματα σε σχέση με τις υπερπλασίες και το φυσιολογικό παραγωγικό ενδομήτριο.
- ◊ Κυτταροπλασματική έκφραση της καθεψίνης D (> 10% των νεοπλασματικών κυττάρων) παρατηρήθηκε σε 28,9% των καρκινωμάτων. Η έκφραση αυτή ήταν μικρότερη στα καρκινώματα σε σχέση με τις περιπτώσεις υπερπλασίας και φυσιολογικού ενδομητρίου
- ◊ Πυρηνική και κυτταροπλασματική έκφραση της μεταλλοθειονίνης παρατηρήθηκε σε 24% των καρκινωμάτων. Η έκφραση αυτή ήταν μεγαλύτερη στα καρκινώματα απ' ότι στις υπερπλασίες και το φυσιολογικό παραγωγικό ενδομήτριο.
- ◊ Πυρηνική έκφραση της p21 πρωτεΐνης ανιχνεύτηκε σε 33,7% των καρκινωμάτων. Η έκφραση αυτή ήταν σαφώς μεγαλύτερη στα καρκινώματα απ' ότι στις περιπτώσεις υπερπλασίας και φυσιολογικού ενδομητρίου



Γενικά η συσχέτιση των δεικτών με τις κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους και τους λοιπούς δείκτες στα καρκινώματα ενδομητρίου έχει ως ακολούθως:

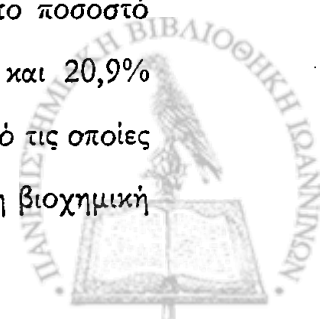
- ◇ Οι υποδοχείς οιστρογόνων συσχετίστηκαν με:
την Rb πρωτεΐνη
- ◇ Οι υποδοχείς προγεστερόνης συσχετίστηκαν με:
το δείκτη πολλαπλασιασμού MIB1 και την Rb πρωτεΐνη
- ◇ Ο δείκτης πολλαπλασιασμού PCNA συσχετίστηκε με:
το βαθμό διαφοροποίησης του καρκινώματος (ιστόγραμμα 6), το c-erbB-2 και την έκφραση των πρωτεϊνών p53, Rb και p21.
- ◇ Ο δείκτης πολλαπλασιασμού MIB1 συσχετίστηκε με:
το βαθμό διαφοροποίησης του όγκου, τους υποδοχείς προγεστερόνης (PR), τις πρωτεΐνες p53, bcl-2, p21 και την καθεψίνη D.
- ◇ Το c-erbB-2 συσχετίστηκε με:
το βαθμό διαφοροποίησης του καρκινώματος, το δείκτη πολλαπλασιασμού PCNA, την καθεψίνη D και p21 πρωτεΐνη.
- ◇ Η έκφραση της πρωτεΐνης p53 συσχετίστηκε με:
το βαθμό διαφοροποίησης του όγκου, τους δείκτες πολλαπλασιασμού PCNA και MIB1 και την έκφραση των πρωτεϊνών Rb και p21.
- ◇ Η έκφραση της πρωτεΐνης Rb συσχετίστηκε με:
τους υποδοχείς οιστρογόνων (ER) και προγεστερόνης (PR), το δείκτη πολλαπλασιασμού PCNA, τις πρωτεΐνες p53 και p21 και την καθεψίνη D.
- ◇ Η έκφραση της αντιαποπτωτικής πρωτεΐνης bcl-2 συσχετίστηκε με:
το δείκτη πολλαπλασιασμού MIB1
- ◇ Η έκφραση της καθεψίνης D συσχετίστηκε με:
το δείκτη πολλαπλασιασμού MIB1, το c-erbB-2 και την πρωτεΐνη Rb
- ◇ Η έκφραση της μεταλλοθειονίνης συσχετίστηκε με:
το βαθμό διαφοροποίησης του όγκου, το c-erbB-2 και την πρωτεΐνη p21
- ◇ Η έκφραση της πρωτεΐνης p21 συσχετίστηκε με:
το βαθμό διαφοροποίησης του καρκινώματος, τους δείκτες πολλαπλασιασμού PCNA, και MIB1, τις πρωτεΐνες p53 και Rb, το c-erbB-2 και τη μεταλλοθειονίνη.



ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Το αδενοκαρκίνωμα του ενδομητρίου είναι η πιο συχνή κακοήθεια του γεννητικού συστήματος του θήλεος και το πέμπτο συχνότερο κακοήθες νεόπλασμα των γυναικών. Ως κλασσικοί προγνωστικοί παράγοντες θεωρούνται η ηλικία, ο ιστολογικός τύπος, ο βαθμός διαφοροποίησης, το βάθος διήθησης του μυομητρίου και το στάδιο της νόσου, ενώ ο ρόλος των κυτταρικών προγνωστικών δεικτών παραμένει ακόμη αδιευκρίνιστος. Η ιστολογική ταξινόμηση των ενδομητρικών καρκινωμάτων περιλαμβάνει δύο κύριους τύπους, τα ενδομητριοειδή και μη ενδομητριοειδή καρκινώματα. Οι δύο αυτοί ιστολογικοί τύποι σχετίζονται με διαφορετική βιολογική συμπεριφορά και κλινική πορεία. Ειδικότερα, το ενδομητριοειδές αδενοκαρκίνωμα αναπτύσσεται περισσότερο συχνά σε έδαφος άτυπης υπερπλασίας, σε γυναίκες περί την εμμηνόπαυση ή σε γυναίκες νεότερης ηλικίας με πολυκυστικές ωοθήκες. Θεωρείται δηλαδή ορμονοεξαρτώμενος όγκος και χαρακτηρίζεται από καλύτερη πρόγνωση. Οι διαφορετικοί κλινικοί και προγνωστικοί χαρακτήρες των δύο αυτών τύπων φαίνεται να υποδηλώνουν διαφορετικούς παθογενετικούς μηχανισμούς ανάπτυξης, οι οποίοι αποτελούν και σήμερα αντικείμενο έντονης διερεύνησης. Πρόσφατα προτάθηκε ένα μοντέλο καρκινογένεσης²³⁷ σύμφωνα με το οποίο σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη των ενδομητριοειδών αδενοκαρκινωμάτων διαδραματίζει η μη αντιρροπούμενη και συνεχής οιστρογονική επίδραση, η οποία βραδέως και σταδιακά οδηγεί στην κακοήθη εξέλιξη μέσω υπερπλασίας του ενδομητρίου.

Μέσω των ορμονικών υποδοχέων (ER, PR), επιτελείται η δράση των οιστρογόνων και της προγεστερόνης στο ενδομήτριο και είναι γνωστό ότι ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός και η διαφοροποίηση του ενδομητρίου ελέγχονται κυκλικά από τις δύο αυτές ορμόνες. Σε αντίθεση με το μαστό, η προγεστερόνη έχει σαφώς προστατευτικό ρόλο στο ενδομήτριο, αναστέλλοντας τη μιτογόνο δράση των οιστρογόνων. Έτσι για την ανάπτυξη, των ενδομητριοειδών τουλάχιστον, καρκινωμάτων, δύο είναι οι βασικές συνθήκες. 1) η χρόνια έκθεση σε οιστρογόνα και 2) η σύγχρονη απουσία προγεστερόνης. Τα αδενοκαρκινώματα ενδομητρίου εκφράζουν υποδοχείς οιστρογόνων και προγεστερόνης όπως και οι περιπτώσεις υπερπλασίας και φυσιολογικού ενδομητρίου. Στη μελέτη μας το ποσοστό θετικής έκφρασης των καρκινωμάτων για τον κάθε υποδοχέα ήταν 22,2% και 20,9% αντίστοιχα. Τα ποσοστά αυτά είναι μικρότερα παλαιότερων μελετών, πολλές από τις οποίες είχαν χρησιμοποιήσει ως μέθοδο προσδιορισμού των ορμονικών υποδοχέων τη βιοχημική



μέθοδο σύνδεσης των οιστρογόνων ή της προγεστερόνης στο ομογενοποίημα φρέσκου ιστού. Η βιοχημική μέθοδος όμως είναι «τυφλή» δεδομένου ότι δεν μπορεί να ελέγξει αν αναλύει νεοπλασματικό ή φυσιολογικό ιστό, ιδιαίτερα σε νεοπλάσματα όπως του ενδομητρίου, όπου τα δύο στοιχεία κατά κανόνα αναμιγνύονται και εκφράζουν αμφότερα υποδοχείς (νεόπλασμα-στρώμα, υπερπλαστικό και φυσιολογικό ενδομήτριο). Μεταγενέστερες μελέτες, όπως και η δική μας, οι οποίες αντικατέστησαν τη βιοχημική με την ανοσοϊστοχημική μέθοδο προσδιορισμού υποδοχέων, έδειξαν ότι οι υποδοχείς δεν εντοπίζονταν μόνο στα νεοπλασματικά κύτταρα αλλά και στους συνυπάρχοντες φυσιολογικούς ιστούς²³⁸. Στην παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε παράλληλη έκφραση των δύο υποδοχέων στα καρκινώματα και στις υπερπλασίες. Η έκφραση και των δύο υποδοχέων ήταν μεγαλύτερη στην παραγωγική φάση, ακολουθούσαν οι υπερπλασίες, τα καρκινώματα και τέλος το εκκριτικό ενδομήτριο. Αν και η σπουδαιότητα της έκφρασης των ορμονικών υποδοχέων (ER, PR) στο καρκίνωμα του ενδομητρίου, δεν έχει τόσο καλά τεκμηριωθεί, όπως στον καρκίνο του μαστού, έχει προταθεί ότι το επίπεδο της σχέσης ER/PR θα μπορούσε να έχει προγνωστική σημασία²³⁹. Ειδικότερα, έχει βρεθεί ότι το επίπεδο αυτό συσχετίζεται με καλύτερη πρόγνωση και με καλύτερης διαφοροποίησης καρκινώματα^{111,113}. Στην παρούσα μελέτη δε βρέθηκε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση της έκφρασης των δύο αυτών υποδοχέων με τις συμβατικές κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους, σε αντίθεση με άλλες μελέτες^{105,111,115,240}, ενώ συσχέτιση παρατηρήθηκε με άλλους μελετηθέντες προγνωστικούς δείκτες (όπως MIB1, Rb). Ειδικότερα, μειωμένη έκφραση και των δύο υποδοχέων συσχετίστηκε με μείωση της έκφρασης της ογκοκατασταλτικής πρωτεΐνης Rb, ενώ μειωμένη έκφραση των υποδοχέων προγεστερόνης συσχετίστηκε με χαμηλές τιμές του δείκτη πολλαπλασιασμού MIB1. Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν ότι η έκφραση των ορμονικών υποδοχέων σε καρκινώματα ενδομητρίου είναι πιθανόν να εμπλέκεται σε κάποιο στάδιο της καρκινογένεσης, αν και όχι τόσο εμφανώς όπως στον καρκίνο του μαστού, ασκώντας προφανώς προστατευτικό ρόλο και μάλιστα οι υποδοχείς προγεστερόνης ίσως να παίζουν καθοριστικότερο ρόλο απ' ότι υποδοχείς οιστρογόνων.

Η αρχική ανάπτυξη των κακοήθων νεοπλασμάτων καθώς και η εξέλιξή τους πιστεύεται ότι προκύπτει από τον αυξημένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό ή την ελάττωση του ρυθμού της απόπτωσης (προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου) ή από το συνδυασμό και των δύο. Η



κακοήθης εξαλλαγή, σύμφωνα με τα υπάρχοντα δεδομένα οφείλεται σε σταδιακή συσσώρευση μεταλλάξεων σε κρίσιμα γονίδια, τα οποία είναι υπεύθυνα για την αύξηση και επιβίωση του κυττάρου. Σε περιπτώσεις μη επερχόμενης επιδιόρθωσης των μεταλλάξεων, σκοπός της οποίας είναι η παρεμπόδιση μετάβασης των γονιδιακών διαταραχών στα θυγατρικά κύτταρα, το κύτταρο ενεργοποιεί το μηχανισμό της αυτοκαταστροφής του. Αντιθέτως, διαταραχή του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου καθιστά δυνατή την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό κυττάρων με σταδιακά συσσωρευμένες γονιδιακές ανωμαλίες, με αποτέλεσμα τη δημιουργία κακοήθων κυτταρικών κλώνων²⁴¹. Στην παρούσα εργασία, τόσο η έκφραση των δύο δεικτών πολλαπλασιασμού όσο και η έκφραση της p53 πρωτεΐνης συσχετίστηκε με το βαθμό διαφοροποίησης του όγκου, γεγονός το οποίο συμφωνεί και με άλλες μελέτες^{88,118,119,129,133,134}. Οι δείκτες αυτοί θα μπορούσαν να θεωρηθούν δείκτες δυσμενούς βιολογικής συμπεριφοράς του καρκινώματος του ενδομητρίου.

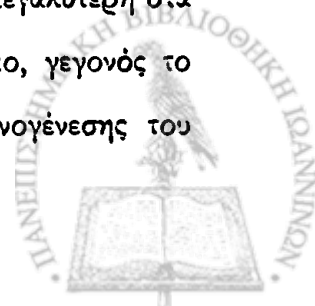
Υπερέκφραση του c-erbB-2 ανιχνεύτηκε σε 11,8% των καρκινωμάτων. Παρόμοια ήταν και τα ευρήματα άλλων ερευνητών¹⁴⁹. Η υπερέκφραση αυτή διαπιστώθηκε περισσότερο στα καρκινώματα απ' ό,τι στο υπερπλαστικό και φυσιολογικό ενδομήτριο, σύμφωνα και με άλλους ερευνητές^{149,150}. Στην παρούσα μελέτη η υπερέκφραση της c-erbB-2 πρωτεΐνης συσχετίστηκε με το βαθμό κακοηθείας του καρκινώματος, σε αντίθεση με άλλους ερευνητές¹⁵¹, ενώ δεν συσχετίστηκε με το στάδιο της νόσου όπως καταδείχθηκε και από άλλες μελέτες^{133,151}. Συσχέτιση παρατηρήθηκε ακόμη και με την αυξητική δραστηριότητα του όγκου, σύμφωνα και με άλλους ερευνητές^{150,155}. Τα ευρήματα αυτά δείχνουν ότι η υπερέκφραση του c-erbB-2 θα μπορούσε να αποτελέσει δείκτη δυσμενούς πρόγνωσης του καρκινώματος του ενδομητρίου.

Το γονίδιο p53 κωδικοποιεί μία πυρηνική πρωτεΐνη, η οποία ρυθμίζει τη μεταγραφή των υπεύθυνων για την επιδιόρθωση του DNA γονιδίων, την κυτταρική διαίρεση και την απόπτωση²⁴². Ο φυσιολογικός τύπος της p53 πρωτεΐνης (wild type) ελέγχει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό σε περιπτώσεις δομικών αλλοιώσεων του DNA. Αυτό επιτυγχάνεται με υπερέκφραση της φυσιολογικής πρωτεΐνης p53. Η τελευταία προκαλεί είτε στάση του κυτταρικού κύκλου στη φάση G₁, (μέσω της παραγωγής του προϊόντος p21 του γονιδίου WAF-1 με σκοπό την επιδιόρθωση των αλλοιώσεων) είτε, επί εκτεταμένης και μη



επιδιορθώσιμης αλλοίωσης, ωθώντας τα κύτταρα σε απόπτωση και προστατεύοντας έτσι το DNA από συσσώρευση και μετάδοση μεταλλάξεων στα θυγατρικά κύτταρα. Επί απουσίας λειτουργικής φυσιολογικής πρωτεΐνης p53 δεν είναι δυνατή η προστατευτική στάση του κυτταρικού κύκλου, με αποτέλεσμα, είτε τον πολλαπλασιασμό κυττάρων με διαταραγμένο DNA και συνεπακόλουθο γονιδιακή αστάθεια, συσσώρευση μεταλλάξεων και τελικά κακοήγη εξαίλαγη, είτε με αποτυχημένη διαίρεση και κυτταρικό θάνατο²⁴³. Η αδρανοποίηση της πρωτεΐνης p53 μπορεί να οφείλεται σε παρουσία μετάλλαξης του γονιδίου p53, σε απώλεια ενός ή και των δύο αλληλόμορφων γονιδίων (LOH), σε δέσμευσή της από άλλες κυτταρικές πρωτεΐνες (π.χ. mdm-2) ή και ογκοπρωτεΐνες ιών π.χ. HPV¹⁵⁷. Ο χρόνος υποδιπλασιασμού της φυσιολογικής πρωτεΐνης είναι μικρός (6-45 min), ενώ της μεταλλαγμένης αυξάνεται, επιτρέποντας έτσι την ανίχνευσή της με ανοσοϊστοχημικές μεθόδους. Στο υλικό της μελέτης αυτής και με τη χρήση του αντισώματος DO7, το συνολικό ποσοστό θετικότητας της πρωτεΐνης p53 (> 5% θετικά νεοπλασματικά κύτταρα) στην ομάδα των καρκινωμάτων ήταν 17,2%. Το ποσοστό αυτό είναι ελαφρώς μικρότερο από μερικές άλλες μελέτες^{151,166} προφανώς λόγω της εφαρμογής διαφορετικών μονοκλωνικών αντισωμάτων (που αντιπροσωπεύουν διαφορετικά επιτόπια), διαφορετικών τρόπων εκτίμησης και διαφορετικού υλικού. Σαφής υπεροχή της p53 πρωτεΐνης παρατηρήθηκε στην ομάδα των καρκινωμάτων σε σχέση με τις υπερπλασίες και το φυσιολογικό ενδομήτριο, γεγονός το οποίο υποδηλώνει την εμπλοκή της σε τελικά στάδια της καρκινογένεσης του ενδομητρίου. Στατιστικώς σημαντική αναλογική συσχέτιση διαπιστώθηκε μεταξύ p53 πρωτεΐνης και των δύο δεικτών πολλαπλασιασμού, γεγονός που υποδεικνύει την εμπλοκή της στον έλεγχο του κυτταρικού πολλαπλασιασμού στα καρκινώματα του ενδομητρίου.

Μεταβολές του γονιδίου του ρετινοβλαστώματος έχουν παρατηρηθεί σε ποικίλους όγκους. Οι μεταβολές αυτές αφορούν μεταλλάξεις ή απώλεια γονιδίων και κατά συνέπεια αδρανοποίηση της ογκοκατασταλτικής πρωτεΐνης pRb. Πρόσφατα έχει προταθεί ότι οι μεταβολές αυτές θα μπορούσαν να παίζουν κάποιο ρόλο στην ενδομήτρια καρκινογένεση^{166,190,198,200}. Στην παρούσα μελέτη η υπερέκφραση της Rb πρωτεΐνης ήταν μεγαλύτερη στα καρκινώματα και τις υπερπλασίες σε σχέση με το φυσιολογικό ενδομήτριο, γεγονός το οποίο υπαινίσσεται την εμπλοκή της από τα αρχικά στάδια της καρκινογένεσης του



ενδομητρίου. Στατιστικώς σημαντική διαφορά της έκφρασης αυτής δεν διαπιστώθηκε ως προς το βαθμό διαφοροποίησης του καρκινώματος, σε αντίθεση με άλλους ερευνητές¹⁹⁸, ούτε με το κλινικό στάδιο του καρκινώματος, σύμφωνα και με άλλες μελέτες¹⁹⁸. Η έκφραση της pRb συσχετίστηκε με τους υποδοχείς οιστρογόνων και προγεστερόνης στα καρκινώματα και με τους υποδοχείς προγεστερόνης στο υπερπλαστικό και παραγωγικό ενδομήτριο. Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν ότι η έκφραση της Rb πρωτεΐνης πιθανόν υπόκειται ορμονικού ελέγχου σε νεοπλασματικές και μη μεταβολές του ενδομητρίου.

Είναι γνωστός ο ρόλος του ογκοκατασταλτικού γονιδίου του ρετινοβλαστώματος (Rb) ως ρυθμιστή του κυτταρικού κύκλου και ιδιαίτερα η μέσω των κυκλινών ρύθμιση της προόδου αυτού, διαμέσου της φάσης G₁, με τη φωσφορυλίωση της pRb. Η συσχέτιση της έκφρασης της pRb με το δείκτη πολλαπλασιασμού PCNA στα καρκινώματα, με το δείκτη πολλαπλασιασμού MIB1 στις υπερπλασίες, και με τους δείκτες πολλαπλασιασμού PCNA και MIB1 στο φυσιολογικό ενδομήτριο υποδηλώνει την εμπλοκή της στο αυξητικό δυναμικό σε νεοπλασματικές και μη μεταβολές του ενδομητρίου.

Επιπρόσθετα, σημαντικό είναι το εύρημα της συσχέτισης της pRb με την έκφραση της p53 πρωτεΐνης, καθ' όσον και οι δύο συνδέονται με τον κυτταρικό κύκλο, γεγονός που καταδεικνύεται και σε πρόσφατες μελέτες, στις οποίες η ταυτόχρονη απώλεια των δύο αυτών ογκοκατασταλτικών γονιδίων θεωρείται απαραίτητη για τον κακοήγη νεοπλασματικό μετασχηματισμό²⁴⁴.

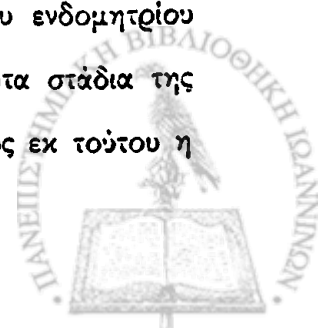
Το bcl-2 ήταν το πρώτο ογκογονίδιο το οποίο αποδείχθηκε ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην απόπτωση. Πρόσφατες εργασίες έδειξαν ότι το bcl-2 είναι μέλος μιας μεγαλύτερης οικογένειας συγγενών γονιδίων, τα οποία πολλές φορές ευνοούν την απόπτωση. Ένα τέτοιο γονίδιο είναι το bax. Φαίνεται ότι η ισορροπία της έκφρασης προαποπτωτικών και αντι-αποπτωτικών γονιδίων καθορίζει την οριστική τύχη των κυττάρων. Σε προηγούμενες μελέτες έχει αναφερθεί ότι η έκφραση της πρωτεΐνης bcl-2 στο φυσιολογικό ενδομήτριο είναι κυκλική και εν μέρει ορμονοεξαρτώμενη²⁴⁵. Συγκεκριμένα, η έκφραση του bcl-2 αυξάνει κατά την παραγωγική φάση του κύκλου, εμφανίζει τη μεγαλύτερη έκφραση της στο τέλος της παραγωγικής φάσης και ελαττώνεται ταχέως με την έναρξη της εκκριτικής φάσης. Στην παρούσα μελέτη η έκφραση της bcl-2 πρωτεΐνης στο παραγωγικό ενδομήτριο και στις περιπτώσεις υπερπλασίας ήταν εντονότερη και περισσότερο ομοιογενής συγκρινόμενη με



αυτή των καρκινωμάτων. Σε 21,8% των αδenoκαρκινωμάτων ανιχνεύτηκε θετική ανοσοαντίδραση σε περισσότερο από 10% των νεοπλασματικών κυττάρων. Παρόμοιες μελέτες της βιβλιογραφίας αναφέρουν μεγάλη διακύμανση στα αποτελέσματα (34-85%), που οφείλεται πιθανόν σε διαφορετικά κριτήρια προσδιορισμού των ορίων θετικότητας, στη χρήση διαφορετικών αντισωμάτων, στη διαφορετική μεθοδολογία και στη φύση του υλικού^{172,177,179,205,206}. Η έκφραση της bcl-2 πρωτεΐνης στα καρκινώματα ενδομητρίου δεν συσχετίστηκε με γνωστές κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους όπως: βαθμό κακοήθειας και στάδιο της νόσου. Παρόμοια ήταν και τα ευρήματα άλλων ερευνητών^{177,178,204,206,208,209}, αν και μερικοί υποστηρίζουν ότι απώλεια ή μειωμένη έκφραση της bcl-2 πρωτεΐνης συσχετίζεται με το βαθμό διαφοροποίησης και το στάδιο του καρκινώματος. Συσχέτιση με τους ορμονικούς υποδοχείς, σύμφωνα και με άλλους συγγραφείς²⁰⁵ δεν παρατηρήθηκε αν και μερικοί υποστηρίζουν το αντίθετο^{122,172}.

Στην παρούσα μελέτη η έκφραση της bcl-2 πρωτεΐνης συσχετίστηκε με τους υποδοχείς προγεστερόνης στο υπερπλαστικό ενδομήτριο και τους υποδοχείς οιστρογόνων στο φυσιολογικό εκκριτικό ενδομήτριο. Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν ότι η έκφραση της αντιαποπτωτικής αυτής πρωτεΐνης πιθανόν να βρίσκεται κάτω από ορμονικό έλεγχο σε φυσιολογικές και προνεοπλασματικές καταστάσεις και να απορρυθμίζεται με την εξέλιξη της νόσου και την εμφάνιση κακοήθους φαινοτύπου. Συσχέτιση με το p53, σύμφωνα και με άλλους ερευνητές^{178,206,208} δεν παρατηρήθηκε. Το εύρημα αυτό, το οποίο έχει παρατηρηθεί και σε άλλους όγκους, πιθανόν να υποδηλώνει ότι το p53 δε συμμετέχει στη ρύθμιση της απόπτωσης στο ενδομητρικό καρκίνωμα, ίσως επειδή η έκφραση της bcl-2 πρωτεΐνης παρατηρείται κυρίως σε προνεοπλασματικές καταστάσεις (σαν ένα αρχικό γεγονός της καρκινογένεσης), ενώ το p53 εκφράζεται κυρίως στα καρκινώματα (σαν ένα τελικό γεγονός της καρκινογένεσης).

Από τους λοιπούς δείκτες οι οποίοι εξετάστηκαν η έκφραση της bcl-2 πρωτεΐνης συσχετίστηκε μόνο με το δείκτη πολλαπλασιασμού MIB1, σύμφωνα και με άλλες μελέτες¹²². Η παρατηρούμενη σταδιακή ελάττωση υπερέκφρασης της πρωτεΐνης bcl-2 από το παραγωγικό και υπερπλαστικό ενδομήτριο προς το αδenoκαρκίνωμα του ενδομητρίου υποδηλώνει ότι ο ρόλος της πρωτεΐνης bcl-2 είναι σημαντικός στα πρώτα στάδια της καρκινογένεσης. Έτσι εξασφαλίζεται η μακροβιότητα των κυττάρων και ως εκ τούτου η



αύξηση της επίπτωσης των γονιδιακών αλλοιώσεων, γεγονός τα οποία τελικά οδηγούν στην εκδήλωση του κακοήθους φαινοτύπου. Στην πλήρη ανάπτυξη ή και κατά τη σταδιακή εξέλιξη του αδενοκαρκινώματος, φαίνεται ότι ο ρόλος της bcl-2 πρωτεΐνης παύει να είναι σημαντικός και πιθανώς εξουδετερώνεται από κυτταρικούς μηχανισμούς, οι οποίοι τροποποιούν ή ελαττώνουν την έκφρασή της.

Η έκφραση της καθεψίνης D ήταν μεγαλύτερη στο φυσιολογικό παραγωγικό ενδομήτριο με σταδιακή απώλεια αυτής στο εκκριτικό ενδομήτριο, στις υπερπλασίες και στα καρκινώματα. Μερικοί ερευνητές αναφέρουν ότι η έκφραση της καθεψίνης D ήταν μεγαλύτερη στα καρκινώματα σε σχέση με περιπτώσεις υπερπλασίας και αρνητική στο φυσιολογικό ενδομήτριο¹⁵³. Αν και η καθεψίνη D θεωρείται ορμονοεξαρτώμενη πρωτεΐνη, και τουλάχιστον στον καρκίνο του μαστού είναι γνωστή η σχέση της με τους ορμονικούς υποδοχείς, στα καρκινώματα του ενδομητρίου δεν παρατηρήθηκε αντίστοιχη συσχέτιση, σύμφωνα με τα ευρήματα και άλλων ερευνητών¹⁶². Στην παρούσα μελέτη δε βρέθηκε συσχέτιση με το βαθμό διαφοροποίησης και το στάδιο του καρκινώματος, σύμφωνα και με άλλες μελέτες¹⁶² και σε αντίθεση με άλλους, οι οποίοι υποστηρίζουν ότι υψηλά επίπεδα καθεψίνης D συσχετίστηκαν με περισσότερο διηθητικά καρκινώματα²¹². Το γεγονός αυτό καθώς και η συσχέτιση αυτής με την επιβίωση¹⁵³ στηρίζουν την άποψη ότι θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σαν πιθανός δείκτης πρόγνωσης. Συσχέτιση έκφρασης της καθεψίνης D παρατηρήθηκε επίσης με το δείκτη πολλαπλασιασμού MIB1, το c-erbB-2 και την πρωτεΐνη Rb, γεγονότα τα οποία θα μπορούσαν να ενοχοποιηθούν στην εμπλοκή της καρκινογένεσης του ενδομητρίου.

Οι μελέτες έκφρασης της μεταλλοθειονίνης στον καρκίνο του ενδομητρίου είναι πολύ περιορισμένες και μόνο μία πρόσφατα πραγματοποιηθείσα αναφέρει ότι υψηλή έκφραση αυτής συσχετίστηκε με δυσμενείς προγνωστικές παραμέτρους όπως: υψηλός βαθμός κακοηθείας, προχωρημένο στάδιο της νόσου καθώς και ιστολογικός τύπος καρκινώματος²²⁴.

Στην παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε συσχέτιση της μεταλλοθειονίνης με το βαθμό διαφοροποίησης του καρκινώματος και το c-erbB-2, γεγονότα τα οποία συνηγορούν υπέρ μιάς πιθανής δυσμενούς προγνωστικής σημασίας αυτής.

Η έκφραση της p21 πρωτεΐνης παρουσίασε τις περισσότερες συσχετίσεις με τις άλλες παραμέτρους όπως: βαθμό κακοηθείας του καρκινώματος, δείκτες πολλαπλασιασμού



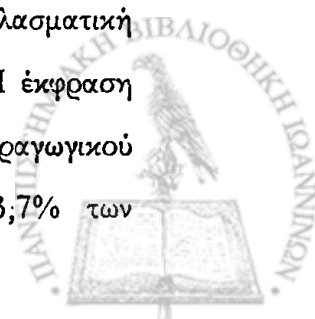
PCNA και MIB1, p53, c-erbB-2, Rb και μεταλλοθειονίνη. Η p21 πρωτεΐνη, το προϊόν του γονιδίου WAF-1, είναι γνωστή για την αντιογκοκατασταλτική της δράση, την οποία ασκεί στο φυσιολογικό τύπο του γονιδίου p53 και συνεπώς για το σημαντικό της ρόλο στην αυξητική δραστηριότητα και στην τελική διαφοροποίηση των κυττάρων. Συνεπώς είναι αναμενόμενη η συσχέτισή της με τους δείκτες πολλαπλασιασμού και την υπερέκφραση της p53 πρωτεΐνης. Το τελευταίο εύρημα έρχεται σε αντίθεση με πρόσφατα ευρήματα άλλων συγγραφέων, οι οποίοι υποστηρίζουν ότι η έκφραση του p53 είναι ανεξάρτητη της ενεργοποίησης της p21 πρωτεΐνης²²⁷⁻²²⁹. Βεβαίως η ανίχνευση του p53 αφορά τον μεταλλαγμένο τύπο, καθ' ότι αυτός έχει μεγαλύτερο χρόνο υποδιπλασιασμού και ως εκ τούτου μπορεί να ανιχνευθεί και σε τομές παραφίνης. Επίσης, η θετική συσχέτιση της έκφρασης της p21 πρωτεΐνης με το c-erbB-2, την πρωτεΐνη Rb και τη μεταλλοθειονίνη δείχνουν την πιθανή δυσμενή προγνωστική της σημασία στον καρκίνο του ενδομητρίου. Επιπλέον, η έκφραση της p21 πρωτεΐνης ήταν μεγαλύτερη στα καρκινώματα απ' ότι στις υπερπλασίες, ενώ στο φυσιολογικό ενδομήτριο διαπιστώθηκε ελάχιστη έκφραση. Τέλος, η έκφραση της ήταν μεγαλύτερη στην άτυπη υπερπλασία, σε σχέση με την απλή και σύνθετη χωρίς ατυπία. Τα ευρήματα αυτά δείχνουν το ρόλο της στην καρκινογένεση του ενδομητρίου και μάλιστα την εμπλοκή της στα τελικά στάδια της κακοήθους εξαλλαγής.



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το ενδομητρίο καρκίνωμα είναι το πλέον συχνό κακόηθες νεόπλασμα του γεννητικού συστήματος του θήλεος και παρά την αυξημένη συχνότητά του οι υποκείμενοι παθογενετικοί μηχανισμοί παραμένουν ακόμη αδιευκρίνιστοι. Σκοπός της παρούσης μελέτης είναι η ανοσοϊστοχημική ανίχνευση βιολογικών δεικτών (ER, PR, PCNA, MIB1, c-erbB-2, p53, Rb, bcl-2, καθεψίνη D, μεταλλοθειονίνη και p21) και ο ρόλος τους στην αιτιοπαθογένεια και την πρόγνωση του ενδομητρίου καρκινώματος. Το υλικό μας αποτελείται από 92 ενδομητρία καρκινώματα ενδομητριοειδούς τύπου, 35 περιπτώσεις υπερπλασίας (11 απλής, 16 σύνθετης και 8 άτυπης) και 33 φυσιολογικά ενδομήτρια (18 παραγωγικής φάσης και 15 εκκριτικής φάσης). Εφαρμόστηκε η μέθοδος αβιδίνης-βιοτίνης (ABC) σε τομές παραφίνης.

Συνοπτικά τα αποτελέσματα έδειξαν έκφραση όλων των δεικτών σε όλες τις κατηγορίες σε διάφορα ποσοστά. Ειδικότερα: έκφραση υποδοχέων οιστρογόνων και προγεστερόνης παρατηρήθηκε σε 22,2% και 20,9% των καρκινωμάτων αντίστοιχα. Η έκφραση αυτή ήταν μειωμένη στα καρκινώματα σε σχέση με τις περιπτώσεις υπερπλασίας και το φυσιολογικό παραγωγικό ενδομήτριο. Η έκφραση των δεικτών πολλαπλασιασμού MIB1 και PCNA ήταν μεγαλύτερη στα καρκινώματα σε σχέση με τις υπερπλασίες και το φυσιολογικό εκκριτικό ενδομήτριο. Μεμβρανική έκφραση του c-erbB-2 παρατηρήθηκε σε 11,8% των καρκινωμάτων με σαφή υπεροχή έναντι των υπερπλασιών και του φυσιολογικού ενδομητρίου. Πυρηνική έκφραση της p53 πρωτεΐνης ανιχνεύτηκε σε 17,2% των καρκινωμάτων με σαφή υπεροχή έναντι της υπερπλασίας και του φυσιολογικού ενδομητρίου. Πυρηνική έκφραση της Rb πρωτεΐνης παρατηρήθηκε σε 16,9% των καρκινωμάτων, η οποία ήταν μικρότερη σε σχέση με τις περιπτώσεις υπερπλασίας και φυσιολογικού παραγωγικού ενδομητρίου. Κυτταροπλασματική έκφραση της bcl-2 πρωτεΐνης (> 10% νεοπλασματικών κυττάρων) παρατηρήθηκε σε 21,8% των καρκινωμάτων, η οποία ήταν μικρότερη σε σχέση με τις υπερπλασίες και το φυσιολογικό παραγωγικό ενδομήτριο. Κυτταροπλασματική έκφραση της καθεψίνης D παρατηρήθηκε σε 28,9% των καρκινωμάτων. Η έκφραση αυτή ήταν μικρότερη στα καρκινώματα σε σχέση με τις περιπτώσεις υπερπλασίας και φυσιολογικού ενδομητρίου. Πυρηνική και κυτταροπλασματική έκφραση της μεταλλοθειονίνης παρατηρήθηκε σε 24% των καρκινωμάτων. Η έκφραση αυτή υπερέχει στα καρκινώματα έναντι των υπερπλασιών και του φυσιολογικού παραγωγικού ενδομητρίου. Πυρηνική έκφραση της p21 πρωτεΐνης ανιχνεύτηκε σε 33,7% των



καρκινωμάτων. Η έκφραση αυτή ήταν σαφώς μεγαλύτερη στα καρκινώματα απ' ό τι στις περιπτώσεις υπερπλασίας και φυσιολογικού ενδομητρίου. Με το βαθμό διαφοροποίησης του όγκου συσχετίστηκαν οι δείκτες: MIB1, PCNA, c-erbB-2, p53, p21 και μεταλλοθειονίνη. Με τους ορμονικούς υποδοχείς οι δείκτες: MIB1 και Rb. Με τους δείκτες πολλαπλασιασμού: p53, bcl-2, καθεψίνη D, c-erbB-2, Rb και p21. Μεταξύ τους: p53 και Rb, καθεψίνη D και c-erbB-2, καθεψίνη D και Rb, μεταλλοθειονίνη και c-erbB-2, p21 και p53, p21 και c-erbB-2, p21 και μεταλλοθειονίνη, p21 και Rb. Τα ανωτέρω ευρήματα δείχνουν ότι οι δείκτες MIB1, PCNA, p53, c-erbB-2, p21 και μεταλλοθειονίνη σχετίζονται άμεσα με την διαφοροποίηση του καρκινώματος και θα μπορούσαν να αποτελέσουν δείκτες δυσμενούς βιολογικής συμπεριφοράς του καρκινώματος του ενδομητρίου. Οι δείκτες p53 και c-erbB-2 φαίνεται να εμπλέκονται στα τελικά στάδια της καρκινογένεσης του ενδομητρίου, ενώ οι δείκτες bcl-2 και Rb από τα αρχικά στάδια. Επίσης η έκφραση της Rb πρωτεΐνης φαίνεται να βρίσκεται υπό ορμονικό έλεγχο στο φυσιολογικό, υπερπλαστικό και καρκινικό ενδομήτριο. Η έκφραση της bcl-2 πρωτεΐνης βρίσκεται υπό ορμονικό έλεγχο στο φυσιολογικό και υπερπλαστικό ενδομήτριο και απορρυθμίζεται στο καρκινικό, ενώ η έκφραση της καθεψίνης D, της μεταλλοθειονίνης και της p21 πρωτεΐνης φαίνεται να βρίσκεται υπό ορμονικό έλεγχο μόνο στο φυσιολογικό ενδομήτριο. Επιπλέον φαίνεται να υπάρχει αλληλοεπίδραση των δεικτών αυτών στις διάφορες εκφράσεις του ενδομητρίου και κατά συνέπεια φαίνεται να εμπλέκονται στην αιτιοπαθογένεια του ενδομητρικού καρκινώματος.

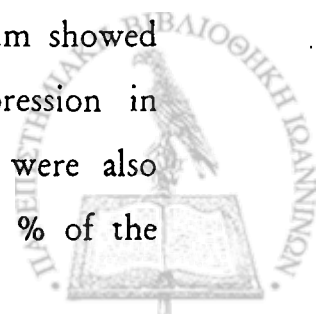


ABSTRACT

IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY OF PROGNOSTIC MARKERS (Hormonal receptors, proliferating indices, oncogenes and cancer suppressor genes, anti-apoptotic protein bcl-2, cathepsin D, metallothionein and p21 protein) IN ENDOMETRIAL CARCINOMAS

Kitsiou Evangelia

Endometrial adenocarcinoma is the most common malignant neoplasm of the female genital tract and despite its relative frequency, our understanding of the molecular events that contribute to the development and progression of the lesion remains incomplete. The purpose of the present study was to investigate the immunohistochemical expression of different markers and to elucidate their role in the pathogenesis of endometrial cancer and thereby the contribution in the biological behaviour of the tumor. Paraffin sections from 92 endometrial carcinomas (endometrioid type), 35 hyperplasias (11 simple, 16 complex, 8 atypical), and 33 normal endometria (18 proliferative, 15 secretory) were investigated immunohistochemically for hormone receptor's status (ER, PR), proliferation associated indices (PCNA, MIB1), c-erbB-2, tumor suppressor gene products (pRb, p53 protein), anti-apoptotic protein (bcl-2), cathepsin D, metallothionein and p21 protein expression. Immunohistochemistry on one or two selected paraffin blocks from each case was performed using the avidin-biotin immunoperoxidase method. Estrogen (ER) and progesterone (PR) receptors were detected in 22,2% and 20,9% in carcinomas, respectively. This expression was lower in carcinomas in comparison to the cases of hyperplasias and the normal proliferative endometrium. PCNA and MIB1 scores were higher in carcinomas in comparison to hyperplasias and the normal secretory endometrium. Cytoplasmic membrane immunohistochemical expression of c-erbB-2 (> 25% of tumor cells) was detected in 11,8% in carcinomas, while the cases of hyperplasias and normal endometrium showed absence or very low expression. High p53 protein expression was detected in 17,2% of the carcinomas, while the cases of hyperplastic and normal endometrium showed absence or very low expression. Low levels (16,9%) of Rb protein expression in carcinomas compared with hyperplasias and normal endometrium were also revealed. Cytoplasmic bcl-2 protein expression was detected in 21,8 % of the



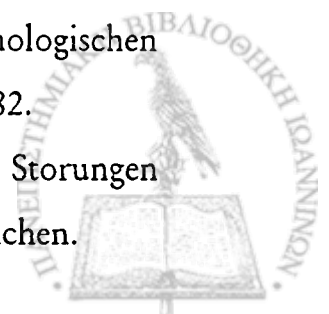
carcinomas. This expression was lower in carcinomas in comparison to the cases of hyperplasias and normal proliferative endometrium. Nuclear and cytoplasmic metallothionein expression was observed in 24% of the carcinomas. This expression was higher in carcinomas in comparison to the cases of hyperplasias and the normal endometrium. Higher p21 protein expression was detected in the group of carcinomas (33,7%) in contrast with the cases of hyperplasias and normal endometrium. The following markers MIB1, PCNA, c-erbB-2, p53 and p21 were correlated with the tumor grade. MIB1 and Rb were correlated with the hormone receptors content and the markers p53, bcl-2, cathepsin D, c-erbB-2, Rb και p21 were correlated with the proliferation associated indices. P53 protein was correlated with Rb, cathepsin D with c-erbB-2 and Rb, metallothionein with c-erbB-2 and finally p21 with p53, c-erbB-2, Rb and metallothionein.

In conclusion our results show that the markers MIB1, PCNA, p53, c-erbB-2, p21 and metallothionein were correlated with tumor differentiation and thereby they could be considered as indicators of poor prognosis of the endometrial adenocarcinoma. P53 and c-erbB-2 expression are associated with later events, of carcinogenesis, whereas bcl-2 or Rb alterations may be involved in an early stage. These alterations seem to be under hormonal control. The correlations between them show that these genetic dysregulations are implicated in the control of cell proliferation and differentiation and probably at the multistep process of endometrial carcinogenesis.

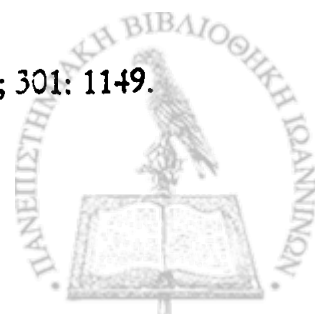


Βιβλιογραφία

1. Agnantis NJ, Spandidos DA, Mahera H, et al. Immunohistochemical study of ras oncogene expression in endometrial and cervical human lesions. *Eur J Gynecol Onco* 1988; 9: 360-365.
2. Long CA, O' Brien TJ, Sanders MM et al. Ras oncogene expressed in adenocarcinoma of the endometrium. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 159: 1512-1516.
3. Enomoto T, Inoue M, Perantoni AO, et al. K-ras activation in neoplasms of the human female reproductive tract. *Cancer Res* 1990; 50: 6139-6145.
4. Ignartrowbridge D, Risinger JJ, Dent GA et al. Mutations of the Ki-ras oncogene in endometrial carcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 167: 227-232.
5. Kacinski BM, Carter D, Mittal K, et al. High level expression of fms proto-oncogene mRNA is observed in clinically aggressive human endometrial adenocarcinomas. *Int J Rad Oncol Biol Phys* 1983; 15: 823-829.
6. Leiserowitz G, Harris S, Subramanian M, et al. The proto-oncogene c-fms is overexpressed in endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 1993; 49: 190-196.
7. Zhang X, Silva E, Gershenson D, et al. Amplification and rearrangement of c-erbB-2 proto-oncogenes in cancer of human female genital tract. *Oncogene* 1989; 4: 985-989.
8. Ramsey EM History. In: Wynn RM, (ed) *Biology of the uterus*. New York, Plenum Press, pp 1-34.
9. Hitschmann F, Adler L. Der Bau der Uterusschleimhaut des geschlechtsreifen Weibes mit besonderer Berücksichtigung der Menstruation. *Monatsschr Geburtshilfe Gynakol* 1908; 27: 1.
10. Schroder R. Der normale menstruelle Zyklus der Uterusschleimhaut. Hirschwald, Berlin 1913.
11. Schroder R. Anatomische Studien zur normalen und pathologischen Physiologie des Menstruationszyklus. *Arch Gynakol* 1915; 104: 55,82.
12. Schroder R. Der menstruelle Genitalzyklus des Weibes und seine Störungen In: Stoeckel (ed) *Handbuch der Gynakol* 1928; I/2, Bergmann, Munchen.



13. Moore L. Keith Before we are Born. Basic Embriology and Birth Defects. 1974
14. Κασσαρέλης ΔΒ. Μαιευτική και Γυναικολογία (Εμβρυολογία του γεννητικού συστήματος 1983; 3.
15. Φόρογλου-Κεραμέως Χρυσή Ιστολογία, Εμβρυολογία του ανθρώπου.1987.
16. Vokaer R. Observations sur l' histologie, l'histometrie et l' histophotometrie de l'endometre humain. Gynecol Obstet 1951; 50: 372.
17. Harkin HC. Deoxyribonucleic acid (DNA) content of human endometrium. A microspectrophotometric study of the endometrial glandular nuclei in the physiologic cycle and in atrophy. Arch Pathol 1956; 61: 24.
18. Mookerjea G. Cytochemical patterns of the normal and abnormal human endometrium. Nucleus 1961; 4: 81.
19. Fettig O, Oehlert W. Autoradiographische Untersuchungen der DNS- und Eiweiß-Neubildung im gynakologischen Untersuchungsmaterial. Arch Gynakol 1964; 199: 649.
20. Fettig O. Autoradiographische Untersuchungen der DNS-, RNS- und Protein-Synthese im menschlichen Endometrium in Abhängigkeit von der Ovulation. Arch Gynakol 1965; 202-246.
21. Nordqvist S. The synthesis of DNA and RNA in normal human endometrium in short-term incubation in vitro and its response to oestradiol and progesterone. J Endocrinol 1970; 48: 17.
22. Dallenbach-Hellweg. Histopathology of the Endometrium. 4th, Revised and Enlarged Edition, Springer-Verlag, 1987.
23. Rampsey EM. Vascular patterns in the endometrium and the placenta. Angiology 1955; 6: 321.
24. Nieminen U. Studies on the vascular pattern of ectopic endometrium with special reference to cyclic changes. Acta Obset Gynecol Scand [Suppl 3] 1962; 41.
25. Ganong F, William. Review of Medical Physiology 1979.
26. Baxter JD, Funder JW. Hormone receptors. N Engl J Med 1979; 301: 1149.



27. Jensen EV, Suzuki T, Numata M et al. Estrogen-binding substances of target tissues. *Steroids* 1969; 13: 417.
28. Markee JE. Menstruation in intraocular endometrial transplants in the rhesus monkey. *Contrib Embryol Carnegie Inst* 1940; 518, 28: 219.
29. Markee JE. The morphological and endocrin basis for menstrual bleeding. In: Meigs, Sturgis (eds) *Progress in Gynecology*, vol II. Grune and Stratton, New York , 1950.
30. Witt H-J. Strukturelemente und funktionelle Gesamtheit des Endometriums. Karyometrie. In: Schmidt-Matthiesen H (ed) *Das normale menschliche Endometrium*. Thieme, Stuttgart, 1966; p26, 96.
31. Bartelmez GW. The human uterine mucous membrane during menstruation. I Involution and variability. *Am J Obstet Gynecol* 1931; 21: 623.
32. Bartelmez GW. Menstruation. *JAMA* 1941; 116: 702.
33. Bartelmez GW. The phases of the menstrual cycle and their interpretation in terms of the pregnancy cycle. *Am J Obstet Gynecol* 1957; 74: 931.
34. Bengtsson LP, Ingemansson CA. Amenorrhoea associated with retention of fertility. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1959; 38:62.
35. Philippe E, Ritter J, Gandar R. L' endometre biphasique normal en periode menstruelle. *Gynecol Obstet* 1966; 65:515.
36. Dallenbach-Hellweg G. Uber die Schaumzellen im Stroma des Endometriums: Vorkommen und histochemische Befunde. *Virchows Arch Pathol Anat* 1964; 338: 51.
37. Baak JPA, Nauta JJF, Wisse-Brekelmans ECM et al Architectural and nuclear morphometrical features together are more important prognosticators in endometrial hyperplasias than nuclear morphometrical features alone. *J Pathol* 1988; 154: 335-41.
38. Ferenczy A. Cytodynamics of endometrial hyperplasia and neoplasia. Part II: In vitro DNA histoautoradiography. *Hum Pathol* 1983; 14: 77-82.
39. Kurman RJ, Kaminski PF, Norris HJ. The behavior of endometrial Hyperplasia. A



40. long – term study of “untreated” Hyperplasia in 170 patients. *Cancer* 1985; 56: 403-412.
41. 403-412.
42. Mac Donald PC, Grodin JM, Edman CD et al. Origin of estrogen in a postmenopausal woman with nonendocrine tumor of the ovary and endometrial hyperplasia. *Obstet Gynecol* 1976; 47: 644.
43. Baak JPA, Wise-Brekelmans ECM, Fleege JC et al. Assessment of the risk on endometrial cancer in hyperplasia, by means of morphological and morphometric features. *Pathol Res Pract* 1992; 188: 856-859.
44. Ferenczy A, Gelfand M. The biologic significance of cytologic atypia in progesterone-treated endometrial hyperplasia. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 160: 126-131.
45. Gusberg SB, Kaplan AL. Precursors of corpus cancer. IV. Adenomatous hyperplasia at stage O carcinoma of the endometrium. *Am J Obstet Gynecol* 1963; 87: 662-678.
46. Kraus FT. High-risk and premalignant lesions of the endometrium. *Am J Surg Pathol* 1985; 9(3): (suppl): 31-40.
47. Blaustein A. Morular metaplasia misdiagnosed as adenoacanthoma in young women with polycystic ovarian disease. *Am J Surg Pathol* 1982; 6: 223-228.
48. Crum CP, Richart RM, Fenoglio CM. Adenoacanthosis of the endometrium. A clinicopathologic study in premenopausal women. *Am J Surg Pathol* 1981; 5: 15-20.
49. Hendrickson MR, Kempson RL. Endometrial epithelial metaplasias-proliferations frequently misdiagnosed as adenocarcinoma: Report of 89 cases and proposed classification. *Am J Surg Pathol* 1980; 4: 525-542.
50. Kurman RJ, Scully RE. Clear cell carcinoma of the endometrium. An analysis of 21 cases. *Cancer* 1976; 37: 872-882.
51. Kurman RJ, Norris HJ. Evaluation of criteria for distinguishing atypical endometrial hyperplasia from well differentiated carcinoma. *Cancer* 1982; 49: 2547-2559.



52. Pararzzini F, La Vecchia C, Bocciolone L et al. The epidemiology of endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 1991; 41: 1-16.
53. Doll R, Muir C, Waterhouse J. Cancer incidence in five continents. International Union Against Cancer. Berlin, Springer-Verlag, Vol 2, p44, 1970.
54. Lynch HT, Krush AH, Larsen AL. Heredity and endometrial carcinoma. *South Med J* 1967; 60: 231.
55. Musubuchi K, Nemoto H. Epidemiologic studies on uterine cancer at Cancer Institute Hospital, Tokyo, Japan. *Cancer* 1972; 30: 268.
56. Way S. The aetiology of carcinoma of the body of the uterus. *J Obstet Gynecol Br Emp* 1954; 61: 46.
57. Husslein H, Schuller E. Corpuscarcinome in der Gerschlechtsreife. *Arch Gynakol* 1952; 182; 125.
58. Kempson RL, Pokorny GE. Adenocarcinoma of the endometrium in women aged forty and younger. *Cancer (Philad)* 1968; 21: 650.
59. Suzuki A, Konishi I, Okamura H et al. Adenocarcinoma of the endometrium associated with intrauterine pregnancy. *Gynecol Oncol* 1984; 18: 261-269.
60. Martins AG. Adenocarcinoma of the uterus in infancy. *Br J Cancer* 1960; 14: 165.
61. Persson I, Adami H-O, Bergkvist, et al. Risk of endometrial cancer after treatment with oestrogens, alone or in conjunction with progesterones: Results of a prospective study. *Br Med J* 1989; 298: 147.
62. Peterson EP. Endometrial carcinoma in young women. A clinical profile. *Obstet Gynecol* 1968; 31: 702.
63. Prem KA, Mensheha NM, McKelvey JL. Operative treatment in adenocarcinoma of the endometrium in obese women. *Am J Obstet Gynecol* 1965; 92: 16.
64. Wynder EL, Escher GC, Mantel N. An epidemiological investigation of cancer of the endometrium. *Cancer* 1966; 19: 489.



65. Escobedo LG, Lee NC, Peterson HB et al. Infertility-associated endometrial cancer risk may be limited to specific subgroups of infertile women. *Obstet Gynecol* 1991; 77: 124-128.
66. Haenszel W, Kurihara M. Studies of Japanese migrants. I. Mortality from cancer and other diseases among Japanese in the United States. *J Natl Cancer Inst* 1968; 40: 43-66.
67. Gusberg SB. Current concepts in cancer. The changing nature of endometrial cancer. *N Engl J Med* 1980; 302: 729.
68. Franks AL, Kendrick JS, Tyler CW Jr. Postmenopausal smoking estrogen replacement therapy and the risk of endometrial cancer. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 156: 20.
69. Lesko SM, Rosenberg L, Kaufman DW, et al. Cigarette smoking and the risk of endometrial cancer. *N Engl J Med* 1985; 313: 593.
70. Robboy SJ, Bradley R. Changing trends and prognostic features in endometrial cancer associated with exogenous estrogen therapy. *Obstet Gynecol* 1979; 54: 269.
71. Nyholm HCJ, Nielsen AL, Norup P. Endometrial cancer in postmenopausal women with and without previous estrogen replacement treatment: Comparison of clinical and histopathological characteristics. *Gynecol Oncol* 1993; 49: 229-235.
72. Bokhman JV. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 1983; 15: 10.
73. Smith J, Yeh G. Telomere reduction in endometrial adenocarcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 197: 1883-1887.
74. Deligdisch L, Cohen CJ. Histologic correlates and virulence implications of endometrial carcinoma associated with adenomatous hyperplasia. *Cancer* 1985; 56: 1452.
75. Scully RE, Poulson H, Sobin LH. International histological classification and histologic typing of female genital tract tumors. Berlin, Springer-Verlag. 1994.



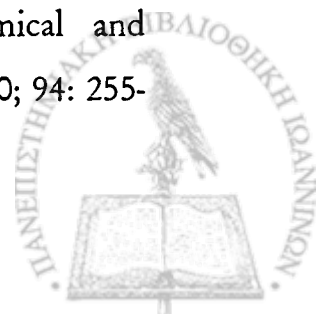
76. Horowitz RI, Horovitz SM, Feinstein AR, et al. Necropsy diagnosis of endometrial cancer cancer and detection-bias in case control studies. *Lancet* 1981; ii: 66.
77. Creasman WT. Announcement FIGO stages 1988 revisions. *Gynecol Oncol* 1989; 35: 125-127.
78. Cowles TA, Magrina JF, Masterson BJ, et al. Comparison of clinical and surgical staging in patients with endometrial carcinoma. *Obstet Gynecol* 1985; 66: 413.
79. Daniel AG, Peters WA III. Accuracy of office and operating room curettage in the grading of endometrial carcinoma. *Obstet Gynecol* 1988; 71: 612-614.
80. Piver MS, Lele S, Barlow J et al. Paraortic lymph node evaluation in stage I endometrial cancer. *Obstet Gynecol Oncol* 1982; 59: 97.
81. Morrow CP, Bundy BN, Kurman RJ, et al. Relationship between surgical-pathological risk factors and outcome in clinical stage I and II carcinoma of the endometrium: A Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol* 1991; 40: 55-65.
82. Gasparini G, Sposetti R, Pozza F et al. Multivariate analysis of prognostic factors in 232 patients with clinical stage 1 endometrial adenocarcinoma using the new FIGO surgical staging system. *Int J Oncol* 1992; 1: 665-672.
83. Steinhorn SC, Myes MH, Hankey BF et al. Factors associated with survival differences between black and white women with cancer of the uterine corpus. *Am J Epidemiol* 1986; 124: 85-93.
84. Beck RP, Latour JPA. Necropsy reports on 36 cases of endometrial carcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 1963; 85: 307.
85. Bunker M. The terminal findings in endometrial carcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 1959; 77: 530.
86. Podczaski E, Kaminski P, Gursfi K et al. Detection and patterns of treatment failure in 300 consecutive cases of early endometrial cancer after primary surgery. *Gynecol Oncol* 1992; 47: 323-327.



87. Van Dam PA, Watson JV, Lowe DG et al. Flow cytometric DNA analysis in gynecological oncology. *Int J Gynecol Cancer* 1992; 2: 57-65.
88. Coleman RL, Schink JC, Miller DS, et al. DNA flow cytometric analysis of clinical stage. I. Endometrial carcinomas with lymph node metastasis. *Gynecol Oncol* 1993; 50: 20-24.
89. Inoue M, Ogawa H, Tanizawa O et al. Immunodetection of sialyl-Tn antigen in normal, hyperplastic and cancerous tissues of the uterine endometrium. *Virchows Arch A Pathol Anat* 1991; 418: 157-162.
90. Stendahl U, Strang P, Wagenius G et al. Prognostic significance of proliferation in endometrial adenocarcinomas: a multivariate analysis of clinical and flow cytometric variables. *Int J Gynecol Pathol* 1991; 10: 271-284.
91. Kuramoto H, Humano M. Cytogenetic studies of human endometrial carcinoma by means of tissue culture. *Acta Cytol* 1977; 4: 559-565.
92. Slot E. Cytogenetics of carcinoma of the endometrium. I. The study on ploidy. *Neoplasia*. 1980; 27: 483-488.
93. Coutrier J, Vielh P, Salmon R, et al. Chromosome imbalance in endometrial adenocarcinoma. *Cancer Genetic Cytogenet* 1988; 33: 67-76.
94. Fujita H, Wake N, Kutsusawa T et al. Marker chromosomes of the long arm of chromosome 1 in endometrial carcinoma. *Cancer Genet Cytogenet* 1985; 18: 283-293.
95. Farhi DC, Nosanchuk J, Silverberg SG. Endometrial adenocarcinoma in women under 25 years of age. *Obstet Gynecol* 1986; 58: 741-745.
96. Horgas G, Grubisic G, Spaventi S. Trisomy and tetrasomy of the long arm of chromosome 1 in a direct preparation of human endometrial adenocarcinoma. *Cancer Genet Cytogenet* 1988; 35: 269-272.
97. Okamoto A, Sameshima Y, Yamada Y, et al. Allelic loss of chromosome 17p and p53 mutation in human endometrial carcinoma of the uterus. *Cancer Res* 1991; 51: 5632-5636.



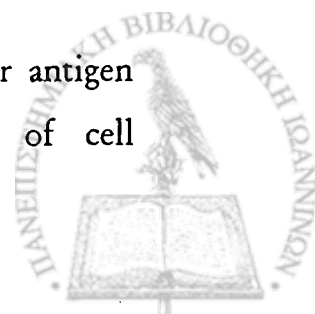
98. Lunan CB, Green B: Oestradiol - 17β uptake in vitro into the nuclei of endometrium from different regions of the human uterus. *Acta Endocrin* 1975; 78: 353-363.
99. Bergqvist A, Jeppsson S, Kulader S. Human endometrium transplanted into nude mice. Histologic effects of various steroid hormones. *Am J Pathol* 1985; 119:336.
100. Press MF, Udove JA, Greene GL. Progesterone receptor distribution in human endometrium. Analysis using monoclonal antibodies to the human progesterone receptor. *Am J Pathol* 1988; 131: 112-124.
101. Creasman WT. Prognostic significance of hormone receptors in endometrial cancer. *Cancer* 1993; 71: 1467-1470
102. Charpin C, Martin PM, Lavaut MN et al. Estrogen receptor immunocytochemical assay (ER-ICA) in human endometrium. *Int J Gynecol Pathol* 1986; 5: 119-131.
103. Pertschuk LP, Beddoe AM, Gorelic LS et al. Immunocytochemical assay of estrogen receptors in endometrial carcinoma with monoclonal antibodies. Comparison with biochemical assay. *Cancer* 1986; 57: 1000-1004.
104. Budwit-Novotny DA, McCarty KS, Cox EB et al. Immunohistochemical analyses of estrogen receptor in endometrial adenocarcinoma using a monoclonal antibody. *Cancer Res* 1986; 46: 5419-5425.
105. Soper JT, Christensen CW. Steroid receptors and endometrial cancer. *Clin Obstet Gynaecol* 1986; 13: 825-842.
106. Zaino RJ, Clarke CL, Mortel R et al. . Heterogeneity of progesterone receptor distribution in human endometrial adenocarcinoma. *Cancer Res* 1988; 48: 1889- 1895.
107. Chambers JT, Carcangiu ML, Voynick IM et al. Immunohistochemical evaluation of estrogen and progesterone receptor content in 183 patients with endometrial carcinoma. Part II: Correlation between biochemical and immunohistochemical methods and survival. *Am J Clin Pathol* 1990; 94: 255-260.



108. Bur ME, Greene GL, Press MF. Estrogen receptor localization in formalin-fixed, paraffin-embedded endometrium and endometriotic tissues. *Int J Gynecol Pathol* 1987; 6: 140-151.
109. Bergeron C, Ferenzy A, Toft DO et al. Immunocytochemical study of progesterone receptors in hyperplastic and neoplastic endometrial tissues. *Cancer Res* 1988; 48: 6132-6136.
110. Runowicz CD, Nuchtern LM, Braunstein JD et al. Heterogeneity in hormone receptor status in primary and metastatic endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 1990; 38: 437-441.
111. Geisinger KR, Marshall RB, Kute TE et al. Correlation of female sex steroid hormone receptors with histologic and ultrastructural differentiation in adenocarcinoma of the endometrium. *Cancer* 1986; 58: 1506-1517.
112. Borazjani G, Twiggs LB, Leung BS et al. Prognostic significance of steroid receptors measured in primary metastatic and recurrent endometrial carcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161: 1253-1257.
113. Carcangiu ML, Chambers JT, Voynick IM et al. Immunohistochemical evaluation of estrogen and progesterone receptor content in 183 patients with endometrial carcinoma. Part I. *Am J Clin Pathol* 1990; 94: 247-254.
114. Ingram SS, Rosenman J, Heath R et al. The predictive value of progesterone receptor levels in endometrial cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1989; 17: 21-27.
115. Kleine W, Maier T, Geyer H et al. Estrogen and progesterone receptors in endometrial cancer and their prognostic relevance. *Gynecol Oncol* 1990; 38: 59-65.
116. Deligdisch L, Holinka CF. Progesterone receptors in two group of endometrial carcinoma. *Cancer* 1986; 57: 1385-1388.
117. Chambers JT, MacLusky N, Eisenfield A et al. Estrogen and progesterone receptor levels as prognosticators for survival in endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 1988; 31: 65-77.



118. Iwai K, Fukuda K, Hachisuga T et al. Prognostic significance of progesterone receptor immunohistochemistry for lymph node metastases in endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 1999; 72(3) 351-359.
119. Gerdes J, Schwab U, Lamke H et al. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell population. *Int J Cancer* 1983; 31: 13-20.
120. Salvesen HB, Iversen OE, Akslen LA. Prognostic significance of angiogenesis and Ki-67, p53, and p21 expression: a population-based endometrial carcinoma study. *J Clin Oncol* 1999; 17(5): 1382-1390.
121. Nordstrom B, Strang P, Bergstrom R et al. A comparison of proliferation markers and their prognostic value for women with endometrial carcinoma Ki-67, proliferating cell nuclear antigen, and flow cytometric S-phase fraction. *Cancer* 1996; 1: 78 (9): 1942-1951.
122. Geisler JP, Geisler HE, Miller GA et al. MIB-1 in endometrial carcinoma: prognostic significance with 5-year follow-up. *Gynecol Oncol* 1999; 75 (3): 432-436.
123. Kallakury BV, Ambros RA, Hayner-Buchan AM et al. Cell proliferation-associated proteins in endometrial carcinomas, including papillary serous and endometrioid subtypes. *Int J Gynecol Pathol* 1998;17(4): 320-326.
124. Saegusa M, Kamata Y, Isono M et al. bcl-2 expression is correlated with a low apoptotic index and associated with progesterone receptor immunoreactivity in endometrial-carcinomas. *J Pathol* 1996; 180 (3): 275-82.
125. Ikawa S, Sano T, Furumoto H et al. Multidirectional differentiation of endometrial carcinoma with special reference to tumor aggressiveness evaluated by Ki-67 expression. *Gynecol Oncol* 1999; 72 (3); 323-330.
126. Ramondetta LM, Palazzo JP, Dunton CJ et al. A comparative analysis of Ki-67, p53, and p21WAF1CIP1 expression in Tamoxifen associated endometrial carcinomas. *Anticancer Res* 1998; 18 (6B): 4661-4665.
127. Hall PA, Lavisson DA, Woods AL et al. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunolocalization in paraffin sections: An index of cell



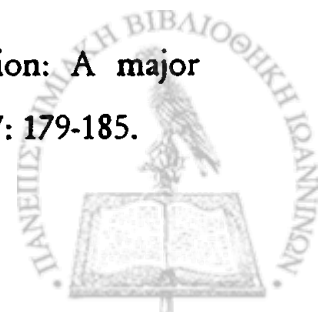
- proliferation with evidence of deregulated expression in some neoplasms. *J Pathol* 1990; 62: 285-294, 1990.
128. Mathews MB, Bernstein RM, Franza BR et al. Identity of the proliferating cell nuclear antigen and cyclin. *Nature* 1984; 309: 374-376.
 129. Prelich G, Tan CK, Kotsura MB et al. Functional identity of proliferating cell nuclear antigen and a DNA polymerase-delta auxiliary protein. *Nature* 1987; 517-520.
 130. Waseem NH, Lane DP. Monoclonal antibody analysis of the proliferating cell nuclear antigen (PCNA). Structural conservation and the detection of a nuclear form. *J Cell Sci* 1990; 96: 121-129.
 131. Hareyama H. Proliferative activity of normal endometrial cells, endometrial hyperplasia cells and endometrial cancer cells using the monoclonal antibody to PCNA. *Hokkaido Igaku Zasshi* 1994; 69(6): 1427-1431.
 132. Mora LB, Diaz JI, Cantor AB et al. Differential diagnosis of endometrial hyperplasia and carcinoma by computerized image cytometry of cell proliferation, apoptosis and bcl-2 expression. *Ann Clin Lab Sci* 1999; 29 (4): 308-15.
 133. Ishihara H, Itamochi H. Influence of menopause on the cell kinetics of normal, hyperplastic and malignant endometrium. *Gynecol Obstet Invest* 1995; 40 (2) 129-132
 134. Nielsen AN, Nyholm HCJ. Proliferating cell nuclear antigen in endometrial adenocarcinomas of endometriod type correlated with histological grade, stage, previous hormonal treatment, and survival. *Hum Pathol* 1993; 24: 1003-1007.
 135. Heffner HM, Freedman AN, Asirwatham JE et al. Prognostic significance of p53, PCNA, and c-erB-2 in endometrial adenocarcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol* 1999; 20 (1): 8-12.
 136. Garzetti GG, Ciavattini A, Goteri G et al. Proliferating cell nuclear antigen in endometrial carcinoma: pretreatment identification of high-risk patients. *Cynecol Oncol* 1996; 61 (1): 16-21.



137. Hamel NW, Sabo TJ, Wilson TO et al. Prognostic value of p53 and proliferating cell nuclear antigen expression in endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 1996; 62 (2): 192-198.
138. Quinn CM, Wright AA. The clinical assessment of proliferation and growth in human tumours: Evaluation of methods and applications as prognostic variables. *J Pathol* 1990; 160: 93-102.
139. Chalas E, Chumas J, Baebieri R et al. Nucleolar organizer regions in endometriosis, atypical endometriosis, and clear cell and endometrioid carcinomas. *Gynecol Oncol* 1991; 40: 260-263.
140. Wilkinson N, Buckley CH, Chawner L et al. Nuclear organizer regions in normal, hyperplastic and neoplastic endometria. *Int J Gynecol Pathol* 1990; 9: 55-59.
141. Bishop JM. Viral Oncogenes *Cell Review*. *Cell* 1985; 42: 23-38.
142. Willman CL, Fenoglio-Preiser CM. Oncogenes, suppressor genes and carcinogenesis. *Human Pathol* 1987; 18(9): 895-902.
143. Glover DM and Hames BD. Eds *Oncogenes*. *Frontiers in Molecular Biology* IRL Press at Oxford University press, 1990.
144. Spandidos DA. A unified theory for the development of cancer. *Bioscience Reports* 1986; 6(8): 691-708.
145. Stanbridge EJ. Identifying tumor suppressor genes in human colorectal cancer. *Science*, 1990; 247: 12-13.
146. Rajkumar T, Gullick WJ. The type I growth factor receptors in human breast cancer. *Breast cancer Res Treat* 1994; 29: 3-9.
147. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG et al. Human breast cancer: Correlation of relapse and survival with amplification of Her-2/neu oncogene. *Science* 1987; 235: 177-182.
148. Singleton TP, Niechans GA, Gu F, et al. Detection of c-erbB-2 activation in paraffin embedded tissue by immunohistochemistry. *Hum Pathol* 1992; 23: 1141- 1150.



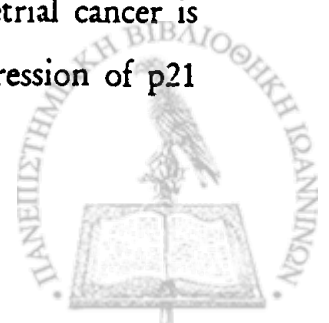
149. Brumm C, Riviere A, Wilckens C, et al. Immunohistochemical investigation and Northern blot analysis of c-erbB-2 expression in normal, premalignant and malignant tissues of the corpus and cervix uteri. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 1990; 417: 477-484.
150. Berchuck A. Biomarkers in the endometrium. *J Cell biochem Suppl* 1995; 23: 174-178
151. Berchuck A, Rodriguez G, Kinney RB et al. Overexpression of Her-2/ neu in endometrial cancer is associated with advanced stage disease. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 164: 15-21.
152. Miyasaki M. Immunohistochemical study of PCNA, p53, gene product and c-erbB-2 gene product in endometrial carcinoma. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi* 1996; 48 (4): 269-276.
153. Reinartz J, George E, Lindgren Br et al. Expression of p53, Transforming Growth Factor alpha, Epidermal Growth Factor Receptor and c-erbB-2 in endometrial carcinoma and correlation with survival and known predictors of survival. *Hum Pathol* 1994; 25: 1075-1083.
154. Singleton TP, Strickler JG: Clinical and pathologic significance of the c-erbB-2 (HER-2/neu) oncogene. *Pathol Annu* 1992; 27: 165-190.
155. Gassel AM, Backe J, Krebs S et al. Endometrial carcinoma: immunohistochemically detected proliferation index is a prognosticator of long term outcome. *J Clin Pathol* 1998; 51: 25-29.
156. Bell JG, Minnick A, Reid GC et al. Relationship of nonstaging pathological risk factors to lymph node metastasis and recurrence in clinical stage I endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 1997; 66 (3): 388-392.
157. Ioffe OB, Papadimitriou JC, Drachnberg CB. Correlation of proliferation indices, apoptosis, and related oncogene expression (bcl-2 and c-erbB-2) and p53 in proliferative, hyperplastic, and malignant endometrium. *Human Pathol* 1998; 29 (10): 1150-1159.
158. Hetzel D, Wilson T, Keeney G et al. HER-2/neu expression: A major prognostic factor in endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 1992; 47: 179-185.



159. Smith ML, Fornace AJ. Genomic instability and the role of p53 mutations in cancer cells. *Curr Opin Oncol* 1995; 7: 69-75.
160. Caleffi M, Teague M, Jensen R et al. P53 gene mutations and steroid receptor status in breast cancer. *Cancer* 1994; 73: 2147-2156.
161. Stewart RL, Royds JA, Burton JL et al. Direct sequencing of the p53 gene shows absence of mutations in endometrial adenocarcinomas expressing p53 protein. *Histopathology* 1998; 33: 440-445.
162. Jones MW, Kounelis S, Hsu C et al. Prognostic value of p53 and K-ras-2 topographic genotyping in endometrial carcinoma: a clinicopathological and molecular comparison. *Int J Gynecol Pathol* 1997; 16: 354-360.
163. Burton JL and Wells M. Recent advances in the histopathology and molecular pathology of carcinoma of the endometrium. *Histopathology* 1998; 33: 297-303.
164. Kohler M, Berchuck A, Davidoff A et al. Overexpression and Mutation of p53 in endometrial carcinoma. *Cancer Research* 1992; 52: 1622-1627.
165. Porter PL, Gown AM, Kramp SG et al. Widespread p53 overexpression in human malignant tumours: an immunohistochemical study using methacarn-fixed, embedded tissue. *Am J Pathol* 1992; 140: 145-153.
166. Esteller M, Garcia A, Martinez-Paolones JM et al. Susceptibility to endometrial cancer: influence of allelism at p53, glutathione S-transferase (SSTM1 and GSTT1) and cytochrome P-450 (CYPIA1) loci. *Br J Cancer* 1997; 75: 1385- 1388.
167. Ito K, Sasano H, Matsunaga G, Sato S et al. Correlation between p21 expression and clinicopathological findings. P53 gene and protein alterations, and survival in patients with endometrial carcinoma. *J Pathol* 1997; 183 (3): 318-324.
168. Ambros RA, Vigna PA, Figge J et al. Observations on tumor and metastatic gene status in endometrial carcinoma with particular emphasis on p53. *Cancer* 1994; 73: 1686-1692.



169. Kohler MF, Nishii H, Humphrey PA et al. Mutation of the tumor - suppressor gene is not a feature of endometrial hyperplasias. *Am. J. Obstet Gynecol* 1993; 169: 690-694.
170. Sherman ME, Bur ME, Kurman RJ. P53 in endometrial cancer and its putative precursors: evidence for diverse pathways of tumorigenesis. *Hum Pathol* 1995; 26: 1268
171. Yu CC-W, Wilkinson N, Brito MJ et al. Patterns of immunohistochemical staining for proliferating cell nuclear antigen and p53 in benign and neoplastic human endometrium. *Histopathology* 1993; 23:367-371.
172. Berchuck A, Kohler MF, Marks JR et al. The p53 tumor suppressor gene frequently is altered in gynecologic cancers. *Am J Obstet Gynecol.* 1994; 170: 246-252.
173. Kohler MF, Carney P, Dodge R et al. p53 overexpression in advanced-stage endometrial adenocarcinoma. *Am J Obstet Gynecol.*1996; 175: 1246-1252.
174. Taskin M, Lallas TA, Barber HR et al. Bcl-2 and p53 in endometrial adenocarcinoma. *Mod Pathol* 1997; 10 (7): 728-734
175. Inoue M, Fujita M, Enomoto T et al. Immunohistochemical analysis of p53 in gynecologic tumors. *Am J Clin Pathol* 1994; 102: 665-670.
176. Nielsen AL, Nyholm HC. The combination of p53 and age predict cancer specific death in advanced stage (FIGO Ic-IV) of endometrial carcinoma of endometrioid type. An immunohistochemical examination of growth fraction: Ki-67, MIB1 and PC10; suppressor oncogene protein: p53; oncogene protein p185 and age, hormone treatment, stage and histologic grade. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1996; 70 (1): 79-85.
177. Shiozawa T, Xin L, Nikaido T et al. Immunohistochemical detection of cyclin A with reference to p53 expression in endometrial endometrioid carcinomas. *Int J Gynecol Pathol.* 1997; 16: 348-353.
178. Backe J, Gassel AM, Hauber K et al. p53 protein in endometrial cancer is related to proliferative activity and prognosis but not to expression of p21 protein. *Int J Gynecol Pathol* 1997; 16(4): 361-368.



179. Yamauchi N, Sakamoto A, Uozaki H et al. Immunohistochemical analysis of endometrial adenocarcinoma for bcl-2 and p53 in relation to expression of sex steroid receptor and proliferative activity. *Int J of Gynecol Pathol* 1996; 15: 202- 208.
180. Giatromanolaki A, Sivridis E, Koukourakis MI et al. Bcl-2 and p53 expression in stage I endometrial carcinoma. *Anticancer Res* 1988; 18 (5B): 3689-3693.
181. Zheng W, Cao P, Zheng M et al. p53 overexpression and bcl-2 persistence in endometrial carcinoma: comparison of papillary serous and endometrial subtypes. *Gynecol Oncol* 1996; 61 (2): 167-74.
182. Soong R, Knowles S, Williams KE et al. Overexpression of p53 protein is an independent prognostic indicator in human endometrial carcinoma. *Br J Cancer* 1996; 74: 562-567.
183. Caduff RF, Johnston CM, Svoboda-Newman SM et al. Clinical and pathological significance of microsatellite instability in sporadic endometrial carcinoma. *Am J Pathol* 1996; 148: 1671-1678.
184. Manek S, Wells M. The significance of alterations in p53 expression in gynaecological neoplasms. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 1996; 8: 52-55.
185. Tashiro H, Isacson I, Levine R et al. p53 gene mutations are common in uterine serous carcinoma and occur early in their pathogenesis. *Am J Pathol.* 1997; 150: 177-185.
186. Ambros RA, Sheeham CE, Kallakury BVS et al. MDM2 and p53 protein expression in the subtypes of endometrial carcinoma. *Mod Pathol* 1996; 9: 1165- 1169.
187. Ito K, Watanabe K, Nasim S et al. Prognostic significance of p53 overexpression in endometrial cancer. *Cancer Res* 1994; 54: 4667-4670.
188. Kohlberger P, Gitsch G, Loesch A et al. p53 protein overexpression in early stage endometrial cancer. *Gynecol Oncol.* 1996; 62:213-217.
189. Save V, Sylander K, Hall PA. Why is p53 protein stabilized in neoplasia? Some answers but many more questions. *J. Pathol.* 1998; 184:348-350.



190. Burton JL, Stewart RL, Heatley MK et al. p53 expression, p21 expression and the apoptotic index in endometrioid endometrial adenocarcinoma. *Histopathology* 1999; 35: 221-229.
191. Xu H-J, Hu S-X, Hashimoto T et al. The retinoblastoma susceptibility gene product: a characteristic pattern in normal cells and abnormal expression in malignant cells. *Oncogene* 1989; 4: 807-812.
192. Lin BT- Y, Gruenwald S, Morla AO et al. Retinoblastoma cancer suppressor gene is a substrate of the cell cycle regulator cdc kinase. *EMPO J* 1991; 10: 857-864.
193. Friend SH, Bernards R, Rogelli S et al. A human DNA segment with properties of the gene that predisposes to retinoblastoma and osteosarcoma. *Nature* 1986; 323: 643-646.
194. Lee EYHP, To H, Shew JY et al. Inactivation of the retinoblastoma susceptibility gene in human breast cancers. *Science* 1988; 241: 218-221.
195. Bookstein R, Bio P, Madreperia SA et al. Promoter deletion and loss of retinoblastoma gene expression in human prostate carcinoma. *Proc Nat Acad Sci* 1990; 87: 7762-7766.
196. Barbareschi M, Girlando S, Mauri FA et al. Tumour suppressor gene products, proliferation and differentiation markers in lung neuroendocrine neoplasms. *J Pathol* 1992; 166: 343-350, 1992.
197. Yin Y, Tainsky MA, Bischoff FZ et al. Wild-type p53 restores cell cycle control and inhibits gene amplification in cells with mutant p53 alleles. *Cell* 1992; 70: 937-948.
198. Yokoyama J, Shiga K, Sasano H et al. Abnormalities and the implication of retinoblastoma locus and its product in head cancers. *Anticancer Res* 1996; 16: 641-644.
199. Takes RP, Baatenburg de Jong RJ, Schuurin E et al. Markers for assessment of nodal metastasis in laryngeal carcinoma. *Arch Otolaryngol, head Neck Surg* 1997; 123: 412-419.



200. Niemann Th, Yilmaz A, McGaughy V et al. Retinoblastoma protein expression in endometrial hyperplasia and carcinoma. *Gynecol Oncology* 1997; 65: 232- 236.
201. Li S-F, Shiozawa T, Nakayama K et al. Stepwise abnormality of sex steroid hormone receptors, tumor suppressor gene products (p53 and Rb), and cyclin E in uterine endometriod carcinoma. *Cancer* 1996; 77: 321-329.
202. Cordon-Cardo C, Richon VM. Expression of the retinoblastoma protein is regulated in normal human tissues. *Am J Pathol* 1994; 144: 500-510.
203. Reed JC. Bcl-2 and the regulation of programmed cell death. *J Cell Biol* 1994; 124:1-6.
204. Lu QL, Abel P, Foster CS et al. Bcl-2: role in epithelial differentiation and oncogenesis. *Hum Pathol* 1996; 27: 102-110.
205. Migashita T, Krajewski S, Krajewska M et al. Tumor suppressor p53 is a regulator of bcl-2 and bax gene expression in vitro and in vivo. *Oncogene* 1994; 9: 1799-1805.
206. Henderson Gr, Brown K, Perkins Sh et al. Bcl-2 is down-regulated in atypical endometrial hyperplasia and adenocarcinoma. *Mod Pathol* 1996; 9(4): 430-438.
207. Niemann Th, Trgovac TL, McGaughy VR et al. bcl-2 expression in endometrial hyperplasia and carcinoma. *Gynecol Oncol* 1996; 63 (3): 318-22.
208. Chhieng D, Ross J, Ambros R. Bcl-2 expression and the development of endometrial carcinoma. *Mod Pathol* 1996; 9(4): 402-406.
209. Geisler J, Geisler H, Wiemann M, Z et al. Lack of bcl-2 resistance: An independent prognostic indicator of poor prognosis in endometrial carcinoma. *Gynecologic Oncol* 1998; 71: 305-307.
210. Miturski R, Semczuk A, Tomaszewski J. bcl-2 protein expression in endometrial carcinoma: the lack of correlation with p53. *Cancer Lett* 1988; 13; 133(1): 63- 69.
211. Sakuragi N, Ohkouchi T, Hareyama H et al. bcl-2 expression and prognosis of patients with endometrial carcinoma. *Int J Cancer* 1998; 17; 79 (2): 153-158.



212. Copola D, Fu L, Nicosia SV et al. Prognostic significance of p53, bcl-2, vimentin, and S100 protein-positive Langerhans cells in endometrial carcinoma. *Human Pathol* 1998; 29 (5): 455-462.
213. Lim P, Aquino-Parsons CF, Wong F et al. Low-risk endometrial carcinoma: assessment of a treatment policy based on tumor ploidy and identification of additional prognostic indicators. *Gynecol Oncol* 1999; 73 (2): 191-195.
214. Maudelonde Th, Martinez P, Brouillet JP et al. Cathepsin-D in Human Endometrium: Induction by progesterone and potential value as a tumor marker. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 115-121.
215. Kagi JHR. Overview of metallothionein. *Methods Enzymol* 1991; 205: 613-626
216. Masters BA, Kelly EJ, Quaife CJ et al. Targeted disruption of Metallothionein I and II genes increases sensitivity to cadmium. *Proc Natl Acad Sci SA* 1994; 91: 584- 588.
217. Hamer DH. Metallothionein. *Ann Rev Biochem* 1986; 55: 913-951.
218. Vandenoord JJ, Deley M. Distribution of metallothionein in normal and pathological human skin. *Arch Derm Res* 1994; 286: 62-68.
219. Haerslev T, Jackobsen K, Nedergaard L et al. Immunohistochemical detection of metallothionein in primary breast carcinomas and their axillary lymph node metastasis. *Pathol Res Pract* 1994;190: 675-681.
220. Schmid KW. Immunohistochemically demonstrated metallothionein expression in malignant melanoma. *Histopathology* 1993; 23: 257-264.-1274
221. Schmid KW, Ellis IO, Gee JMW et al. Presence and possible significance of immunocytochemically demonstrable metallothionein over-expression in primary invasive ductal carcinoma of the breast. *Virchows Arch [A]* 1993; 422: 153-159.
222. Ofner D, Maier H, Riedmann B et. Immunohistochemical metallothionein expression in colorectal adenocarcinoma: correlation with tumor stage and patient survival. *Virchows Arch* 1994; 425: 491-497.
223. Riordan JR, Richards V. Human fetal liver contains both zinc and copper-rich forms of metallothionein. *J Biol Chem* 1980; 255: 5380-5384.



224. Zeng J, Heuchel R, Schaffner W et al. Thionein (apothionein) can modulate DNA binding and transcription activation by zinc finger containing factor SP1. *FEBS Lett* 1991; 179: 310-312.
225. Abdel-Mageed AB, Agrawal KC. Anti-sense down-regulation of metallothionein induces growth arrest and apoptosis in human breast carcinoma cells. *Cancer Gene Ther* 1996; 3 (Suppl): 93.
226. McCluggage WG, Maxwell P, Hamilton PW et al. High metallothionein expression is associated with features predictive of aggressive behaviour in endometrial carcinoma. *Histopathology* 1999; 34: 51-55.
227. EL-Deiry WS, Tokino T, Waldman T et al. Topological control of p21 WAF1/CIP1 expression in normal and neoplastic tissue. *Cancer Res* 1995; 55: 2910-2919.
228. Waldman T, Kinzler KW, Vogelstein B. p21 is necessary for the p53-mediated G1 in human cancer cells. *Cancer Res* 1995; 55: 5187-5190.
229. Sheikh MS, Li-XS, Chen JC et al. Mechanisms of regulation of WAF/Cip1 gene expression in human breast carcinoma: role of p53 dependent and - independent signal transduction pathways. *Oncogene* 1994; 9: 3407-3415.
230. Zing Y, EL-Deiry WS. Regulation of p21 WAF1/Cip1 expression by p53-independent pathways. *Oncogene* 1996; 12: 1557-1564.
231. EL-Deiry WS, Tokino T, Velculescu VE et al. WAF1, a potential mediator of p53 tumor suppression. *Cell* 1993; 75: 817-825.
232. Johnson M, Dimitrov D, Vojta PJ et al. Evidence of a p53-independent pathway for upregulation of SDI1/CIP1/WAF1/p21 mRNA in human cells. *Mol Carcinogenesis* 1994; 11: 59-64.
233. Halevy O, Novitch BG, Spicer DB, et al. Correlation of terminal cell cycle arrest of skeletal muscle with induction of p21 by MyoD. *Science* 1995; 267: 1018- 1021.
234. Barbareschi M, Caffo O, Doglioni C et al. P21^{WAF1} immunohistochemical expression in breast carcinoma: correlations with clinicopathological data.

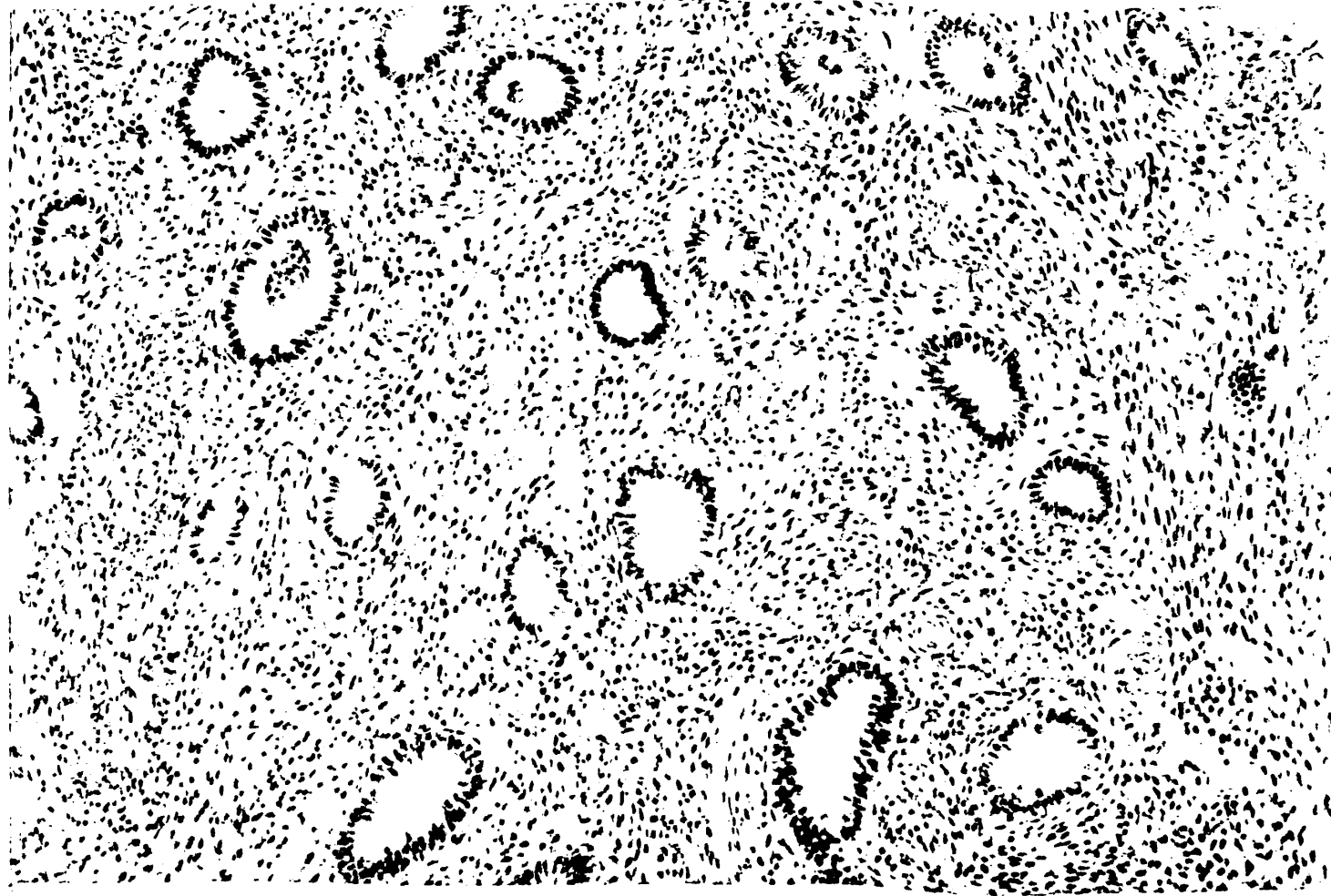


- oestrogen receptor status, MIB1 expression, p53 gene and protein alterations and relapse-free survival. *Br J Cancer* 1996; 74: 208-215.
235. Marchetti A, Doglioni C, Barbareschi M et al. p21 RNA and protein expression in non-small cell lung carcinomas: evidence of p53-independent expression and association with tumoral differentiation. *Oncogene* 1996; 12: 1319-1324.
236. DiGiuseppe JA, Redston MS, Yeo CJ et al. p53 independent expression of the cyclin-dependent kinase inhibitor p21 in pancreatic carcinoma. *Am J Pathol* 1995; 147: 884-888.
237. Segreti EM, Novotny DB, Soper JT et al. Endometrial cancer. Histologic correlates of immunohistochemical localization of progesterone receptor and estrogen receptor. *Obstet gynecol* 1989; 73: 780-784.
238. De Potter CR, Beghin C, Makar AP et al. The neu-oncogene protein as a predictive factor for haematogenous metastases in breast cancer patients. *Int J Cancer* 1990; 45: 55-58.
239. Kuwashima Y, Kobayashi Y, Kurosumi M et al. Inverse correlation between bcl-2 expression and cell growth fraction in human endometrial adeno- tissue. *Anticancer Res* 1997; 17: 3773-3776.
240. Bergeron C, Ferenczy A, Shyamala G. Distribution of estrogen receptors in various cell types of normal, hyperplastic, and neoplastic human endometrial tissues. *Lab Invest* 1988; 58: 338-345.
241. Creasman WT, Soper JT, McCarty KS et al. Influence of cytoplasmic steroid receptor content on prognosis of early stage endometrial carcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 151: 922.
242. Geisinger KR, Homesley HD, Morgan TM et al. Endometrial adenocarcinoma. A multiparameter clinicopathologic analysis including the DNA profile and the sex steroid hormone receptors. *Cancer* 1986; 58: 1518-1525.
243. Kerr JFR, Winterford CM, Harmon BV. Apoptosis: Its significans in cancer and cancer therapy. *Cancer* 1994; 73: 2013-2026.



244. Shaw PH. The role of p53 in cell cycle regulation. *Path Res Pract* 1996; 192: 669-675.
245. Lane DP. p53 guardian of the genome. *Nature* 1993; 358: 15-16.
246. White E. p53, guardian of Rb. *Nature* 1994; 371: 21-2.
247. Gompel A, Sabourin JC, Martin A et al. Bcl-2 expression in normal endometrium during the menstrual cycle. *Am J Pathol* 1994; 144: 1195-1202.





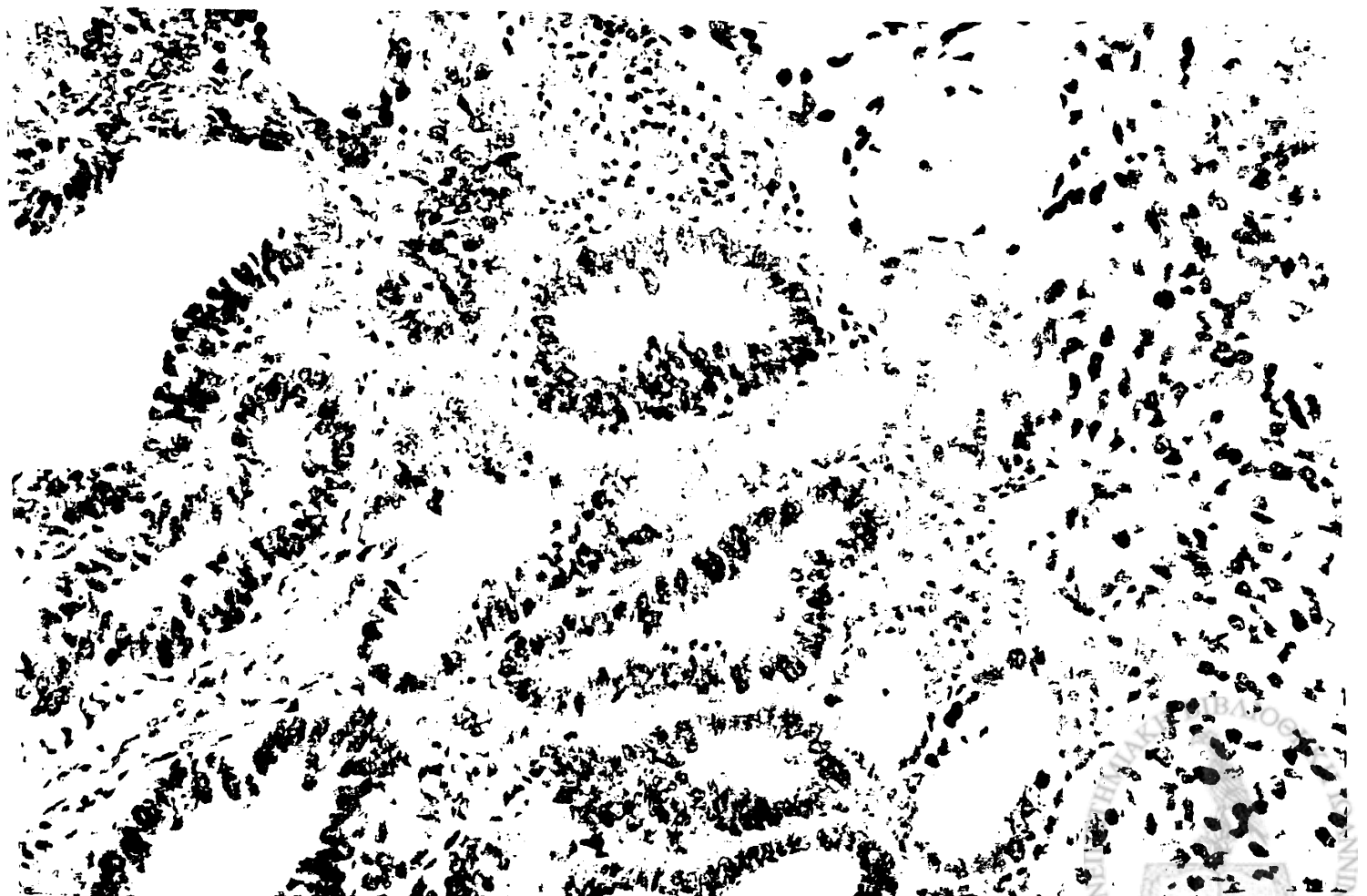
Εικόνα 1. Πυρηνική επιθηλιακή και στρωματική έκφραση των υποδοχέων οιστρογόνων σε παραγωγικό ενδομήτριο (ABC X 100)



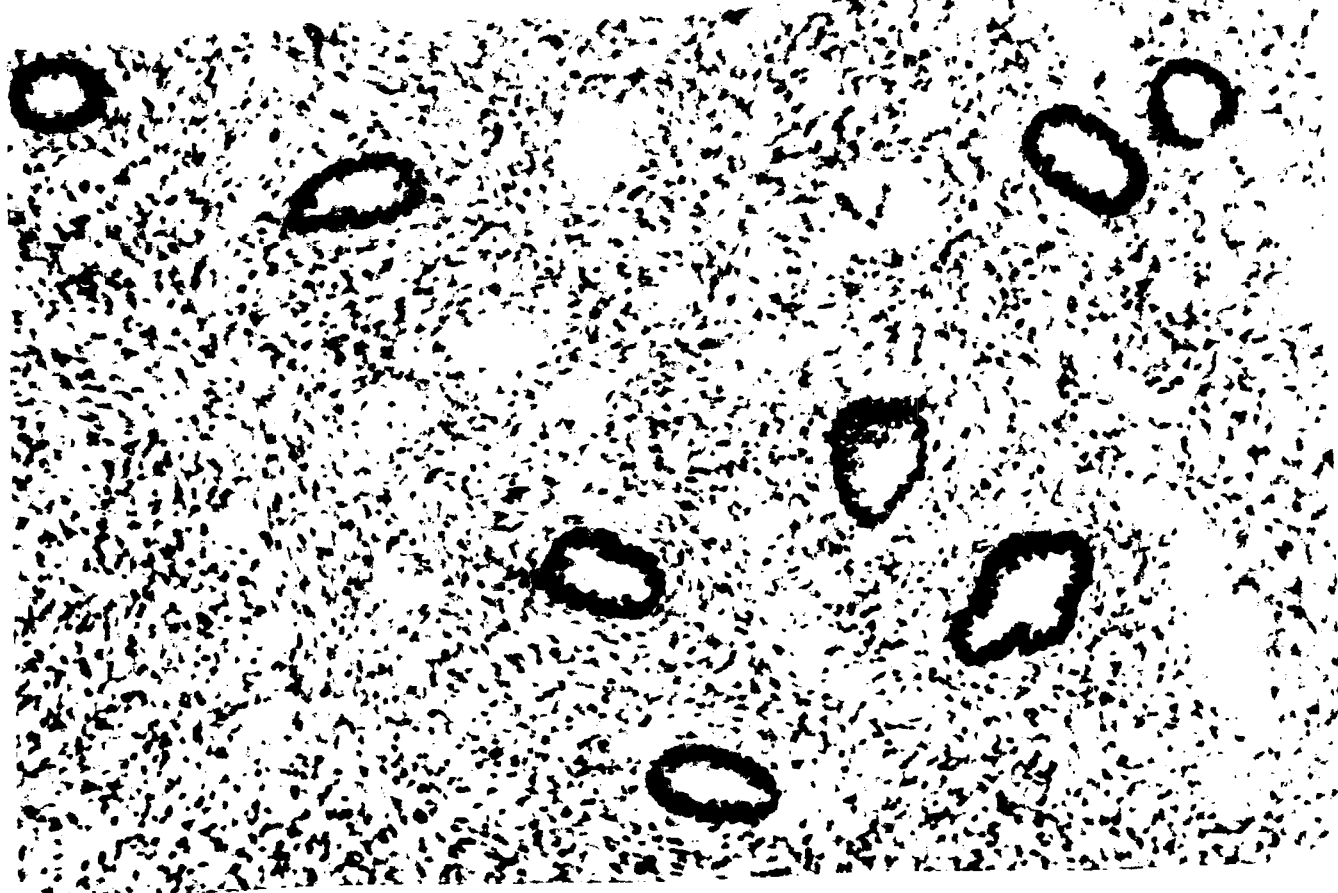
Εικόνα 2. Πυρηνική έκφραση των υποδοχέων οιστρογόνων σε εκκριτικό ενδομήτριο (ABC X 100)



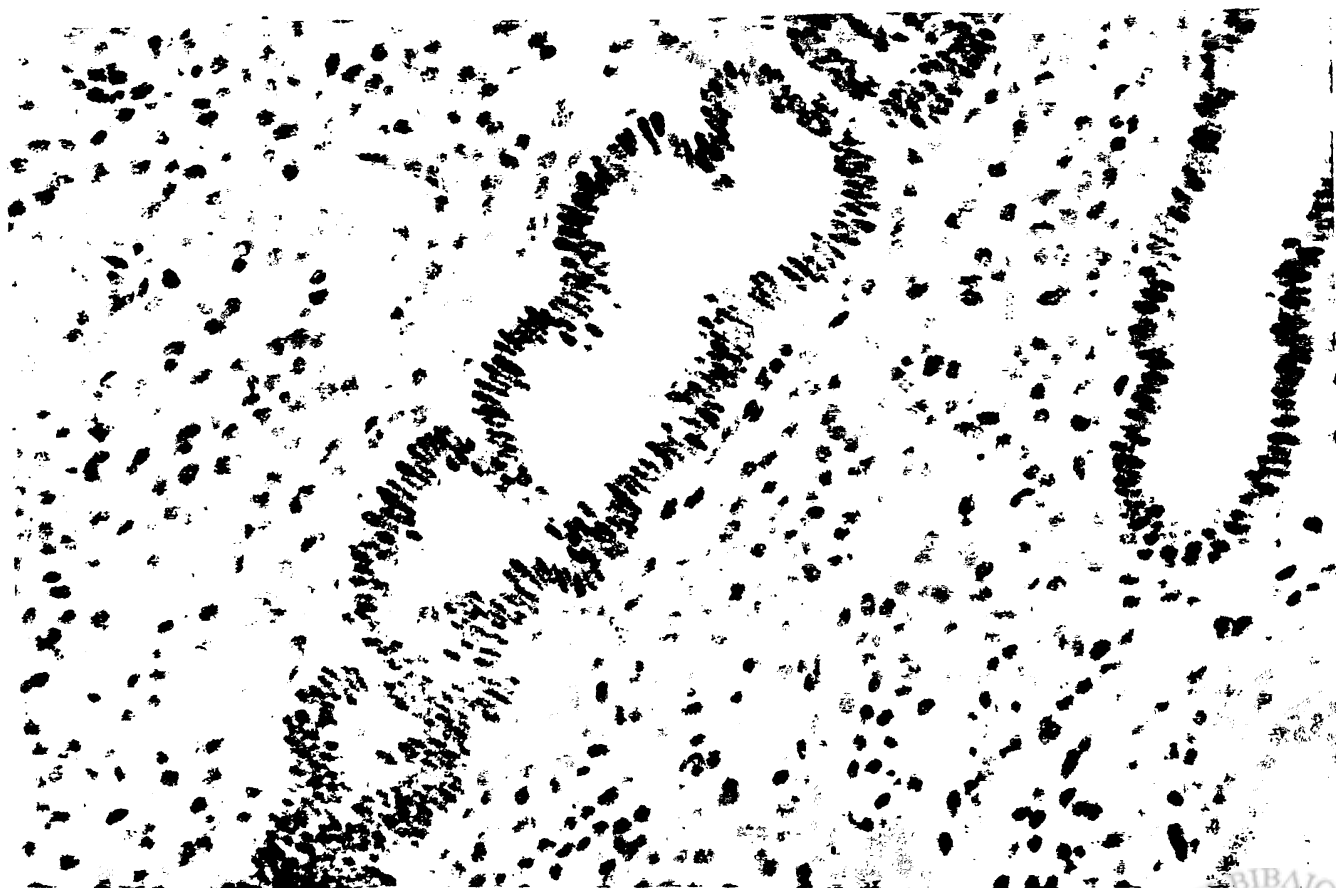
Εικόνα 3. Πυρηνική επιθηλιακή και στρωματική έκφραση των υποδοχέων οιστρογόνων σε υπερπλασία ενδομητρίου (ABC X 200)



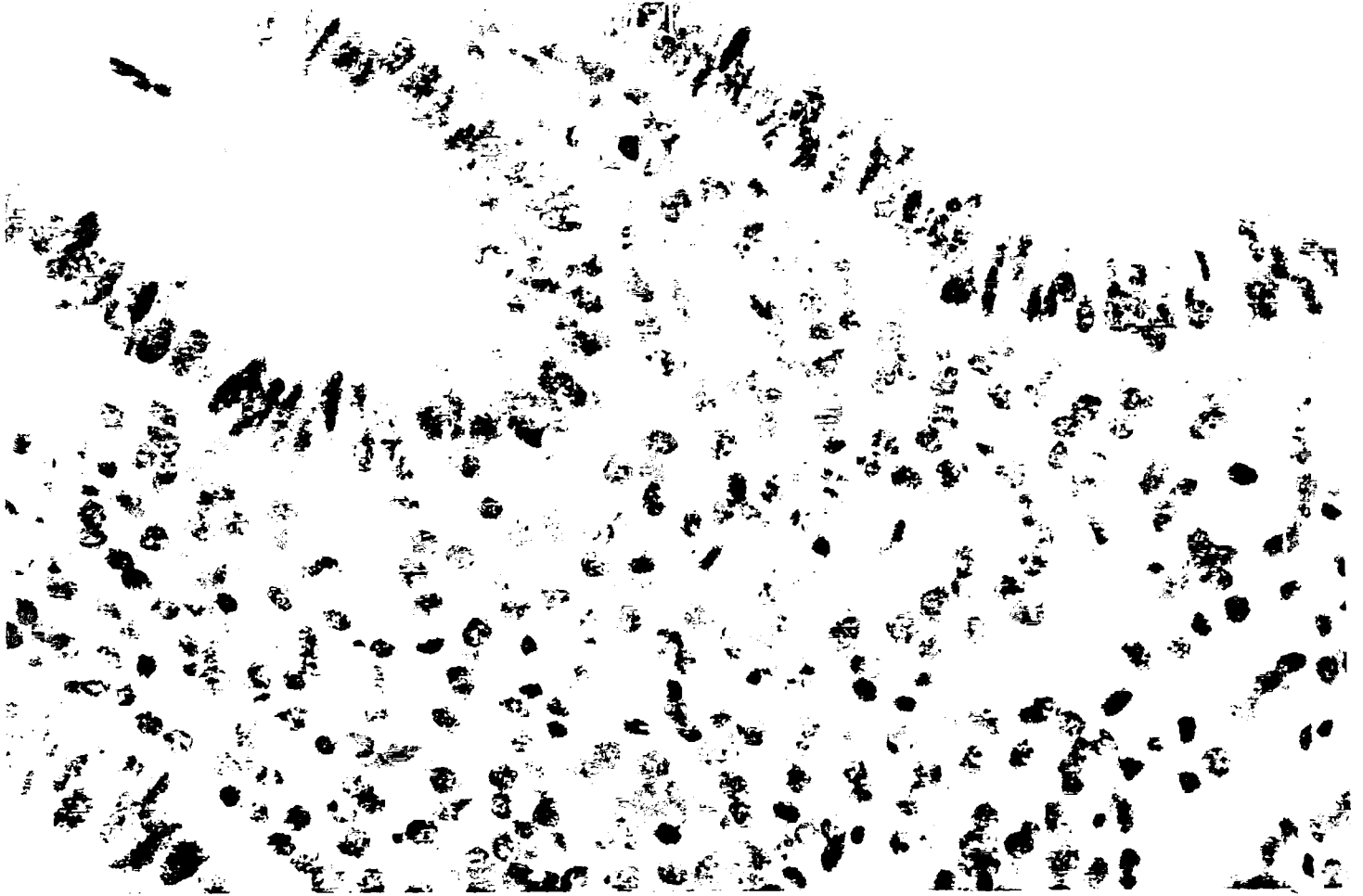
Εικόνα 4. Πυρηνική επιθηλιακή ανοσοϊστοχημική έκφραση των υποδοχέων οιστρογόνων σε καρκίνωμα ενδομητρίου (ABC X 200)



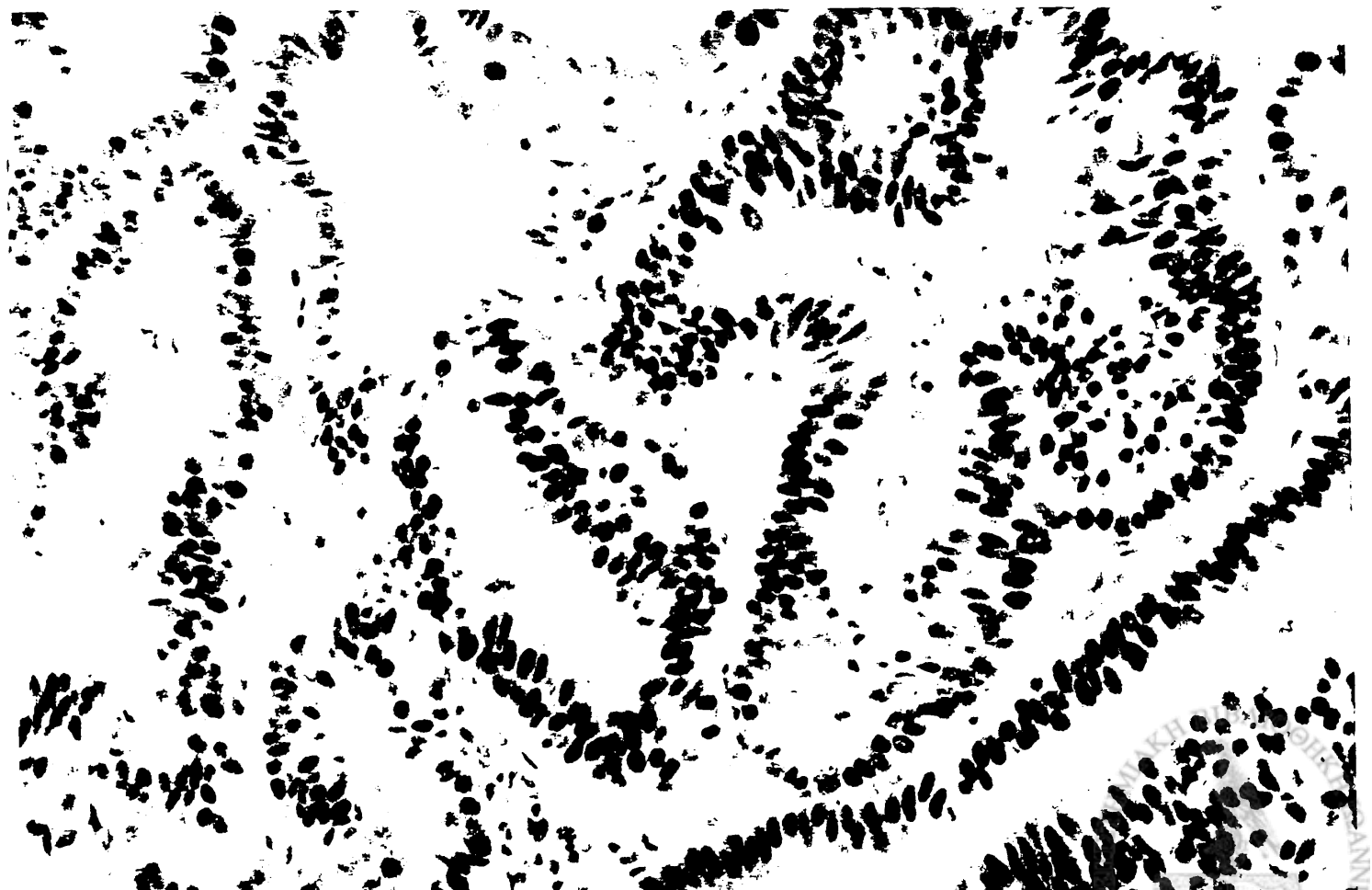
Εικόνα 5. Πυρηνική επιθηλιακή και στρωματική έκφραση των υποδοχέων προγεστερόνης σε παραγωγικό ενδομήτριο (ABC X 100)



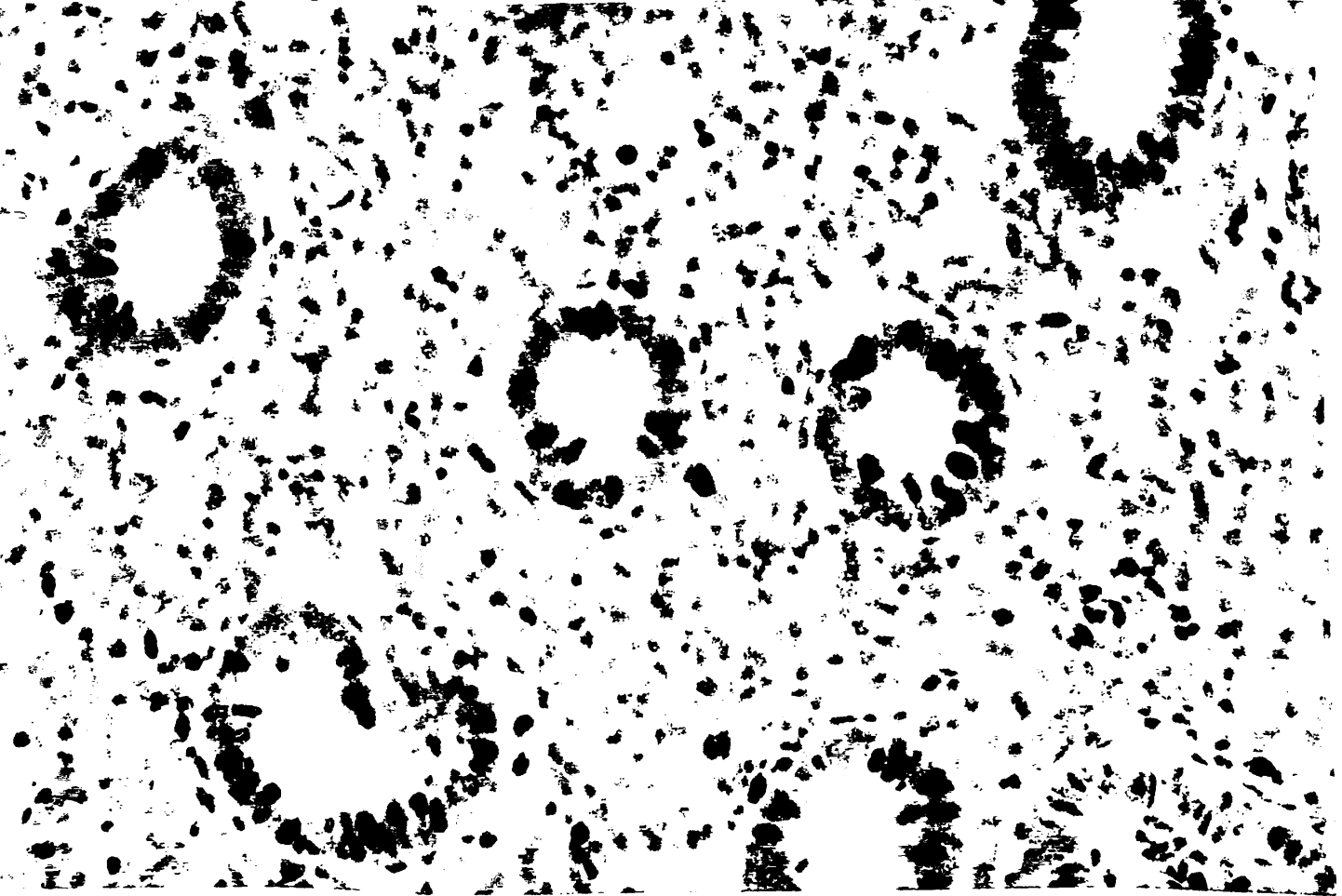
Εικόνα 6. Πυρηνική επιθηλιακή και στρωματική έκφραση των υποδοχέων προγεστερόνης σε εκκριτικό ενδομήτριο (ABC X 200)



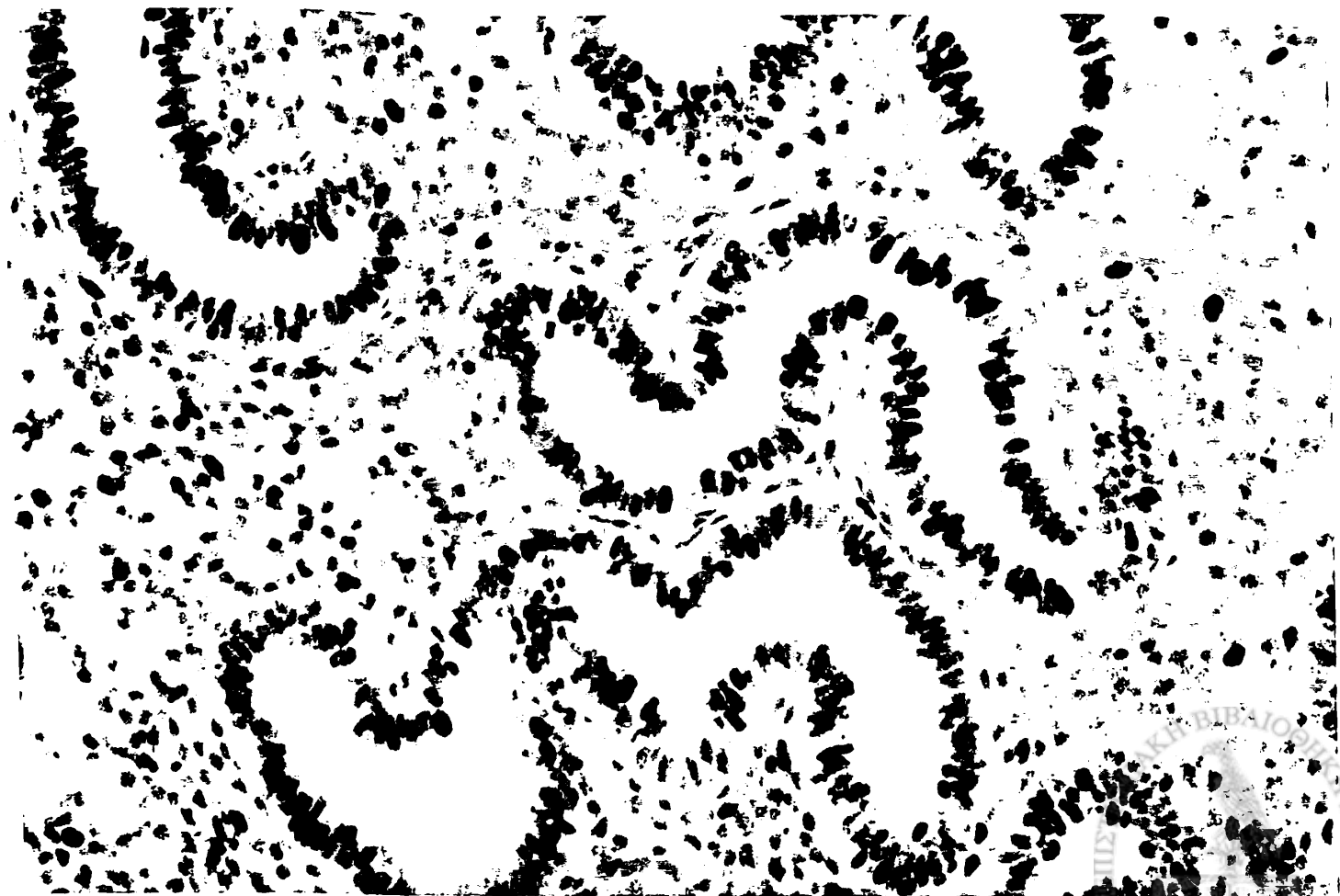
Εικόνα 7. Πυρηνική επιθηλιακή και στρωματική έκφραση των υποδοχέων προγεστερόνης σε υπερπλασία ενδομητρίου (ABC X 400)



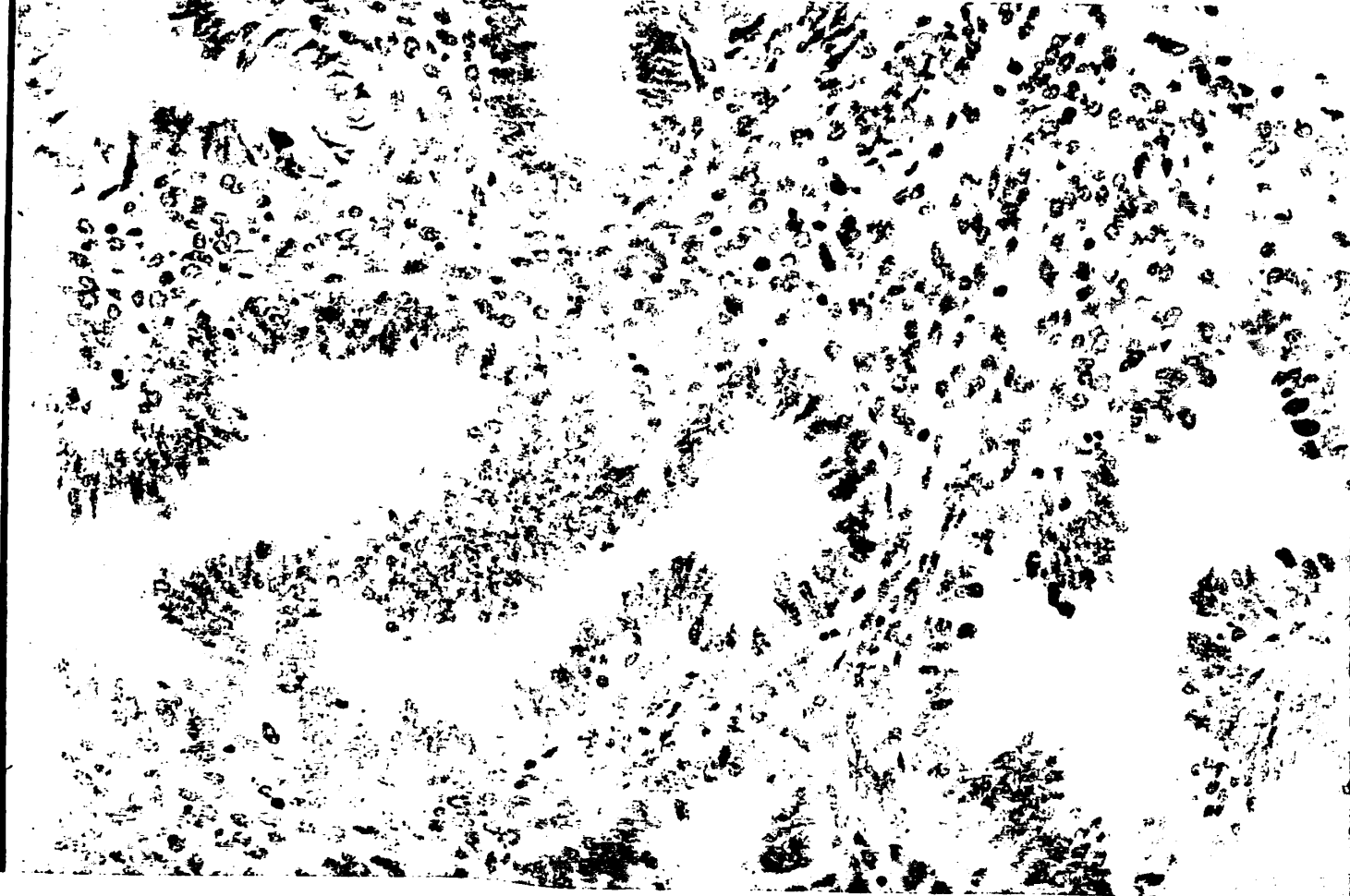
Εικόνα 8. Πυρηνική επιθηλιακή ανοσοϊστοχημική έκφραση των υποδοχέων προγεστερόνης σε καρκίνωμα ενδομητρίου (ABC X 200)



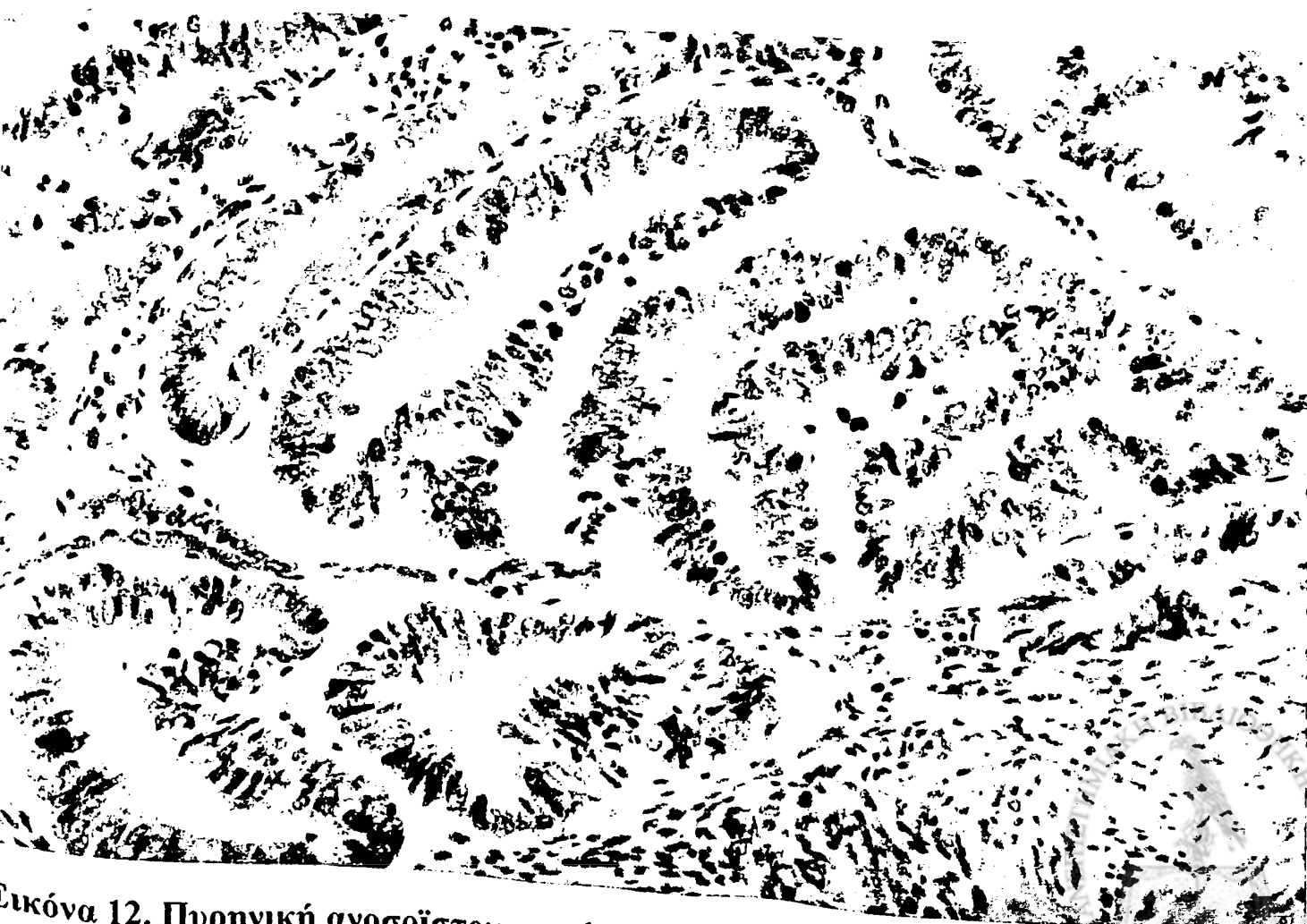
Εικόνα 9. Επιθηλιακή και στρωματική πυρηνική έκφραση του δείκτη πολλαπλασιασμού MIB1 σε παραγωγικό ενδομήτριο (ABC X 200)



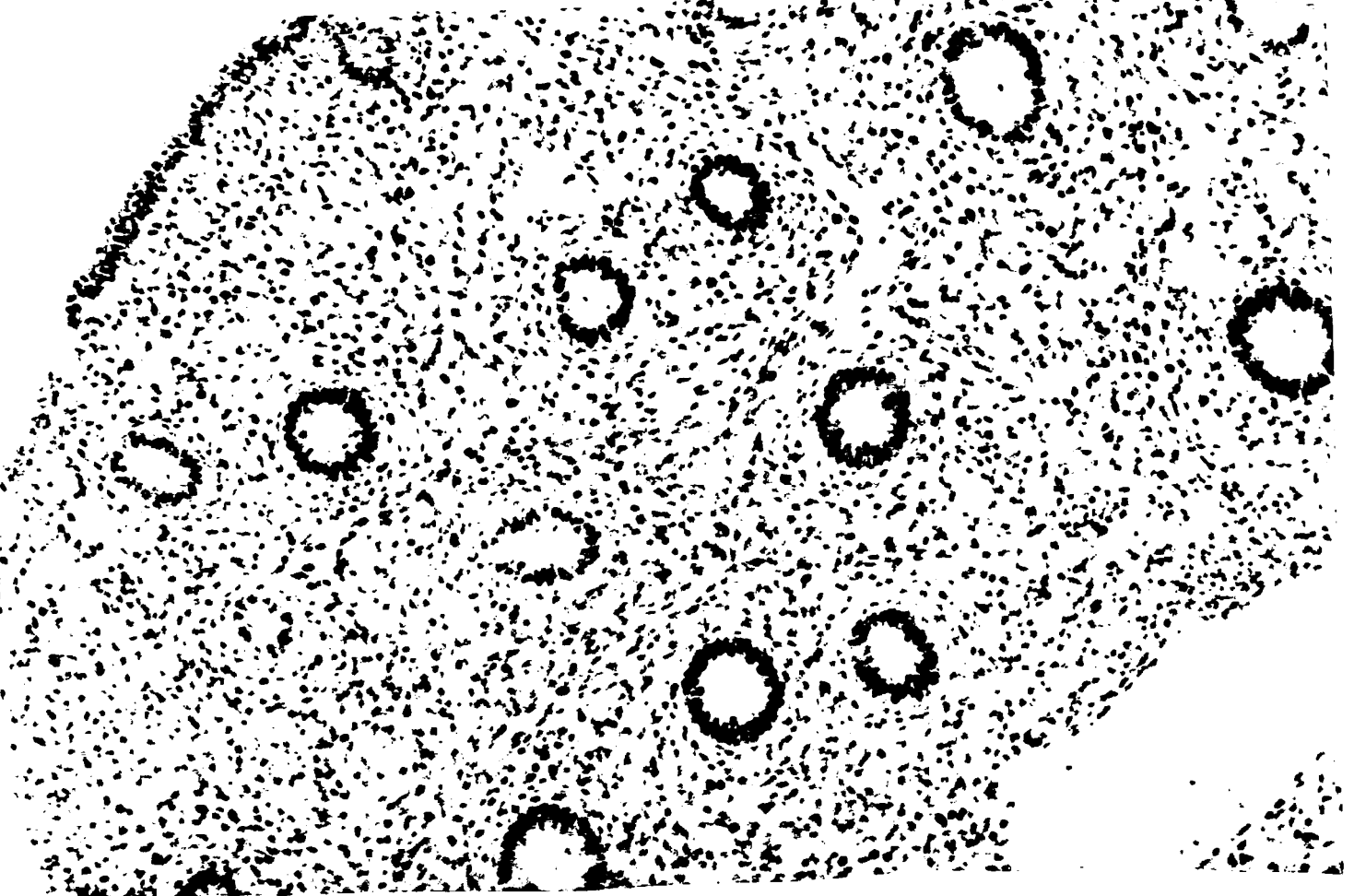
Εικόνα 10. Πυρηνική ανοσοαντίδραση του δείκτη πολλαπλασιασμού MIB1 σε επιθηλιακά και στρωματικά κύτταρα εκκροτικού ενδομητρίου (ABC X 200)



Εικόνα 11. Πυρηνική ανοσοϊστοχημική έκφραση του δείκτη πολλαπλασιασμού MIB1 σε υπερπλασία ενδομητρίου (ABC X 200)



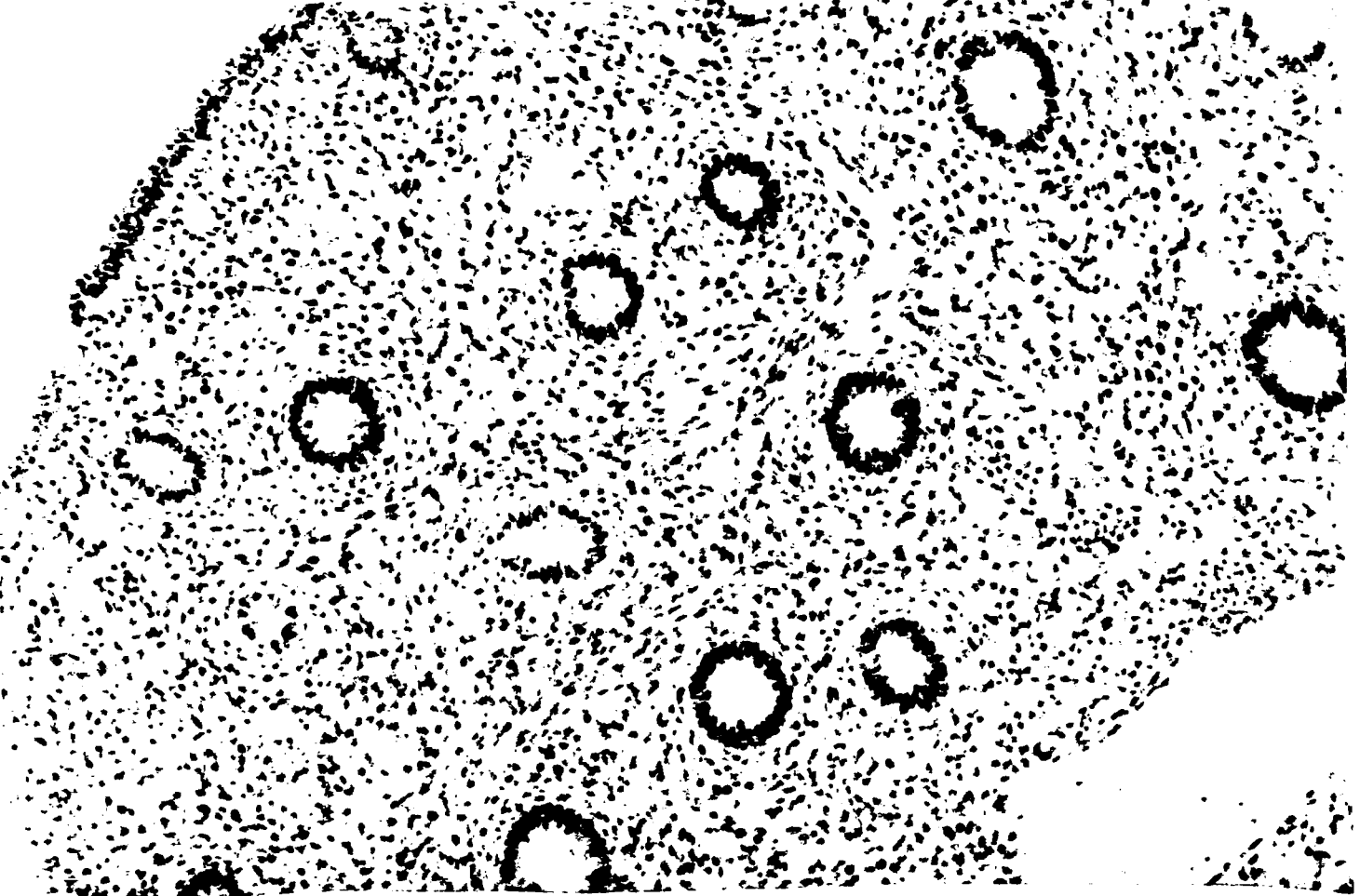
Εικόνα 12. Πυρηνική ανοσοϊστοχημική έκφραση του δείκτη πολλαπλασιασμού MIB1 σε ενδομητρικό καρκίνωμα (ABC X 200)



Εικόνα 13. Επιθηλιακή και στρωματική πυρηνική έκφραση του δείκτη πολλαπλασιασμού PCNA σε παραγωγικό ενδομήτριο (ABC X 100)



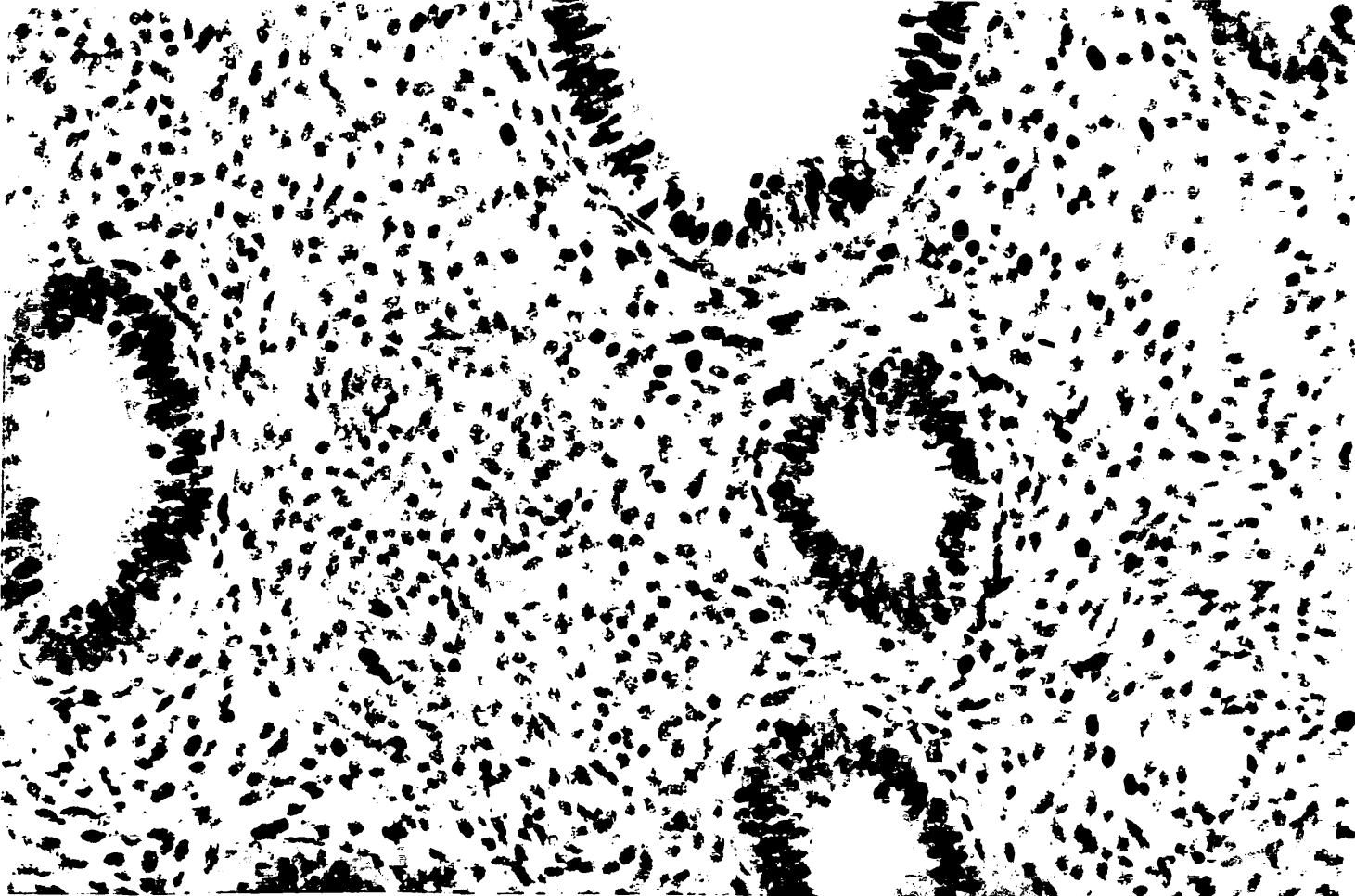
Εικόνα 14. Πυρηνική ανοσοαντίδραση του δείκτη πολλαπλασιασμού PCNA σε επιθηλιακά και στρωματικά κύτταρα εκκριτικού ενδομητρίου (ABC X 100)



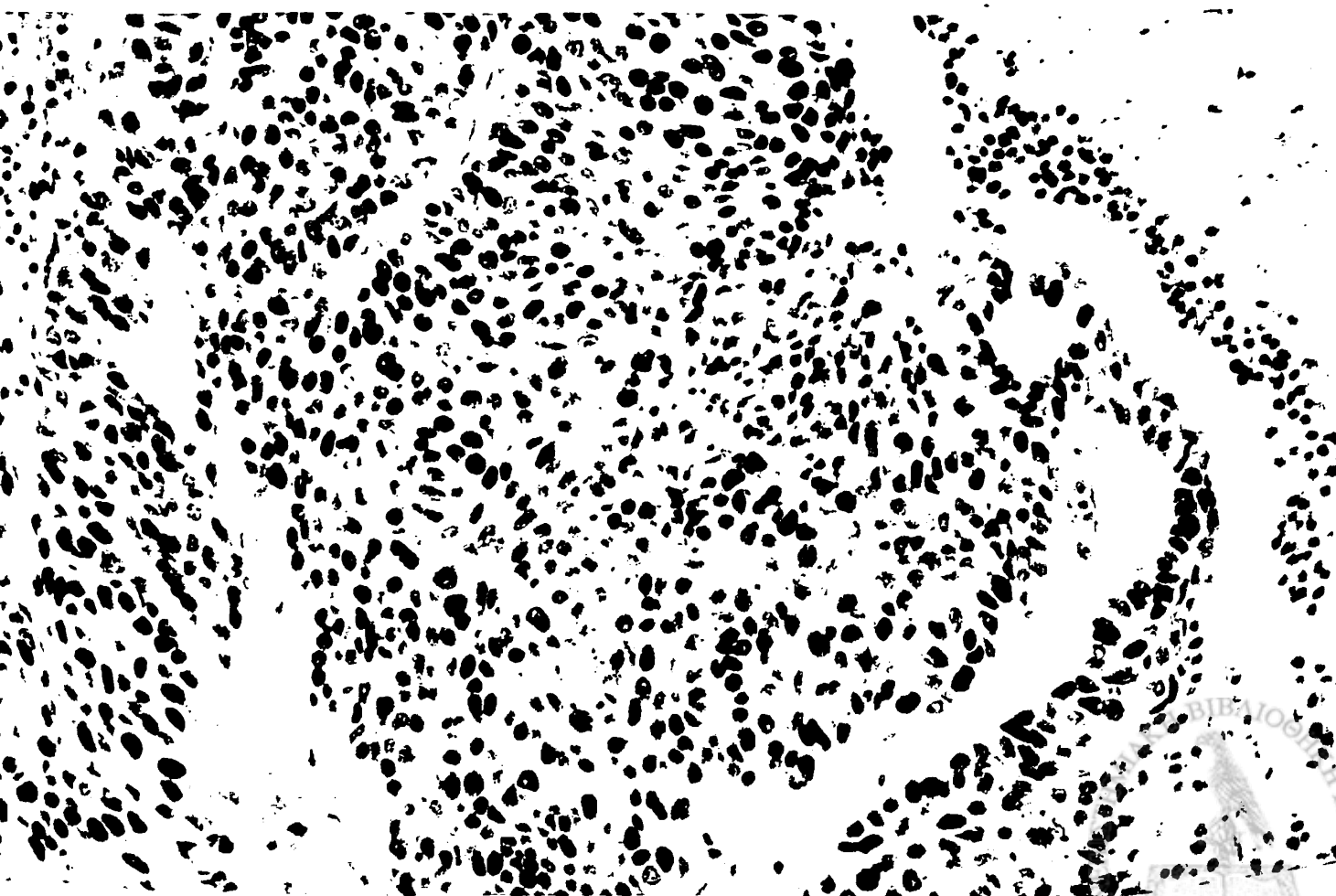
Εικόνα 13. Επιθηλιακή και στρωματική πυρηνική έκφραση του δείκτη πολλαπλασιασμού PCNA σε παραγωγικό ενδομήτριο (ABC X 100)



Εικόνα 14. Πυρηνική ανοσοαντίδραση του δείκτη πολλαπλασιασμού PCNA σε επιθηλιακά και στρωματικά κύτταρα εκκριτικού ενδομητρίου (ABC X 100)



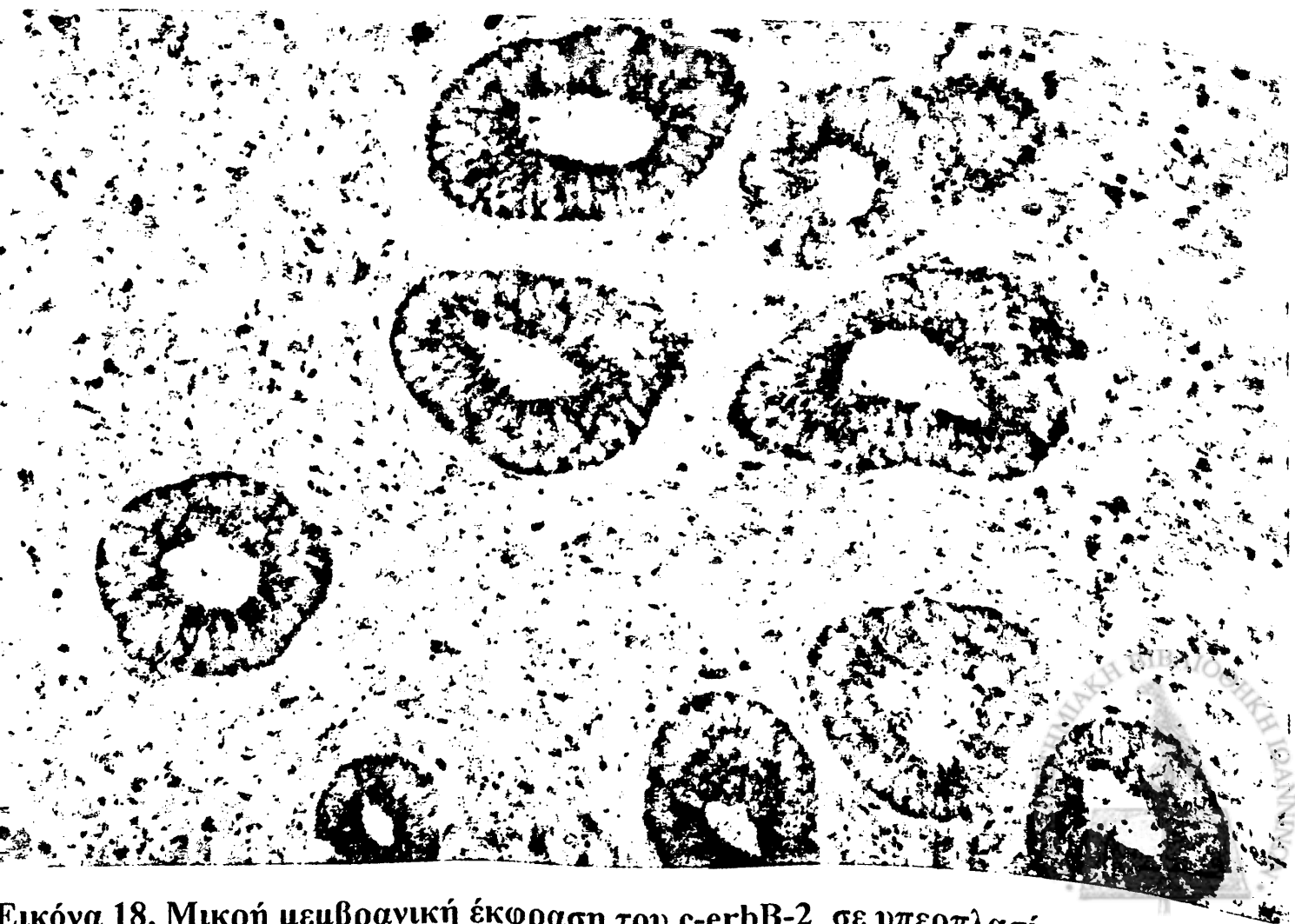
Εικόνα 15. Πυρηνική ανοσοϊστοχημική έκφραση του δείκτη πολλαπλασιασμού PCNA σε υπερπλασία ενδομητρίου (ABC X 200)



Εικόνα 16. Πυρηνική ανοσοϊστοχημική έκφραση του δείκτη πολλαπλασιασμού PCNA σε ενδομητρικό καρκίνωμα (ABC X 200)



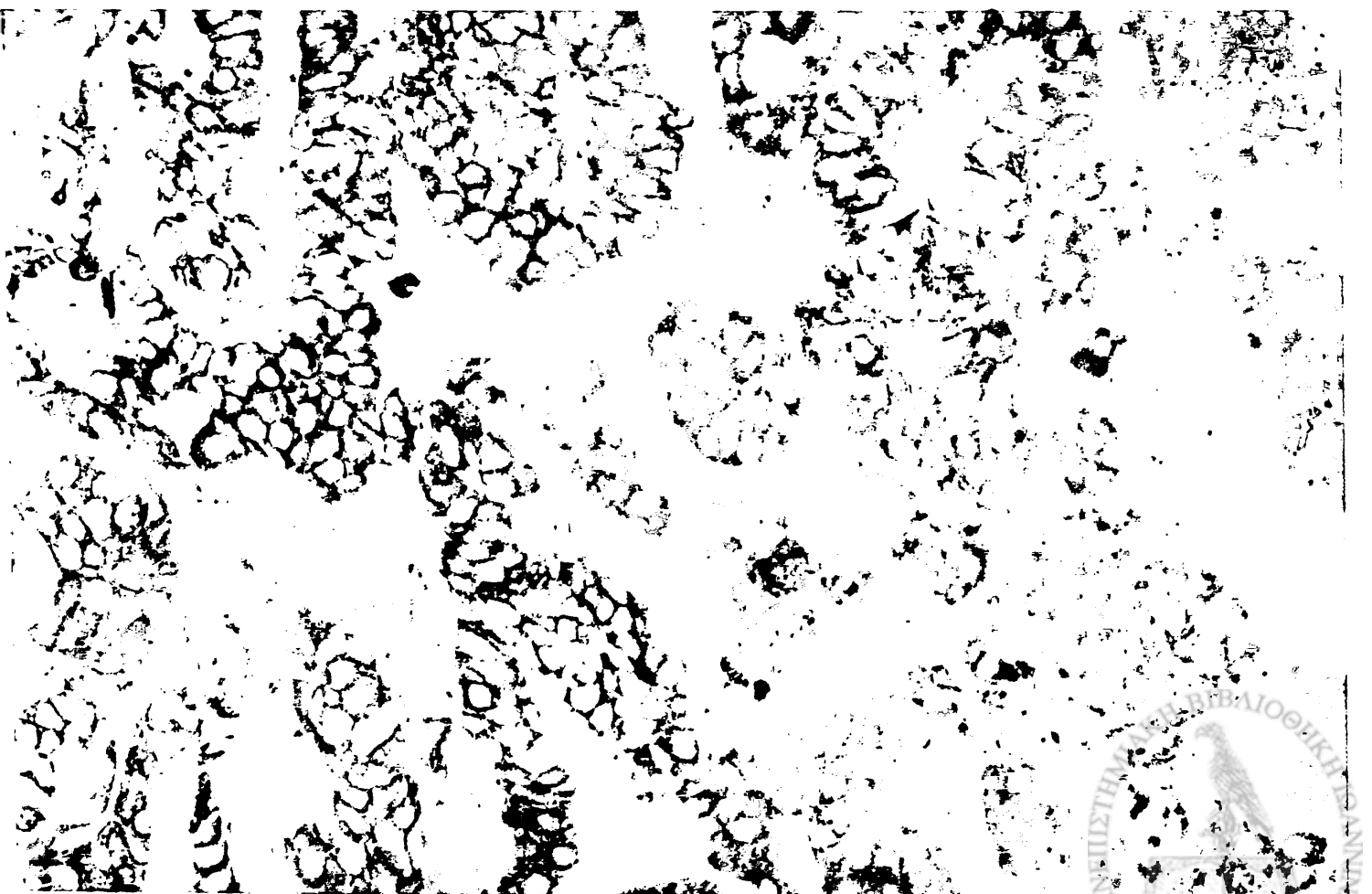
Εικόνα 17. Απουσία μεμβρανικής έκφρασης c-erbB-2 σε εκκριτικό ενδομήτριο (ABC X 100)



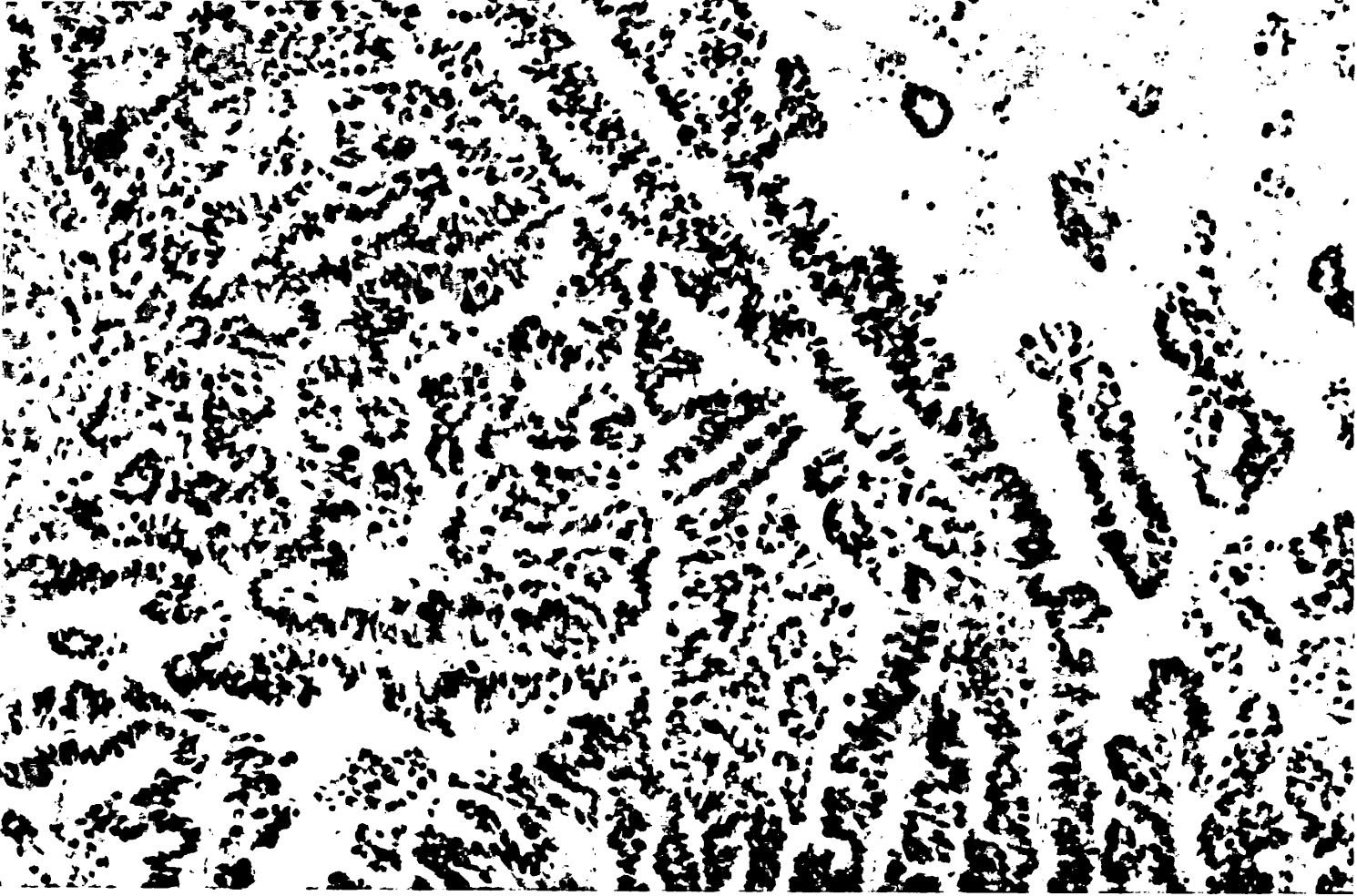
Εικόνα 18. Μικρή μεμβρανική έκφραση του c-erbB-2 σε υπερπλαστικό ενδομήτριο



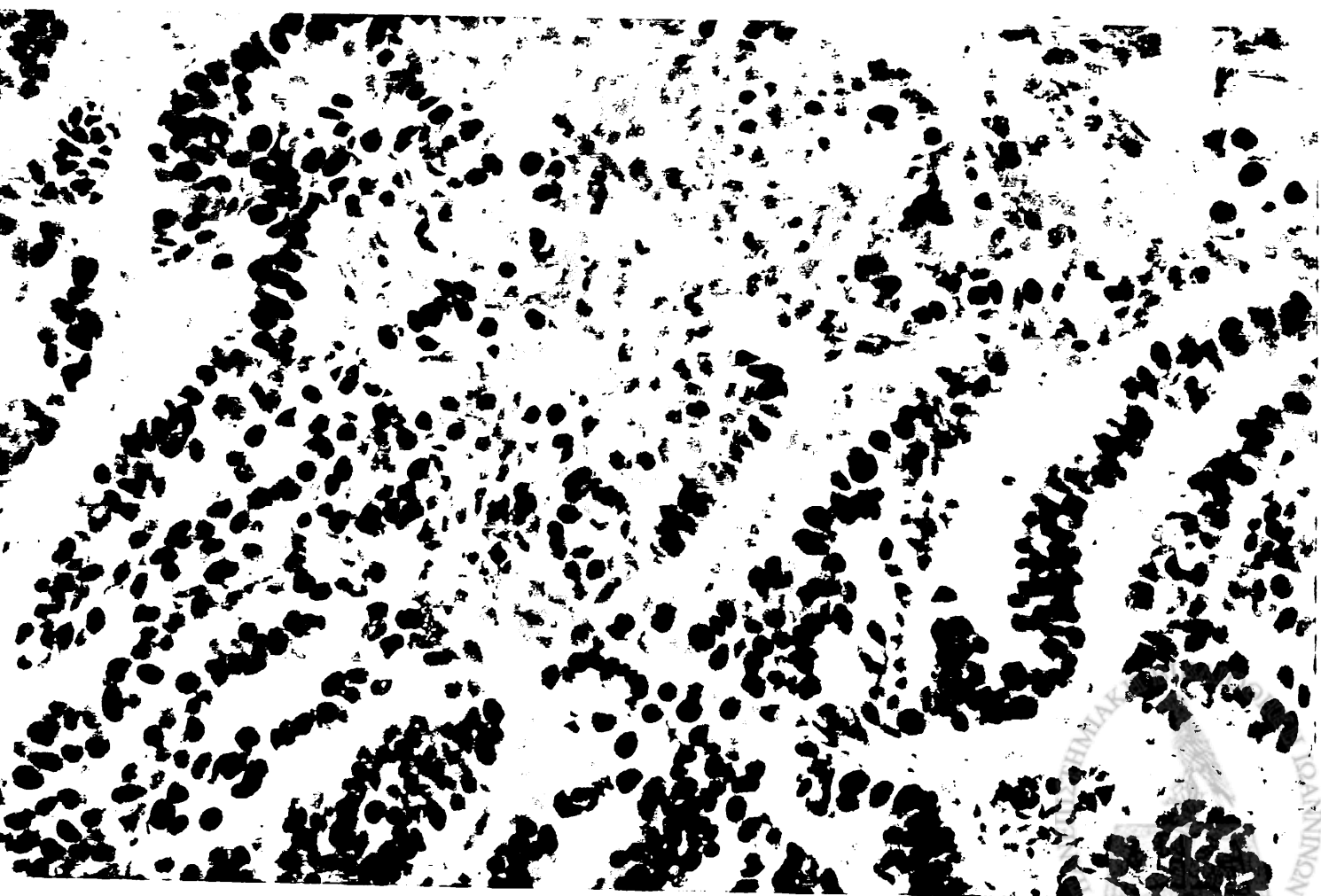
Εικόνα 19. Εντονη μεμβρανική ανοσοϊστοχημική έκφραση του c-erbB-2 σε καρκίνωμα ενδομητρίου (ABC X 200)



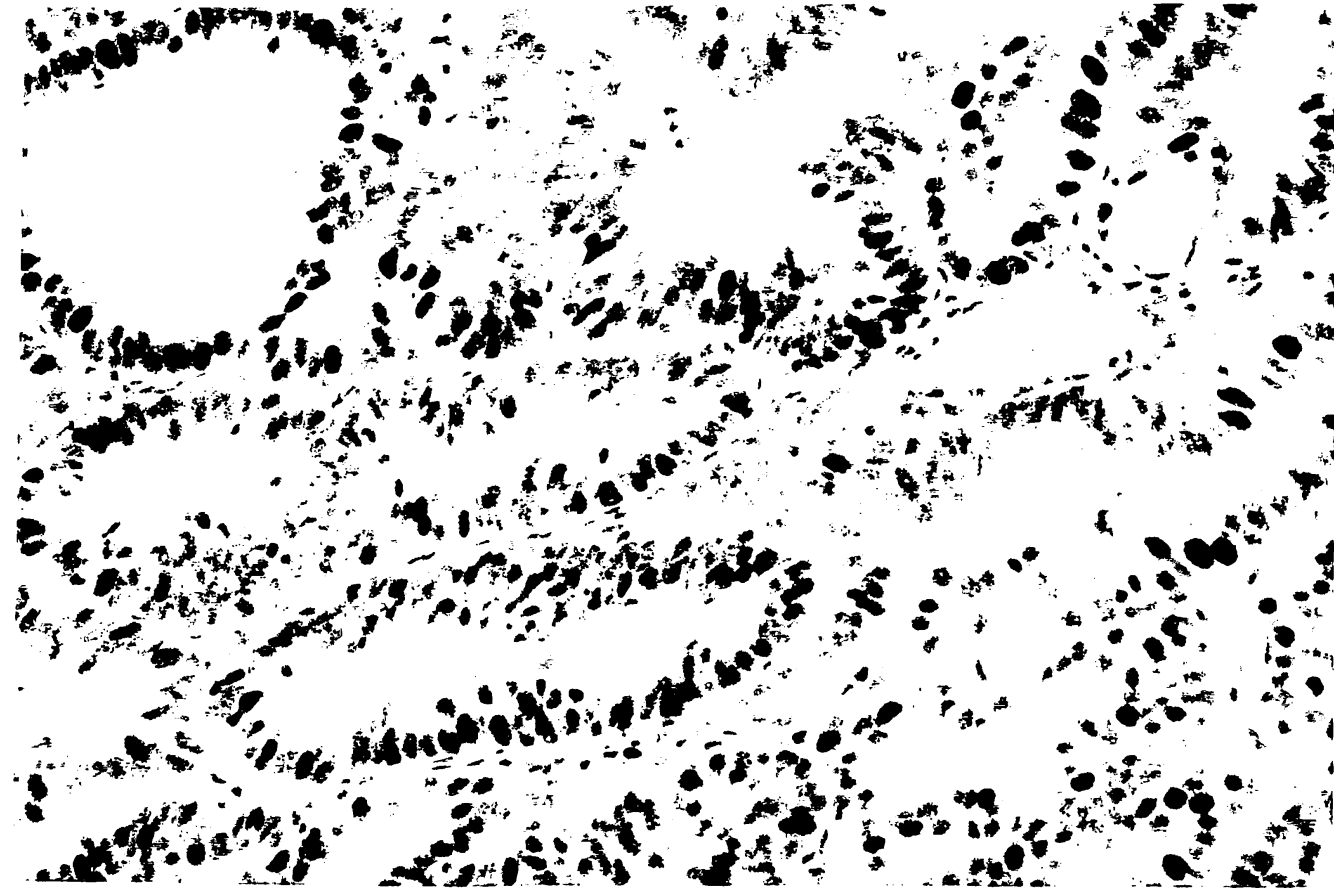
Εικόνα 20. Εστιακή μεμβρανική ανοσοϊστοχημική έκφραση του c-erbB-2 σε ενδομητρίο καρκίνωμα (ABC X 200)



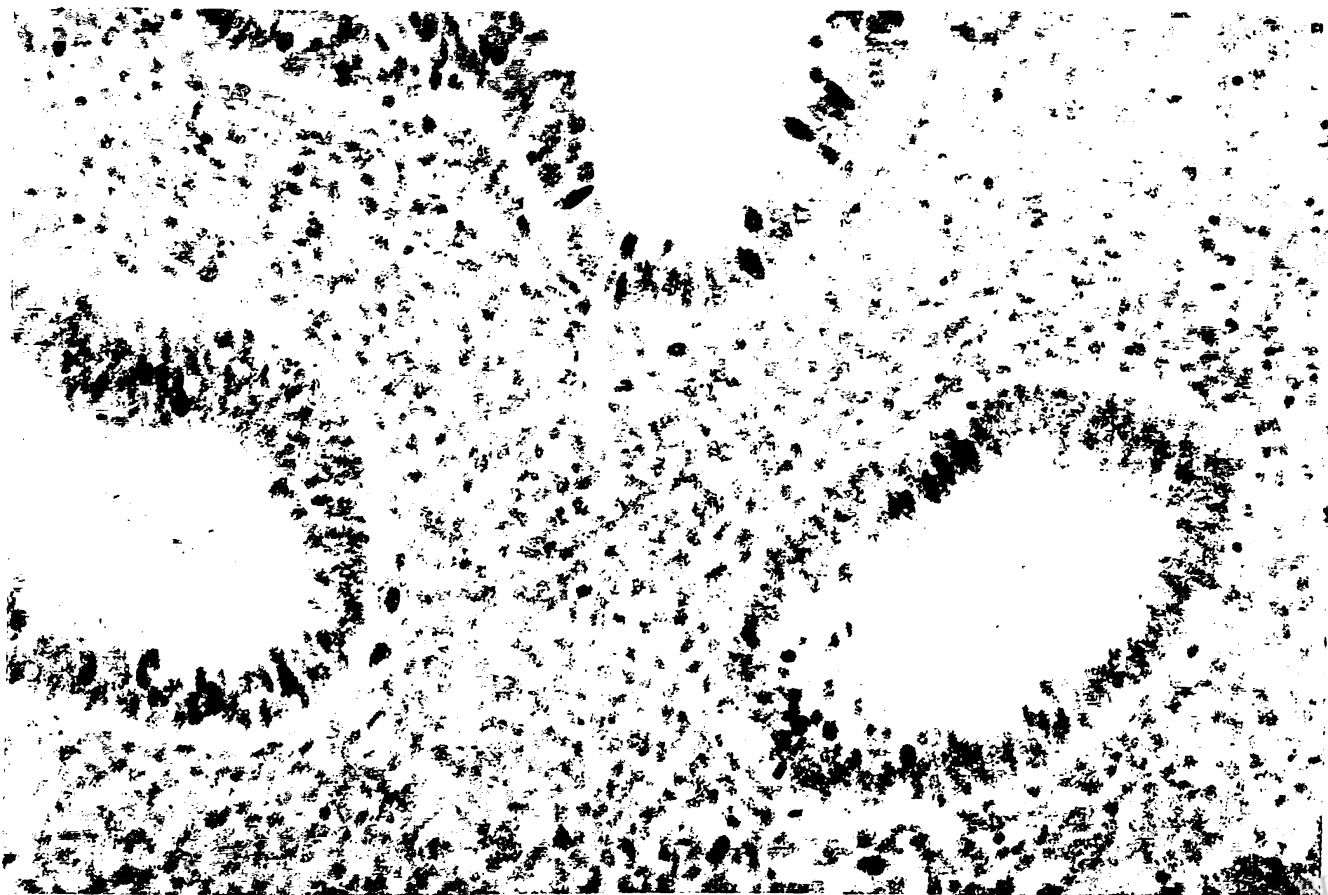
Εικόνα 21. Εκτεταμένη πυρηνική έκφραση της p53 πρωτεΐνης σε καρκίνωμα ενδομητρίου (ABC X 100)



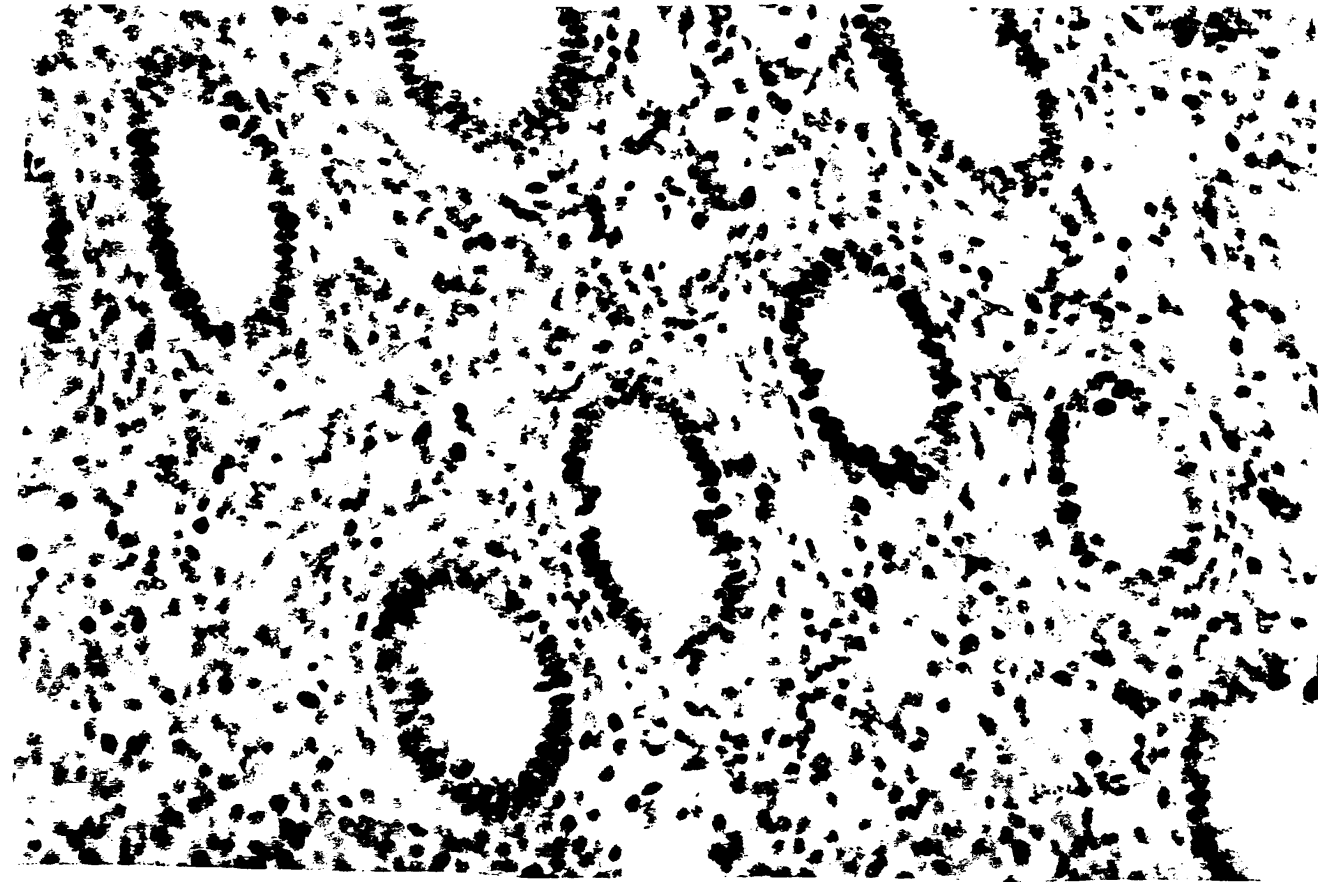
Εικόνα 22. Πυρηνική έκφραση της p53 πρωτεΐνης σε καρκίνωμα ενδομητρίου



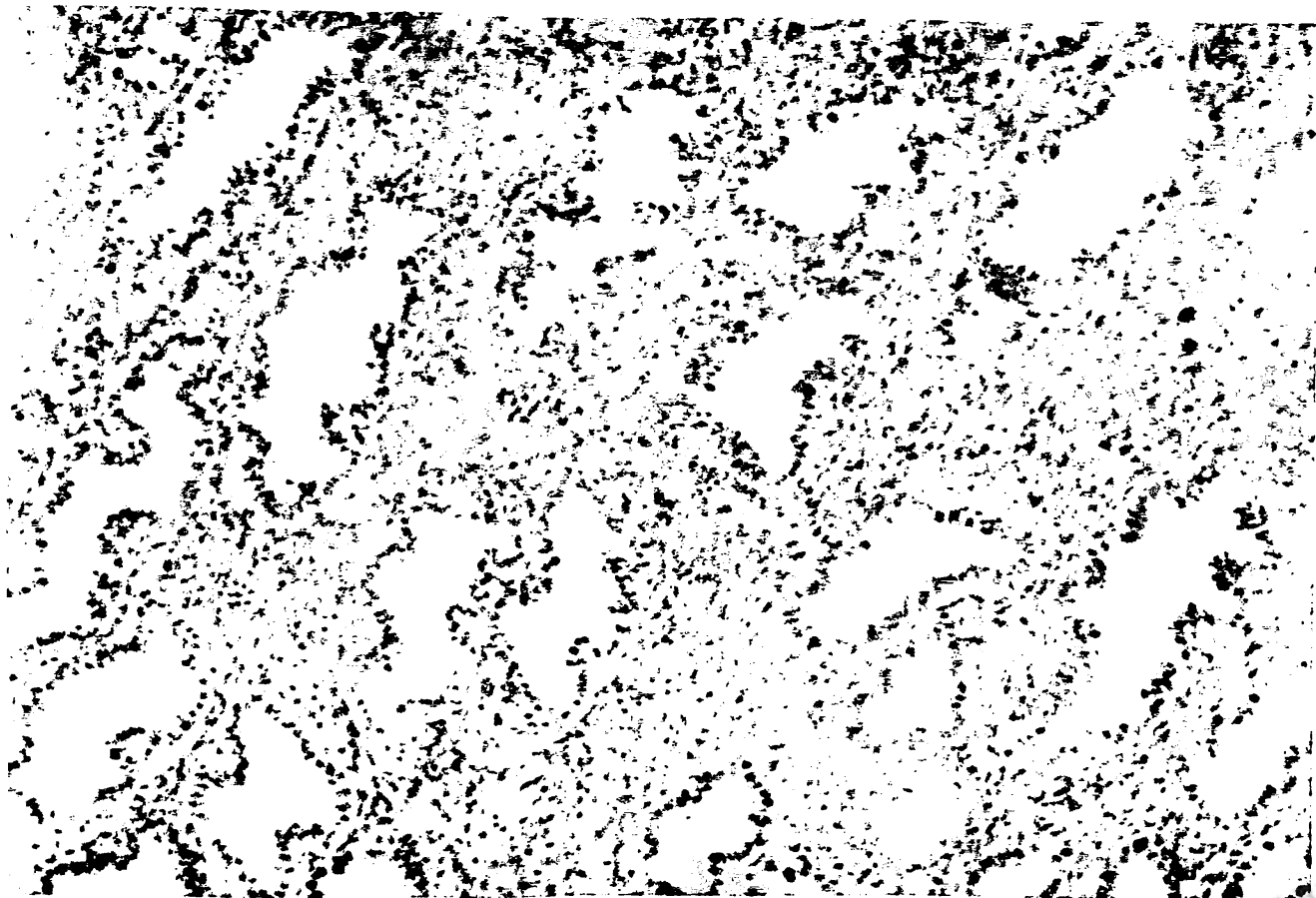
Εικόνα 23. Πυρηνική έκφραση της Rb πρωτεΐνης σε καρκίνωμα ενδομητρίου (ABC X 200)



Εικόνα 24. Πυρηνική έκφραση της Rb πρωτεΐνης σε υπερπλαστικό ενδομήτριο (ABC X 200)

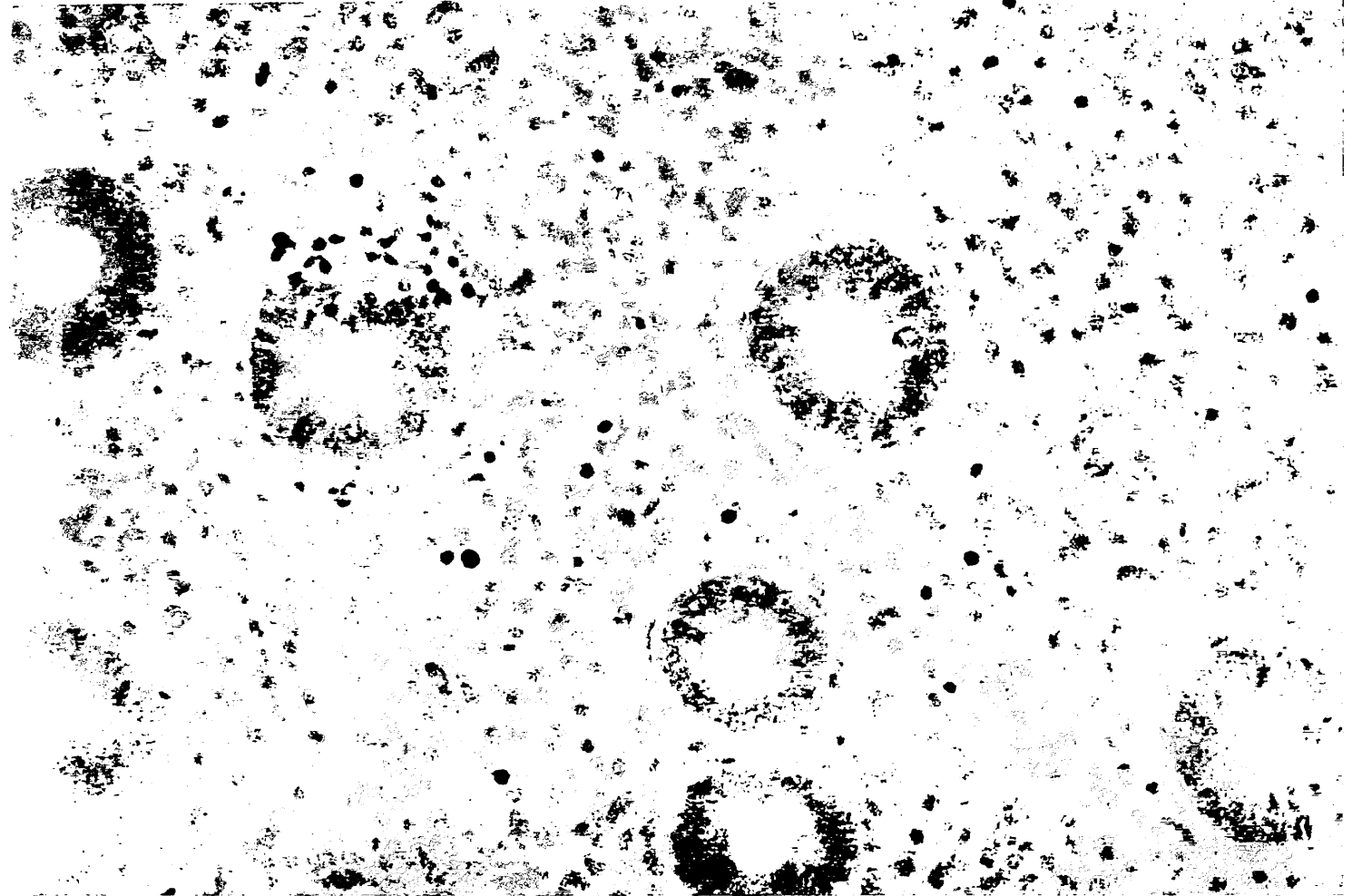


Εικόνα 25. Πυρηνική έκφραση της Rb πρωτεΐνης σε παραγωγικό ενδομήτριο (ABC X 200)



Εικόνα 26. Πυρηνική έκφραση της Rb πρωτεΐνης σε εκκριτικό ενδομήτριο (ABC X 100)

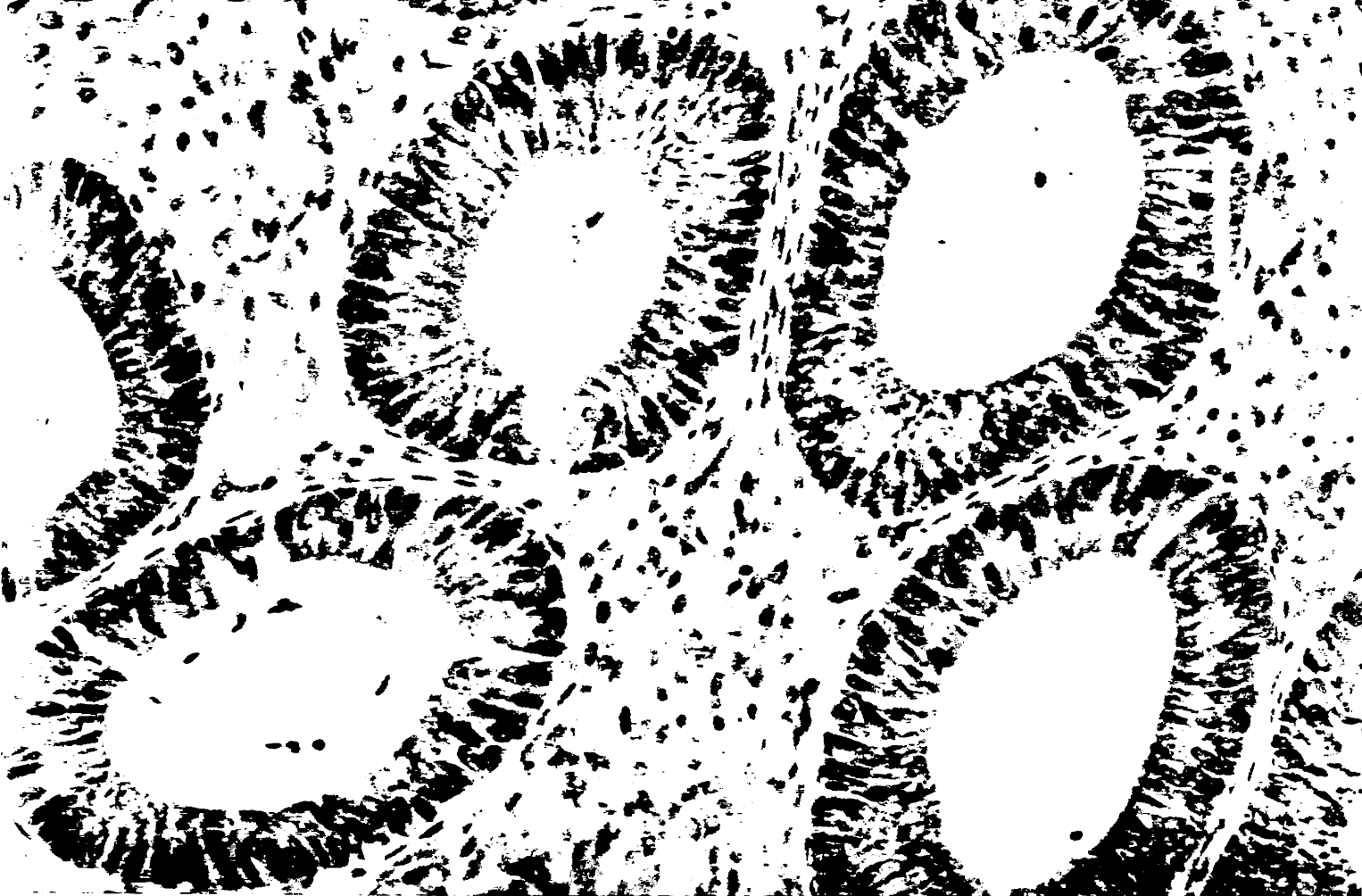




Εικόνα 27. Ασθενής κυτταροπλασματική έκφραση του αντιαποπτωτικού δείκτη bcl-2 σε παραγωγικό ενδομήτριο (ABC X 200)

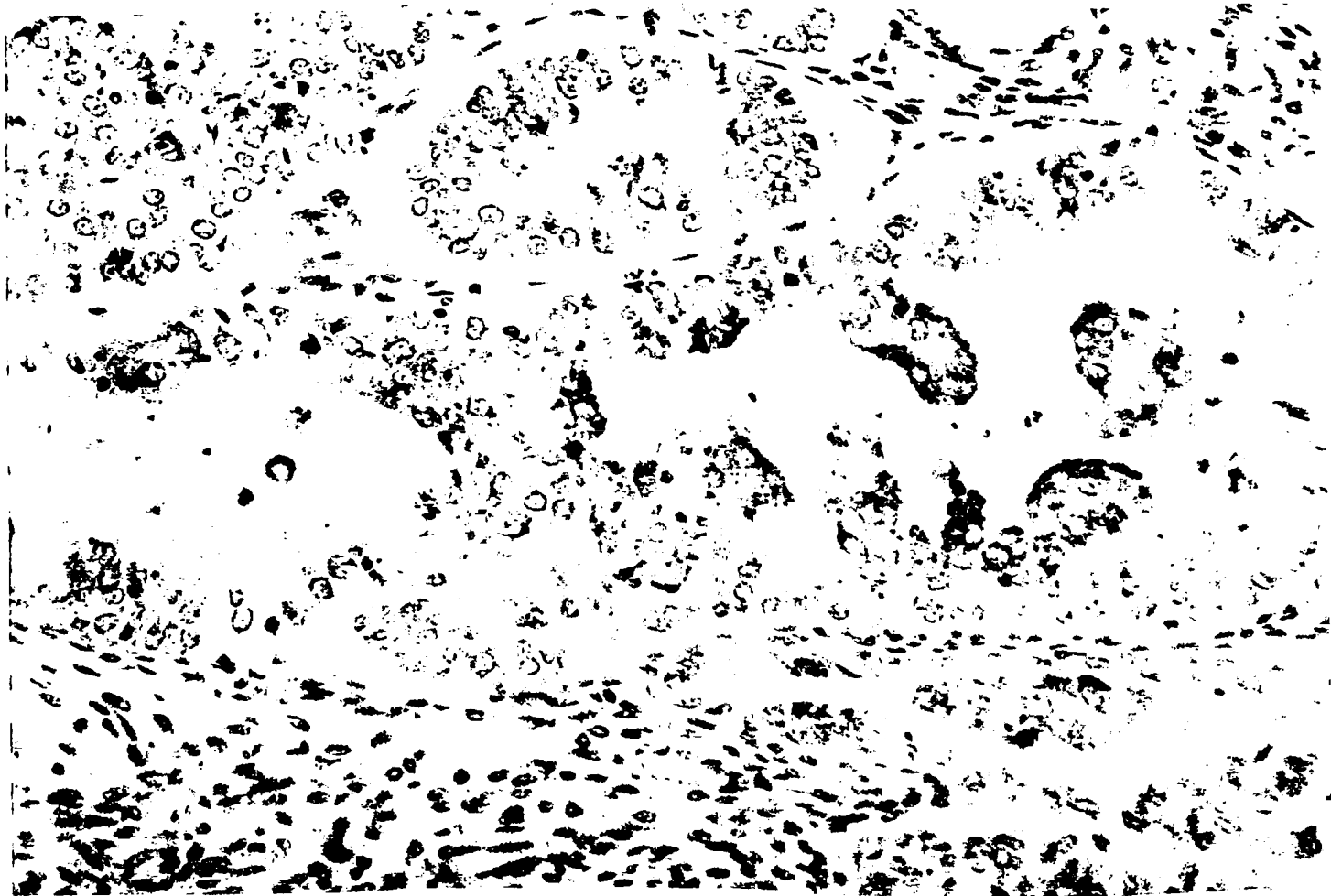


Εικόνα 28. Ασθενής κυτταροπλασματική έκφραση του bcl-2 σε εμκοιτικό

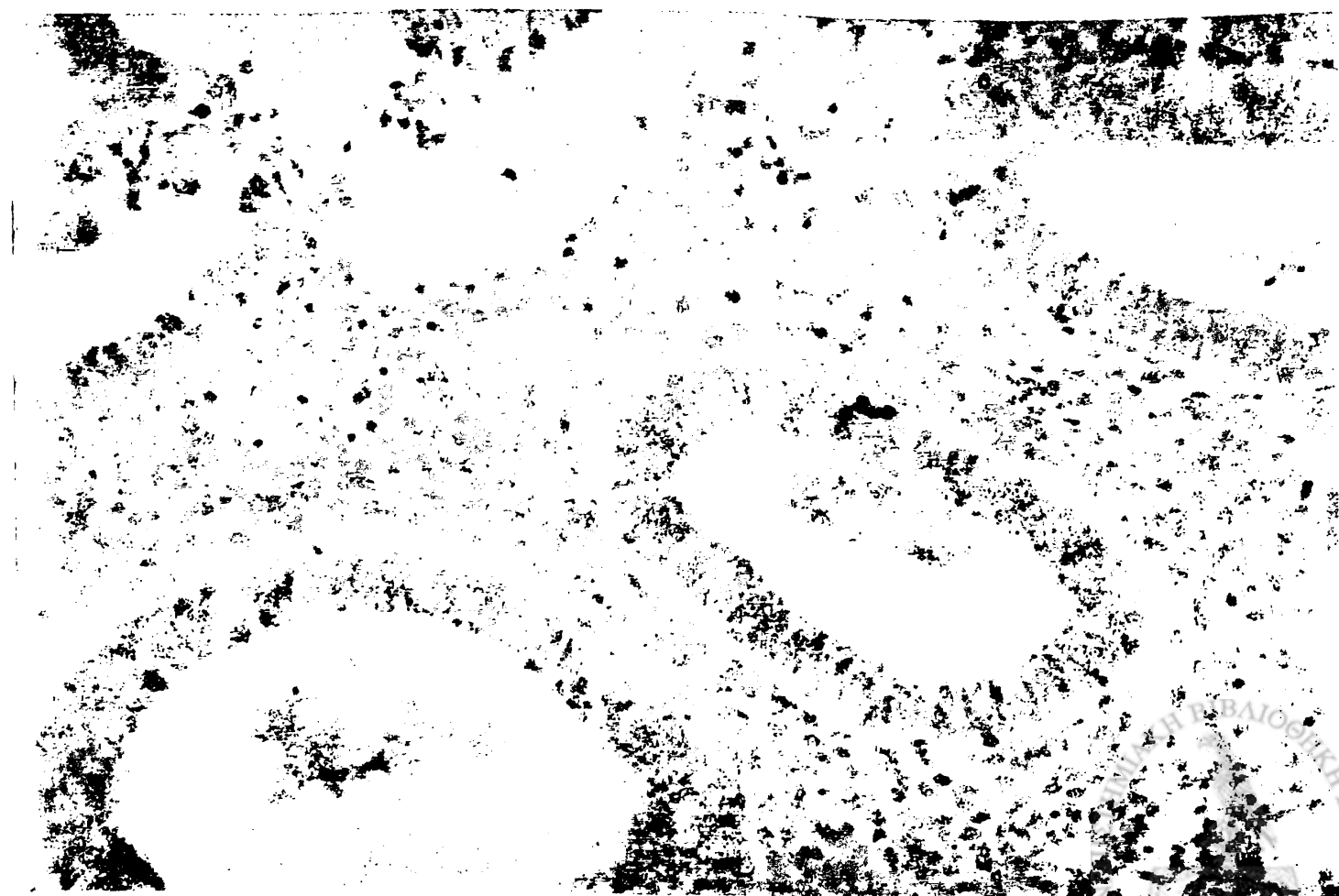


Εικόνα 29. Εντονη κυτταροπλασματική ανοσοϊστοχημική έκφραση του bcl-2 σε υπερπλασία ενδομητρίου (ABC X 200)





Εικόνα 31. Κυτταροπλασματική, μικροκοκκιώδης, διάχυτη έκφραση της Καθεψίνης D σε καρκίνωμα ενδομητρίου (ABC X 200)



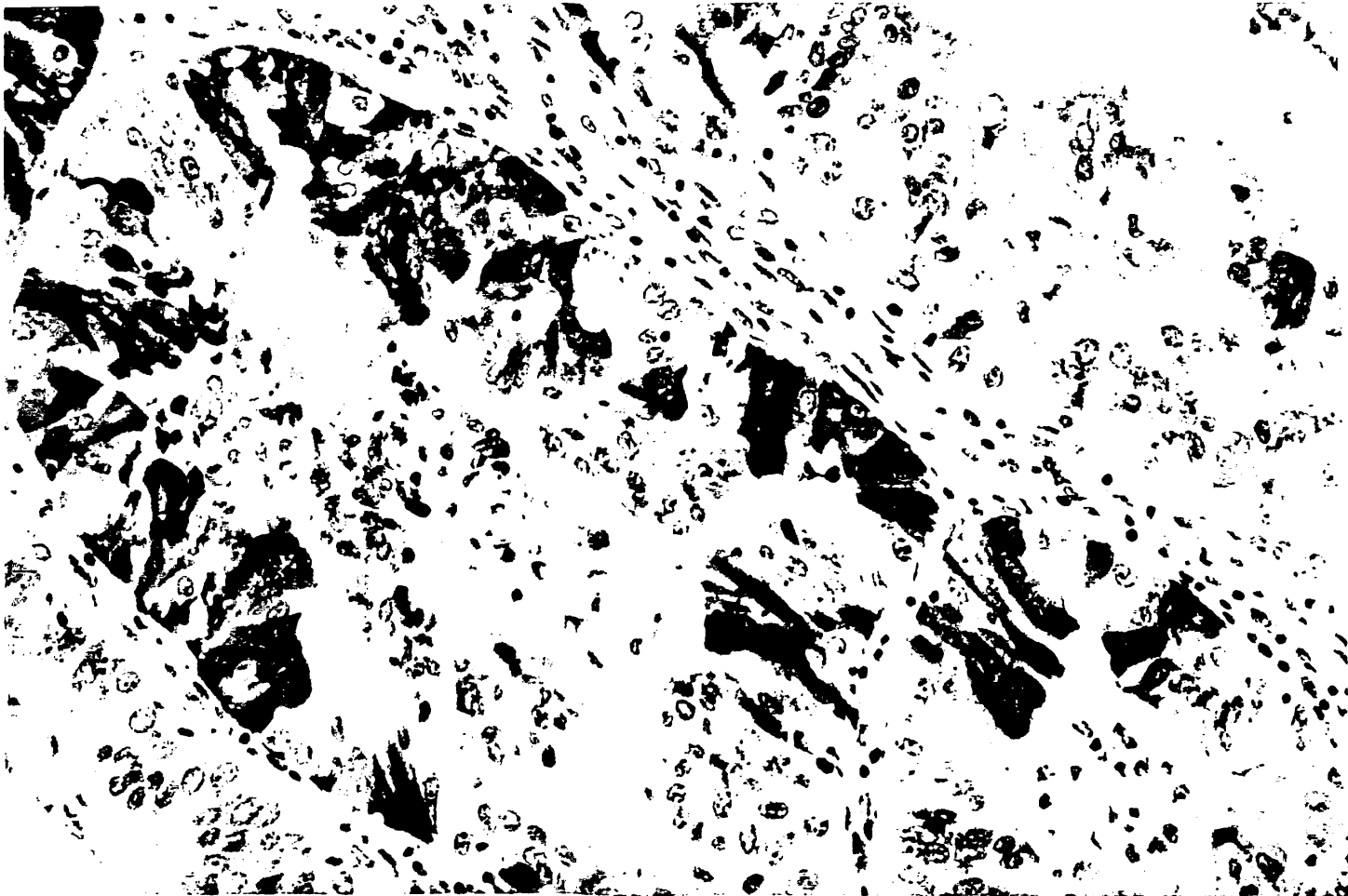
Εικόνα 32. Κυτταροπλασματική, λεπτοκοκκιώδης έκφραση της Καθεψίνης D στην αυλική παρυφή υπερπλαστικών αδενίων (ABC X 200)



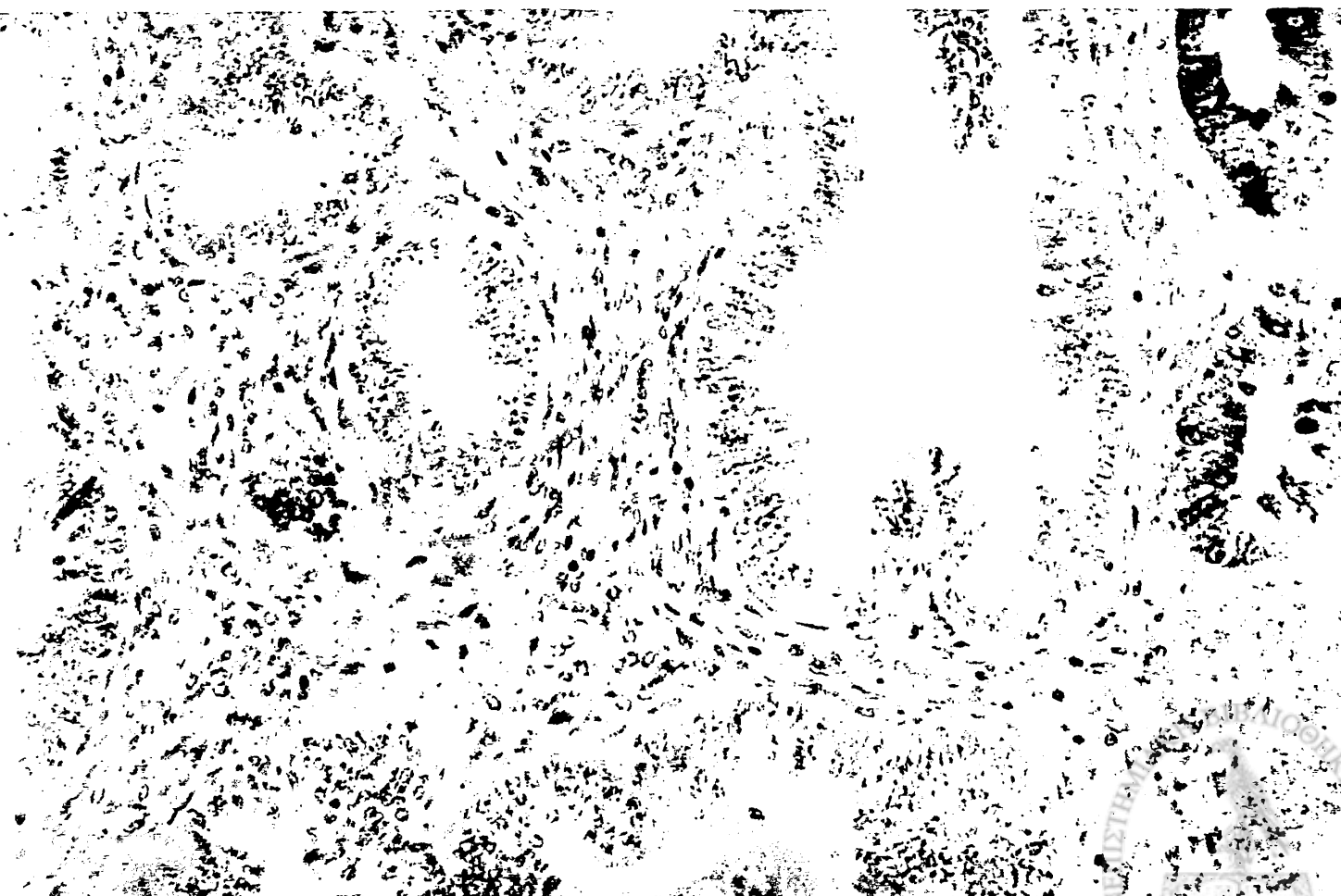
Εικόνα 33. Επιθηλιακή και στρωματική έκφραση της Καθεψίνης D σε παραγωγική φάση ενδομητρίου (ABC X 100)



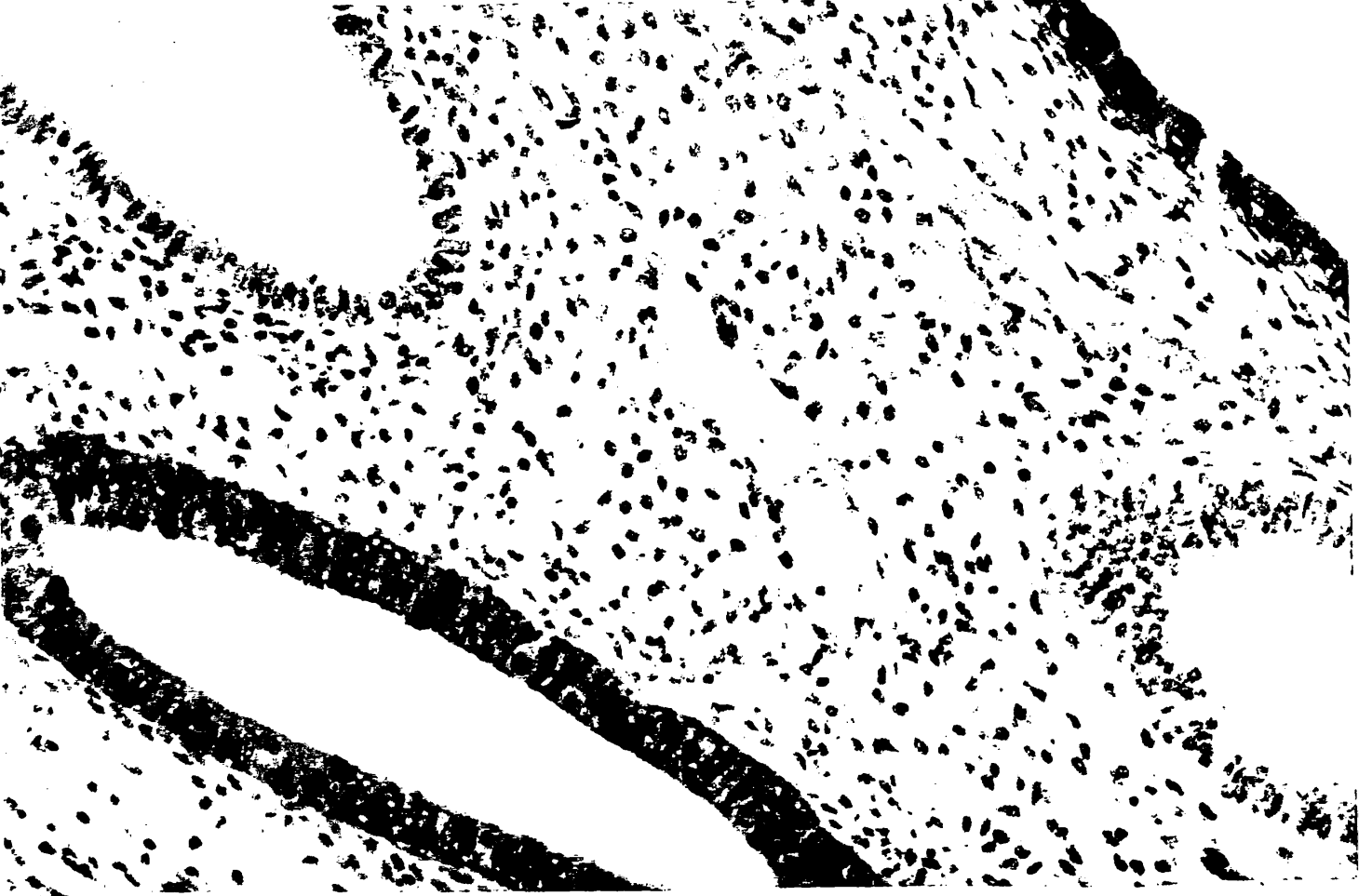
Εικόνα 34. Επιθηλιακή και στρωματική έκφραση της Καθεψίνης D σε εκκριτική φάση ενδομητρίου (ABC X 100)



Εικόνα 35. Κυτταροπλασματική και πυρηνική έκφραση της Μεταλλοθειονίνης σε καρκίνωμα ενδομητρίου (ABC X 400)



Εικόνα 36. Κυτταροπλασματική και πυρηνική έκφραση της Μεταλλοθειονίνης σε άτυπη σύνθετη υπερπλασία ενδομητρίου (ABC X 200)



Εικόνα 37. Κυτταροπλασματική και πυρηνική έκφραση της Μεταλλοθειονίνης σε απλή υπερπλασία ενδομητρίου (ABC X 200)



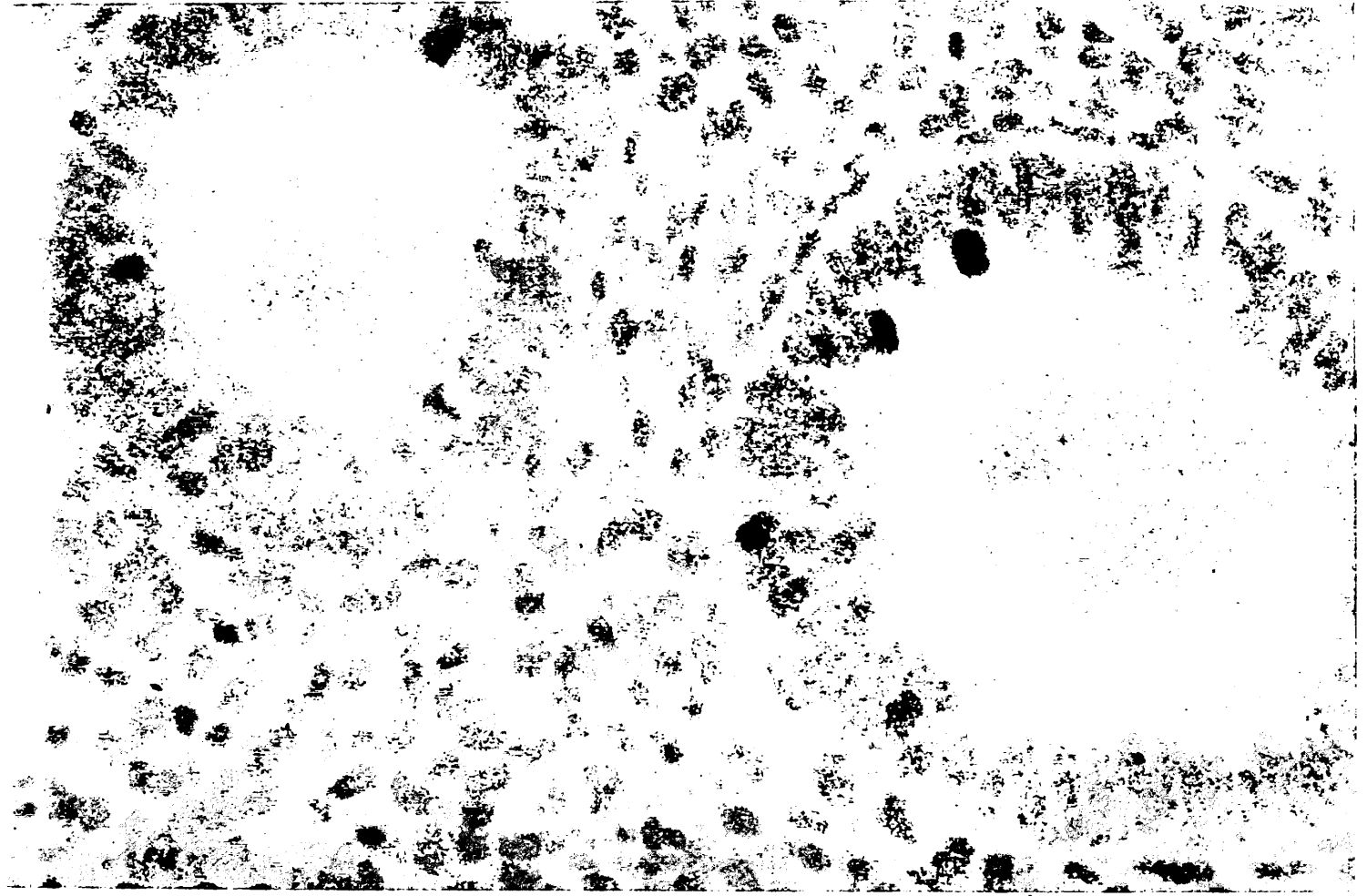
Εικόνα 38. Κυτταροπλασματική και πυρηνική έκφραση της Μεταλλοθειονίνης σε εκκριτική φάση ενδομητρίου (ABC X 100)



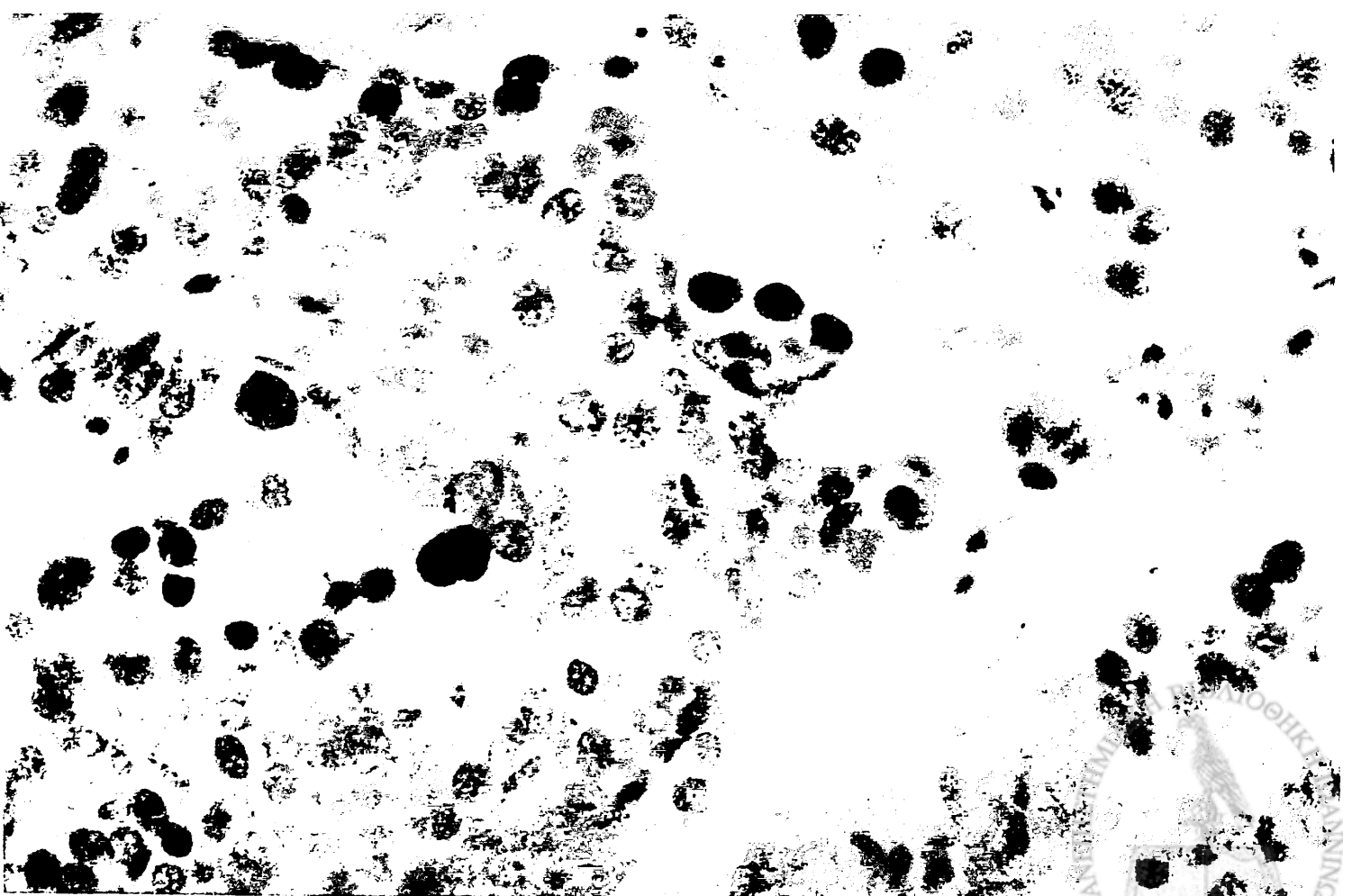
Εικόνα 39. Πυρηνική ανοσοϊστοχημική έκφραση της p21 πρωτεΐνης σε επιθηλιακά και στρωματικά κύτταρα παραγωγικού ενδομητρίου (ABC X 100)



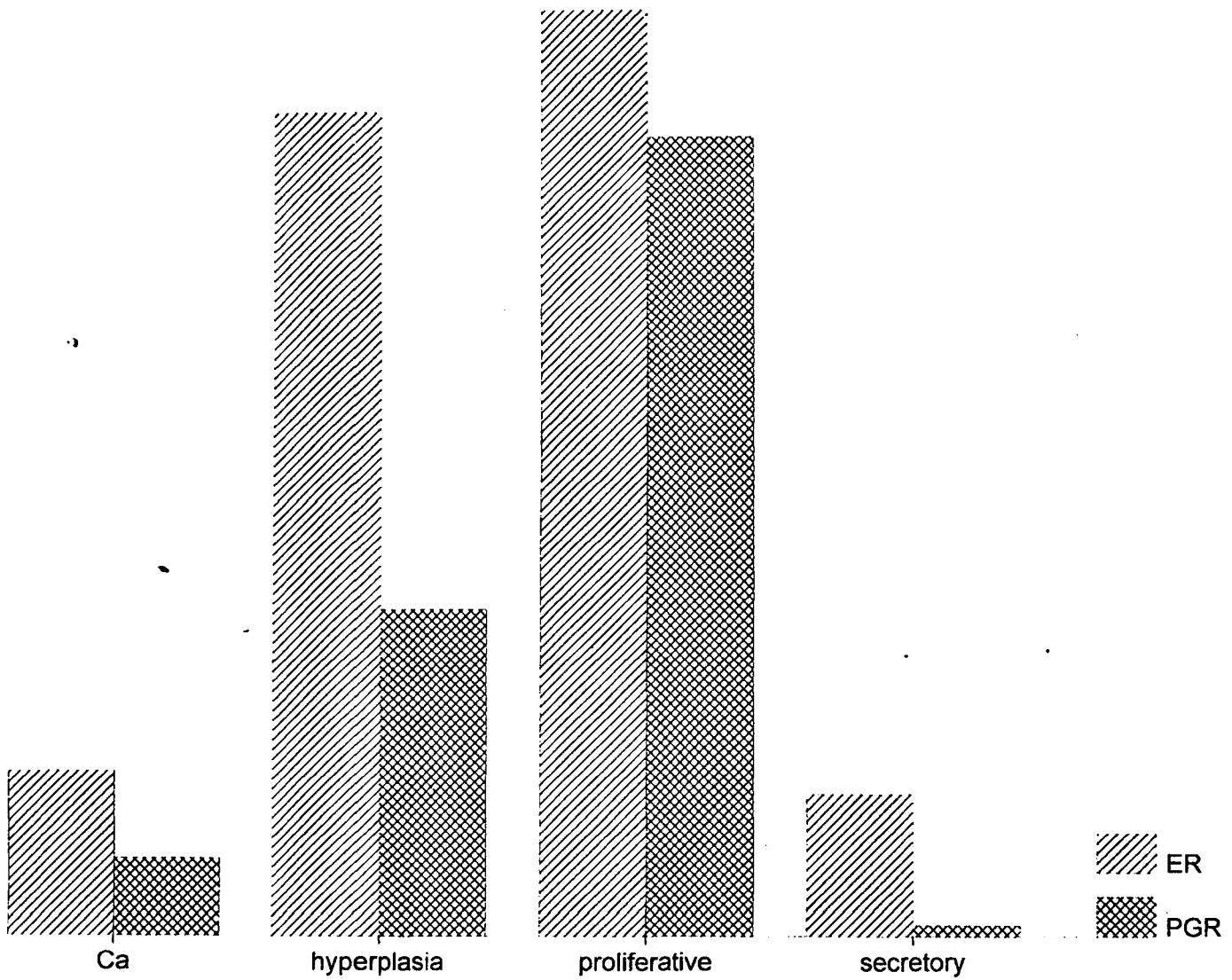
Εικόνα 40. Περιορισμένη πυρηνική έκφραση της p21 πρωτεΐνης σε εκκρωτικό



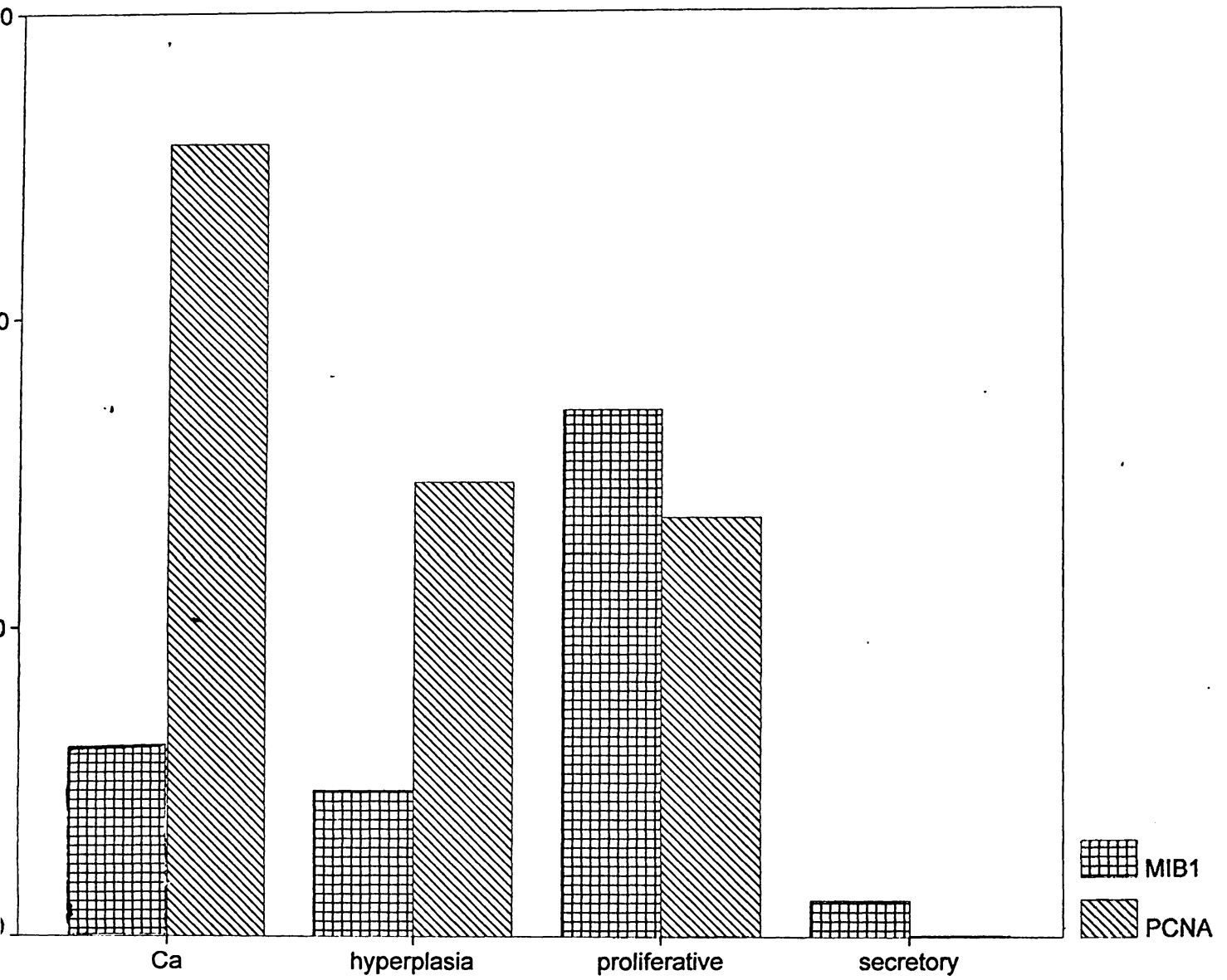
Εικόνα 41. Πυρηνική ανοσοϊστοχημική έκφραση της p21 πρωτεΐνης σε μεμονωμένα κύτταρα υπερπλαστικού ενδομητρίου (ABC X 400)



Εικόνα 42. Πυρηνική έκφραση της p21 πρωτεΐνης σε καρκίνωμα ενδομητρίου

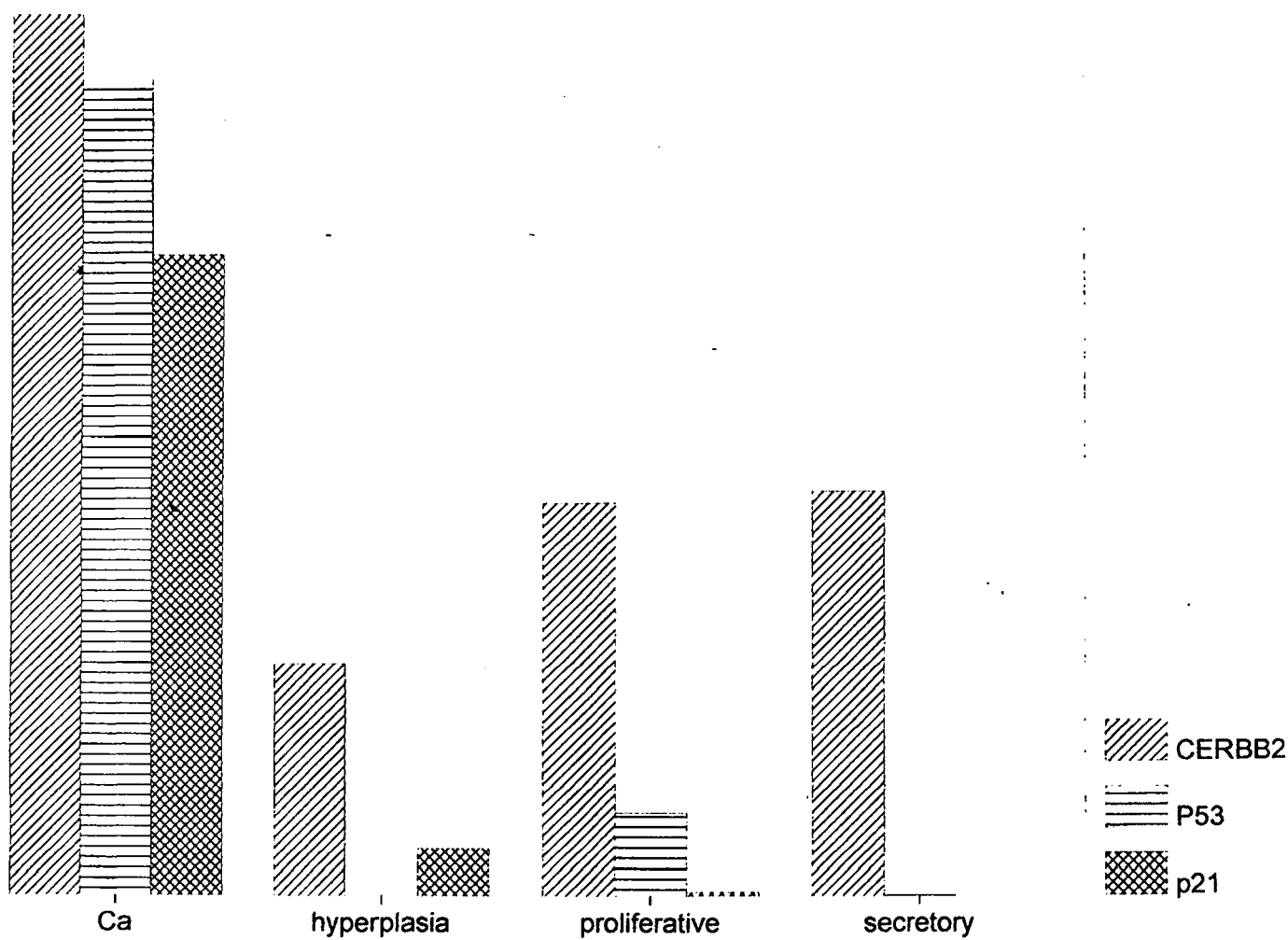


Ιστόγραμμα 1. Έκφραση υποδοχέων οιστρογόνων (ER) και προγεστερόνης (PR) σε φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις του ενδομητρίου

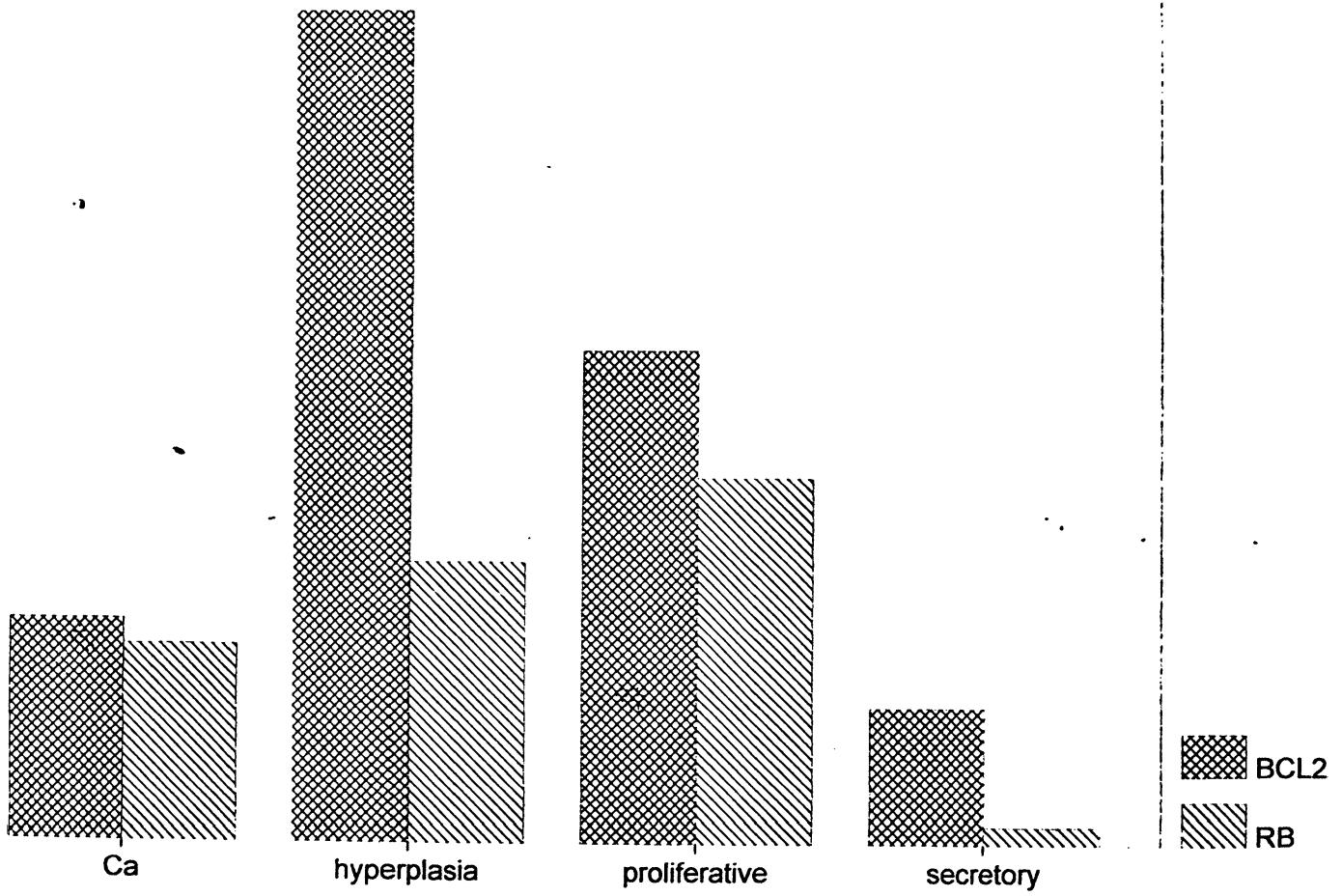


Ιστόγραμμα 2. Εκφραση δεικτών πολλαπλασιασμού MIB1 και PCNA σε φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις του ενδομητρίου



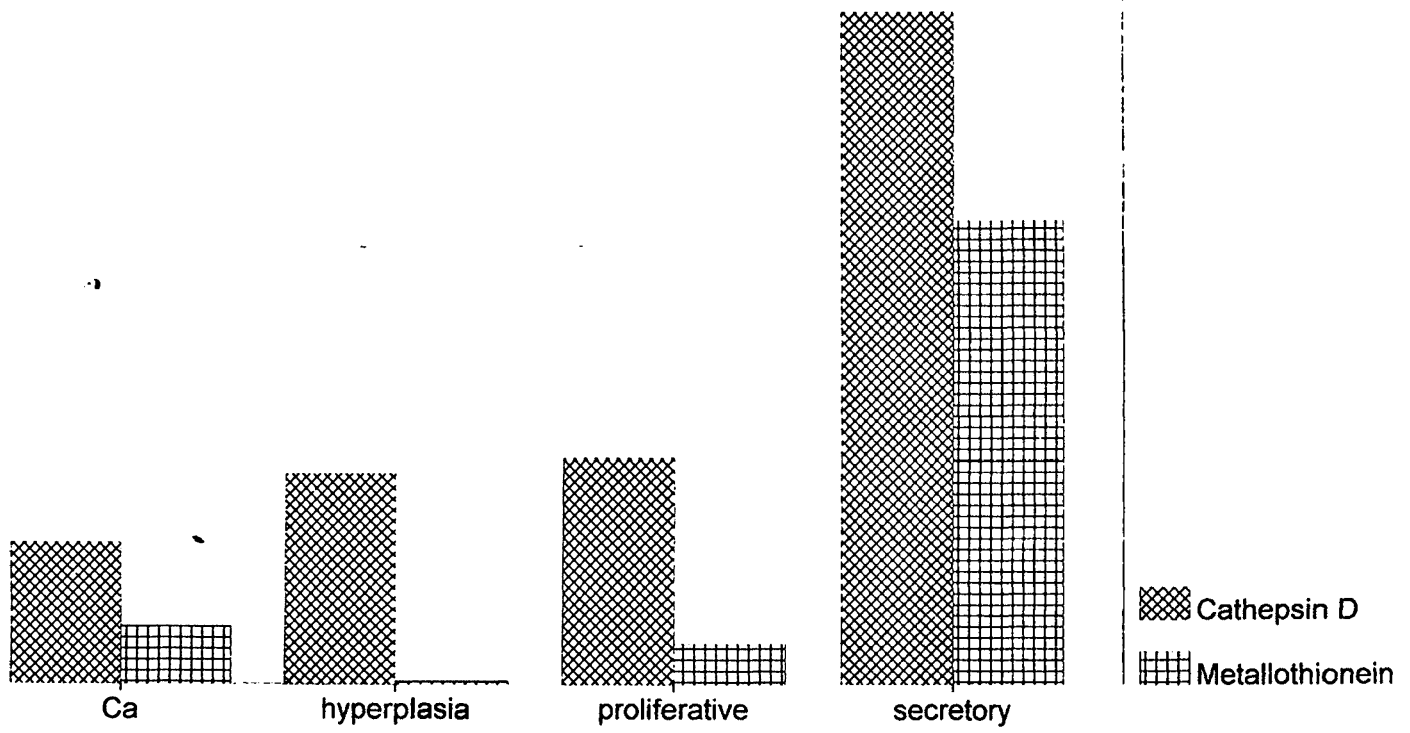


Ιστόγραμμα 3. Έκφραση c-erbB-2, p53 και p21 σε φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις του ενδομητρίου

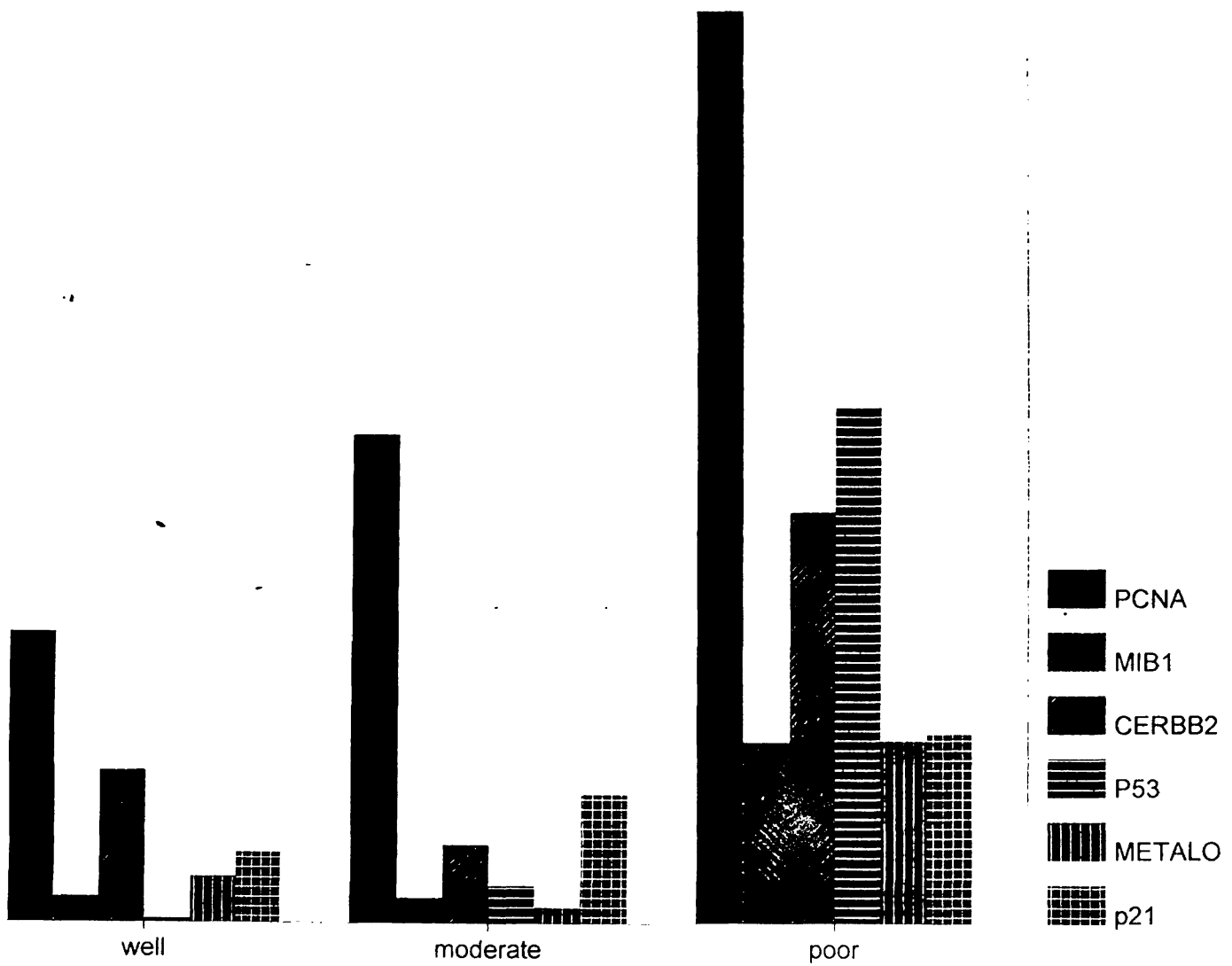


Ιστόγραμμα 4. Έκφραση bcl-2 και Rb σε φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις του ενδομητρίου





Ιστόγραμμα 5. Εκφραση Καθεψίνης D και Μεταλλοθειονίνης σε φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις του ενδομητρίου



Ιστόγραμμα 6. Συσχέτιση της έκφρασης των PCNA, MIB1, c-erbB-2, p53, μεταλλοθειονίνης και p21 με το βαθμό διαφοροποίησης του καρκινώματος του ενδομητρίου

