

Dorota Teresińska², Wiesława Bednarek¹,
Agnieszka Puchalska-Kosiecz¹,
Marcin Bobiński¹, Maria Mazurkiewicz³

¹ I Katedra i Klinika Ginekologii
Onkologicznej i Ginekologii,
UM w Lublinie

² Samodzielny Publiczny Szpital
Wojewódzki im. Jana Bożego
w Lublinie

³ Katedra i Zakład Onkologii UM
w Lublinie

Address for correspondence/
Adres do korespondencji:
Dr hab. n. med. Wiesława Bednarek
I Katedra i Klinika Ginekologii
Onkologicznej i Ginekologii,
Uniwersytet Medyczny w Lublinie
ul. Staszica 16, 20-081 Lublin
tel./fax:+4881 5327847
e-mail: wbed@wp.pl

Received: 09.11.2011

Accepted: 30.11.2011

Published: 29.03.2012

STATISTIC STATYSTYKA

Word count Liczba słów 2596/2125

Tables Tabele 0

Figures Ryciny 0

References Piśmiennictwo 43

Mięsak gładkokomórkowy macicy – problemy diagnostyczne. Przegląd literatury

Review article/Artykuł poglądowy

Summary

The aim of the study is to present the current state of knowledge on uterine leiomyosarcomas, with particular consideration of the role of proteins - p53, Ki-67, survivin, bax, and caspases - in these neoplasms. Leiomyosarcomas are rare neoplasms of the reproductive organs; still, they result in a considerably high mortality rate. Moreover, that type of neoplasms poses high diagnostic difficulties in clinical practice. Those features of leiomyosarcomas are stimuli for seeking new paths in their diagnosing as well as in therapy. In the recent years, an increasing importance has been attached to molecular studies focusing on an analysis of the role of proteins participating in cell proliferation (e.g. Ki-67) and controlling the mechanisms of apoptosis (caspases, p53, survivin, bax). The results of the studies are very promising and inspiring with hope for a quick development of clinical oncology.

Key words: leiomyosarcoma, proteins, survivin, caspases, bax, neoplasms

Streszczenie

Celem pracy jest prezentacja obecnego stanu wiedzy o mięśniakach gładkokomórkowych macicy, ze szczególnym uwzględnieniem roli białek: p53, Ki67, surwiwiny, bax oraz kaspaz w tych nowotworach. Mięśniaki gładkokomórkowe należą do rzadkich nowotworów narządów rodnych, mimo tego ich występowanie wiąże się ze znaczną śmiertelnością. Ponadto ten typ nowotworów stwarza duże trudności diagnostyczne w praktyce klinicznej. Wspomniane cechy mięśniaków stanowią przyczynek do poszukiwania zarówno nowych ścieżek diagnostycznych jak i terapeutycznych. W ostatnich latach na znaczeniu zyskują badania molekularne koncentrujące się na analizie roli białek biorących udział w proliferacji komórek (np. Ki 67) jak i kontrolujących mechanizmy apoptozy (kaspazy, p 53, surwiwina, bax). Wyniki tych badań są niezwykle obiecujące i pozwalają mieć nadzieję na szybki rozwój onkologii klinicznej.

Słowa kluczowe: mięsak gładkokomórkowy, białka, surwiwina, kaspaza, bax, nowotwory

INTRODUCTION

Uterine sarcomas are classified as non-epithelial neoplasms. They are lesions of mesenchymal origin, deriving from the connective tissue, smooth muscles, or endothelial stroma. As opposed to the common benign tumours of the connective tissue and uterine muscle, i.e. leiomyomas or fibromas, sarcomas belong to a group of rare neoplasms of female genitals (3-8 %). They constitute 2-5 % of all neoplastic diseases of the uterine body and are responsible for the highest mortality rate of all malignant tumours of the genitals [1]. They display extraordinarily high malignancy and a high rate of recurrence. A local recurrence after the primary treatment is diagnosed in ca. 50 % of patients with uterine sarcomas in I^o of neoplasm advancement, and in 90 % of patients with II^o-IV^o of advancement. The 5-year survival rate ranges from 0 to 55 %. In premenopausal women it reaches 73%, while in the postmenopausal period it drops to 20 %. The average survival time at all the stages of the disease is only 18 months [2].

ETIOPATHOGENESIS

In the pathogenesis of neoplasms, the crucial assumption is that the basic mechanism of neoplastic transformation involves acquired or - less frequently - inherited mutations of only selected gene groups, in particular oncogenes, suppressor genes and mutator genes, repairing DNA damages. In a definite majority of patients, mutations of neoplastic genes take place only in the tumour, which means that they originate in the process of carcinogenesis in somatic cells [3]. The molecular etiology refers also to uterine sarcomas. As regards leiomyosarcomas, the presence of PTEN suppressor gene was demonstrated on the chromosome 10q 23.3 and 10q 21.3 (75 %) [4]. In the case of endometrial stromal sarcoma, it was found that half of the tumours displayed a specific chromosomal translocation t(7;17)(p15;q21) resulting in a fusion of two genes: JAZF1 and SUZ12, containing zinc fingers in their structure [5]. In literature there are also descriptions of the so-called postradiation sarcoma, caused by radiotherapy applied in the past (10-20 years before). T. Ohno [6] and JL Lagrange [7] confirmed in their reports the cause-effect relationship, based on the theory of the promotive effect of atrophy and a chronic inflammatory process as a morphological exponent of postradiation damage of healthy tissues [8]. Other etiological factors of sarcomas are considered to be: nulliparity, early deliveries, overweight, and long-term estrogen stimulation [9]. There are also reports on the effect of tamoxifen therapy on the development of non-epithelial uterine neoplasms. Chew and Carmalt described a case of leiomyosarcoma in a patient treated with tamoxifen due to breast cancer. As the authors state, that was not the only case of a sarcoma being a complication of tamoxifen therapy that had been reported in literature [10].

WSTĘP

Mięsaki macicy określane są mianem nowotworów nienabłonkowych. To zmiany pochodzenia mezenchymalnego, wywodzące się z tkanki łącznej, mięśni gładkich czy podścieliska endometrium. W przeciwieństwie do powszechnie występujących łagodnych guzów tkanki łącznej i mięśni macicy, tj. mięśniaka gładkokomórkowego lub włókniaka, mięsaki należą do grupy rzadko pojawiających się nowotworów narządu płciowego kobiety (3-8%). Stanowią 2-5% wszystkich schorzeń nowotworowych trzonu macicy i odpowiedzialne są za największy procent śmiertelności wśród wszystkich złośliwych guzów narządu rodowego [1]. Charakteryzują się wybitną złośliwością oraz wysokim wskaźnikiem wznów. Nawrót miejscowy po leczeniu pierwotnym obserwuje się u około 50% chorych na mięsaki macicy w I^o i 90% chorych w II^o-IV^o zaawansowania nowotworu. Wskaźnik 5-letniej przeżywalności waha się od 0- 55%. U kobiet w okresie premenopauzy sięga 73%, a w okresie pomenopauzalnym spada do 20%. Średni okres przeżycia we wszystkich stadiach choroby wynosi tylko 18 miesięcy [2].

ETIOPATOGENEZA

W patogenezie nowotworów za najważniejsze uważa się stwierdzenie, że podstawowym mechanizmem transformacji nowotworowej są nabyte lub rzadziej, odziedziczone mutacje tylko określonych grup genów. Szczególnie onkogenów, genów supresorowych oraz genów mutatorowych, naprawiających uszkodzenia DNA. U przeważającej większości chorych do mutacji genów nowotworowych dochodzi tylko w guzie, co oznacza, że powstają one w procesie karcynogenezy w komórkach somatycznych [3]. Molekularna etiologia dotyczy również mięsaków macicy. Odnosnie mięsaków gładkokomórkowych, wykazano obecność genu supresorowego *PTEN* zlokalizowanego na chromosomie 10q 23.3 oraz 10q21.3 (75%) [4]. W przypadku endometrial stromal sarcoma, stwierdzono, iż połowa tych guzów wykazuje specyficzną chromosomalną translokację t(7;17)(p15;q21) skutkującą fuzją dwóch genów *JAZF1* i *SUZ12*, zawierających w swej strukturze palce cynkowe [5]. W literaturze opisywane są również tzw. mięsaki popromienne, będące skutkiem przebytej w przeszłości (10-20 lat wcześniej) radioterapii. T. Ohno [6] oraz JL Lagrange [7] w swoich doniesieniach potwierdzają ten związek przyczynowo-skutkowy oparty na teorii promocyjnego efektu atrofii oraz przewlekłego procesu zapalnego jako morfologicznego wykładnika popromiennego uszkodzenia zdrowych tkanek [8]. Za czynniki etiologiczne mięsaków uważa się również: nierodztwo, wczesne porody, nadwagę oraz długotrwałą stymulację estrogenową [9]. Istnieją doniesienia o wpływie terapii tamoksyfenem na rozwój nowotworów nienabłonkowych macicy. Chew i Carmalt przedstawili przypadek leiomyosarcoma u pacjentki leczonej tamoksyfenem z powodu raka piersi. Autorzy podają, że to kolejny już przypadek mięsaka, opisywany w dotychczasowej literaturze, będący powikłaniem po hormonoterapii tamoksyfenem [10].

A CLINICAL COURSE OF UTERINE SARCOMAS

Sarcomas are rarely diagnosed on the basis of clinical symptoms, before a surgery. The changes in the area of female genitals that may suggest a sarcoma include a quickly growing uterus or a myomatous uterus as well as any enlargement of the uterus after the menopause. Depending on the type of a sarcoma and the area it occupies, irregular bleeding from the genitals or pain in pelvis minor may occur. Abnormal bleeding usually accompanies the stromal type of a sarcoma, constituting 80 % of cases. Sarcomas developing submucously result in thickening and changing endometrium. Less frequently, in ca. 16 % of cases, hypogastrium pains occur due to the pressure exerted by a fast-growing tumour on the adjacent organs. Large lesions may cause retention of urine as well as pollakiuria or a feeling of urinary urgency. Sarcomas located in the posterior uterine wall may cause constipation. The most important and the most frequent of the clinical symptoms of a sarcoma is abnormal fetid vaginal discharge resembling meat washings [11]. Hydroperitoneum and progressing cachexia are late sarcoma symptoms, but they are not pathognomonic.

DIAGNOSIS

The diagnosis of uterine sarcomas is one of the most difficult problems in oncological gynaecology. There are no diagnostic standards that would differentiate myomas from sarcomas. An earlier identification of lesions would help to avoid errors in qualifying patients e.g. for the procedure of uterine artery embolization. There have been reports of 3 cases of leiomyosarcoma in premenopausal women who were subject to embolization due to the symptoms and diagnostic results suggesting the presence of uterine myomas [12]. In women of postmenopausal age, the only clinically credible symptom of a malignant tumour transformation is considered to be an increase of its size, i.e. a rapid growth of the tumour that may even double its volume over the span of 3-6 months [13]. However, a meta-analysis of 1332 studies conducted by Parker and Berek revealed a very low rate of sarcomas (0.23 %) among the fast-growing uterine tumours. Only 1 case of a sarcoma was reported in a group of 341 women with a rapidly enlarging uterus [14]. There are also reports stating that in premenopausal women a rapid growth of the tumour does not signify its malignancy [15].

At present, important research is being conducted on the evaluation of expression of selected apoptosis proteins occurring in non-epithelial neoplasms of the uterine body. Significant markers of uterine sarcoma seem to be the proteins: p53, Ki-67, caspases, bcl-2, bax, and survivin.

It is generally known that the imaging techniques: ultrasonography and MRI, do not reflect pathognomonic features differentiating sarcomas from myomas. Amant and Coosemans indicated several features that may strengthen the suspicion of a uterine sarcoma. The authors

PRZEBIEG KLINICZNY MIĘSAKÓW MACICY

Mięsaki rzadko są rozpoznawane przed operacją na podstawie objawów klinicznych. Zmiany w obrębie narządu płciowego kobiety, które mogą sugerować występowanie mięsaka to szybko powiększająca się macica lub macica mięśniakowata oraz każde powiększenie macicy po menopauzie. W zależności od rodzaju mięsaka i zajmowanego przez niego obszaru mogą pojawiać się nieregularne krwawienia z narządu płciowego lub ból w miednicy mniejszej. Nieprawidłowe krwawienia towarzyszą najczęściej postaci mięsaka podścieliskowego i stanowią 80% przypadków. Mięsaki rozwijające się podśluzówkowo doprowadzają do pogrubienia i zmian w endometrium. Rzadziej, w ok. 16% przypadków, występują bóle podbrzusza, powodowane przez ucisk na przylegające narządy, szybko rozrastającego się guza. Duże zmiany mogą powodować zatrzymanie moczu jak również częstomocz czy uczucie parcia na pęcherz. Mięsaki zlokalizowane w tylnej ścianie macicy mogą być przyczyną zaparc. Wśród objawów klinicznych mięsaków najważniejszym i najczęstszym są nieprawidłowe, cuchnące upławy o charakterze popłuczyn mięsnych [11]. Wodobrzusze oraz postępujące wyniszczenie są późnymi symptomami mięsaka, ale nie są patognomoniczne.

ROZPOZNANIE

Diagnostyka mięsaków macicy stanowi jeden z najtrudniejszych problemów w ginekologii onkologicznej. Nie istnieją bowiem żadne standardy diagnostyczne, różnicujące mięśniaki od mięsaków. Wcześniejsza identyfikacja zmian pozwoliłaby uniknąć błędów w kwalifikacji np.: do zabiegu embolizacji tętnic macicznych. Odnotowano bowiem 3 przypadki leiomyosarcoma u kobiet w okresie premenopauzalnym, które miały wykonaną embolizację z powodu objawów oraz badań diagnostycznych sugerujących obecność mięśniaków macicy [12]. U kobiet w wieku pomenopauzalnym za jedyny wiarygodny klinicznie objaw złośliwej przemiany mięśniaka uważa się powiększenie jego rozmiarów tzn.: gwałtowny wzrost guza, który może nawet podwajać swoją objętość, w przeciągu 3-6 miesięcy [13]. Jednak metaanaliza 1332 badań przeprowadzona przez Parkera i Bereka, wykazała bardzo niski procent mięsaków (0,23%) wśród szybko rosnących zmian w macicy. Odnotowano tylko 1 przypadek mięsaka w grupie 341 kobiet z szybko powiększającą się macicą [14]. Istnieją również doniesienia, że u kobiet przed menopauzą gwałtowny wzrost mięśniaka nie stanowi wcale o jego zezłośliwieniu [15].

Znaczącą rolę odgrywają obecnie trwające badania nad oceną ekspresji wybranych białek apoptozy, występujących w nienabłonkowych nowotworach trzonu macicy. Istotnymi markerami mięsaków macicy wydają się być białka p53, Ki67, kaspazy, bcl-2, bax oraz surwiwina.

Powszechnie wiadomo, że techniki obrazowe: ultrasonografia oraz MRI nie wyznaczają patognomonicznych cech różnicujących mięsaki z mięśniakami. Amant i Coosemans wykazali kilka cech, które mogą zwiększyć

state that most leiomyosarcomas are visible in an ultrasonic examination as large oval tumours, echogenically non-homogeneous. They contain areas of mixed echogenicity with focuses of poor intensity surrounded by thin myometrium. Often, central tissue necrosis is visible. In a colour Doppler examination, the characteristic feature is a chaotic, usually peripheral system of blood vessels inside the tumour, with low-resistance flow and a high contraction wave of the flow rate. The average value of the resistance index (RI) was 0.37 ± 0.03 [16]. An MRI examination reveals lobulated, sharply delineated masses of high intensity of the signal in the T2 sequence. Detecting dispersed haemorrhagic or necrotic focuses may suggest the diagnosis of leiomyosarcoma. Necrotic areas are lesions of a slightly increased intensity in T1 sequence, while in T2 sequence they were characterized by the authors as heterogeneous [17, 5]. It was also demonstrated that lesions of the leiomyosarcoma character accumulate 18-fluorodeoxyglucose - a substance detected in a PET examination. The combination of PET and CT examinations seems to be promising because it provides information on both an anatomical and a morphological basis [18].

In the case of endometrial stromal sarcoma (ESS), an ultrasonic examination reveals hypoechogenic changes of irregular contour deriving from endometrium, with irregular central or peripheral vascularization. A heterogeneous image of endometrium with hypoechogenic areas dispersed in myometrium is also characteristic for ESS. In MRI examinations, the neoplasm usually presents itself as sharply limited or dispersed masses of changed mucosa infiltrating myometrium [18].

The research results reported above are not specific, though, for this group of neoplasms; therefore, the decisive result for diagnosing a neoplasm is always that of a histopathological examination after a resection of the uterus or tumour. The examination is always based on an assessment of the number of mitoses (5 or more mitoses in 10 high-power microscopic fields) and cellular atypia [2].

MOLECULAR RESEARCH IN UTERINE SARCOMAS

For about 20 years research has been conducted to investigate both the mechanism of oncogenesis and the genetic structure of that type of neoplasms. In the recent years, an increasing importance has been attached to studies focusing on the expression of genes coding the proteins participating in cell proliferation (e.g. Ki-67) and controlling the mechanisms of apoptosis (caspases, p53, survivin, bax) [19, 20].

The protein Ki-67 is described as a specific marker of cell proliferation. The gene coding Ki-67 is located on the chromosome 10. (10Q25) [21]. The Ki-67 antigen is detectable in all the phases of cell division (G1, G2, S, and mitosis), however, its expression is absent in the G0 phase. That fact makes it applicable as an indicator of cell divisions in the examined tissues [22, 23]. As is well

podejrzanie obecności mięsaka macicy. Autorzy opisują, że większość mięsaków gładkokomórkowych w badaniu ultrasonograficznym to duże, owalne guzy, niejednorodne echogenicznie. Zawierają one obszary o mieszanej echogeniczności z ogniskami o słabym wysyceniu otoczone przez cienkie myometrium. Często uwidacznia się centralna martwica tkanek. W badaniu kolorowym Dopplerem charakterystyczny jest chaotyczny, najczęściej obwodowy układ naczyń krwionośnych wewnątrz guza, z niskooporowym przepływem oraz wysoką falą skurczową prędkości przepływu. Średnie wartości indeksu oporu RI wynosiły $0,37 \pm 0,03$ [16]. Badanie MRI uwidacznia zrazikowe, ostro odgraniczone masy o wysokiej intensywności sygnału w sekwencji T2. Wykrycie rozproszonych ognisk krwotocznych lub martwicy może sugerować rozpoznanie leiomyosarcoma. Obszary martwicze to zmiany o nieznacznie zwiększonej intensywności w sekwencji T1 natomiast w sekwencji T2 scharakteryzowane są przez autorów jako niejednorodne [17,5]. Wykazano również, że zmiany o charakterze leiomyosarcoma kumulują 18- fluorodeoxyglukozę, substancję, która jest wykrywana w badaniu PET. Skojarzenie badania PET z badaniem CT jest obiecujące, ponieważ dostarcza informacji nie tylko o podłożu morfologicznym ale i anatomicznym [18].

W przypadku endometrial stromal sarcoma (ESS) badanie ultrasonograficzne uwidacznia hypoechogeniczne zmiany o nierównym obrysie wywodzące się z endometrium, o nieregularnym centralnym lub obwodowym unaczynieniu. Heterogenny obraz endometrium z obszarami hypoechogennymi rozproszonymi w myometrium również są znamienne dla ESS. W badaniach MRI nowotwór zwykle prezentuje się jako ostro odgraniczone bądź rozproszone masy zmienionej śluzówki naciekające myometrium [18].

Opisane wyniki badań nie są jednak specyficzne dla tej grupy nowotworów dlatego o rozpoznaniu nowotworu decyduje zawsze wynik badania histologicznego po usunięciu macicy lub guza. Badanie zawsze opiera się na ocenie liczby mitoz (5 lub więcej mitoz w 10 mikroskopowych polach pod dużym powiększeniem) oraz atypii komórkowej [2].

BADANIA MOLEKULARNE W MIĘSAKACH MACICY

Od około 20 lat prowadzone są badania zmierzające zarówno do poznania mechanizmów onkogenezy jak i struktury genetycznej tych nowotworów. W ostatnich latach znaczenia nabierają prace badające ekspresję genów kodujących białka biorące udział w proliferacji komórek (np. Ki 67) jak i kontrolujących mechanizmy apoptozy (kaspazy, p 53, surwiwina, bax). [19,20].

Białko Ki 67 jest opisywane jako swoisty marker proliferacji komórkowej. Gen kodujący Ki67 znajduje się na chromosomie 10. (10q25) [21]. Antygen Ki 67 jest wykrywalny we wszystkich fazach podziału komórki (G1, G2, S oraz mitozy), brak jest jednak jego ekspresji w fazie G0. Ten fakt pozwala na używanie go jako wskaźnika podziałów komórkowych w badanych tkankach. [22,23].

known, the mitotic index is an important diagnostic and prognostic factor in neoplastic diseases, which creates particular possibilities for using antibodies against the Ki-67 antigen in the clinical practice, especially in oncological diagnosing.

The p53 antigen is a transcription factor regulating the processes of cell DNA repairs as well as the cellular cycle and apoptosis. The gene responsible for its coding is located on the chromosome 17 (17p13). The activity of p53 increases in the conditions of cellular stress. In normal conditions, it is inactivated by the MDM2 protein, whose activity is expressed as ubiquitin ligase as well as the transcription inhibitor p53 [24]. A great number of features of p53 antigen have been described. It takes part, for example, in cellular metabolism through: activating the transcription of genes responsible for apoptosis, signal transduction, cell adhesion [25], post-translational processing of micro-RNA with the function of growth factor inhibitors [26], inhibiting angiogenesis by inducing TSP1 expression [27], preventing carcinogenesis [28, 29]. The p53 protein is also referred to as a factor of sensitivity to radiotherapy. It has been demonstrated that cells deprived of that factor's activity display higher resistance to the effect of radiotherapy [30]. An inborn mutation of the gene coding p53 is called Li-Fraumeni syndrome. The disorder, first described in 1969, is characterized by an increased predisposition to neoplasms, in particular to soft tissue sarcomas, osteogenic sarcoma, leukaemia, tumours of the central nervous system [31].

Caspases form a group of proteins with a very significant role in the process of programmed cell death, i.e. apoptosis, but also having an effect on the development of necrosis and inflammatory processes [32]. So far, about a dozen molecules of that group have been described. Their role in a cell involves mostly an activity of cysteine-asparagine proteases. Caspases are divided into two groups: initiator caspases (e.g. CASP2, CASP8, CASP9, CASP10) and effector caspases (e.g. CASP3, CASP6, CASP7) [33]. The role of initiator caspases is to catalyze the transformation of inactive effector pro-caspases into active forms which in turn perform a proteolytic function for other proteinous substrates in cells, initiating the process of apoptosis. The cascade of mutual relations between individual caspases allows a quick initiation of the apoptosis process in response to an adequate external or internal stimulus. The presence of inactive effector pro-caspases in a cell allows a quick increase of the concentration of active forms through post-translational processing (proteolysis catalyzed by initiator caspases) without the need of a long-lasting synthesis. The factors activating the caspase cascade include: granzyme B (protease released by Tc and NK lymphocytes), Fas and TRAIL receptors, a receptor for TNF (Tumour Necrosis Factor), apoptosomes (releasing cytochrome C from mitochondria) [34, 35]. Caspases, being important factors in the process of apoptosis, remain in the area of interest of neoplasm research since their

Jak wiadomo indeks mitotyczny jest ważnym czynnikiem diagnostycznym i prognostycznym w chorobach nowotworowych, co w szczególności sposób stwarza możliwości wykorzystania przeciwciał przeciw antygenowi Ki 67 w praktyce klinicznej, a szczególnie w diagnostyce onkologicznej.

Antygen p 53 to czynnik transkrypcyjny regulujący procesy naprawy DNA komórek jak również cyku komórkowego i apoptozy. Gen odpowiedzialny za jego kodowanie znajduje się na chromosomie 17 (17p13). Aktywność p 53 rośnie w warunkach stresu komórkowego. W normalnych warunkach jest on inaktywowany przez białko MDM2, którego aktywność wyraża się jako liganza ubikwitynowa, jak również jako inhibitor transkrypcji p 53 [24]. Opisowanych jest bardzo wiele właściwości antygeny p 53. Między innymi bierze udział w metabolizmie komórki poprzez: aktywację transkrypcji genów odpowiadających za apoptozę, transdukcję sygnału, adhezję komórkową [25], potranslacyjną obróbkę microRNA o funkcji inhibitorów czynników wzrostu [26], hamowanie angiogenezy przez indukcję ekspresji TSP1 [27], zapobieganie karcynogenezie [28, 29]. Białko p 53 jest również określane mianem czynnika wrażliwości na radioterapię. Wykazano, że komórki pozbawione aktywności tego czynnika wykazują większą oporność na działanie radioterapii [30]. Wrodzona mutacja genu kodującego p53 nosi nazwę zespołu Li-Fraumeni. Schorzenie to opisane po raz pierwszy w 1969 roku charakteryzuje się zwiększoną zapadalnością na nowotwory, szczególnie mięsaki tkanek miękkich, mięsaka kościopochodnego, białaczki, guzy CUN. [31]

Kaspazy to grupa białek pełniących bardzo istotną rolę w procesie programowanej śmierci komórki czyli apoptozy, ale również posiadających wpływ na rozwój martwicy oraz procesów zapalnych [32]. Dotychczas opisano ok. 12 cząsteczek należących do tej grupy. Ich rola w komórce polega głównie na aktywności proteaz cystynowo-asparaginowych. Kaspazy dzielą się na dwie grupy: kaspazy inicjatorowe (n.p.: CASP2, CASP8, CASP9, CASP10) oraz kaspazy efektorowe (np. CASP3, CASP6, CASP7) [33]. Rola kaspaz inicjatorowych polega na katalizowaniu przemiany nieaktywnych pro-kaspaz efektorowych w formy aktywne, które z kolei pełnią funkcję proteolityczną dla innych białkowych substratów obecnych w komórce inicjując proces apoptozy. Taki kaskadowy schemat wzajemnych interakcji między poszczególnymi kaspazami pozwala na szybkie zapoczątkowanie procesu apoptozy w odpowiedzi na odpowiedni bodziec zewnętrzny lub wewnętrzny. Obecność nieczynnych pro-kaspaz efektorowych w komórce pozwala na szybki wzrost stężenia form aktywnych na drodze obróbki potranslacyjnej (proteoliza katalizowana przez kaspazy inicjatorowe) bez konieczności długotrwałej syntezy. Do czynników uruchamiających kaskadę kaspaz należą: granzym B (proteaza uwalniana przez limfocyty Tc oraz NK), receptory Fas, TRAIL, receptor dla TNF (czynnika martwicy nowotworów), apoptosomy (uwolnienie cytochromu C z mitochondriów) [34, 35] Kaspazy jako waż-

discovery in 1990s. Their great potential for inducing death of a single cell creates enormous prospects for a targeted therapy of neoplasms.

Literature abounds in studies on the expression of the aforementioned proteins in neoplasms of the reproductive organs. One of the most interesting types of neoplasms, both in the context of diagnosis (due to its frequent co-occurrence with uterine myomas) and the treatment (bad prognosis at more advanced stages of the disease) is uterine leiomyosarcoma.

Despite the constant development of that area of knowledge, the prognostic factors in leiomyosarcoma have not been fully defined yet. D'Angelo et al. [36] point to the fact that there have been described cases when a favourable course was prognosed on the basis of the tumour morphology and histopathological examination (stage I), but still leiomyosarcomas proved to be extremely aggressive. In the studies mentioned above, the authors took into account such factors as the size of the tumour, its mitotic index, and the biomarkers Ki-67 and Bcl-2. The researchers demonstrated a statistically significant correlation between a bad prognosis and an expression of Ki-67 protein; a similar correlation was found for the tumour size and the mitotic index. No significant correlation was found, though, between the expression of Bcl-2 and the clinical course of the disease.

Koivisto-Korander et al. [37] demonstrated that the level of expression of the p53 protein and the progesterone receptors A (PRA) and estrogen receptors α (ER α) may constitute an important prognostic factor in uterine leiomyosarcomas. Their study revealed a significant correlation between the level of the factors listed above and the aggressiveness of the disease development (measured as the Kaplan-Meier survival curve for individual groups). Moreover, they pointed to the hormonal therapy being purposeful in the case of occurrence of PRA and ER α receptors in neoplastic cells.

Yanai et al. [38] compared in their study the expression of Ki-67 in cases of leiomyosarcomas (LMS) occurring inside uterine leiomyomas (LM). The authors analysed the differences of expression of the antigens in the LM and LMS components. Ki-67 expression was discovered in 5 % of LM cells and in 25-30 % of LMS cells, which allowed them to consider Ki-67 protein to be a good marker of the malignancy potential, therefore applicable for differentiating between malignant and benign lesions.

Petrović et al. [39] arrived at similar conclusions after comparing the expression of Ki-67 and p53 and progesterone receptors in LM and LMS preparations as well as in smooth muscle tumours of uncertain malignant potential (STUMP); they suggested that all three biomarkers should be used in diagnosing uncertain cases.

ne czynniki w procesie apoptozy od momentu odkrycia w latach dziewięćdziesiątych XX wieku pozostają w kręgu zainteresowań specjalistów w zakresie badań nad nowotworami. Ich duży potencjał do indukowania śmierci pojedynczej komórki stwarza ogromne perspektywy w zakresie celowanej terapii nowotworów.

W literaturze nie brakuje doniesień traktujących o ekspresji wspomnianych białek w nowotworach narządu rozrodczego. Jednym z ciekawszych dla badaczy zarówno w kontekście diagnostyki (częste współwystępowanie z mięśniakami macicy) jak również leczenia (złe rokowanie w późniejszych stadiach zaawansowania choroby) jest właśnie mięsak gładkokomórkowy macicy.

Mimo wciąż rosnącej wiedzy na temat nadal nie są do końca określone czynniki rokownicze w leiomyosarcoma. D'Angelo i wsp. [36] zwracają uwagę na fakt, że znane są przypadki kiedy mięsaki gładkokomórkowe w których na podstawie morfologii guza oraz badań histopatologicznych prognozowano pomyślny przebieg (stadium I) wykazywały się bardzo dużą agresywnością. We wspomnianych badaniach autorzy zwrócili pod uwagę takie czynniki jak: wielkość guza, indeks mitotyczny oraz biomarkery Ki67 i Bcl-2. Wspomniani badacze wykazali, znamiennej statystycznie korelację pomiędzy złym rokowaniem a ekspresją białka Ki 67, podobną korelacją znaleziono w przypadku wielkości guza oraz indeksu mitotycznego. Nie znaleziono jednak istotnej zależności między ekspresją Bcl-2 a przebiegiem klinicznym.

Koivisto-Korander i wsp. [37] dowiedli natomiast, że poziom ekspresji białka p 53 oraz receptorów progesteronowych A (PRA) i estrogenowych α (ER α) mogą stanowić ważny czynnik rokowniczy w leiomyosarcoma macicy. W ich badaniach wykazano istotną zależność między poziomem powyższych czynników i agresywnością rozwoju choroby (mierzonej jako krzywe przeżycia Kaplana-Meiera dla poszczególnych grup). Ponadto zwrócili oni uwagę na celowość stosowania terapii hormonalnej w przypadku występowania receptorów PRA i ER α w komórkach nowotworu.

W swoich badaniach Yanai i wsp. [38] porównywali ekspresję Ki 67 w przypadkach występowania leiomyosarcoma (LMS) wewnątrz mięśniaków macicy (leiomyoma, LM). Autorzy analizowali różnice w ekspresji tych antygenów w komponentach LM i LMS. Ekspresja Ki67 została odnotowana w 5% komórek LM i 25-30% LMS, co pozwala uznać białko Ki 67 za dobry marker potencjału złośliwości oraz, co za tym idzie umożliwiający różnicowanie zmian złośliwych i łagodnych.

Do podobnych wniosków doszli również Petrović i wsp. [39] po porównaniu ekspresji Ki 67 i p 53 oraz receptorów progesteronowych w preparatach LM, LMS oraz nowotworach mięśni gładkich o nieokreślonym potencjale złośliwości (smooth muscle tumors of uncertain malignant potential, STUMP), zaproponowali wykorzystywanie wszystkich trzech biomarkerów w diagnostyce przypadków wątpliwych.

Kaspazy w badaniach nad leiomyosarcoma są wykorzystywane w głównej mierze jako wskaźniki skuteczno-

Caspases are used in the research on leiomyosarcomas primarily as indicators of efficacy of a treatment aimed at inducing cell apoptosis. For this purpose, marked antibodies against the active caspase 3 and 7 are used most frequently. Leiomyosarcoma is considered to have low susceptibility to chemotherapy, therefore new substances are being sought to make an effective treatment possible. Sampson et al. [40] used the determination of caspase 3 level as one of the factors indicating efficacy of a treatment with doxorubicin in combination with an inhibitor of histone deacetylase - vorinostat. *In vitro* studies gave a positive response to that treatment in a fibrosarcoma. However, in a leiomyosarcoma and other sarcomas, apoptosis was not induced. Hrzejnak et al. [41], on the other hand, using the same method of measuring caspase 3 level, obtained a positive treatment result, both *in vitro* and *in vivo*, which may contribute to the opinion that deacetylase inhibitors are a promising group of medication in the sarcoma treatment.

Survivin, as an inhibitor of apoptosis, is capable of regulating the cell cycle and apoptotic cell death. It is expressed in the course of fetal development and in most neoplastic tissues but it is absent in differentiated cells of mature organisms. Even though survivin is usually detected in cell cytoplasm and its presence is associated with a bad prognosis in a neoplastic disease, there are reports stating that survivin located in the nucleus may indicate a favourable course of the disease. It appears to be a good aim in an immunotherapy or a gene therapy of neoplastic diseases.

Bax is a protein that activates the process of apoptosis. Pro- and antiapoptotic proteins also constitute an important aim of the antitumour therapy. Antineoplastic medication may cause modulation of expression, activity, and intracellular location of proteins from the bcl-2 family. Mutations or changes in expression of bcl-2 proteins result in a change of cell susceptibility to antineoplastic medication and lead to a multidrug resistance of neoplastic cells.

On the basis of other studies, a significant role of matrix metalloproteinases MMP-1 and MMP-2 in uterine tumours has been demonstrated. A stronger expression of MMP-2 in leiomyosarcoma was revealed and, consequently, their participation in tumour invasion and in the development of metastases was confirmed [43, 44].

ści leczenia, którego celem jest indukcja apoptozy komórki. W tym charakterze najczęściej wykorzystuje się znane przeciwciała przeciwko aktywnej kaspazie 3 i 7. Mięsak gładkokomórkowy uważany jest za nowotwór trudno poddający się chemioterapii, stąd poszukiwane są nowe substancje umożliwiające skuteczne leczenie. Sampson i wsp.[40] wykorzystali oznaczenie poziomu kaspazy 3 jako jeden z czynników świadczących o skuteczności leczenia doxorubicyną w połączeniu z inhibitorem deacetylazy histonów, vorinostatem. W badaniach *in vitro* uzyskali pozytywną odpowiedź na takie leczenie w włóknakiomęsaku. Jednak w mięsaku gładkokomórkowym i w innych mięsach, apoptoza nie została wyindukowana. Natomiast Hrzejnak i wsp.[41] stosując tę samą metodę pomiaru poziomu kaspazy 3, uzyskali pozytywny wynik leczenia zarówno *in vitro* jak i *in vivo*, co stanowi przyczynek do stwierdzenia iż inhibitory deacetylazy stanowią obiecującą grupę leków w leczeniu mięsaków.

Survivina jako inhibitor apoptozy ma zdolność regulacji cyklu komórkowego i apoptycznej śmierci komórek. Podlega ona ekspresji w czasie rozwoju płodowego oraz w większości tkanek nowotworowych, ale nie występuje w zróżnicowanych komórkach dojrzałych organizmów. Choć survivina jest zwykle wykrywana w cytoplazmie komórkowej i jej obecność jest związana ze złym rokowaniem w chorobie nowotworowej, istnieją doniesienia, że jądrowa lokalizacja surviviny może wskazywać na pomyślny przebieg choroby. Wydaje się dobrym celem w immunoterapii lub terapii genowej chorób nowotworowych.

Białko bax jest proteiną aktywującą proces apoptozy. Białka pro- i antyapoptyczne stanowią również ważny cel terapii przeciwnowotworowych. Leki antynowotworowe mogą powodować modulację ekspresji, aktywności i wewnątrzkomórkowej lokalizacji białek z rodziny bcl-2. Mutacje lub zmiana ekspresji białek bcl-2 doprowadzają do zmiany wrażliwości komórek na leki przeciwnowotworowe i prowadzą do wielolekowej oporności komórek nowotworowych.

Na podstawie innych badań, wykazano również istotną rolę metaloproteinaz macierzy *MMP-1* oraz *MMP-2* w guzach nowotworowych macicy. Udowodniono silniejszą ekspresję *MMP-2* w leiomyosarcoma, potwierdzając tym samym ich udział w inwazji guza oraz tworzeniu się przerzutów [43,44].

References/Piśmiennictwo:

1. Bodner K, Bodner-Adler B, Kimberger O, et al. Evaluating prognostic parameters in women with uterine leiomyosarcoma. A clinicopathologic study. *J. Reprod Med* 2003;48
2. Sobczuk A., A. Wilamowska, G. Stachowiak, T. Pertyński. Leyomyosarcoma w pozostawionej szyjce macicy, 6 lat po przebytej amputacji nadpochwowej trzonu macicy. *Przegląd Menopauzalny* 2005; 5: 72-74.
3. Brożek I., Limon J., Podłoże genetyczne nowotworów złośliwych narządu rodnoego. *Med. Prakt. Ginekol. I Położnictwo* 2005; 6 (40):27-33.
4. Lancaster, Johnathan M., Risinger J.I., et al. Mutational analysis of the PTEN gene in human uterine sarcomas. *American Journal of Obstetrics and Gynecol.* 2001; 184:1051-3.
5. Amant F., Coosemans A., Debiec-Rychter M, et al. Clinical management of uterine sarcomas. *Lancet Oncol.* 2009; 10: 1188-98.
6. Ohno T, Sakurai H, Saito Y, Takahashi M et al. Secondary malignant fibrous histiocytoma following radiation therapy for carcinoma of the uterine cervix: report of two cases. *Radiat Med.* 1997; 15: 229-33
7. Lagrange J.L., Ramaioli A., Chateau M.C., Marchal C., et al. Sarcoma after radiation therapy: retrospective multi-institutional study of 80 histologically confirmed cases. *Radiology* 2000; 1: 197-205.
8. Klimek M., Kojs Z., Urbański K., et al. *Rep. Pract Oncol. Radiother.* 2004; 9:313-15.
9. Winter R., Ostor A., Kapp K., et al.: Primary treatment of uterine sarcomas. W: Gershenson DM, Mc Guire WP, Gore M et al.: *Gynecologic cancer. Controversies in management.* Elsevier. Churchill Livingstone, Philadelphia 2004, 301.
10. Chew S-B., Carmalt H., Gillett D. Leiomyosarcoma of the uterus in woman on adjuvant tamoxifen therapy. *The Breast* 1996;5: 429-431.
11. Pietryga M., Brząt J. Podstawy praktycznej ultrasonografii w gin. i położnictwie 2009; (8.1)133.
12. Goldberg J., Burd I., Fredric V. Et al. Leiomyosarcoma in a premenopausal patient after uterine artery embolization. *American J. Obst. Gynecol.* 2004; 191, 1733-5.
13. Baggish M.S.: Mesenchymal tumors of the uterus. *Clin. Obstet. Gynecol.*, 1974; 17:51-88
14. Parker W.H., Fu J.Y., Berek J.S., Uterine sarcoma in patients operated on for presumed leiomyoma and rapidly growing leiomyoma. *Obstet. Gynecol.* 1994; 83: 414.
15. Parker W.H., Fu Y.S., Berek J.S.: Uterine sarcoma in patients operated on for presumed leiomyoma and rapidly growing leiomyom. *Obstet. Gynecol.* 1994; 83: 414-418.
16. Kornafel J., Bidziński M., Gawrychowski K. *Ginekologia Onkologiczna* 297-298
17. Kido A., Togashi K., Koyama T., et al. Diffusely enlarged uterus: evaluation with MR imaging. *Radiographics* 2003; 23:1423-39.
18. Chander S., Ergun EL. Positron emission tomographic-computed tomographic imaging of a uterine sarcoma. *Clin nucl Med* 2002; 28:443-44.
19. Koivisto-Korander R, Butzow R, Koivisto AM, Leminen A. Immunohistochemical studies on uterine carcinosarcoma, leiomyosarcoma, and endometrial stromal sarcoma: expression and prognostic importance of ten different markers. *Tumour Biol.* 2011 Jun;32(3):451-9. *Epub* 2010 Dec 16.
20. Vorburger S A, Nophadol Hetrakul N, Xia W, Wilson-Heiner <http://mct.aacrjournals.org/content/4/11/1710.full-target-1> M, Mirza N, Pollock R E, Feight <http://mct.aacrjournals.org/content/4/11/1710.full-target-1> B, Swisher <http://mct.aacrjournals.org/content/4/11/1710.full-target-3> S G, Hunth <http://mct.aacrjournals.org/content/4/11/1710.full-target-1> K K Gene therapy with *E2F-1* up-regulates the protein kinase PKR and inhibits growth of leiomyosarcoma *in vivo* *Mol Cancer Ther* November 2005 4;1710
21. Schonk, D. M., Kuijpers, H. J. H., van Drunen, E., van Dalen, C. H., Geurts van Kessel, A. H. M., Verheijen, R., Ramaekers, F. C. S. Assignment of the gene(s) involved in the expression of the proliferation-related Ki-67 antigen to human chromosome 10. *Hum. Genet.* 83: 297-299, 1989.
22. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol.* 2000 Mar;182(3):311-22.
23. Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer.* 1983 Jan 15;31(1):13-20
24. Toledo, F., Wahl, G. M. Regulating the p53 pathway: in vitro hypotheses, in vivo veritas. *Nat. Rev. Cancer* 6: 909-923, 2006.
25. Yoon, H., Liyanarachchi, S., Wright, F. A., Davuluri, R., Lockman, J. C., de la Chapelle, A., Pellegata, N. S. Gene expression profiling of isogenic cells with different TP53 gene dosage reveals numerous genes that are affected by TP53 dosage and identifies CSPG2 as a direct target of p53. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 99: 15632-15637, 2002.
26. Suzuki, H. I., Yamagata, K., Sugimoto, K., Iwamoto, T., Kato, S., Miyazono, K. Modulation of microRNA processing by p53. *Nature* 460: 529-533, 2009.
27. Dameron, K. M., Volpert, O. V., Tainsky, M. A., Bouck, N. Control of angiogenesis in fibroblasts by p53 regulation of thrombospondin-1. *Science* 265: 1582-1584, 1994.
28. P.-L., Chen, Y., Bookstein, R., Lee, W.-H. Genetic mechanisms of tumor suppression by the human p53 gene. *Science* 250: 1576-1580, 1990.
29. Reid, T., Jin, X., Song, H., Tang, H.-J., Reynolds, R. K., Lin, J. Modulation of Janus kinase 2 by p53 in ovarian cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 321: 441-447, 2004.
30. Vaziri, H., Dessain, S. K., Eaton, E. N., Imai, S.-I., Frye, R. A., Pandita, T. K., Guarente, L., Weinberg, R. A. hSIR2-SIRT1 functions as an NAD-dependent p53 deacetylase. *Cell* 107: 149-159, 2001.
31. Li FP, Fraumeni Jr JF. *Soft-tissue sarcomas, breast cancer and other neoplasms: a familial syndrome?*. "Ann Intern Med". 71, ss. 747-52, 1969
32. Yuan S, Yu X, Topf M, Ludtke SJ, Wang X, Akey CW. "Structure of an apoptosome-procaspase-9 CARD complex." *Structure.* 2010 May;18(5):571-83.
33. Klasyfikacja NIH Medical Subject Headings
34. M Lamkanfi, N Festjens, W Declercq, T Vanden Bergh and P Vandenabeele "Caspases in cell survival, proliferation and differentiation" *Cell Death and Differentiation* (2007) 14, 44–55
35. Acehan D, Jiang X, Morgan DG, Heuser JE, Wang X, Akey CW "Three-dimensional structure of the apoptosome: implications for assembly, procaspase-9 binding, and activation." *Mol Cell.* 2002 Feb;9(2):423-32.

36. D'Angelo E, Espinosa I, Ali R, Gilks CB, Rijn M, Lee CH, Prat J. Uterine leiomyosarcomas: tumor size, mitotic index, and biomarkers Ki67, and Bcl-2 identify two groups with different prognosis. *Gynecol Oncol.* 2011 May 1;121(2):328-33.
37. Koivisto-Korander R, Butzow R, Koivisto AM, Leminen A. Immunohistochemical studies on uterine carcinosarcoma, leiomyosarcoma, and endometrial stromal sarcoma: expression and prognostic importance of ten different markers. *Tumour Biol.* 2011 Jun;32(3):451-9.
38. Yanai H, Wani Y, Notohara K, Takada S, Yoshino T. Uterine leiomyosarcoma arising in leiomyoma: clinicopathological study of four cases and literature review. *Pathol Int.* 2010 Jul;60(7):506-9.
39. Petrović D, Babić D, Forko JI, Martinac I. Expression of Ki-67, P53 and progesterone receptors in uterine smooth muscle tumors. Diagnostic value. *Coll Antropol.* 2010 Mar;34(1):93-7.
40. Sampson ER, Amin V, Schwarz EM, O'Keefe RJ, Rosier RN. The histone deacetylase inhibitor vorinostat selectively sensitizes fibrosarcoma cells to chemotherapy. *J Orthop Res.* 2011 Apr;29(4):623-32.
41. Hrzanjak A, Moinfar F, Kremser ML, Strohmeier B, Petru E, Zatloukal K, Denk H. Histone deacetylase inhibitor vorinostat suppresses the growth of uterine sarcomas in vitro and in vivo. *Mol Cancer.* 2010 Mar 4;9:49.
42. Leiser A, Anderson S.E., Nonaka D., et al. Apoptotic and cell cycle regulatory markers in uterine leiomyosarcoma. *Gynecol. Oncol.* 2006;101: 86-91.
43. Bodner-Adler B., Bodner K., Kimberger O., et al. Expression of Matrix Metalloproteinases in patients with uterine smooth muscle tumors: an immunohistochemical analysis of MMP-1 and MMP-2 protein expression in leiomyoma, STUMP of uncertain malignant potential, and leiomyosarcoma.