

# Znaczenie ekspresji receptorów progesteronowych i estrogenowych ocenianej metodą mikromacierzy tkankowych dla rokowania u chorych z gruczolakorakiem endometrioidalnym endometrium

The value of progesterone and estrogen receptors expression in tissue microarray method in prognosis of patients with endometrioid endometrial cancer

Gottwald Leszek<sup>1,2</sup>, Kubiak Robert<sup>3</sup>, Pasz-Walczak Grażyna<sup>3</sup>, Sęk Piotr<sup>4</sup>, Piekarski Janusz<sup>4</sup>, Szwałski Jarosław<sup>5</sup>, Spych Michał<sup>1,6</sup>, Chałubińska-Fendler Justyna<sup>1,2</sup>, Suzin Jacek<sup>7</sup>, Tyliński Wiesław<sup>7</sup>, Jeziorski Arkadiusz<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Zakład Radioterapii, Katedra Onkologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Polska

<sup>2</sup> Zakład Teleradioterapii, Wojewódzki Specjalistyczny Szpital im. M. Kopernika w Łodzi, Polska

<sup>3</sup> Zakład Patomorfologii, Katedra Onkologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Polska

<sup>4</sup> Klinika Chirurgii Onkologicznej, Katedra Onkologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Polska

<sup>5</sup> Pracownia Histopatologiczna, Olympus Consilio Sp. z O.O. w Łodzi, Polska

<sup>6</sup> Oddział Radioterapii i Onkologii Ogólnej, Wojewódzki Specjalistyczny Szpital im. M. Kopernika w Łodzi, Polska

<sup>7</sup> Klinika Ginekologii Operacyjnej i Onkologicznej, I Katedra Położnictwa i Ginekologii Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Polska

## Streszczenie

**Cel pracy:** Celem pracy była ocena znaczenia rokowniczego obecności i wielkości ekspresji receptorów estrogenowych (ER) i progesteronowych (PR) ocenianej metodą mikromacierzy tkankowych (TMA) dla przeżycia wolnego od choroby (DFS) oraz przeżycia ogólnego (OS) chorych z gruczolakorakiem endometrioidalnym endometrium (GEE).

**Materiał i metody:** Grupę badaną stanowiło 151 chorych. Wykorzystując metodę TMA, oceniono zależność między obecnością i wielkością ekspresji ER i PR a DFS i OS.

**Wyniki:** W analizie jednoczynnikowej stwierdzono zależność między wzrostem DFS a obecnością PR ( $p=0,010$ ), wzrostem wskaźnika całkowitego (TS) ekspresji PR ( $HR=0,81$ ;  $95\%CI$  0,71-0,94), obecnością ER ( $p=0,001$ ) i wzrostem TS ekspresji ER ( $HR=0,88$ ;  $95\%CI$  0,78-0,99). Stwierdzono występowanie różnic w DFS między grupami: bez ekspresji PR i ER (A), z ekspresją PR bez ekspresji ER (B), z ekspresją ER bez ekspresji PR (C), z ekspresją PR i ER (D) ( $p=0,004$ ). Nie wykazano związku obecności PR ( $p=0,11$ ), TS ekspresji PR ( $HR=0,89$ ;  $95\%CI$  0,80-1,02) i ekspresji ER ( $p=0,07$ ) z OS w analizie jednoczynnikowej. TS ekspresji ER było istotnym czynnikiem ochronnym, sprzyjającym dłuższemu OS ( $HR=0,83$ ;  $95\%CI$  0,72-0,96). Stwierdzono różnice w OS między grupami: A, B, C i D ( $p=0,006$ ). W analizie wieloczynnikowej kombinacje ekspresji PR/ER istotnie wpływały na DFS ( $p=0,039$ ) i OS ( $p=0,016$ ).

## Adres do korespondencji:

Leszek Gottwald

Zakład Teleradioterapii, Wojewódzki Specjalistyczny Szpital im. M. Kopernika w Łodzi

ul. Paderewskiego 4, 93-509 Łódź, Polska

tel: +48 42 689 55 51; fax: +48 42 689 55 52

e-mail: lgottwald@wp.pl

Otrzymano: 11.06.2012

Zaakceptowano do druku: 15.01.2013

Gottwald L, et al. Znaczenie ekspresji receptorów progesteronowych i estrogenowych ocenianej metodą mikromacierzy tkankowych...

**Wnioski:** Określenie ekspresji PR i ER może być istotnym elementem wpływającym na decyzje terapeutyczne u części chorych na GEE. Jednoczesna ocena ekspresji PR i ER ma większą wartość kliniczną od oceny tylko PR lub tylko ER.

Słowa kluczowe: **rak endometrium / rak endometrioidalny / receptor estrogenowy / receptor progesteronowy / rokowanie / mikromacierz /**

## Abstract

**Objectives:** To assess prognostic significance of progesterone receptors (PR) and estrogen receptors (ER) expression in the tissue microarray (TMA) technique for disease free survival (DFS) and overall survival (OS) in endometrioid endometrial cancer (EEC).

**Material and methods:** The study included 151 consecutive patients, aged 37-86 years ( $62.80 \pm 9.99$ ), with the EEC in stages I-III (FIGO), treated surgically at the Pirogow Memorial Hospital of Lodz between 2000 and 2007. Afterwards, they were subsequently treated and examined at the Regional Cancer Center, Copernicus Memorial Hospital of Lodz. Tissue cores 2 mm in size, in duplicate, were taken from the formalin-fixed and paraffin-embedded tissue donor blocks from surgery, and constructed into the TMA recipient blocks. Using TMAs, the expression of PR and ER was examined and presented as Total Score (TS). The TS was determined by adding the intensity and marker distribution scores in a given case. The relationship between PR and ER expression, DFS and OS was examined. DFS was defined as the period from primary surgery until relapse. OS was defined as the period from primary surgery until the end of the follow-up (60 months) or until the death of the patient. The study was approved by the Ethics Committee of the Medical University of Lodz (RNN/82/11/KE).

**Results:** Lack of the PR and ER expression was found in 46 cases (30.46%) and 67 cases (44.37%), respectively. The expression of the PR and ER was weak in 24 cases (15.89%) and 22 cases (14.57%), respectively. Strong PR and ER expression was found in 81 patients (53.65%) and 62 patients (41.06%), respectively. Follow-up after surgery varied from 3 to 60 months ( $50.95 \pm 16.36$ ). In 30 patients (19.87%) relapse was diagnosed 1-54 months ( $22.17 \pm 15.59$ ) after surgery. During follow-ups, 29 patients (19.21%) died. In univariate analysis better DFS was related to the presence of PR ( $p=0.010$ ), higher TS of PR (HR=0.81; 95% CI 0.71-0.94), the presence of ER ( $p=0.001$ ) and higher TS of ER (HR=0.88; 95% CI 0.78-0.99).

DFS differed significantly between the groups: without PR and ER expression (A), with presence of the PR but not ER expression (B), with the ER but not PR expression (C) and with the PR and ER expression (D) ( $p=0.004$ ). In univariate analysis OS was not related to PR expression ( $p=0.110$ ), TS of PR (HR= 0.89; 95% CI 0.80-1.02) and ER expression ( $p=0.070$ ). TS of ER was connected to better OS (HR= 0.83; 95%CI 0.72-0.96). The OS differed between groups A, B, C and D ( $p=0.006$ ). In multivariate analysis variants of PR/ER expression influenced the DFS ( $p=0.039$ ) and OS ( $p=0.016$ ).

**Conclusions:** The expression of the PR and ER can significantly affect therapeutic decisions in selected patients with EEC. In EEC, common assessment of PR and ER expression is of higher prognostic value, than compared to single evaluation of PR and ER receptors.

Key words: **endometrioid carcinoma / endometrial cancer / estrogen receptor / progesterone receptor / prognosis / tissue microarrays /**

## Wstęp

Trzon macicy stanowi trzecią co do częstości, po piersi i płucu, lokalizację narządową nowotworów złośliwych u kobiet w Polsce. Według danych z Krajowego Rejestru Zachorowań na Nowotwory Złośliwe w 2009 roku odnotowano 5061 nowych zachorowań na nowotwory złośliwe w tej lokalizacji i 969 zgonów nimi spowodowanych [1]. Większość z tych przypadków dotyczy gruczolakoraka endometrioidalnego endometrium (GEE) [2].

Postęp w ginekologii onkologicznej, który dokonuje się w ostatnich latach, wymusza zmiany w sposobie klasyfikowania GEE oraz leczenia tych chorych [3]. Dla podejmowania właściwych decyzji terapeutycznych niezbędna staje się znajomość aktualnych danych dotyczących faktycznego znaczenia podstawowych czynników prognostycznych [2]. Wymienia się wśród

nich stopień zaawansowania nowotworu (*ang. staging*), jego typ i różnicowanie histologiczne (*ang. grading*), głębokość naciekania mięśnia macicy, zajęcie układu chłonnego oraz wiek i stan ogólny chorych [4-6]. W grupie parametrów o postulowanym znaczeniu prognostycznym wskazuje się dodatkowo między innymi na ekspresję receptorów progesteronowych (PR) i receptorów estrogenowych (ER) w komórkach GEE [7, 8].

Stale unowocześniana technika mikromacierzy tkankowych (*ang. tissue microarray*, TMA), opisana w swej obecnej formie przez Kononena i wsp. w 1998 roku [9], zyskuje w ostatnich latach coraz większe uznanie w prowadzeniu badań immunohistochemicznych także w ginekologii onkologicznej [8, 10-12]. Wykorzystując tą metodę postanowiliśmy ocenić zależność między ekspresją PR i ER w GEE i rokowaniem u tych chorych. W piśmiennictwie brak jest podobnych opracowań.

Gottwald L, et al. Znaczenie ekspresji receptorów progesteronowych i estrogenowych ocenianej metodą mikromacierzy tkankowych...

## Cel pracy

Celem pracy była ocena znaczenia rokowniczego ekspresji ER i PR ocenianej metodą TMA dla przeżycia wolnego od choroby (DFS) i przeżycia ogólnego (OS) chorych z GEE.

## Materiał i metody

### Materiał badawczy

Retrospektywną analizą objęto 171 chorych z GEE. Po wykonaniu TMA w preparatach mikroskopowych zidentyfikowano tkanki GEE od 151 z tych chorych w stopniach zaawansowania klinicznego I-III wg FIGO, w wieku 37-86 ( $62,80 \pm 9,99$ ) lat, które zakwalifikowano do dalszych badań. Charakterystykę grupy badanej przedstawiono w tabeli I. Oceniono zależność pomiędzy wielkością ekspresji ER i PR, a DFS i OS. DFS zdefiniowano jako czas od zabiegu operacyjnego do stwierdzenia wznowy nowotworu, lub w przypadku jej braku – do zakończenia obserwacji. OS zdefiniowano jako czas od zabiegu operacyjnego do zakończenia obserwacji po upływie 60 miesięcy, lub wcześniej w przypadku zgonu chorej.

Ekspresję PR i ER zbadano metodą TMA. Do badań wykorzystano bloki parafinowe z tkankami chorych z GEE z macicy usuniętej podczas laparotomii w Wojewódzkim Specjalistycznym Szpitalu im. M. Madurowicza (obecnie im. M. Pirogowa) w Łodzi w latach 2000-2007. Leczenie uzupełniające oraz kontrolę chorych po zakończonym leczeniu onkologicznym prowadzono w Regionalnym Ośrodku Onkologicznym w Wojewódzkim Szpitalu Specjalistycznym im. M. Kopernika w Łodzi.

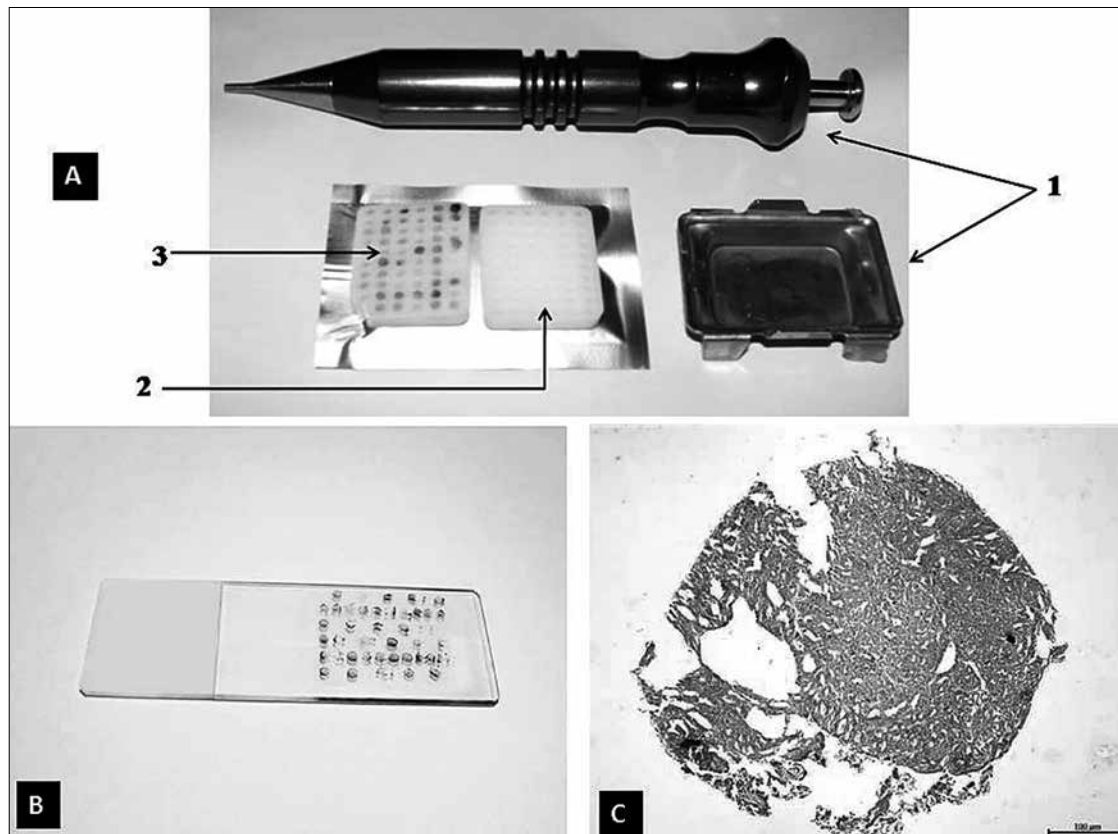
Na przeprowadzenie badania uzyskano zgodę Komisji Bioetyki Uniwersytetu Medycznego w Łodzi nr RNN/82/11/KE z dnia 17.05.2011 r.

### Konstrukcja TMA

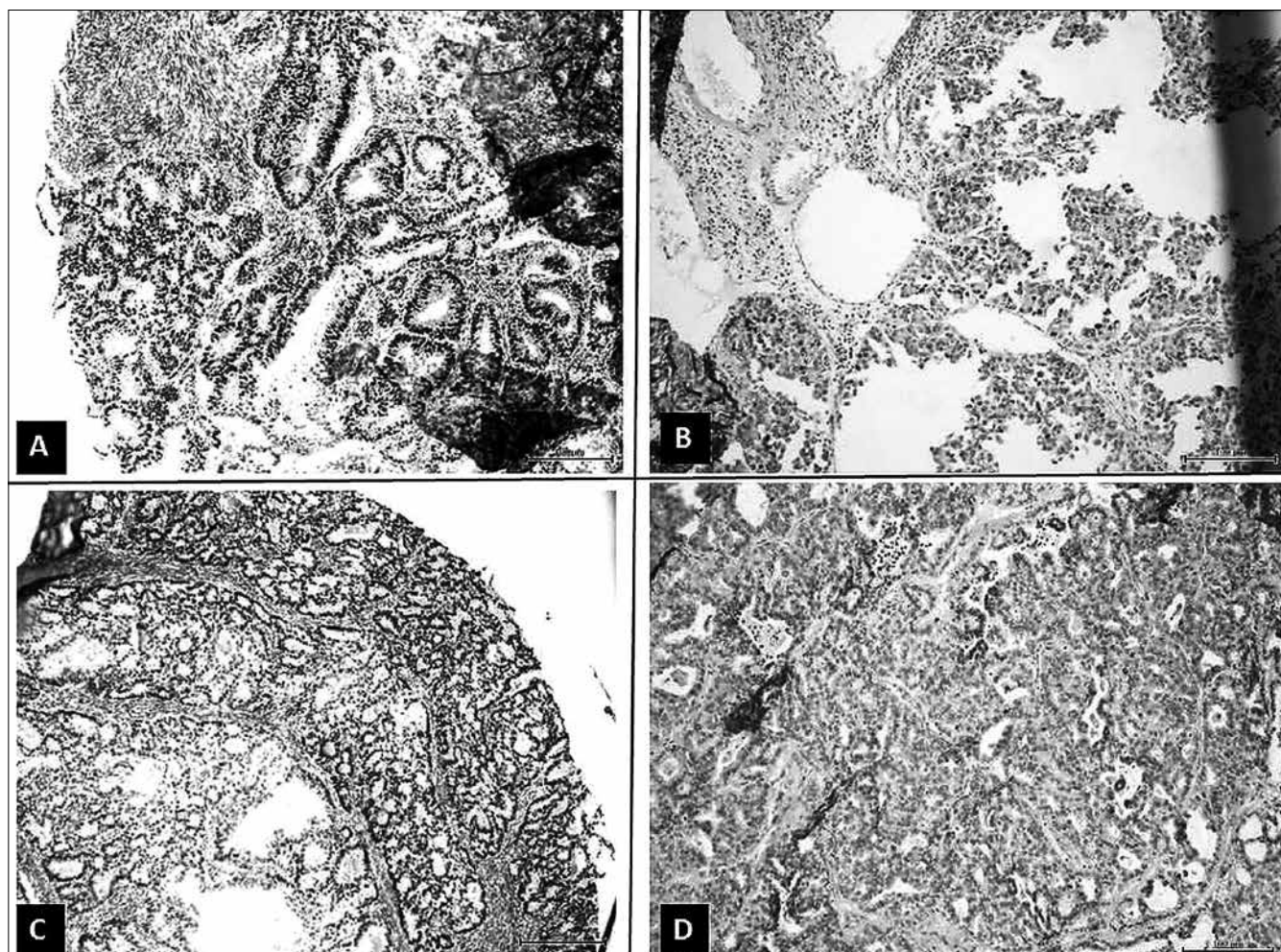
Wybrano bloki tkankowe zawierające reprezentatywne tkanki nowotworu. Z każdego bloku-dawcy, urządzeniem Tissue-Tek Quick-Ray Tissue Microarray System (Sakura Finetek USA, Inc. Torrance, CA 90501 USA), igłą o średnicy 2 mm, pobrano po dwie próbki tkankowe z miejsc wskazanych przez histopatologa na preparacie zabarwionym hematoxyliną i eozyną (H+E). Pobrane próbki tkankowe umieszczono w gotowych blokach parafinowych (Tissue-Tek Quick-Ray Recipient Block, Sakura Finetek USA, Inc. Torrance, CA 90501 USA), tworząc TMA zawierającą bioptaty z 20 bloków-dawców z tkankami GEE. Z każdej TMA, po uprzednim zatopieniu w formalinie, skrojono za pomocą mikrotomu po 3 skrawki grubości 4  $\mu$ m. Skrawki te umieszczono na szkiełkach Super-Frost (Menzel-Glaser, Braunschweig, Germany). Pierwszy skrawek wybarwiono H+E, dwa kolejne posłużyły do oceny ekspresji ER i PR. Elementy metody TMA przedstawiono na rycinie 1.

### Wykonanie i interpretacja odczynów immunohistochemicznych ekspresji ER i PR w tkankach GEE

Użyto komercyjnych przeciwciał monoklonalnych (Dako-Cytomation, Glostrup, Denmark) rozcieńczonych 1:150. Dla oceny wyników posłużono się ośmiostopniową skalą wg Allreda i wsp. [13].



**Rycina 1.** Metoda TMA: A1 – urządzenie Tissue-Tek Quick-Ray Tissue Microarray System, A2 – oryginalny blok biorca – pusty, A3 – blok biorca wypełniony bioptatami GEE z bloku dawcy; B – preparat histologiczny z TMA; C – dwumilimetrowy bioptat GEE w metodzie TMA (H+E, powiększenie 40x).



Rycina 2. Ekspresja PR i ER w GEE w metodzie TMA: A – silna ekspresja PR, B – brak ekspresji PR, C – silna ekspresja ER, D – brak ekspresji ER.

Wyróżniono sześć stopni określających odsetek komórek nowotworu wykazujących dodatni odczyn jądrowy - A (0=brak; 1=<10%; 2=<10%; 3=10-33%; 4=33-66%; 5=>66%) oraz cztery stopnie określające intensywność odczynu - B (0=brak; 1=słaby odczyn; 2=średni odczyn; 3=silny odczyn). Wyniki opisano jako sumę TS (*ang. total score*) = A+B. Gdy TS wynosił 0 pkt. - stwierdzano brak ekspresji, gdy było to 2–4 pkt. ekspresję uznawano za słabą, wynik 5–8 pkt. uznawano za silną ekspresję ER lub PR.

Na rycinie 2 przedstawiono preparaty mikroskopowe GEE z silną ekspresją PR (A), brakiem ekspresji PR (B), silną ekspresją ER (C) i brakiem ekspresji ER (D).

#### Analiza statystyczna

Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu programu Statistica 10.0 PL (Statsoft Inc., Tulsa, OK., USA). W celu porównania danych nieparametrycznych wykorzystano test  $\chi^2$  oraz test dokładny Fishera. W celu oceny korelacji pomiędzy TS dla PR i TS dla ER obliczono współczynnik „r” Spearmana. Zależności pomiędzy DFS i OS a wielkością ekspresji ER i PR poddano analizie jednoczynnikowej i wieloczynnikowej. Analizę jednoczynnikową wykonano z użyciem testu log rank dla zmiennych nominalnych lub metodą regresji Coxa dla zmiennych ciągłych. Krzywe DFS oraz OS wyznaczono

w oparciu o metodę Kaplana-Meiera. Analizę wieloczynnikową zmiennych związanych z prawdopodobieństwem OS lub DFS przeprowadzono za pomocą regresji Coxa, wyniki podając jako współczynniki ryzyka (*ang. Hazard Ratio*, HR) z 95% przedziałami ufności (*ang. 95% Confidence Interval*, 95% CI). W modelu wieloczynnikowym oceniono wpływ na DFS i OS dodatkowo także wieku chorych, zaawansowania nowotworu i zróżnicowania GEE. Poziom istotności przyjęto jako  $p < 0,05$ .

#### Wyniki

Okres obserwacji chorych wynosił od 3 miesięcy do 60 miesięcy (50,95±16,36). U 121 chorych (80,13%) nie wystąpiła w tym okresie progresja, ani wznowa nowotworu. U pozostałych 30 chorych (19,87%) stwierdzono wznowę nowotworu w okresie 1–54 miesięcy (22,17±15,59) od rozpoczęcia leczenia. W okresie obserwacji 29 chorych zmarło (19,21%), w tym 23 osoby (15,23%) w wyniku choroby nowotworowej i 6 osób z przyczyn nieonkologicznych (3,98%). Sześć chorych (3,97%), u których rozpoznano wznowę GEE żyło w momencie zakończenia obserwacji.

Brak ekspresji PR stwierdzono w 46 przypadkach (30,46%), słabą ekspresję w 24 przypadkach (15,89%), a silną ekspresję w 81 przypadkach (53,65%). Brak ekspresji ER występował w 67 przypadkach (44,37%), słaba ekspresja w 22 przypadkach

**Tabela I.** Kliniczna i histopatologiczna charakterystyka grupy badanej.

Grupa badana		n	%	DFS	OS
Razem chorych		151	100,0	80,13	80,79
wiek chorych	≤ 50 lat	19	12,58	94,74	89,47
	51-70 lat	91	60,26	75,82	79,12
	>70 lat	41	27,16	82,93	80,49
zaawansowanie kliniczne gruczolaka (staging)	I	102	67,55	92,16	89,22
	II	23	15,23	65,22	69,57
	III	26	17,22	46,15	57,69
	IV	0	0	-	-
zróżnicowanie histologiczne gruczolaka (grading)	G 1	51	33,77	90,20	88,24
	G 2	81	46,35	77,78	80,25
	G 3	19	12,58	63,16	63,16
zabieg operacyjny	zabieg radykalny	151	100	80,13	80,79
	operacja cytoredukcyjna	0	0	-	-
	brak lub zwiadowcza laparotomia	0	0	-	-

**Tabela II.** Zależności pomiędzy DFS i OS u chorych z GEE a wariantami ekspresji PR/ER obliczone względem grupy PR+/ER+.

Ekspresja PR/ER	DFS		OS	
	HR*	95%CI**	Hazard Ratio*	95%CI**
PR-/ER+	5.959094	0.801833 - 44.28705	6.477338	0.876632 - 47.86036
PR+/ER-	2.979547	1.036927 - 8.56155***	4.669537	1.715027 - 12.71384***
PR-/ER-	3.070856	1.188173 - 7.93669***	2.492406	0.913099 - 6.80330

Legenda:

\* – HR – współczynnik ryzyka / Hazard Ratio

\*\* – 95% przedział ufności / 95% Confidence Interval

\*\*\* – różnica znamiennej statystycznie

(14,57%), a silna ekspresja w 62 przypadkach (41,06%). Brak ekspresji PR i ER stwierdzono u 38 chorych (25,16%), jednoczesna ekspresja PR i ER występowała u 76 chorych (50,33%), ekspresja PR przy braku ekspresji ER dotyczyła 29 chorych (19,20%), a ekspresja ER przy braku ekspresji PR występowała u 8 chorych (5,31%). Stwierdzono silną korelację TS dla PR z TS dla ER ( $r=0,542$ ;  $p<0,001$ ).

W analizie jednoczynnikowej stwierdzono zależność między wzrostem DFS a obecnością PR ( $p=0,010$ ), wzrostem wskaźnika całkowitego (TS) ekspresji PR (HR=0,81; 95%CI 0,71-0,94), obecnością ER ( $p=0,001$ ) i wzrostem TS ekspresji ER (HR=0,88; 95%CI 0,78-0,99). Stwierdzono różnice w DFS między grupami: bez ekspresji PR i ER (A), z ekspresją PR bez ekspresji ER (B), z ekspresją ER bez ekspresji PR (C), z ekspresją PR i ER (D) ( $p=0,004$ ; Rycina 3).

Szczegółowe wyniki analizy przedstawiono w tabeli II. Spośród ocenianych czynników na DFS w modelu wieloczynnikowym istotnie wpływał staging ( $p<0,001$ ) oraz warianty ekspresji PR/ER ( $p=0,039$ ). Nie wpływały na DFS w modelu wieloczynnikowym: TS dla PR ( $p=0,909$ ), TS dla ER ( $p=0,167$ ), wiek chorych ( $p=0,528$ ) i grading ( $p=0,708$ ).

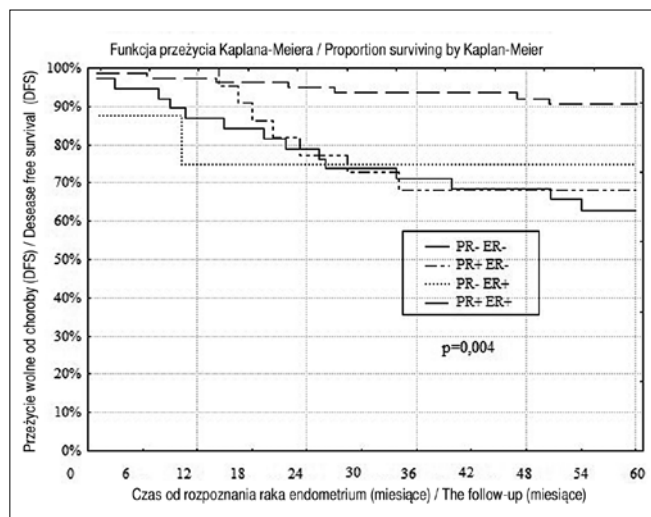
Nie wykazano związku obecności ekspresji PR ( $p=0,11$ ), TS dla ekspresji PR (HR 0,89 95%CI 0,80-1,02) i ekspresji ER ( $p=0,07$ ) z OS w analizie jednoczynnikowej.

TS dla ekspresji ER było istotnym czynnikiem ochronnym, sprzyjającym dłuższemu OS (HR 0,83 95%CI 0,72-0,96). Stwierdzono różnice w OS między grupami: A, B, C i D ( $p=0,006$ , Rycina 4). Szczegółowe wyniki analizy przedstawiono w tabeli II.

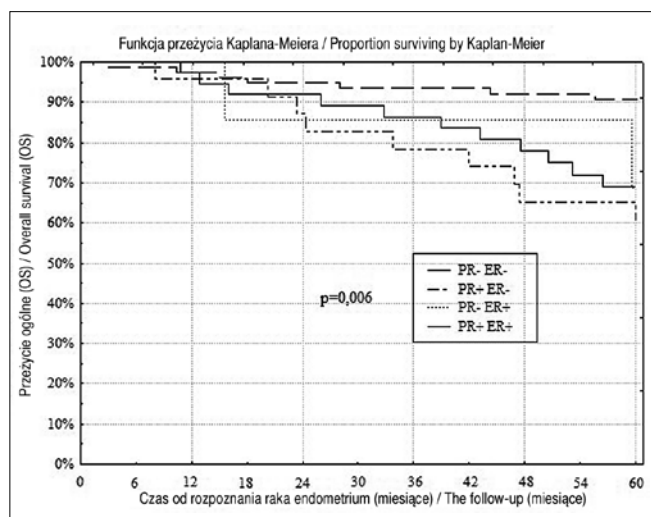
Porównanie kombinacji ekspresji PR/ER wykazało, że największe prawdopodobieństwo przeżycia występowało w grupie D (91%), a najniższe w grupie A (69%;  $p=0,006$ ). W modelu wieloczynnikowym na OS spośród ocenianych czynników istotnie wpływały: staging ( $p=0,002$ ) oraz warianty ekspresji PR/ER ( $p=0,016$ ). Na OS w modelu wieloczynnikowym nie wpływały: TS dla PR ( $p=0,850$ ), TS dla ER ( $p=0,118$ ), wiek chorych ( $p=0,705$ ) i grading ( $p=0,396$ ).

## Dyskusja

Począwszy od lat 80. XX wieku, gdy Kurman i wsp. scharakteryzowali poszczególne etapy karcinogenezy w GEE, wielokrotnie potwierdzano znaczenie mechanizmów hormonalnych w tych procesach [14, 15]. Obecnie uważa się, że podstawowym zjawiskiem w rozwoju GEE jest wzmożona proliferacja komórkowa w efekcie bezwzględnego (endo- rzadziej egzogenego) lub względnego (niedobór progesteronu) nadmiaru estrogenów [4, 15, 16]. Proces ten w części będąc zależnym od ekspresji ER, pośrednio determinuje wielkość ekspresji PR [6]. Łatwo wytłumaczyć tym faktem obserwowaną w naszym badaniu



Rycina 3. DFS u chorych z GEE w zależności od ekspresji PR i ER.



Rycina 4. OS u chorych z GEE w zależności od ekspresji PR i ER.

silną korelację TS dla PR z TS dla ER. Szacowany przez różnych autorów odsetek GEE wykazujących ekspresję PR i ER wynosi 32-88% [7, 8, 10, 17]. W naszym materiale było to odpowiednio 69% ekspresji PR i 56% ekspresji ER. Według Stoian i wsp. GEE wykazujące jednoczesną ekspresję PR i ER cechuje mniejsze zaawansowanie choroby w momencie jej rozpoznania, płytsze naciekanie ściany macicy i większe zróżnicowanie nowotworu w porównaniu do guzów PR-/ER- [18, 19]. Tych zależności w prezentowanej pracy nie ocenialiśmy. Hanekamp i wsp. uważają, że brak PR w GEE indukuje nadekspresję genów promujących inwazję nowotworu i na tej drodze przyczynia się do powstawania bardziej inwazyjnych fenotypów nowotworu [20]. Hormonozależność GEE, podobnie do raka piersi, wykorzystywana bywa także w leczeniu tych chorych [13, 19].

Pomimo, że znaczenie obecności receptorów steroidowych w karcinogenezie GEE uznaje się za potwierdzone, to jednak rola ekspresji PR i ER dla przebiegu choroby nowotworowej, choć wysoce prawdopodobna, nie została jak dotąd precyzyjnie

zdefiniowana. Wielokrotnie podejmowano jednak temat ekspresji receptorów steroidowych w kontekście rokowania u chorych z GEE [4, 17, 19, 21, 22]. Analizowano wartość ekspresji receptorów progesteronowych PR $\alpha$  i PR $\beta$  oraz receptorów estrogenowych ER $\alpha$  i ER $\beta$  w komórkach GEE [10, 23]. Izoformy PR $\alpha$  i ER $\alpha$ , oceniane w naszym badaniu, uznano za bardziej istotne rokowniczo od izoform PR $\beta$  i ER $\beta$  [10, 23].

Pomimo licznych przeprowadzonych badań u chorych z GEE nie udało się dotychczas ustalić jednoznacznie, czy ekspresja PR, czy też ekspresja ER jest bardziej istotna dla przebiegu choroby [4, 19, 21, 22]. Większość autorów wskazuje na gorsze rokowanie u chorych z brakiem ekspresji PR, niż u chorych z brakiem ekspresji ER [10, 22]. W piśmiennictwie znajdują się jednak doniesienia sugerujące odwrotną zależność [21, 24], co jest zgodne z naszymi obserwacjami. Stwierdziliśmy bowiem, że TS dla ekspresji ER, nie zaś dla ekspresji PR było istotnym czynnikiem ochronnym, sprzyjającym dłuższemu OS. Uzyskane przez nas wyniki jednoznacznie pokazują jednak, że dopiero łączna ocena ekspresji PR i ER pozwala na wyselekcjonowanie chorych o wyższym i niższym ryzyku wznowy nowotworu. Jest to zgodne z opiniami innych badaczy [21, 22, 24].

W tym świetle zasadna wydaje się analiza ekspresji PR i ER przynajmniej w przypadkach GEE G1-2 w IA stopniu zaawansowania wg FIGO, gdy z zasady nie stosuje się leczenia uzupełniającego. Uważamy, że w tej grupie chorych wynik badania ekspresji receptorów steroidowych może mieć istotne znaczenie kliniczne, a stwierdzenie fenotypu PR-/ER- powinno skłaniać do rozważenia wskazań do zastosowania uzupełniającej brachyterapii.

W opisywanym badaniu wykorzystaliśmy technikę TMA w sposób opisany już przez nas uprzednio na łamach Ginekologii Polskiej [25]. Jest to metoda uznana i coraz powszechniej stosowana w badaniach immunohistochemicznych prowadzonych na dużych grupach chorych, stale udoskonalana [26-30]. Wymaga dużej precyzji i staranności, szczególnie na etapach biopsji bloku-dawcy i wytwarzania bloku-biorecy [26]. Do jej podstawowych zalet zalicza się redukcję kosztów i czasu prowadzenia badań oraz możliwość analizy nawet kilkuset przypadków przy zużyciu zaledwie kilku mikrolitrów przeciwciała [26-30].

Oprócz licznych zalet, metoda ta nie jest jednak pozbawiona wad, o czym także należy pamiętać. W piśmiennictwie szeroko dyskutowany jest problem utraty materiału tkankowego (nieefektywnej biopsji) podczas wytwarzania TMA, szacowany przez różnych autorów na 3-30% [29, 30].

W prezentowanych badaniach wykorzystaliśmy dwumilimetrowe biopaty GEE, po dwa w każdym przypadku, co pozwoliło uzyskać w TMA reprezentatywne fragmenty GEE w ponad 88% przypadków (151/171). Dotychczasowe doświadczenia naszego zespołu ze stosowaniem techniki TMA w GEE wskazują dodatkowo na bardzo istotne znaczenie jakości parafinowego bloku-dawcy dla efektywności biopsji.

## Wnioski

1. Określenie ekspresji PR i ER może być istotnym elementem wpływającym na decyzje terapeutyczne u części chorych na GEE.
2. Jednoczesna ocena ekspresji PR i ER ma większą wartość kliniczną od oceny tylko PR lub tylko ER.

Gottwald L, et al. Znaczenie ekspresji receptorów progesteronowych i estrogenowych ocenianej metodą mikromacierzy tkankowych...

KOMUNIKAT

## Piśmiennictwo

1. Zakład Epidemiologii i Prewencji Nowotworów Centrum Onkologii – Instytut w Warszawie. Krajowa baza danych nowotworowych. <http://www.onkologia.org.pl>
2. Benedet J, Bender H, Jones H 3 rd, [et al.]. FIGO staging classifications and clinical practice guidelines for gynaecological cancers. FIGO Committee on Gynecologic Oncology. *Int J Gynaecol Obstet*. 2000, 70, 209-262.
3. Pecorelli S, Denny L, Ngan H, [et al.]. The new FIGO staging system for cancers of the vulva, cervix, endometrium and sarcomas. *Gynecol Oncol*. 2009, 115, 325-328.
4. Gehrig P, Van Le L, Olatidoye B, Geradts J. Estrogen receptor status, determined by immunohistochemistry, as a predictor of the recurrence of stage I endometrial carcinoma. *J Cancer*. 1999, 86, 2083-2089.
5. Hirai M, Hirono M, Oosaki T, [et al.]. Prognostic factors relating to survival in uterine endometrioid carcinoma. *Int J Gynaecol Obstet*. 1999, 66, 155-162.
6. Chakravarty D, Gupta N, Goda J, [et al.]. Steroid receptors HER2/neu and Ki 67, in endometrioid type of endometrial carcinoma: correlation with conventional histomorphological features of prognosis. *Acta Histochem*. 2010, 112, 355-363.
7. Markova I, Duskova M, Lubusky M, [et al.]. Selected immunohistochemical prognostic factors in endometrial cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2010, 20, 576-582.
8. Srijaipracharen S, Tangitgamol S, Tanvanich S, [et al.]. Expression of ER, PR, and Her-2/neu in endometrial cancer: a clinicopathological study. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2010, 11, 215-220.
9. Kononen J, Bubendorf L, Kallioniemi A, [et al.]. Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. *Nat Med*. 1998, 4, 844-847.
10. Jongen V, Briët J, de Jong R, [et al.]. Expression of estrogen receptor-alpha and -beta and progesterone receptor-A and -B in a large cohort of patients with endometrioid endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2009, 112, 537-542.
11. Cimbalku D, Rotmensch J, Scudiere J, [et al.]. Uterine carcinosarcoma: immunohistochemical studies on tissue microarrays with focus on potential therapeutic targets. *Gynecol Oncol*. 2007, 105, 138-144.
12. Huang G, Arend R, Li M, [et al.]. Tissue microarray analysis of hormonal signaling pathways in uterine carcinosarcoma. *Am J Obstet Gynecol*. 2009, 200, 457.e1-5.
13. Allred D, Harvey J, Bernardo M, Clark G. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Mod Pathol*. 1998, 11, 155-168.
14. Kurman R, Kalminski P, Norris H. The behavior of endometrial hyperplasia: a long term study of "untreated" hyperplasia in 170 patients. *Cancer*. 1985, 56, 403-412.
15. Yang S, Thiel K, Leslie K. Progesterone: the ultimate endometrial tumor suppressor. *Trends Endocrinol Metab*. 2011, 22, 145-152.
16. Sherman M. Theories of endometrial carcinogenesis: a multidisciplinary approach. *Modern Pathol*. 2000, 13, 295-308.
17. Jeon Y, Part I, Kim Y, [et al.]. Steroid receptor expressions in endometrial cancer: clinical significance and epidemiological implication. *Cancer Lett*. 2006, 239, 198-204.
18. Stoian S, Simionescu C, Mărgăritescu C, [et al.]. Endometrial carcinomas: correlation between ER, PR, Ki67 status and histopathological prognostic parameters. *Rom J Morphol Embryol*. 2011, 52, 631-636.
19. Fokuda K, Mori M, Uchiyama M, [et al.]. Prognostic significance of progesterone receptor immunohistochemistry in endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol*. 1998, 69, 220-225.
20. Hanekamp E, Kühne E, Smid-Koopman E, [et al.]. Loss of progesterone receptor may lead to an invasive phenotype in human endometrial cancer. *Eur J Cancer*. 2002, 38, Suppl.6, 71-72.
21. Chambers J, Carcangiu M, Voynick I, Schwartz P. Immunohistochemical evaluation of estrogen and progesterone receptor content in 183 patients with endometrial carcinoma. *Am J Clin Pathol*. 1990, 94, 255-260.
22. Creasman W. Prognostic significance of hormone receptors in endometrial cancer. *Cancer*. 1993, 71, 1467-1470.
23. Shabani N, Kuhn C, Kunze S, [et al.]. Prognostic significance of oestrogen receptor alpha (ERalpha) and beta (ERbeta), progesterone receptor A (PR-A) and B (PR-B) in endometrial carcinomas. *Eur J Cancer*. 2007, 43, 2434-2444.
24. Pertschuk L, Masood S, Simone J, [et al.]. Estrogen receptor immunocytochemistry in endometrial carcinoma: a prognostic marker for survival. *Gynecol Oncol*. 1996, 63, 8-33.
25. Gottwald L, Sęk P, Kubiak R, [i wsp.]. Efektywność zastosowania techniki mikromacierzy tkankowych do oceny ekspresji receptorów estrogenowych i progesteronowych w gruczolakoraku endometrioidalnym endometrium - doniesienie wstępne. *Ginekol Pol*. 2012, 83, 342-346.
26. Mirlacher M, Simon R. Recipient block in TMA technique. *Methods Mol Biol*. 2010, 664, 37-44.
27. Shergill I, Shergill N, Araya M, [et al.]. Tissue microarrays: a current medical research tool. *Curr Med Res Opin*. 2004, 20, 707-712.
28. Voduc D, Kenney C, Nielsen T. Tissue microarrays in clinical oncology. *Semin Radiat Oncol*. 2008, 18, 89-97.
29. Takikita M, Chung J, Hewitt S. Tissue microarrays enabling high-throughput molecular pathology. *Curr Opin Biotechnol*. 2007, 18, 318-325.
30. Hassan S, Ferrario C, Mamo A, Basik M. Tissue microarrays: emerging standard for biomarker validation. *Curr Opin Biotechnol*. 2008, 19, 19-25.



## Sekcja Ginekologii Operacyjnej PTG

Klinika Ginekologii Operacyjnej i Endoskopowej  
Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi

Serdecznie zapraszają na

# Kursy Doskonalące Warsztaty Operacyjne dla Ginekologów

w roku 2013

T E R M I N Y :

<b>26 luty 2013</b>	Laparoskopowa i Pochwowa Hysterektomia
<b>11-12 marzec 2013</b>	Zaburzenia Statyki Narządów Płciowych
<b>21-22 marzec 2013</b>	Operacje Laparoskopowe w Ginekologii
<b>11 kwiecień 2013</b>	Laparoskopowa i Pochwowa Hysterektomia
<b>13-14 maj 2013</b>	Zaburzenia Statyki Narządów Płciowych
<b>23-24 maj 2013</b>	Operacje Laparoskopowe w Ginekologii
<b>19-20 wrzesień 2013</b>	Operacje Laparoskopowe w Ginekologii
<b>3 październik 2013</b>	Laparoskopowa i Pochwowa Hysterektomia
<b>21-22 październik 2013</b>	Zaburzenia Statyki Narządów Płciowych
<b>18-19 listopad 2013</b>	Operacje Laparoskopowe w Ginekologii
<b>22-23 listopad 2013</b>	Intensywny Kurs Szycia i Wiązania w Laparoskopii
<b>9-10 grudzień 2013</b>	Zaburzenia Statyki Narządów Płciowych

**Operacje Pochwowe - Zaburzenia Statyki Narządów Płciowych:**  
11-12 marzec 2013, 13-14 maj 2013,  
21-22 październik 2013, 9-10 grudzień 2013

**Operacje Laparoskopowe w Ginekologii:**  
21-22 marzec 2013, 23-24 maj 2013,  
19-20 wrzesień 2013, 18-19 listopad 2013

**Laparoskopowa i Pochwowa Hysterektomia:**  
26 luty 2013, 11 kwiecień 2013, 3 październik 2013

**Intensywny Kurs Szycia i Wiązania w Laparoskopii:**  
22-23 listopad 2013

Więcej na [www.laparoskopia.org.pl](http://www.laparoskopia.org.pl)Przewodniczący Sekcji Ginekologii Operacyjnej PTG  
Kierownik Kliniki Ginekologii Operacyjnej i Endoskopowej ICZMP

prof. dr hab. n med. Andrzej Malinowski