

Molekulární prognostické faktory apatogeneze endometriálního karcinomu

Čes. Gynek.
71, 2006, č. 4
s. 355-360

Molecular Prognostic Factors and Pathogenesis of Endometrial Cancer

Míčková I.¹, Pilka R.², Lubušký M.², Kudela M.²

¹Ústav lékařské genetiky a fetální medicíny, LF UP aFN, Olomouc, přednosta prof. MUDr. J. Šantavý, CSc.

²Gynekologicko-porodnická klinika, LF UP aFN, Olomouc, přednosta prof. MUDr. M. Kudela, CSc.

Structured Abstract

Objective: To evaluate the importance of molecular markers for prognosis and pathogenesis of endometrial carcinoma.

Design: A review article.

Setting: Department of Medical Genetics and Fetal Medicine, University Hospital, Olomouc, Department of Obstetrics and Gynecology, University Hospital, Olomouc.

Methods: This article reviews the current knowledge of the molecular changes in the development of endometrial cancer, and their possible importance for the patient's prognosis.

Conclusion: The new molecular biomarkers are apparently going to play a significant role in the management of endometrial carcinoma treatment in the near future.

Key words: carcinoma, endometrium, marker, prognosis

Strukturovaný souhrn

Cíl studie: Zhodnocení významu molekulárně biologických markerů pro prognózu apatogenezi karcinomu endometria.

Typ studie: Přehledný článek.

Název sídla pracoviště: Ústav lékařské genetiky a fetální medicíny, LF UP aFN Olomouc, Gynekologicko-porodnická klinika, LF UP aFN Olomouc.

Metodika: Přehledný souhrn současných poznatků opatogenetických změnách u endometriálního karcinomu na molekulární úrovni a jejich možném významu pro prognózu pacientek.

Závěr: Nové molekulárně biologické faktory budou zřejmě hrát v blízké budoucnosti stále významnější roli v managementu léčby karcinomu endometria.

Klíová slova: karcinom, endometrium, marker, prognóza

ÚVOD

Gynekologické zhoubné nádory představují přibližně 15 % všech nádorových onemocnění ženské populace v ČR. Pokud nepočítáme zhoubné nádory prsu, je karcinom endometria nejčastější gynekologickou malignitou. Stejně jako v ostatních vyspělých krajinách má jeho incidence i přes mírně klesající mortalitu neustále stoupající trend, statistické údaje hovoří o incidenci vyšší než 30 na 100 000 žen. Celosvětově je ročně diagnostikováno okolo 150 000 nových případů [25].

Stoupající incidence je důsledkem působení mnoha negativních civilizačních faktorů. Nejvýznamnější rizikové faktory jsou věk, obezita, zvýšená nabídka neoponovaných estrogenů, diabetes mellitus a s tím spojené hormonální dysbalance, vyšší příjem živočišných tuků a bílkovin. V mnoha případech je patrné jejich

současné spolupůsobení [7, 12, 320, 23]. Navzdory poměrně dobrým léčebným výsledkům mají morfolo- gicky zvláštní nádory s nepříznivými histopatologickými charakteristikami nebo spokročilým stadiem onemocnění agresivní průběh onemocnění a špatnou prognózu [10].

K posouzení prognózy onemocnění se využívají tzv. prognostické faktory. Dobře známé a rutinně v klinické praxi používané jsou věk pacientky, stadium nemoci, histopatologický typ nádoru, histologický grade, hloubka myometrální invaze, postižení lymfatických uzlin [20, 26, 37]. U endometriálního karcinomu dosud nebyl nalezen žádný specifický sérový tumor marker. I když některé studie uvádějí zvýšené hladiny CA 125 u extrauterinní diseminace onemocnění, pokročilého stadia, lymfatických metastáz a špatné prognózy [56, 58, 62]. V současné době jsou intenzivně studovány další faktory, které by mohly vést k lepšímu pochopení molekulárních

základů endometriální kancerogeneze, a následně ke zlepšení klasifikace, prognózování a individualizaci léčby těchto nádorů.

DUALISTICKÝ MODEL ENDOMETRIÁLNÍ KANCEROGENEZE

Přibližně 10 % případů endometriálního karcinomu je považováno za dědičné, přičemž řada z nich je spojována s dědičným non-polypoidním kolorektálním karcinomem (hereditary non-polyposis colorectal cancer – HNPCC nebo též Lynchův syndrom). Užen sHNPCC je ve srovnání se zbývající populací desetinásobně zvýšené riziko onemocnění endometriálním karcinomem [11]. Větší část (90 %) případů endometriálního karcinomu je sporadických. Tyto nádory tvoří heterogenní skupinu, zahrnující řadu variant diferenciaci Mülleriánských vývodů, nejčastěji s morfologií endometroidní, serózní nebo zjasných buněk. Klinicko-patologické vlastnosti nádorů endometroidních se však od nádorů serózních nebo jasně buněčných liší. Tyto rozdíly byly poprvé rozpoznány Bokhmanem, který vyslovil hypotézu otom, že sporadické nádory mohou být na základě kliniky a prognózy rozděleny do dvou hlavních skupin [4]. Vsouladu stouto hypotézou jsou dnes rozlišovány dvě cesty kancerogeneze usporadických endometriálních karcinomů. Jedna je závislá na estrogenu a druhá bez estrogenové závislosti [29]. Tyto dva modely kancerogeneze vedou k nádorům s odlišným fenotypem a biologickým chováním. Většina sporadických endometriálních karcinomů (přibližně 70-80 %), označovaných jako nádory I. typu jsou závislé na estrogenu. Zdá se, že vznikají na podkladě neoponované stimulace estrogenu, protože exprimují estrogenové (ER) a progesteronové (PR) receptory a jsou spojeny s endometriální hyperplazií a se zvýšenými hladinami sérového estradiolu [44, 51]. Histologicky se jedná o dobře diferencované endometroidní, velmi vzácně mucinózní adenokarcinomy. Přibližně 10 až 20 % endometriálních karcinomů, označovaných jako nádory II. typu jsou na estrogenu nezávislé a vznikají na podkladě atrofického endometria [50]. Tyto nádory se obvykle objevují ve vyšších věkových kategoriích, přibližně o 5 až 10 let později než nádory I. typu. Jedná se o typicky ošpatně diferencované non-endometroidní karcinomy, většinou serózní, méně často zjasných buněk. ER a PR exprese je obvykle negativní nebo velmi slabá a sérové hladiny estradiolu nejsou zvýšeny [30]. Jak pro serózní, tak pro karcinom zjasných buněk je typický agresivní klinický průběh a špatná prognóza [9].

Dnes je zřejmé, že iniciace nádorového procesu se účastní různé druhy genů. Hlavní události počáteční fáze kancerogeneze zahrnují aktivaci protoonkogenů, inaktivaci tumor supresorových genů, mikrosatelitovou nestabilitu, aneuploidie a ztrátu heterozygotie [61].

MOLEKULÁRNĚ BIOLOGICKÉ PROGNOSTICKÉ FAKTORY ENDOMETRIÁLNÍHO KARCINOMU

Onkogeny

Vširším slova smyslu jde o všechny aktivní geny schopné způsobit nebo podpořit nádorovou transformaci. Existují ve dvou formách – ve formě jednak virového onkogeny, který je součástí genomu virů způsobujících nádory a ve formě celulárního onkogeny, který vzniká aktivací protoonkogeny – genu normálních buněk eukaryontů, který může chybnou expresí získat maligní potenciál. Mechanismy této chybné exprese zahrnují mutace, delece či amplifikace genu nebo různé přestavby chromozomu [13]. Následkem toho pak dochází k neregulované funkci nebo zvýšené expresi produktu onkogeny a konečným důsledkem až ke stimulaci nádorového růstu [61]. Jako příklad mohou posloužit mutace genů kódujících růstové faktory, jejich receptory či cytoplazmatické posly těchto signálů. Ve vztahu ke karcinomu endometria jsou to například:

C-erbB-2 (lidský celulární onkogen identický s krysím **HER 2/neu**) kóduje receptor pro růstový faktor podobný EGRF (epidermal growth factor receptor). Jeho amplifikace a zvýšená exprese se vyskytuje u 10-40 % karcinomů endometria a koreluje s horší prognózou a agresivnějším chováním nádoru. Klinické využití tohoto faktoru zůstává zatím nejasné, protože negativní prognostický dopad nebyl potvrzen ve všech studiích [32, 41].

Bcl-2 je onkogen, který inhibuje apoptózu a prodlužuje přežití buňky. Jeho zvýšená exprese pozitivně koreluje s histopatologickým typem nádoru a gradingem [18]. Zvýšená exprese se vyskytuje u hyperplazie endometria, kdežto ztráta exprese je patrna spíše u non-endometroidních typů karcinomů, je také spojována s horší prognózou, větší hloubkou myometrální invaze a pokročilejším stupněm onemocnění [18, 47].

K-ras patří do skupiny onkogenů kódující signální transduktory. Mutace tohoto genu se vyskytují u 10-30 % endometroidních karcinomů (typ I). Ve většině případů mutace vras genu nekoreluje se stagingem, gradingem a hloubkou myometrální invaze. Prognostický význam je zatím kontroverzní [27].

c-myc patří mezi nukleární proto-onkogeny a je předlohou pro protein asociovaný s nukleárním chromatinem. Jeho exprese narůstá deseti až dvacetinásobně při stimulaci růstovými faktory a může být důležitým regulátorem buněčného růstu a diferenciaci indukované estrogenem [63]. Hladiny c-myc jsou signifikantně vyšší v endometriu než v jiných tkáňových kompartmentech dělohy [14]. Nedávné studie prokázaly zvýšenou expresi c-myc ve 3 až 19 % endometroidních karcinomů (typ I) a imunohistochemické barvení na c-myc bylo nezávislým prognostickým faktorem [16].

Tumor supresorové geny

Geny přispívající k malignitě zcela odlišným způsobem – kódují proteiny, které inhibují buněčné dělení, fungují tedy jako tzv. „pojistky“, které vypnou buněčný cyklus v případě abnormální proliferace nebo poškození genetické informace. Dojde-li k poškození tumor supresorového genu např. mutací, je vyřazen z funkce, což může mít za následek únik buněk z kontrolních mechanismů a převalu faktorů podporujících růst, invazivitu a vývoj nádoru [13]. Mezi typické příklady tumor supresorových genů patří:

p53 jako nejznámější tumor supresorový gen podílí se na apoptóze, je nazýván jako „strážce genomu“. Expresí normálního nemutovaného proteinu p53 se zvyšuje jako fyziologická odezva na buněčný stres, to vede k zablokování buněčného cyklu a vyhodnocení stupně poškození DNA. Pokud je defekt neopravitelný, spouští p53 mechanismy apoptózy. V případě poškození genu např. mutací je proteinový produkt degradován z buňky velmi pomalu, a proto je velmi snadno detekovatelný. Zvýšená exprese u karcinomu endometria koreluje s agresivními histopatologickými typy (80-100%), pokročilým stadiem onemocnění a horší prognózou [18, 21].

PTEN je homolog fosfatázy atenzinu – tato zkratka vznikla z anglického termínu Phosphatase and TENsin homologue. Podílí se na regulaci interakcí mezi buňkou a intracelulární matrix, které jsou úzce spojeny s apoptózou. Jeho nadprůměrná exprese způsobuje zablokování buněčného cyklu ve fázi G1 [13]. Mutace v tomto genu byly popsány u 30-50% případů endometroidního karcinomu (typ I) [45, 59]. Dále bylo zjištěno, že mutace v PTEN genu se ve vyšším procentu vyskytují u endometriálních hyperplazií, což podporuje hypotézu časné události v mnohastupňovém procesu kancerogeneze [37].

Mikrosatelitová nestabilita

Jako mikrosatelitová DNA se označují úseky s opakovaním dvou až pěti nukleotidů vyskytující se na různých místech genomu [43]. Mutace v těchto krátkých sekvencích, označované jako mikrosatelitová nestabilita (**MSI**) jsou obvykle opravovány systémem různých proteinů, které jsou schopny nahradit nesprávné báze v DNA. Nejznámější z nich jsou **MLH1**, **MSH2** nebo **MSH6** a mohou být inaktivovány různými mechanismy, zejména metylací nebo mutací. Tento jev se vyskytuje až u 90% případů hereditárního kolorektálního karcinomu, u endometriálních karcinomů se vyskytuje ve 20-30% [37].

Aneuploidie

Přebytek nebo ztráta jednoho nebo více chromozomů vede ke genetické nestabilitě materiálu v prekancerózních a nádorových buňkách. Bylo prokázáno, že tato nestabilita je časným jevem maligní transformace a je typická pro různé druhy maligních nádorů. U karcinomu

endometria se aneuploidní změny vyskytují u 20-35% [38]. Dobře diferencované tumory obsahují hlavně diploidní buňky, naopak u špatně diferencovaných tumorů převládají v buňkách aneuploidní změny. Aneuploidní tumory mají obecně horší prognózu, vyšší počet recidiv a kratší „disease free survival“. Ploidita koreluje s gradingem, stagingem a pozitivitou estrogenových a progesteronových receptorů. Důležitým faktem zůstává, že v naprosté většině studií je ploidita udávána jako nezávislý prognostický faktor [64].

Ztráta heterozygocie (LOH)

V případě, že dojde ke ztrátě jedné z rodičovských alel, nastává genetický jev zvaný hemizygocie. U lidských solidních tumorů znamená tato ztráta heterozygocie většinou ztrátu tumor supresorového genu [1].

DALŠÍ PROGNOTICKÉ MARKERY

Markery proliferace

Ki-67 je jeden z nejznámějších buněčných proliferčních markerů. Zvýšená proliferční kapacita je jedním z základních rysů nádorových buněk. Většina endometroidních karcinomů exprimuje nízký proliferční index Ki-67 a má příznivou prognózu, zatímco většina serózních a jasně buněčných tumorů má vysoký proliferční index [15]. Korelace s gradingem, stadiem onemocnění a histopatologickým typem tumoru byla potvrzena v mnoha studiích [15, 48, 49].

Beta-atenin

Beta-atenin je submembránový protein, který se podílí na udržování tkáňové architektury a má rovněž důležitou roli v regulaci transkripce [6]. Nukleární akumulace beta-ateninu a současně mutace jeho genu **CTNNB1** byly u endometriálního karcinomu popsány v řadě studií. Nukleární beta-atenin byl popsán u 16 až 38% endometroidních karcinomů, přičemž byla jeho exprese významně vyšší u endometroidního (typ I) (31-47%) než u non-endometroidního (typ II) (0-3%) karcinomu [35, 52, 53]. Mutace **CNNTB1** byly u endometroidního karcinomu popsány v 15-25%, zatímco u non-endometroidních karcinomů nebyly pozorovány žádné [33]. Nukleární akumulace beta-ateninu byla nalezena u méně agresivních nádorů s malým metastatickým potenciálem stejně tak mutace **CNNTB1** jsou spojovány s dobře diferencovanými karcinomy [33, 46].

Steroidní receptory

Endometrium je cílovou tkání steroidních hormonů produkovaných ovarií. Jak v epiteliálních, tak v stromálních buňkách endometria jsou přítomné estrogenové (ER) a progesteronové (PR) receptory a ovariální steroidy mají rozhodující význam pro regulaci růstu a diferenciace u endometriálních buňkách. ER a PR patří do skupiny nukleárních receptorů a své aktivaci se vážou na specifická cílová místa v DNA, kde modulují expresi pří-

slušných genů. Kromě této přímé aktivace cílových genů byl popsán i nepřímý mechanismus jejich účinku přes vazbu na transkripční faktory jako například AP-1 (*c-fos*, *c-jun*) nebo NF- κ B [40].

Nedávno byly popsány dva podtypy ER (ER α a ER β). Zatímco ER α je dominantním receptorem endometriu a podílí se zejména na zvýšené proliferaci, ER β má účinek antiproliferační a zřejmě moduluje funkci ER α [31, 65]. Nerovnováha mezi expresí ER α a ER β je považována za kritický moment v estrogen-dependentní karcinogenezi (typ I). V endometriálním karcinomu byla popsána snižující se hladina exprese ER α mRNA a proteinu současně s dediferenciací tohoto nádoru z grade 1 na grade 3. Při nezměněné expresi ER β tak dochází ke snížení poměru ER α /ER β [22]. Kromě změněného poměru izoform ER se mohou na endometriální karcinogenezi podílet chybně transkribované proteiny odvozené od ER α nebo ER β . Patří sem např. 5 ER α , který byl popsán v endometriálním karcinomu, ale nebyl detekován v normálním endometriu, nebo ER β s dominantním negativním efektem na ER α [19, 55].

Rovněž PR existuje ve dvou izoformách: PR-A a PR-B. Jednou z hlavních rolí PR-A v endometriu je down-regulace estrogenové aktivity cestou inhibice ER α . PR-B naproti tomu v endometriálních buňkách působí jako agonista estrogenu. Poruchy v poměru PR-A/PR-B jsou rovněž považovány za významný moment při rozvoji endometriálního karcinomu (typ I) [3].

Růstové faktory

Steroidními hormony je regulována celá řada růstových faktorů, které se zřejmě podílí na parakrinní a autokrinní regulaci endometriální proliferace. Patří sem zejména epidermální růstový faktor (EGF) a transformující růstový faktor- α (TGF- α), které uplatňují svůj vliv na endometriální buňky prostřednictvím EGF receptoru. Oba růstové faktory a jejich receptor stimuluje buněčný růst v endometriálním karcinomu *in vitro*. K dalším růstovým faktorům, podílejícím se na endometriální karcinogenezi (typ I) patří transformující růstový faktor- β (TGF- β), bazální fibroblastový růstový faktor (bFGF) a inzulinu podobný růstový faktor I (IGF-I) [5, 17, 39].

MODEL PROGRESE ENDOMETRIÁLNÍHO KARCINOMU

Výše popsaný dualistický model endometriální karcinogeneze byl v posledních letech potvrzen molekulárně genetickými analýzami [8, 28]. Spektrum dříve navržených teorií se tak zúžilo na jedinou - genetickou teorii.

Typ I (endometroidní)

V současné době je předpokládán postupný přechod od prosté ke komplexní hyperplazii následně k atypic-

ké hyperplazii a endometroidnímu karcinomu. Tuto hypotézu podporuje to, že:

1. některé genetické alterace nalézané v endometroidním karcinomu jsou přítomny již v atypické hyperplazii, tzn. bezprostředním prekurzoru;
2. je pozorován vyšší počet genetických alterací v době diferencovaném karcinomu než v atypické hyperplazii;
3. počet genetických alterací narůstá s histologickou dediferenciací nádorů;
4. je patrný vyšší počet chromozomálních aberací v endometriálním karcinomu ve srovnání s atypickou hyperplazií.

Většina prostých a část komplexních hyperplazií je polyklonálních, což znamená, že jsou považovány za prostý výsledek hyperestrogenních stavů. Některé komplexní hyperplazie jsou však monoklonální a jsou proto již považovány za neoplastické. Většina atypických hyperplazií je monoklonálních a jsou tak považovány za intraepiteliální neoplazie [38]. Vzhledem k tomu, že pouze velmi malá část prostých hyperplazií progreduje do karcinomu, je pravděpodobné, že řada atypických hyperplazií vzniká *de novo*.

Většina genetických alterací nalézaných v endometroidním karcinomu vzniká v období časně karcinogeneze. Alterace PTEN, β -catenin, K-ras a MSI jsou přítomné v atypické hyperplazii [38]. Mutace PTEN a K-ras však vznikají zřejmě ještě dříve, protože byly nalezeny i v prosté hyperplazii [57]. Nedávno byly nalezeny imetylace MLH1 v přiléhající benigní tkáni endometroidního karcinomu s přítomnou mikrosatelitní instabilitou [24]. K mutaci a metylaci e-cadherinu zřejmě dochází v okamžiku přechodu atypické hyperplazie v endometroidní karcinom [36]. Inaktivace e-cadherinu je pravděpodobně důležitá při progresi endometroidního karcinomu, protože je častěji nacházen u špatně diferencovaných nádorů. Abnormality genu CTNNB1 vedou k akumulaci nukleárního beta-kateninu a jsou na přítomnosti MSI nezávislé. Tyto mutace jsou přítomné pouze v atypické hyperplazii a dobře diferencovaném endometroidním karcinomu a předpokládá se jejich význam pro přechod z benigní hyperplazie v premaligní onemocnění.

Mutace p53, amplifikace a zvýšená exprese *her2/neu* a inaktivace p16 jsou považovány za pozdní děje v progresi a dediferenciaci endometroidního karcinomu [28].

Typ II (serózní)

Mutace p53 byly zjištěny až v 80 % endometriálního intraepiteliálního karcinomu (EIC), který je považován za prekurzor serózního karcinomu [60]. Na rozdíl od serózního karcinomu, však byla u EIC zjištěna v menším procentu ztráta heterozygoty (LOH) (100 % versus 43 %) na TP53. Bylo tak hypotetizováno, že k rozvoji EIC dochází po ztrátě jedné alely p53, zatímco serózní karcinom se vyvíjí až po ztrátě druhé alely.

ENDOMETRIÁLNÍ KARCINOM SPOJENÝ SDĚDIČNÝMI SYNDROMY

Ve srovnání se sporadickými nádory jsou naše znalosti genetického pozadí dědičného endometriálního karcinomu podstatně chudší. Centrální roli v kancerogenezi zde hraje zřejmě inaktivace komplexu MSH2/MSH6 [54]. Endometriální karcinom upacientek se syndromem dědičného non-polypoidního kolorektálního karcinomu je do jisté míry podobný karcinomu typu I, protože vzniká v mladším věku a histologicky se jedná omucinózní nebo endometroidní typ [42]. Jedná se však odlišnou entitu, protože její vznik je způsobován mutacemi zárodečných buněk. Poměrně často zde dochází ke ztrátě exprese proteinů MLH1 a MSH2 arovněž mutace ainaktivace PTEN se objevuje až v 90 % případů [66].

PERSPEKTIVY KLINICKÉHO VYUŽITÍ DO BUDOUCNA

Výše uvedené prognostické biomarkery se vsoučasné době stanovují imunohistochemickými metodami, cytofluorimetrickou analýzou či metodami PCR, ovšem jejich definitivní význam pro prognózu pacientek skarcinomem endometria dosud nebyl jasně stanoven.

Je pravděpodobné, že informace získané ze změn exprese nádorových imunohistochemických markerů mohou v budoucnu přispět ke snížení radikality chirurgické a radiační terapie.

Ačkoli dostupné studie z nedávné doby přispěly k pochopení patogeneze a odlišností biologického chování nádorů, na molekulární úrovni zůstává stále spousta otázníků. Cílem do budoucna by mělo být další rozdělení podtypů endometriálního karcinomu v závislosti na jejich genetických alteracích, ato zejména těch, které mají prognostický význam. Budoucí histologické klasifikace budou pravděpodobně více spočívat na molekulární bázi, což ale neznamená, aby chom se zcela zřekli jasného významu a přínosu klinickopatologických charakteristik vsoučasném managementu karcinomu endometria.

Práce byla podpořena grantem IGA MZ
č.NR/9098-4.

LITERATURA

1. Albertson, D. G., Collins, C., McCormick, F., et al. Chromosome aberrations in solid tumors. *Nat. Genet.*, 2003, 34, p.369-376.
2. Anzai, Y., Gong, Y., Holinka, C. F., et al. Effects of transforming growth factors and regulation of their mRNA levels in two human endometrial adenocarcinoma cell lines. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 1992, 42, p.449-455.
3. Arnett-Mansfield, R.L., deFazio, A., Wain, G. V., et al. Relative expression of progesterone receptors A and B in endometrial cancers of the endometrium. *Cancer Res* 2001, 61, p. 4576-4582.
4. Bokhman, J. V. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *Gynecol. Oncol.*, 1983, 15, p.10-17.
5. Boyd, J. A., Kaufman, D. G. Expression of transforming growth factor beta 1 by human endometrial carcinoma cell lines: inverse correlation with effects on growth rate and morphology. *Cancer Res.*, 1990, 50, p.3394-3399.
6. Bullions, L. C., Levine, A. J. The role of beta-catenin in cell adhesion, signal transduction, and cancer. *Curr. Opin. Oncol.*, 1998, 10, p.81-87.
7. Canavan, T. P., Doshi, N.R. Endometrial cancer. *Am. Fam. Physician.*, 1999, 59, p.3069-3077.
8. Catusas, L., Machin, P., Matias-Guiu, X., et al. Microsatellite instability in endometrial carcinomas: clinicopathologic correlations in a series of 42 cases. *Hum. Pathol.*, 1998, 29, p.1160-1164.
9. Cirisano, F. D., Jr., Robboy, S.J., Dodge, R.K., et al. The outcome of stage I-II clinically and surgically staged papillary serous and clear cell endometrial cancers when compared with endometrial carcinoma. *Gynecol. Oncol.*, 2000, 77, p.55-65.
10. Creasman, W., Odicino, F., Maisonneuve, P., et al. Carcinoma of the corpus uteri. *J. Epid. Biostatistics*, 1998, 3, p.35-61.
11. Dunlop, M. G., Farrington, S.M., Carothers, A.D., et al. Cancer risk associated with germline DNA mismatch repair gene mutations. *Hum. Mol. Genet.*, 1997, 6, p.105-110.
12. Farquhar, C. M., Lethaby, A., Sowter, M., et al. An evaluation of risk factors for endometrial hyperplasia in premenopausal women with abnormal menstrual bleeding. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1999, 181, p.525-529.
13. Fearon, E. R., Vogelstein, B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*, 1990, 61, p.759-767.
14. Fujimoto, J., Hori, M., Ichigo, S., et al. Tissue differences in the expression of mRNAs of Ha-ras, c-myc, fos and jun in human uterine endometrium, myometrium and leiomyoma under the influence of estrogen/progesterone. *Tumour Biol.*, 1994, 15, p. 311-317.
15. Gassel, A.M., Backe, J., Krebs, S., et al. Endometrial carcinoma: immunohistochemically detected proliferation index is a prognosticator of long-term outcome. *J. Clin. Pathol.*, 1998, 51, p.25-29.
16. Geisler, J. P., Geisler, H. E., Manahan, K. J., et al. Nuclear and cytoplasmic c-myc staining in endometrial carcinoma and their relationship to survival. *Int. J. Gynecol. Cancer*, 2004, 14, p.133-137.
17. Gold, L. I., Saxena, B., Mittal, K. R., et al. Increased expression of transforming growth factor beta isoforms and basic fibroblast growth factor in complex hyperplasia and adenocarcinoma of the endometrium: evidence for paracrine and autocrine action. *Cancer Res.*, 1994, 54, p.2347-2358.
18. Halperin, R., Zehavi, S., Habler, L., et al. Comparative immunohistochemical study of endometrial and serous papillary carcinoma of endometrium. *Eur. J. Gynaecol. Oncol.*, 2001, 22, p.122-126.
19. Horvath, G., Leser, G., Hahlin, M., et al. Exon deletions and variants of human estrogen receptor mRNA in endometrial hyperplasia and adenocarcinoma. *Int. J. Gynecol. Cancer*, 2000, 10, p.128-136.
20. Hrachovec, P., Pilka, R., Dzvinčuk, P., Kudela, M. Rizikové a protektivní faktory karcinomu endometria. *Gynekolog*, 2001, 10, s.120-122.
21. Cherchi, P. L., Marras, V., Capobianco, G., et al. Prognostic value of p53, c-erb-B2 and MIB-1 in endometrial carcinoma. *Eur. J. Gynaecol. Oncol.*, 2001, 22, p.451-453.
22. Jazaeri, A.A., Nunes, K. J., Dalton, M. S., et al. Well-differentiated endometrial adenocarcinomas and poorly differentiated mixed mullerian tumors have altered ER and PR isoform expression. *Oncogene*, 2001, 20, p.6965-6969.
23. Kalandidi, A., Tzonou, A., Lipworth, L., et al. A case-control study of endometrial cancer in relation to reproductive, somatometric, and life-style variables. *Oncology*, 1996, 53, p.354-359.
24. Kanaya, T., Kyo, S., Maida, Y., et al. Frequent hypermethylation of MLH1 promoter in normal endometrium of patients with endometrial cancers. *Oncogene*, 2003, 22, p.2352-2360.
25. Kolcova, V., Geryk, E., Jechova, M. Diagnózy zhoubných nádorů. In: Zhoubné novotvary. Česká republika avybrané státy., Houdek, L. (Ed.). Praha: Galen, 1999, s.16-57.
26. Kudela, M., Pilka, R. Is there areal risk in patients with endometrial carcinoma undergoing diagnostic hysteroscopy (HSC)? *Eur. J. Gynaecol. Oncol.*, 2001, 22, p.342-344.

27. **Lagarda, H., Catusas, L., Arguelles, R., et al.** K-ras mutations in endometrial carcinomas with microsatellite instability. *J. Pathol.*, 2001, 193, p.193-199.
28. **Lax, S.F., Kendall, B., Tashiro, H., et al.** The frequency of p53, K-ras mutations, and microsatellite instability differs in uterine endometrioid and serous carcinoma: evidence of distinct molecular genetic pathways. *Cancer*, 2000, 88, p.814-824.
29. **Lax, S.F., Kurman, R.J.** Adualistic model for endometrial carcinogenesis based on immunohistochemical and molecular genetic analyses. *Verh. Dtsch. Ges. Pathol.*, 1997, 81, S.228-232.
30. **Lax, S.F., Pizer, E. S., Ronnett, B. M., et al.** Clear cell carcinoma of the endometrium is characterized by a distinctive profile of p53, Ki-67, estrogen, and progesterone receptor expression. *Hum. Pathol.*, 1998, 29, p.551-558.
31. **Lecca, G., Meduri, G., Ancelin, M., et al.** Presence of estrogen receptor beta in the human endometrium through the cycle: expression in glandular, stromal, and vascular cells. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2001, 86, p.1379-1386.
32. **Lukes, A.S., Kohler, M. F., Pieper, C. F., et al.** Multivariable analysis of DNA ploidy, p53, and HER-2/neu as prognostic factors in endometrial cancer. *Cancer*, 1994, 73, p.2380-2385.
33. **Machin, P., Catusas, L., Pons, C., et al.** CTNNB1 mutations and beta-catenin expression in endometrial carcinomas. *Hum. Pathol.*, 2002, 33, p.206-212.
34. **Mirabelli-Primdahl, L., Gryfe, R., Kim, H., et al.** Beta-catenin mutations are specific for colorectal carcinomas with microsatellite instability but occur in endometrial carcinomas irrespective of mutator pathway. *Cancer Res.*, 1999, 59, p.3346-3351.
35. **Moreno-Bueno, G., Hardisson, D., Sanchez, C., et al.** Abnormalities of the APC/beta-catenin pathway in endometrial cancer. *Oncogene*, 2002, 21, p.7981-7990.
36. **Moreno-Bueno, G., Hardisson, D., Sarriso, D., et al.** Abnormalities of E- and P-cadherin and catenin (beta-, gamma-catenin, and p120ctn) expression in endometrial cancer and endometrial atypical hyperplasia. *J. Pathol.*, 2003, 199, p.471-478.
37. **Morrow, C. P., Bundy, B. N., Kurman, R.J., 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, p.55-65.
38. **Mutter, G. L., Baak, J. P., Crum, C. P., et al.** Endometrial pre-cancer diagnosis by histopathology, clonal analysis, and computerized morphometry. *J. Pathol.*, 2000, 190, p.462-469.
39. **Myeroff, L. L., Parsons, R., Kim, S. J., et al.** A transforming growth factor beta receptor type II gene mutation common in colon and gastric but rare in endometrial cancers with microsatellite instability. *Cancer Res.*, 1995, 55, p.5545-5547.
40. **Oehler, M. K., Rees, M. C. Bicknell, R.** Steroids and the endometrium. *Curr. Med. Chem.*, 2000, 7, p.543-560.
41. **Owen, P., Duncan, I. D.** Is there any value in the long term follow up of women treated for endometrial cancer? *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 1996, 103, p.710-713.
42. **Parc, Y. R., Halling, K. C., Burgart, L. J., et al.** Microsatellite instability and hMLH1/hMSH2 expression in young endometrial carcinoma patients: associations with family history and histopathology. *Int. J. Cancer*, 2000, 86, p.60-66.
43. **Perucho, M.** Microsatellite instability: the mutator that mutates the other mutator. *Nat. Med.*, 1996, 2, p.630-631.
44. **Potischman, N., Hoover, R.N., Brinton, L. A., et al.** Case-control study of endogenous steroid hormones and endometrial cancer. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1996, 88, p.1127-1135.
45. **Risinger, J. L., Hayes, A. K., Berchuck, A., et al.** PTEN/MMAC1 mutations in endometrial cancers. *Cancer Res* 1997, 57, p.4736-4738.
46. **Saegusa, M., Hashimura, M., Yoshida, T., et al.** beta-catenin mutations and aberrant nuclear expression during endometrial tumorigenesis. *Br. J. Cancer*, 2001, 84, p.209-217.
47. **Sakuragi, N., Ohkouchi, T., Hareyama, H., et al.** Bcl-2 expression and prognosis of patients with endometrial carcinoma. *Int. J. Cancer*, 1998, 79, p.153-158.
48. **Salvesen, H. B., Iversen, O. E. Akslen, L. A.** Identification of high-risk patients by assessment of nuclear Ki-67 expression in a prospective study of endometrial carcinomas. *Clin. Cancer Res.*, 1998, 4, p.2779-2785.
49. **Salvesen, H. B., Iversen, O. E. Akslen, L. A.** Prognostic significance of angiogenesis and Ki-67, p53, and p21 expression: a population-based endometrial carcinoma study. *J. Clin. Oncol.*, 1999, 17, p.1382-1390.
50. **Sherman, M. E., Bur, M. E., Kurman, R.J.** p53 in endometrial cancer and its putative precursors: evidence for diverse pathways of tumorigenesis. *Hum. Pathol.*, 1995, 26, p.1268-1274.
51. **Sherman, M. E., Sturgeon, S., Brinton, L. A., et al.** Risk factors and hormone levels in patients with serous and endometrioid uterine carcinomas. *Mod. Pathol.*, 1997, 10, p.963-968.
52. **Schlosshauer, P.W., Ellenson, L. H. Soslow, R.A.** Beta-catenin and E-cadherin expression patterns in high-grade endometrial carcinoma are associated with histological subtype. *Mod. Pathol.*, 2002, 15, p.1032-1037.
53. **Scholten, A.N., Creutzberg, C. L., van den Broek, L. J., et al.** Nuclear beta-catenin is a molecular feature of type I endometrial carcinoma. *J. Pathol.*, 2003, 201, p.460-465.
54. **Schweizer, P., Moisis, A.L., Kuismanen, S.A., et al.** Lack of MSH2 and MSH6 characterizes endometrial but not colon carcinomas in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Cancer Res.*, 2001, 61, p.2813-2815.
55. **Skrzypczak, M., Bieche, I., Szymczak, S., et al.** Evaluation of mRNA expression of estrogen receptor beta and its isoforms in human normal and neoplastic endometrium. *Int. J. Cancer*, 2004, 110, p.783-787.
56. **Sood, A.K., Buller, R.E., Burger, R.A., et al.** Value of preo-