

Hladkosvalové nádory děložní nejistého maligního potenciálu

Monika Náležinská¹, Petr Škapa³, Jiří Špaček², Josef Chovanec¹

¹Klinika operační onkologie Masarykova onkologického ústavu a LF Masarykovy univerzity v Brně

²Porodnická a gynekologická klinika LF Univerzity Karlovy a FN Hradec Králové

³Ústav patologie a molekulární medicíny 2. LF Univerzity Karlovy a FN Motol, Praha

Cíl práce: Souhrn dostupných literárních údajů o hladkosvalových nádorech děložních nejistého maligního potenciálu, zaměřený zejména na určení prognostických faktorů a nastavení terapeutického a dispenzárního managementu.

Metodika: Analýza a souhrn literárního přehledu zabývající se problematikou děložních hladkosvalových nádorů.

Závěr: Hladkosvalové nádory děložní nejistého maligního potenciálu jsou raritní tumory. Diagnóza je stanovena výhradně pooperačně na základě histopatologické analýzy. Součástí závěru histopatologického vyšetření je predikce klinického vývoje na základě vyhodnocení morfologických a imunohistochemických prognostických faktorů. Terapeutický a dispenzární management zůstává vzhledem k malému počtu klinických pozorování přísně individuální (zejména s ohledem na přání zachování fertility). Riziko recidivy je nízké, doporučení frekventního dlouhodobého dispenzárního režimu není nereálné.

Klíčová slova: STUMP (hladkosvalové nádory děložní nejistého maligního potenciálu), děložní leiomyom, leiomyosarkom, histogeneze, prognostické histopatologické faktory, p53, p16, Ki-67, klinický vývoj.

Smooth muscle tumors of the uterus of uncertain malignant potential

Objective: To summarize up to date knowledge of the uterine smooth muscle tumors of uncertain malignant potential and to define specific predictors of the clinical outcome and to recommend therapeutic guidelines as well as the follow-up regimen.

Method: Overview study focused on stratification of the uterine smooth muscle tumors of uncertain malignant potential.

Conclusion: Smooth muscle tumours of uncertain malignant potential (STUMP) are rare tumors. The histological diagnosis is mostly post-operative. The conclusion of histological analysis should predict the clinical outcome based on defined prognostic factors. The small sample size of all reported studies is the reason for highly individual therapeutic and follow-up regimen. Generally the recurrence risk is low and clinical outcomes are favourable. As such, clinical expectant management does not seem to be unreasonable.

Key words: STUMP (smooth muscle tumours of uncertain malignant potential), uterine leiomyoma, leiomyosarcoma, histogenesis, histopathologic features, p53, p16, Ki-67, clinical outcome.

Úvod

Definice

Pro hladkosvalové nádory dělohy nejistého biologického potenciálu se v literatuře vžila zkratka z počátečních písmen anglických slov: smooth muscle tumors of uncertain malignant potential – STUMP. Soudobá definice STUMP dle WHO klasifikace je definice per exclusionem:

leiomyocelulární děložní nádory, které nelze jednoznačně označit jako benigní či maligní (1, 2). Jde o nejasně definovanou skupinu hladkosvalových nádorů různého histologického vzhledu a s nejednoznačně vyjádřenými známkami malignity (2, 3).

V literatuře se definice a popis tumorů, které nejsou ani typické leiomyomy ani leiomyosarkomy, objevuje poprvé v práci Taylora a Norrise

z roku 1966 (4, 5). Pro zařazení leiomyocelulárního tumoru do kategorie STUMP použili jako hodnotící kritérium mitotický index (viz níže) a definovali STUMP jako leiomyocelulární nádor, jehož mitotický index je > 5 a < 9 mf/hpf (mitotických figur na 10 sukcesivních zorných polí při velkém zvětšení, hpf: high power field). Jako benigní leiomyomy pak byly označeny tumory s mitotickým indexem < 5 a jako leiomyosarkomy tumory

s mitotickým indexem 10 a více (4). Stejná definice je užitá v základní americké učebnici patologie autorů Robbins, Cotran, Kumar: *Pathologic Basis of Disease* z roku 1973 (6). Další práce ale tuto tezi nepotvrdily, naopak bylo zjištěno, že použití mitotické aktivity jako univariálního prognostického faktoru selhává, a to zejména proto, že počty mitóz se liší v závislosti na hladinách steroidních hormonů (5). Zásadní posun ve stratifikaci hladkosvalových nádorů děložních vznikl na základě studie publikované tzv. Stanfordskou skupinou (Bell, Kempson, Hendrickson, Department of Pathology, Stanford University Medical Center, California) v roce 1994 (2, 4, 7). Na základě zhodnocení tří histopatologických charakteristik (mitotický index, přítomnost a stupeň buněčných atypií, přítomnost nekrózy a určení jejího typu) rozčlenili leiomyocelulární nádory do pěti skupin. Za potenciálně nejzávažnější známku maligního chování je považována přítomnost koagulačního typu nádorové nekrózy, viz níže (2, 6).

Epidemiologie

STUMP jsou raritní tumory. Pro jejich incidenci neexistují v dostupné literatuře žádná relevantní data, publikované studie zahrnují obvykle maximálně několik desítek studovaných případů za až dvacetiletá období (2, 8, 9). Na základě literárních pramenů lze jejich výskyt pouze odhadovat podle incidence leiomyomů (postihují 40–60 % čtyřicetiletých žen) (9) a leiomyosarkomů (1 % ze všech maligních nádorů těla děložního) (10). Pravděpodobně se bude jednat o počet menší než 1 % ze všech hladkosvalových nádorů děložních.

Etiologie

Příčina vzniku STUMP není známa. Onkogeneze v děložní hladké svalovině je proces multifaktoriálně podmíněný, po iniciaci genetických změn dochází k produkci proteinů zodpovědných za výsledné biologické chování buňky. Zejména se jedná o expozici steroidním hormonům, de novo produkci estrogenů v myomatózní tkáni v souvislosti se zvýšenou hladinou enzymu aromatázy, který zodpovídá za konverzi androgenů v estrogény. Byly identifikovány růstové faktory, proteiny a polypeptidy produkované lokálně buňkami hladké svaloviny a fibroblasty. Tyto efekторы vstupují do regulace buněčného cyklu a mohou potencovat růst děložního hladkosvalového tumoru. Mezi

identifikované faktory patří beta transformační růstový faktor (beta TGF), růstový faktor bazálních fibroblastů (bFGF), epidermální růstový faktor (EGF), vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF), destičkový růstový faktor (PDGF), insulín-like růstový faktor, prolaktin (9). Mezi další potenciálně rizikové faktory jako je věk nad 35 let, etnický původ, parita, životní styl, tělesná hmotnost, pohybová aktivita, kouření, expozice exogenním hormonům, karcinogenní efekt ionizujícího záření na oblast malé pánve, chemické karcinogeny jako dioxiny, herbicidy, kyselina fenoxycetová (11), byl zmíněn i potenciální vliv dlouhodobého užívání tamoxifenu u pacientek s karcinomem prsu (10).

Histogeneze

STUMP jsou orgánově specifické nádory z buněk hladké svaloviny (histogeneticky původem z embryonálního mezodermu s určitým příspěvkem neuroektodermové komponenty) (10). Diferenciace hladkých svalových buněk se projevuje především prodlužováním buněčného těla, buňky nabývají vřetenitého tvaru, s centrálně uloženým jádrem. Kontrakční aktivita je zajištěna strukturou a organizací aktinových a myozinových filament a dále intermediárních filament desminu a vimentinu (12).

Histogeneze STUMP je nejasná. Dle současného poznání, jsou všechny nádory odvozené z multipotentní prekursorové buňky, tedy kmenové buňky, která je programovaná k diferenciaci do různě maturovaných buněčných typů. Nádory nemohou vznikat z maturovaných buněk. Histogenetické pojetí mezenchymálních nádorů tedy spíše neplatí, nejsou důkazy, že by nádory měkkých tkání vznikaly z jejich normálně se vyskytujících buněčných analogů. Leiomyosarkom nevzniká malignizací původního leiomyomu (13). Pravděpodobně není ani žádná souvislost mezi STUMP a leiomyomem a mezi STUMP a leiomyosarkomem.

Genetika

Přesná příčina vzniku STUMP není dosud známa, studované literární prameny tuto problematiku zmiňují pouze okrajově. Bylo prokázáno, že u leiomyomů je karyotyp až ve 40 % abnormální (9). U zbývajících 60 % tzv. normálních karyotypů se může jednat o přítomnost nedetekovaných mutací v genech souvisejících s regulací buněčného cyklu, s diferenciací a ma-

turací buněk (9). Porovnání genomů pomocí hybridizace neidentifikovalo společné specifické anomálie pro leiomyomy a leiomyosarkomy. Studium genetických rozdílů mezi leiomyomy a leiomyosarkomy prokazuje, že jejich původ je vysoce pravděpodobně rozdílný (9, 13) a není žádný důkaz, že by existovala vývojová linie: leiomyom – STUMP – leiomyosarkom.

Klinická manifestace

Symptomy

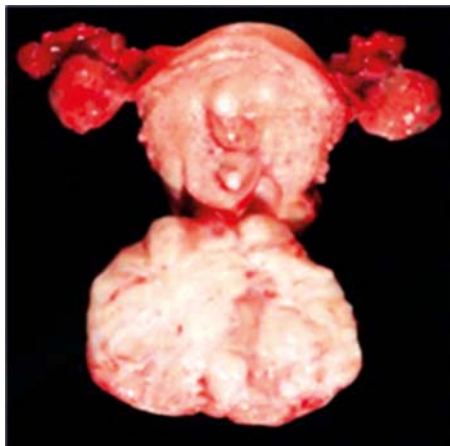
Klinické příznaky jsou málo specifické. Zejména se jedná o abnormální děložní krvácení (u premenopauzálních žen mimo pravidelný cyklus). Krvácení může nabývat až charakteru metroragie se ztrátami vedoucími k manifestnímu anemickému syndromu na vrub sideropenické anémie. Dalšími příznaky jsou: pánevní bolest, dysmenorea, dyspareunie, nadýmání, zvětšování podbřišku, urologické obtíže a jiné tzv. bulky, či pressure symptomy o malé specifitě (9). Při vaginálním vyšetření v zrcadlech může být zjevný tumor v oblasti čípku děložního, event. protrudující z hrdla (myoma nascens). Může být přítomen páchnoucí výtok, palpačně pak nacházíme zvětšenou hrbolatou dělohu různé konzistence a mobility. V drtivé většině případů se jedná o příznaky pozdní (10). Hladkosvalové nádory děložní mohou být v kauzálním vztahu se sterilitou, infertilitou a i s řadou těhotenských obtíží, pro které pacientka vyhledává ošetření (9).

Diagnostika

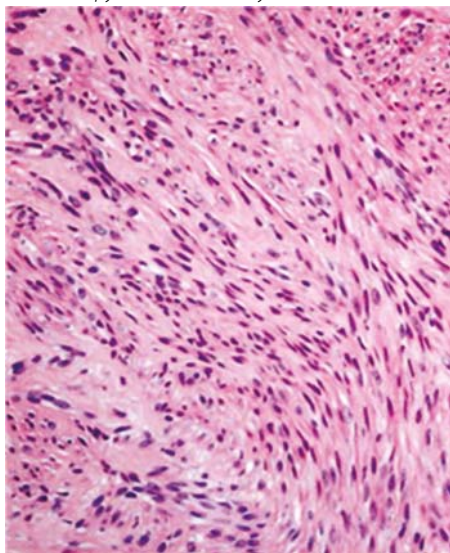
Zobrazovací metody

Pro rozboru anamnestických dat a provedení klinického vyšetření jsou základem diagnostického algoritmu hladkosvalových nádorů děložních zobrazovací metody s cílem potvrdit klinické podezření a provést diferenciální diagnostiku zvětšené dělohy resp. tumoru malé pánve. To je doména vaginálního gynekologického ultrazvuku. Běžně se tumory vycházející ze stěny děložní popisují jako myomy. Tato nepřesnost je tolerována vzhledem k tomu, že histopatologickým vyšetřením je diagnóza leiomyom potvrzena téměř ve 100 %. Senzitivita a specifita UZ vyšetření včetně užití Dopplerovských módů zobrazení je nejvyšší při odlišení adenomyózy. Odlišit leiomyom od STUMP je spíše nemožné, rozlišit leiomyosarkom od leiomyomu je obtíž-

Obr. 1. Makroskopický obraz STUMP (archiv MUDr. Škapy P., Ph.D., s laskavým svolením)



Obr. 2. STUMP ve světelném mikroskopu při standardním barvení hematoxylin-eozin (archiv MUDr. Škapy P., Ph.D., s laskavým svolením)



né. Magnetická rezonance (MRI) přináší určitý zisk v podezření na sarkomatózní lézi: nerovné infiltrující okraje. MRI je s výhodou u technicky inadekvátních UZ nálezů v malé pánvi nebo v případě virgo s insuficientním transabdominálním či transrektálním UZ nálezem (9).

Senzitivita a specificita obou zobrazovacích metod ve stratifikaci hladkosvalových nádorů děložních je nízká a hlavním ukazatelem suspekce na sarkom dělohy zůstává údaj o rychle rostoucím tumoru, především u žen v postmenopauze (9). Význam CT vyšetření nabývá při nutnosti exaktního zobrazení retroperitonea. Zobrazovací metody zůstávají nepostradatelné v období následné péče, při monitorování změn po léčbě a v časném záchytu recidiv (10).

Histopatologické vyšetření

Základem diagnózy STUMP je histopatologické vyšetření zásadně celého nádoru

nebo resekátu s určením histologického typu a odhadem prognózy biologického chování (obrázek 1). Eventuální předoperační diagnostika suspektní léze v současné době není reálná pro svou komplexnost a složitost. Ke stanovení diagnózy není vhodná ultrazvukem navigovaná perkutánní biopsie silnou jehlou ani cytologická analýza tenkojehlových aspirátů (FNAB: fine needle aspiration biopsy). Nález by měl být hodnocen histopatologem se zkušenostmi s chorobami měkkých tkání v gynekologii (gynekopatolog) (10).

Prognostické histopatologické rysy

Prvním krokem při diagnostice hladkosvalového nádoru dělohy je průkaz leiomyocelulární linie diferenciacie (obrázek 2). Dalším krokem je predikce biologického chování na základě stupně manifestace definovaných prognostických faktorů.

K diagnóze většiny hladkosvalových nádorů dělohy postačuje běžné histologické vyšetření preparátů barvených hematoxylin-eozinem. Benigní leiomyomy se skládají z leiomyocytů, které se kromě lehké variability velikosti nijak výrazně neliší od okolního myometria. Buňky většiny leiomyomů (s výjimkou určitých subtypů) jsou uniformní ve velikosti a tvaru, chybí zde buněčné atypie, není přítomna nekróza, mitotický index je < 1 mitóza/10 HPF. Makroskopicky jsou dobře ohraničené, na řezu fascikulárně uspořádané, bez známek infiltrativního růstu.

Pro leiomyosarkomy je pak charakteristický různý stupeň hladkosvalové diferenciacie, buněčné atypie různého stupně, koagulační typ nekrózy a variabilní mitotický index, obvykle > 10 mitóz/10 HPF. Typický je infiltrativní typ růstu v okraji nádoru a přítomnost intravaskulární propagace. Diagnostické obtíže nastávají, jestliže hladkosvalový tumor vykazuje nejednoznačnost v jednom nebo více mikroskopických rysech popsaných níže. Stanfordskou skupinou (4, 5) byly na základě studie čítající přes 213 problematických hladkosvalových neoplazií definovány následující morfologické atributy s různě vysokým prognostickým potenciálem: stupeň celularity, mitotický index, přítomnost nebo absence atypických mitotických figur, přítomnost a stupeň buněčných atypií, přítomnost či absence nekrózy a jejího typu, stav resekčních okrajů tumoru oproti okolnímu myometriu a přítomnost angioinvasze (2).

a. Celularita

Celularita se hodnotí srovnáváním s okolním nenádorovým myometriem. Pokud byla zvýšená, hodnotila se jako lehká, střední a výrazná (2).

b. Buněčné atypie

Za dobře reprodukovatelné bylo stanoveno dvouetážové schéma: 1. atypie nepřítomny až mírného stupně, 2. atypie stupně středního až těžkého. Zařazení do určitého stupně atypií je založeno na vyhodnocení jaderné pleomorfie, velikosti jádra, nepravidelnosti jaderné membrány, denzity chromatinu a velikosti a počtu a vzhledu jaderek. Hodnocení stupně atypií má být prováděno při malých zvětšeních (60–150x), pouze hraniční nálezy by měly být následně hodnoceny při velkém zvětšení. Atypie mohou být difúzní nebo fokální. K fokálními atypií se přistupuje stejně jako k difúzním (4, 5).

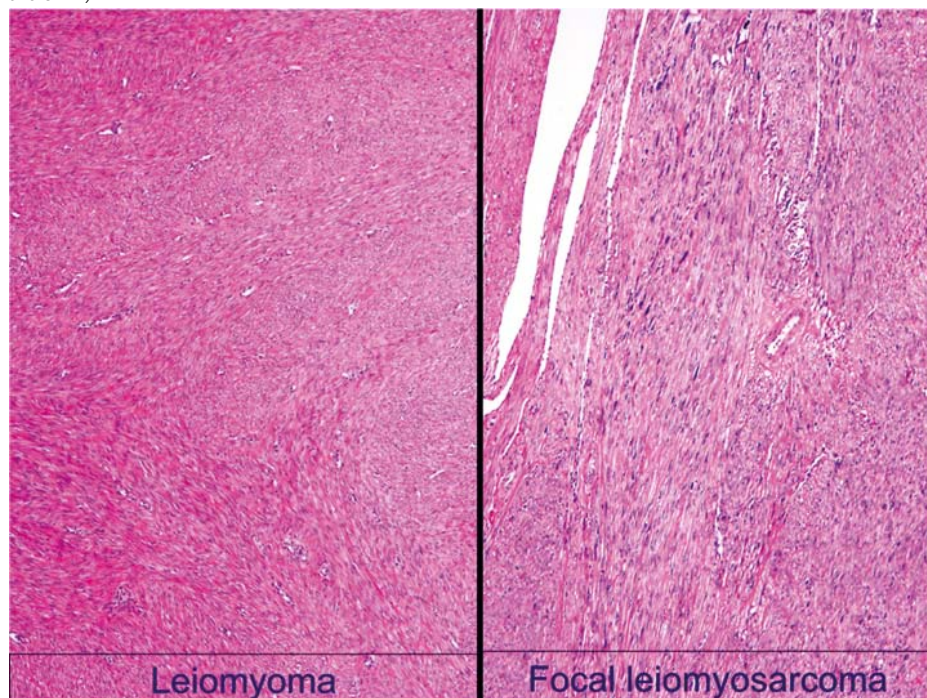
c. Mitotický index

Mitotický index vyjadřuje počet zřetelně definovaných mitóz na 10 sousedících zorných polí při velkém zvětšení (high power field, HPF). Při počítání mitotických figur je třeba dodržet přesná pravidla: dobrá kvalita histologických řezů vybraných z mitoticky aktivní oblasti tumoru, adekvátní zpracování a pečlivé odlišení struktur, které mohou mitózy věrně napodobovat, např. apoptotická tělíčka (2, 10).

d. Nekróza

Podle zkušeností autorů Stanfordské skupiny je přítomnost a typ buněčné nekrózy základním údajem pro predikci výsledného klinického chování hladkosvalového nádoru dělohy. Rozsah nekrózy by měl být hodnocen jak na úrovni makroskopické tak i mikroskopicky. Histologicky lze rozlišit dva typy nekrózy: hyalinní a koagulační. U koagulačního typu nekrózy je přítomen ostrý přechod mezi nekrotickou a vitální nádorovou tkání (6). Koagulační typ nekrózy má v porovnání s ostatními histologickými prognostickými faktory vysokou výpovědní hodnotu. Pokud byl použit jako univariátní prognostický znak, měl nejmenší riziko selhání. U hyalinního typu nekrózy je mezi nekrotickou a vitální nádorovou tkání zastížen úsek hyalinizovaného vaziva. Jde o tzv. infarktový typ nekrózy (3) organizující se pomocí granulační tkáně. Hyalinní typ nekrózy je běžný v leiomyomech a nemá žádný význam pro pre-

Obr. 3. Preparát barvený hematoxylin-eozinem (výukový materiál z archivu MUDr. Škapy P., Ph.D., s laskavým svolením)



díky biologického chování u hladkosvalových nádorů dělohy (4). Přítomnost a rozsah koagulační nekrózy má vztah k incidenci recidiv, pokud je nádor značně nekrotický, lze očekávat špatnou prognózu celkového přežití (5, 7).

e. Rozhraní nádor – okolní myometrium

Nedílnou součástí histologické zprávy hodnotící hladkosvalový nádor dělohy je i popis hranice mezi nádorem a přilehlými nenádorovými strukturami. Expanzivní typ růstu je typický pro leiomyomy, zatímco infiltrativní růst je pozorován u leiomyosarkomů (3, 5, 6).

f. Intravaskulární růst

Angioinvasze je definovaná přítomností nádorových struktur v lumen jednoznačně definované cévy jakéhokoliv kalibru (nejčastěji lymfatické kapiláry nebo vény) (3, 5, 6).

Využití morfologických prognostických ukazatelů ke stratifikaci hladkosvalových děložních nádorů do skupin

Kombinací výše uvedených charakteristik vytvořila Stanfordská skupina klasifikační systém stratifikující hladkosvalové nádory dělohy do pěti skupin s definovaným biologickým chováním. Vzhledem k tomu, že se jedná o závěry ze studie čítající 213 pozorování, mohou být výsledky zatíženy značnou chybou a nelze je považovat za statisticky relevantní.

První dělení všech tumorů proběhlo na základě hodnocení přítomnosti a rozsahu koagulační nekrózy. Každá z těchto dvou skupin byla následně stratifikována podle stupně a rozsahu cytologických atypií.

Skupina I: hladkosvalové nádory děložní bez koagulační nekrózy a bez atypií pouze s vysokým mitotickým indexem (syn. leiomyom a leiomyom se zvýšenou mitotickou aktivitou, dle jiných autorů mitoticky aktivní leiomyom)

Z histopatologických pozorování ve studii vyplynulo, že hladkosvalové nádory bez koagulační nekrózy a bez atypií se chovají vždy benigně bez ohledu na počet mitotických figur, i kdyby tento byl 20 a více mitóz/10 HPF. Zcela překvapivě se v této skupině vyskytly dvě pacientky s verifikovanými metastázami v plicním parenchymu. Objevily se 7 a 10 let po primární hysterektomii pro symptomatickou myomatózu. Po chirurgické extirpaci byly obě již bez potíží. Pro tyto léze se vžil označení benigní metastazující leiomyom.

Skupina II: hladkosvalové nádory s difúzními signifikantními atypiemi, bez nekrózy a s variabilním mitotickým indexem (syn. atypický leiomyom)

Jedná se o tumory s buňkami, které mají při malém zvětšení ve světelném mikroskopu přítomné atypie různého stupně, avšak není přítomna koagulační nekróza. Tuto skupinu ještě

můžeme uvnitř rozdělit podle mitotického indexu. Hladkosvalové tumory s mitotickým indexem < 10 mitóz/10 HPF jsou označovány jako atypické leiomyomy s nízkým rizikem recidivy. Tumory s mitotickým indexem 10 mitóz/10 HPF a více jsou vzhledem ke klinickým pozorováním považovány za leiomyosarkomy (v prezentované studii 2/3 pacientek s tímto typem zemřely za 4 a 14 měsíců po hysterektomii pro primární hladkosvalový tumor).

Skupina III: hladkosvalové nádory děložní s koagulační nekrózou, difúzními signifikantními atypiemi a variabilním mitotickým indexem (syn. leiomyosarkomy)

Z výsledků studie vyplynulo, že 17 z 33 pacientek této skupiny zemřelo v důsledku hladkosvalového nádoru dělohy. Makroskopicky jde o větší nádory (většinou o průměru > 5 cm) s ložisky hemoragií. Mikroskopicky dominují nápadné atypie, koagulační nekróza, počet mitóz kolísá v rozpětí 5–30/10 HPF, jsou přítomny atypické mitózy, častý je infiltrativní růst v okraji nádoru a přítomnost angioinvasze. Tumory s těmito znaky se považují za leiomyosarkomy.

Skupina IV: hladkosvalové nádory děložní bez buněčných atypií, s koagulačním typem nekrózy a s variabilním mitotickým indexem (syn. hladkosvalové nádory děložní s nízkým maligním potenciálem při limitovaných zkušenostech) (obrázek 3)

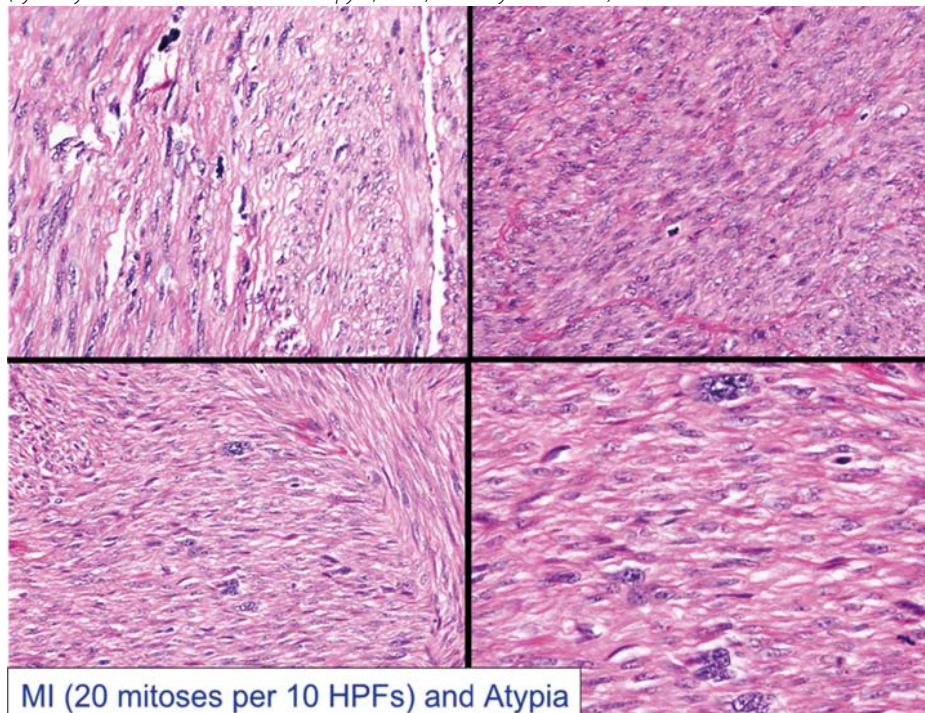
Bylo studováno 8 případů. Skupina je příliš malá k vyjádření závazných závěrů, nicméně byl vyjádřen předpoklad, že nádory těchto histopatologických charakteristik se chovají příliš agresivně a měly by být označeny spíše za low-grade leiomyosarkomy.

Skupina V: hladkosvalové nádory děložní s fokální nebo multifokální přítomností signifikantních atypií, bez nekrózy a s variabilním mitotickým indexem

Skupina 5 pacientek s dobrým klinickým výstupem. Mitotický index byl v rozmezí 5–20 mitóz/10 HPF.

Cílem Stanfordské skupiny byla klasifikace hladkosvalových nádorů děložních podle jasné definovaných morfologických rysů do skupin s určeným biologickým chováním. Tato klasifikace pak měla sloužit k výstavbě klinických guideline pro jednotlivé typy nádorů. Bohužel veškeré závěry plynoucí z této studie jsou limitovány s ohledem na příliš malý počet studovaných lézí. Pro takto malou skupinu by bylo ideální

Obr. 4. Preparáty barvené hematoxylin-eozinem znázorňující nápadné morfologické rozdíly, viz popis v textu (výukový materiál z archivu MUDr. Škapy P., Ph.D., s laskavým svolením)



Tab. 1. Klasifikace hladkosvalových nádorů děložních, volně dle Blaustein's Pathology of the female genital tract (2)

	Buněčná nekróza	Atypie	MF/10 HPF	Diagnóza
1.	přítomna	difuzní středního až těžkého stupně	jákový stupeň	leiomyosarkom
2.	přítomna	žádné až středního stupně	≥ 10	leiomyosarkom
3.	přítomna	žádné až středního stupně	< 10	STUMP
4.	nepřítomna	difuzní středního až těžkého stupně	< 5	atypický leiomyom s nízkým rizikem recidivy
5.	nepřítomna	difuzní středního až těžkého stupně	5–9 nebo atypické mitotické figury	STUMP
6.	nepřítomna	žádné až středního stupně	< 5	leiomyom
7.	nepřítomna	žádné až středního stupně	≥ 5	mitoticky aktivní leiomyom
8.	nepřítomna	fokální středního až těžkého stupně	≥ 5	STUMP
9.	nepřítomna	fokální středního až těžkého stupně	< 5	atypický leiomyom

použití jednoho prognostického kritéria. Vyšší počet hodnocených faktorů přináší větší zatížení metodickými chybami. Nejsilnějším markerem maligního biologického chování je přítomnost koagulačního typu nekrózy. Pouze 5 % studovaných hladkosvalových nádorů dělohy se chovalo maligně bez přítomnosti tohoto faktoru (4, 5, 7).

Soudobá prestižní publikace Blaustein's Pathology of the female genital tract (14) kombinuje histopatologické morfologické rysy a klasifikuje hladkosvalové nádory děložní do 9 skupin, viz tabulka 1.

Histopatologické metody hodnocení jsou z principu značně subjektivní, zatížené intra-personální i interpersonální variabilitou. Proto

jsou hledána objektivnější kritéria pro stanovení biologického chování hladkosvalových nádorů dělohy, jako je např.: DNA ploidita (buňky benigních lézí jsou převážně diploidní, v high-grade sarkomech je častá aneuploidie), imunohistochemicky detekovatelná exprese molekulárních markerů majících vztah k regulaci buněčného cyklu, dále markery určované metodami molekulární biologie. Tyto moderní metody redukují míru subjektivity, mohou však být zatíženy interlaboratorní variabilitou (13).

Prognostická imunohistochemie

Imunohistochemické metody se užívají jednak při potvrzení leiomyocelulární linie diferenciace

(protilátky proti hladkosvalovému aktinu, desminu, h-caldesmonu) (13). Dále lze imunohistochemické aplikace použít jako přídatnou metodu při predikci biologického chování hladkosvalových děložních neoplazií. Používají se kombinace protilátek proti estrogenovým a progesteronovým receptorům, proteinům p16, p53, určuje se proliferační index Ki-67. Specifita jednotlivých vyšetření je nízká, větší význam má současné vyšetření všech jmenovaných markerů (13) (obrázek 4).

Imunohistochemicky detekované antigeny s potenciálem predikovat biologické chování hladkosvalového nádoru dělohy

a. Ki-67

Jaderný a nukleolární protein asociovaný s dělením buňky, jeho exprese v jádře, je velmi těsně vázán na buněčný cyklus. Antigen je detekovatelný ve většině proliferujících buněk. Četní autoři použili pozitivitu antigenu vyjádřenou formou Ki-67 proliferačního indexu jako indikátoru buněčné proliferace (14, 15).

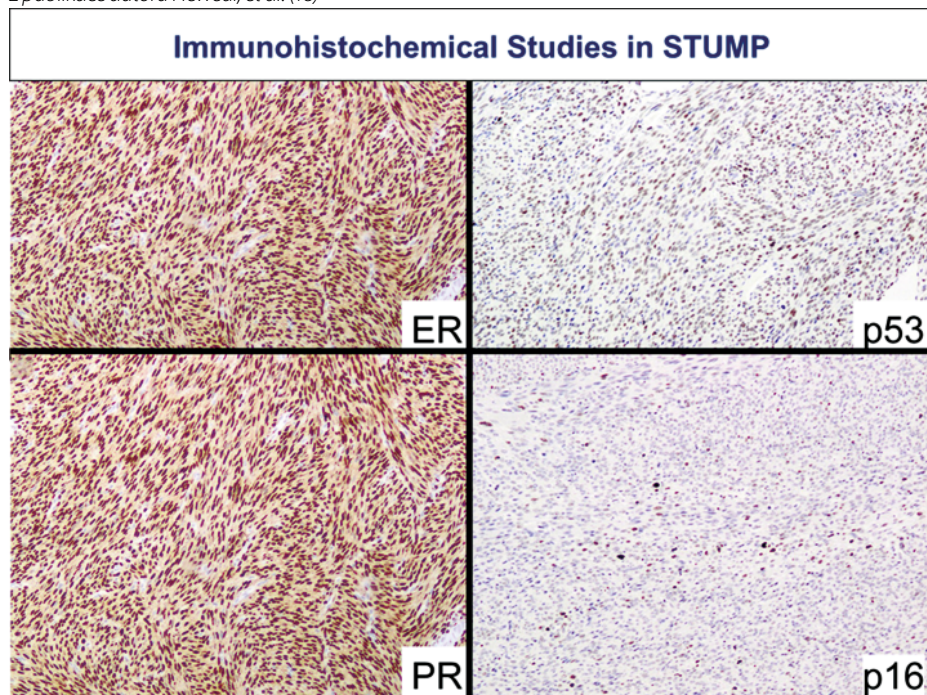
b. p53

P53 je proteinový produkt tumor supresorového genu TP53 lokalizovaného na chromozomu 17. Účastní se regulace buněčného cyklu a má antionkogenní účinek. Protein má funkci sekvenčně specifického transkripčního faktoru a hraje roli v regulaci genů, které podporují zástavu buněčného cyklu a apoptózu v odpovědi na buněčný stres. Poškození DNA má za následek zvýšenou syntézu p53 proteinu a jeho zvýšené množství vede k zástavě buněčného cyklu v G1 fázi cyklu, což umožňuje buňce buď reparovat poškozenou DNA nebo zahájit procesy vedoucí k apoptóze. Mutace nebo jiné změny proteinu p53 vedou ke ztrátě vazebné schopnosti na DNA. Vzniká stabilní protein p53, který je imunohistochemicky detekovatelný v buňkách. Při mutaci genu TP53 nebo při jeho inaktivaci produkty okogenů dochází k nekontrolované proliferaci buněk s poškozenou DNA, tyto jsou geneticky méně stabilní, s akumulací mutací a chromozomálních změn. Výsledkem může být selekce maligních klonů buněk (13). Ve studii na sarkomech dělohy byla overexprese p53 nalezena u 63 % sarkomů a korelovala s celkovým přežitím (10, 16, 17).

c. Mdm-2

Mdm-2 (murine double minute 2) je onkogen původně identifikovaný v myším genomu,

Obr. 6. Demonstrace výsledků imunohistochemických analýz hladkosvalových nádorů děložních, převzato z publikace autorů Hewedi, et al. (18)



u člověka je lokalizován na chromozomu 12 a kóduje protein, který váže a inaktivuje produkt exprese genu TP53 a zabraňuje tak p53-dependentní zástavě buněčného cyklu nebo apoptóze. Overexprese mdm-2 proteinu má za následek inaktivaci nemutované formy p53 s biologicky ekvivalentním efektem jako jsou mutace TP53 genu, tedy nekontrolovanou proliferaci buněk s poškozenou DNA a selekci maligních klonů (13). Overexprese mdm-2 byla nalezena u 60 % sarkomů dělohy (10).

d. p16

Protein p16 je známý také jako CDKN2 a je inhibítozem cyklin-dependentních kináz. Gen pro p16 je lokalizován na chromozomu 9 a představuje jednu z nejčastěji alterovaných sekvencí u humánních malignit. Hraje klíčovou roli v regulaci G1 fáze buněčného cyklu (13).

Molekulární prognostické markery

V recentních studiích se objevuje protein asociovaný s cytoskeletem: ezrin. Ezrin se pravděpodobně účastní buněčné adheze, migrace, invaze a přežití buněk. Zvířecí modely a prospektivní humánní studie naznačují, že overexprese nebo deregulace exprese ezrinu může přispívat k metastatickému chování nádorů. Je tedy potenciálně možné, že overexprese nebo deregulace exprese ezrinu může přispívat k metastatickému chování nádorů. Byla nalezena silná

asociace mezi vysokou expresí ezrinu a vývojem metastáz a následným sníženým přežitím u sarkomů měkkých tkání (13, 17, 19).

Závěrem: prognostická imunohistochemie je pomocnou metodou. Je významným doplňkem konvenčních histopatologických metod. Využití imunohistochemických metod je jednak v průkazu leiomyocelární diferenciace nádoru (protilátky proti aktinu, desminu, H-caldesmonu) (9), dále existuje tzv. prognostická imunohistochemie. Ta využívá sady protilátek proti estrogenovým a progesteronovým receptorům, proteinům p16, p53 a stanovuje proliferační index Ki-67. Výsledkem současného stanovení těchto markerů je diagnóza tzv. benigního nebo maligního imunohistochemického profilu.

Tzv. benigní imunohistochemický profil (17) zahrnuje: vysokou expresi progesteronových receptorů, nízkou expresi p53, p16 a dále nízké hodnoty proliferačního indexu Ki-67 v rozmezí 0–25 % (s průměrnou hodnotou 2 %) (studie autorů Sung a Mills, 14, 15). Tedy leiomyomy jsou obvykle p16 negativní a exprese p53 a proliferační index jsou nízké (9). **Tzv. maligní imunohistochemický profil** má naopak nízkou expresi progesteronových receptorů, proliferační index Ki-67 s hodnotami 6–50 % (s průměrnou hodnotou 25 %) a overexpresi proteinů p16, p53 (14, 15). Pro leiomyosarkom tedy svědčí vysoká pozitivita p53, p16 a proliferační index Ki-67 nad 20 %. Byla prokázána statisticky významná

korelace proliferačního indexu Ki-67 s počtem mitotických figur a dále koreluje exprese p53 a p16 s histologickým grade leiomyosarkomu (7, 13, 14, 15, 18, 20).

Estrogenové a progesteronové receptory jsou přítomny u většiny leiomyomů, naopak u leiomyosarkomů je receptorová exprese nízká, obzvláště progesteronové receptory často zcela chybí (9, 18).

Imunohistochemický profil STUMP je mnohem bližší leiomyomům než leiomyosarkomům (9, 18). Dosud poznanými imunohistochemickými metodami se snažili autoři Ip a kol. (7) rozdělit skupinu STUMP na tzv. low-grade a high-grade subtypy. Jako high-grade léze byly vyselektovány STUMP se silnou pozitivitou pro overexpresi p53 a p16. Rozdíl v expresi receptorů nebyl zaznamenán. Studie uvedené skupiny autorů provedená v r. 2010 zahrnovala 16 případů histologicky označených jako STUMP.

Závěry těchto studií jsou zatíženy chybou plynoucí z malých počtů pozorování, chybí práce zabývající se touto problematikou ve statisticky významným počtu případů.

Terapie

Vzhledem k tomu, že hladkosvalové nádory děložní lze obtížně odlišit klinickým vyšetřením a pomocí zobrazovacích metod, a vzhledem k faktu, že téměř 100 % těchto lézí má definitivní histopatologickou diagnózu leiomyom, podstupují pacientky terapeutický algoritmus shodný s postupem pro děložní myomy. Většina myomů je asymptomatických a nevyžadují léčbu. Pokud je terapeutická intervence nutná, prvním rozhodovacím bodem je volba postupu zachovávajícího dělohu nebo nikoliv. U postupů zachovávajících dělohu se pak hovoří o konzervativním postupu v užším slova smyslu. Zahrnuje dispenzarizaci pacientek a medikamentózní léčbu. Farmakoterapie cílí jednak na vlastní myom (GnRH analogy, ulipristal-acetát: selektivní modulátor receptorů ovariálních steroidů), jednak na symptomy myomatózy (antianemika, hemostyptika, nesteroidní antiflogistika) (8, 9). Do konzervativních metod se ještě řadí embolizace uterinních arterií (UAE) pomocí metod intervenční radiologie (9).

Dominantní terapeutické postavení zastávají techniky chirurgické. Jejich rozsah se řídí věkem pacientky, symptomy, velikostí, počtem a lokalizací jednotlivých myomů a velikostí ev.

mobilitou dělohy. Zásadní pro volbu techniky je přání zachování fertility.

Diagnóza STUMP je stanovena pooperačně. Z pohledu onkogynekologického vyvstává otázka, zda je nutné rozšířit výkon o hysterektomii v druhé době tam, kde byla provedena myomektomie (zejména při užití morcelačních technik), či jiná dělohu šetřící operace (21). Odpověď na tuto otázku je zatím nejednoznačná vzhledem k nízkým počtům referovaných případů. Největší současnou studií s dlouhým follow-up, kde všechna histopatologická vyšetření provedl stejný tým lékařů, publikoval Guntupalli a kol. (22) v roce 2009. V této retrospektivní studii bylo zahrnuto 41 pacientek s průměrným věkem 43 let. 3 pacientky (7,3 %) měly recidivu v době následné péče. Jedna ze tří pacientek měla diagnostikovaný leiomyosarkom v tkáni domnělé recidivy. Průměrná doba do recidivy byla 42 měsíců. U všech byla primárně provedena hysterektomie. Recidiva se manifestovala přítomností pánevní tumorózní masy a mnohočetnými plicními uzly. Všechny pacientky podstoupily chirurgický výkon. Pacientka s nálezem leiomyosarkomu v tkáni domnělé recidivy podstoupila adjuvantní chemoterapii v režimu doxorubicin/cisplatina. Další pacientka dostávala pooperačně medroxyprogesteronacetát. V době publikace byly všechny pacientky zdravé. Žádná pacientka po myomektomii neměla recidivu. Z tohoto pozorování autoři postulují, že počty rekurencí ve skupině myomektomií a hysterektomií se neliší. Doporučují, aby byly pacientky sledovány na onkogynekologickém pracovišti v kratších než jednorozhodných intervalech (22).

Systematickou souhrnnou studii všech případů leiomyosarkomu a STUMP na svém pracovišti zveřejnil Joseph a kol. (23) v roce 2010. Průměrný věk pacientek byl 43 let. Podstoupily různá operační řešení, 6 pacientek mělo provedenou myomektomii, ostatní hysterektomii v různých modifikacích s či bez adnexektomií. Ve všech případech bylo 5leté přežívání 100 %, a zachyceny 2 případy recidiv v období od 6 do 12 měsíců od primární operace (jedna pacientka po otevřené myomektomii a druhá po hysterektomii s oboustrannou adnexektomií). Obě podstoupily extirpaci, histologický závěr souhlasil s původní diagnózou. Vzhledem k těmto výsledkům zaujalo pracoviště konzervativní přístup ke STUMP: dlouhodobý a frekventní dispenzární režim. Nebyl nalezen žádný významný

rozíl ve výsledcích dlouhodobého přežívání v souvislosti s rozsahem chirurgického výkonu (myomektomie versus hysterektomie) (23).

Studii se 16 pacientkami s diagnózou STUMP zveřejnil Ip a kol. v roce 2010 (7). Dvě pacientky měly primárně provedenou myomektomii, následně po stanovení diagnózy podstoupily hysterektomii, jedna pacientka byla pouze po myomektomii, zbylé pacientky měly jako primární výkon hysterektomii a oboustrannou adnexektomii. Ve všech případech se jednalo o makroskopicky dobře ohraničené tumory neodlišitelné od myomů, bez šíření mimo dělohu. U dvou pacientek (12,5 %) došlo k recidivě za 15 resp. 51 měsíců po operaci. Obě pacientky primárně podstoupily hysterektomii a recidiva se projevila nálezem rezistence v páni. Následovala chirurgická extirpace. Histopatologicky se jednalo o tkáň STUMP s mitotickým indexem 10–18 mf/10 HPF, obě pacientky podstoupily adjuvantní terapii (jedna radioterapii, druhá chemoterapii). V době publikace studie byly obě zdravé, bez recidivy 40 resp. 74 měsíců. Autoři doporučují využít imunohistochemické metody pro možné odlišení subvarianty STUMP s vyšší tendencí k recidivám (ztráta exprese receptorů pro progesteron, overexpresi p16, p53, vyšší indexy Ki-67) a přistupovat ke STUMP jako k low-grade malignitě s pozdními recidivami a dlouhodobým přežíváním (7).

Ostatní publikovaná sdělení jsou kazuistická s individuálním managementem, protože skupina STUMP je skupinou heterogenní s různým potenciálem k recidivě a metastazování. Kostopoulous (24) v roce 2011 publikoval kazuistiku 51leté pacientky s diagnózou STUMP po hysterektomii pro perzistující metroragii, za 36 měsíců pro symptomatické potíže identifikovaný plicní masu a i přes četné chirurgické intervence a 14 cyklů chemoterapie v různých režimech včetně užití bevacizumabu za 11 měsíců zemřela. Nelze ale vyloučit, že se původně mohlo jednat o leiomyosarkom.

Nejvíce racionální se jeví individuální přístup zohledňující mnoho aspektů: histopatologické rysy tkáně eventuálně doplněné o imunohistochemické metody, věk pacientky a jejího přání zachovat dělohu (resp. přání gravidity).

Diskuze

Hladkosvalové nádory děložní nejasného maligního potenciálu jsou vzácné. Pokud si před-

stavíme hladkosvalové nádory děložní jako jisté kontinuum ohraničené póly s definovaným biologickým chováním (leiomyom na straně benigní a leiomyosarkom na straně maligní), pak STUMP reprezentují šedou zónu s charakteristikami obou mezních entit. Složitý název této skupiny různých histologických typů a subtypů zaujímající téměř celý řádek vystihuje diskrepanci mezi morfologickým obrazem a výsledným biologickým chováním STUMP. Cílem této práce bylo přestavit možné prediktory biologického chování STUMP a na základě jejich analýzy postulovat klasifikační systém. Pomocí klasifikačního systému pak vystavět terapeutické a dispenzární režimy. Bohužel vzhledem k raritnosti diskutované diagnózy jsou závěry z revidovaných studií zatíženy chybou malých čísel a krátkou dobou pozorování. Proto musí klinické rozhodovací algoritmy zůstat na přísně individuální úrovni.

Z morfologických histopatologických rysů koreluje nejlépe přítomnost koagulačního typu nekrózy v hodnoceném preparátu s výslednou špatnou prognózou klinického vývoje onemocnění. Od imunohistochemických metod se očekávala pomoc v rozlišení skupiny STUMP na subtypy benigní a maligní. To se dosud poznávanými metodami nepodařilo. Význam imunohistochemických prediktorů spočívá v jasném oddělení morfologicky nejasných lézí na benigní non-sarkomatózní a maligní leiomyosarkomy. Jistou nadějí je výzkum molekulárního prediktoru ezrinu.

Závěr

Diagnóza STUMP je stanovena až pooperačně a představuje značné terapeutické dilema pro tým lékař – pacientka a to především v situaci, kdy si pacientka přeje zachovat fertilitu, resp. realizovat graviditu. V uvedených studovaných pramenech byla četnost recidiv po myomektomii shodná s těmi po hysterektomiích a nebyl nalezen žádný důkaz, že by například morcelační technika u myomektomie zvyšovala incidenci recidiv. Vzhledem k objasnění patogeneze onkogeneze nejsou žádné důkazy svědčící pro vývoj leiomyosarkomu z leiomyomu, není na místě úvaha o riziku malignizace myomů ošetřených farmakologicky či metodou interveční radiologie: selektivní embolizace uterinních arterií.

Z analýzy literárních zdrojů vyplývá, že je možné zaujmout ke STUMP konzervativní přístup, tedy dlouhodobý a frekventní dispenzární režim. Z klinických zkušeností vyplývá, že spíše

než o klinickou jednotku s definovatelným chováním se jedná o jednotku histopatologickou, pro kterou bylo třeba vytvořit široký název, do kterého lze zařadit ojedinělé hladkosvalové

nálezy (na základě popisných charakteristik tumor nesplňuje kritéria ani pro myom ani pro leiomyosarkom). Riziko recidivy je nízké, klinické chování příznivé. Pokud k recidivě dojde,

mívá charakter lokoregionální dobře přístupný extirpaci.

Tato práce byla podporována MZ ČR RVO (MOÚ, 00209805) a MŠMT-NPU I-LO1413.

LITERATURA

1. Ip PC, Tse KY, Tam KF. Uterine Smooth Muscle Tumors Other Than the Ordinary Leiomyomas and Leiomyosarcomas: A Review of Selected Variants With Emphasis on Recent Advances and Unusual Morphology That May Cause Concern for Malignancy. *Adv Anat Pathol*, 2010; 17: 91–112.
2. Kumar RJ, Hedrick E, et al. Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract. Springer. 6th edition 2011: 453–527.
3. Bednár B, et al. Patologie I. Praha: Avicenum, 1982: 33–44.
4. Kempson RL, Hendrickson MR. Smooth Muscle, Endometrial Stromal, and Mixed Muellerian Tumors of the Uterus. *Modern Pathology*, 1995; 13: 328–342.
5. Bell SW, Kempson RL, Hendrickson MR. Problematic Uterine Smooth Muscle Neoplasms. A clinicopathologic Study of 213 Cases. *Am J Surg Pathol*, 1994; 18: 535–558.
6. Robbins SL, Cotran R, Kumar V. Pathologic Basis of the Disease, W. B. Saunders company, 1974; 271: 1137.
7. Ip PC, Cheung ANY, Clement PB. Uterine Smooth Muscle Tumors of Uncertain Malignant Potential (STUMP). *Am J Surg Pathol*, 2009; 33: 992–1005.
8. Malpica A. Uterine Smooth Muscle Tumors that Nobody Wants to Talk About. XV Pathology Meeting of the A.C. Camargo Hospital, Departments of Pathology and Gynecologic Oncology, The University of Texas, U.S.A.
9. Mára Z, Holub Z, et al. Děložní myomy, moderní diagnostika a léčba. Praha: Grada Publishing, 2009: 13–54.
10. Chovanec J, Kalvodová J, Filková A, et al. Léčebné modalita a FIGO klasifikace u zhoubných mezenchymálních nádorů dělohy. Edukační sborník XI. Brněnské onkologické dny, Brno. 2011: 197–200.
11. O'Neill CJ, McBride HA, Connolly LE, et al. Uterine leiomyosarcomas are characterized by high p16, p53 and MIB1 expression in comparison with usual leiomyomas, leiomyoma variants and smooth muscle tumours of uncertain malignant potential. *Histopathology*, 2007; 50: 851–858.
12. Junquiera LC, Carneiro J, Kelley RO. Základy histologie. Jihočany: H&H, 1992: 200–203.
13. Veselý K. Prognostická imunohistochemie u sarkomů měkkých tkání. Dizertační práce. Brno, www.muni.cz, 2008: 12–64.
14. Suong CO, Ahn G, Song SY, et al. Atypical leiomyomas of the uterus with long-term follow-up after myomectomy with immunohistochemical analysis for p16INK 4A, p53, Ki-67, estrogen receptors, and progesterone receptors. *Int J Gynecol Pathol*, 2009; 28: 529–534.
15. Mills AM, Baltzer BL, Hendrickson MR, et al. Cell Cycle regulatory markers in uterine atypical leiomyoma and leiomyosarcoma: immunohistochemical study of 68 cases with clinical follow up. *Am J Surg Pathol*, 2013; 37: 634–642.
16. Vilos GA, Marks J, Ettler HC, et al. Uterine Smooth Muscle Tumors of Uncertain Malignant Potential: Diagnostic Challenges and Therapeutic Dilemmas. Report of 2 Cases and Review of the Literature. *The Journal of Minimally Invasive Gynecology*, 2012; 19: 288–294.
17. Tudor C, Te Riet J, Eich C, et al. Syntenin-1 and ezrin link Activated Leukocyte Cell Adhesion Molecule to the actin cytoskeleton. *J Biol Chem*. 2014: 1–10.
18. Hewedi IH, Nehal AR, Shash LS. Diagnostic value of progesterone receptor and p53 expression in uterine smooth muscle tumors. *Diagnostic Pathology*, 2012; 7: 1.
19. Parnell E, Yarwood SJ. Interactions between Epac1 and ezrin in the control of endothelial barrier function. *Biochem Soc Trans*. 2014; 42(2): 274–278.
20. Unver NU, Acikalin MF, Oner U, et al. Differential expression of p16 and p21 in benign and malignant uterine smooth muscle tumors. *Arch Gynecol Obstet*, 2011; 284: 483–490.
21. Giuntoli RL, Bristow RE. Nádory vycházející z hladké svaloviny děložní stěny, benigní, netypické a maligní. *Gynekologie po promoci*, 2006; 6: 16–23.
22. Guntupalli SR, Ramirez PT, Anderson ML, et al. Uterine smooth muscle tumor of uncertain malignant potential: A retrospective analysis. *Gynecol Oncol*. 2009; 113(3): 324–26.
23. Ng JSY, Han A, Chew SH, et al. A Clinicopathologic Study of Uterine Smooth Muscle Tumours of Uncertain Malignant Potential (STUMP). *Ann Acad Med Singapore* 2010; 39: 625–628.
24. Kostopoulos I, Barbetakis N, Asteriou Ch, et al. Uterine smooth muscle tumor of uncertain malignant potential: A rare cause of multiple pulmonary nodules. *Indian Journal of Medical and paediatric Oncology*, 2012; 33: 176–178.
25. Sborník kazuistik ESMYA, AT Mediprint, Praha, ISBN 975–80–905639–2-6.
26. Danska-Bidzinska A, Bakula-Zalewska E, Nsierowska-Guttmeier A, et al. Smooth muscle tumor of uncertain malignant potential (STUMP)-clinico-pathomorphological analysis of the cases and literature review. *Ginekol Pol*, 2012; 83: 412–416.
27. Viola P, Colasante A. Combined uterine smooth muscle tumour: a challenging case. *Pathologica*, 2012; 104: 193–197.