

©Borgis

\*Małgorzata Gajewska<sup>1</sup>, Mirosław Wielgoś<sup>1</sup>, Janina Marczevska<sup>2</sup>

## Ocena aktywności antygenu jądrowego Ki 67 w łagodnych, o granicznej złośliwości i w złośliwych guzach jajnika. Ocena wybranych czynników ryzyka raka jajnika

### Assessment of activity of nuclear antigen Ki 67 in benign, borderline and malignant tumors. Assessment of selected risk factors of ovarian cancer

<sup>1</sup> Katedra i Klinika Położnictwa i Ginekologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Kierownik Kliniki: prof. dr hab. med. Mirosław Wielgoś

<sup>2</sup> Katedra i Zakład Patomorfologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. med. Barbara Górnicka

#### Streszczenie

**Wstęp.** Nowotwory nabłonkowe jajnika są najliczniejszą grupą pierwotnych nowotworów żeńskiej gonady. Odpowiadają za 60% wszystkich guzów jajnika.

**Cel pracy.** Celem pracy była ocena wybranych czynników ryzyka raka jajnika oraz aktywności antygenu jądrowego Ki 67 w łagodnych, o granicznej złośliwości i w złośliwych guzach jajnika.

**Materiał i metody.** Do badania włączono 66 pacjentek z łagodnym guzem jajnika, o granicznej złośliwości i z rakiem jajnika. U chorych oceniano obecność endometriozy i stanu zapalnego, jako czynników ryzyka raka jajnika, oraz obecność antygenu Ki 67 jako markera proliferacji komórkowej.

**Wyniki.** Analiza statystyczna wykazała istotnie częstsze występowanie stanu zapalnego, endometriozy i martwicy w grupie kobiet z guzem granicznym w porównaniu do kobiet z gruczolakiem jajnika. Stwierdzono istotne różnice pomiędzy średnimi wartościami Ki 67 w badanych grupach pacjentek.

**Wnioski.** Oznaczanie Indeksu Proliferacji jest pomocnym narzędziem w diagnostyce nabłonkowych guzów jajnika.

Słowa kluczowe: gruczolak, guz o granicznej złośliwości, rak, jajnik, Ki 67

#### Summary

**Introduction.** The epithelial tumors of ovary are the largest group of primary neoplasms of ovary. They are responsible for the 60% of all ovarian tumors.

**Aim.** The aim of this study was the evaluation of risk factors of ovarian cancer and of activity of nuclear antigen Ki 67 in benign, borderline and malignant tumors.

**Materials and methods.** The study group included 66 patients with benign, borderline and malignant tumors of ovary. The presence of endometriosis and inflammation as risk factors of ovarian carcinoma and Ki 67 antigen as proliferative fraction of a tumor marker were evaluated.

**Results.** Significantly higher expression of inflammation, endometriosis and necrosis with patients with borderline tumors than patients with cystadenoma was obtained. It was found significant differences in Ki 67 antigen between all study groups.

**Conclusions.** Determination of Proliferative Index is a useful tool in diagnosis of epithelial ovarian tumors.

Key words: cystadenoma, borderline tumor, cancer, ovary, Ki 67

#### WSTĘP

Nowotwory nabłonkowe jajnika są najliczniejszą grupą pierwotnych nowotworów żeńskiej gonady. Odpowiadają za 60% wszystkich guzów jajnika (1). Zmiany łagodne stanowią około 56% wszystkich nowotworów

tej grupy, raki – 30%, 14% stanowią natomiast opisane po raz pierwszy przez Taylora w 1929 roku guzy o granicznym potencjale złośliwości (2).

Uważa się, że endometrioza i stan zapalny są czynnikami ryzyka raków jajnika typu I, lepiej zróżnicowanych,

o lepszym rokowaniu, które mogą powstawać w ogniskach endometriozy, ale też z samego endometrium czy z komórek gruczolowych kanału szyjki (3). Podkreśla się dzisiaj, że zarówno raki typu I, jak i II (niskoźródnicowane, prawdopodobnie wywodzące się z nabłonka jajowodu) są nowotworami wtórnymi w jajniku (4). Dużo miejsca poświęca się w literaturze roli uwolnionego z hemolizowanych komórek żelaza, które jest odpowiedzialne za stres oksydacyjny i powstawanie wolnych rodników, działających mutagennie (5). Ma to być przyczyną powstawania przede wszystkim agresywnych nowotworów surowicznych, ale zjawisko to może również zachodzić w torbielach endometrialnych (4).

**Odsetek proliferujących komórek (Indeks Proliferacji) mówi nam o potencjale złośliwości guza. Antygen jądrowy Ki 67 jest białkiem występującym tylko w komórkach dzielących się w aktywnych fazach cyklu komórkowego (G<sub>1</sub>, S, G<sub>2</sub>, M) (6). Zatem oznaczenie jego dostarcza nam istotnych informacji na temat aktywności mitotycznej nowotworu.** Wprawdzie mówi nam o ilości komórek aktualnie dzielących się, ale nic nie mówi na temat fazy cyklu, w której aktualnie znajduje się komórka (7). Niestety w odniesieniu do guzów jajnika nie dysponujemy wartością progową indeksu proliferacji (IP) Ki 67, powyżej której można mówić o guzie złośliwym, co byłoby pomocne przy trudnościach w ocenie mikroskopowej guzów o granicznym stopniu złośliwości. Pomimo szerokich zakresów wartości IP zarówno dla guzów łagodnych, granicznych, jak i złośliwych, czynione są mimo to próby wykorzystania tego markera w diagnostyce guzów jajnika.

#### CEL PRACY

Celem pracy była ocena wybranych czynników ryzyka raka jajnika oraz aktywności antygenu jądrowego Ki 67 w łagodnych, o granicznej złośliwości i w złośliwych guzach jajnika.

#### MATERIAŁ I METODY

Do badania włączono 66 pacjentek z łagodnym guzem jajnika, o granicznej złośliwości i z rakiem jajnika. Wszystkie pacjentki były operowane w I Klinice Położnictwa i Ginekologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w latach 2008-2011.

Decyzję co do zakresu operacji podejmowano, po wcześniejszej rozmowie z pacjentką, na podstawie badania doraźnego guza.

**Pierwszą grupę stanowiło 20 kobiet** w wieku 34-79 lat (śr. 60,3 ± 10,35) z gruczolakiem jajnika. U 1 z nich (5%), 34-letniej pacjentki, usunięto jednostronnie przydatki wraz z guzem, u pozostałych 19 (95%) kobiet usunięto macicę z przydatkami. U 6 kobiet (30%) stwierdzono obustronne występowanie zmian.

**Drugą grupę stanowiło 16 pacjentek** w wieku 22-83 lat (śr. 57,06 ± 18,02) z guzem granicznym jajnika. U 12 pacjentek wycięto macicę z przydatkami i sieć. U 3 kobiet przed 40 rokiem życia usunięto przydatki po jednej stronie oraz sieć. U 1 pacjentki, 83-letniej kobie-

ty, po uzyskaniu wyniku badania śródoperacyjnego, ze względu na liczne obciążenia internistyczne oraz zrosty po przebytych operacjach usunięto obustronnie przydatki wraz z siecią. U 2 pacjentek stwierdzono obustronne występowanie zmian.

**Trzecią grupę – z rakiem jajnika, stanowiło 30 pacjentek** w wieku 41-82 lat (śr. 60,56 ± 10,28). U 24 kobiet (80%) przeprowadzono pierwotną operację cytoredukcyjną. W przypadku śródoperacyjnie stwierdzanych zmian ograniczonych do narządu rodniego usuwano macicę z przydatkami, sieć, wykonano biopsję węzłów chłonnych biodrowo-miednicowych, pobrano liczne wycinki z otrzewnej oraz płyn do badania cytologicznego. W przypadkach wyższego zaawansowania nowotworu usuwano macicę z przydatkami, sieć i wykonywano optymalną cytoredukcję. U 6 (20%) kobiet ze względu na brak możliwości przeprowadzenia optymalnej operacji pierwotnej, zabieg ograniczono do jednostronnego usunięcia przydatków z guzem (5 pacjentek) lub pobrania wycinków (1 pacjentka). U 14 (46,7%) chorych stwierdzono pierwszy stopień klinicznego zaawansowania raka jajnika, u 2 (6,6%) – II stopień, u 14 (46,7%) – III. U dwóch chorych rozpoznano współwystępowanie wysokozródnicowanego gruczolakoraka endometrioidalnego jajnika i endometrium.

Ze względu na obustronne występowanie zmian do analizy włączono 18 guzów w grupie kobiet ze zmianami o granicznej złośliwości oraz 26 guzów u kobiet z gruczolakiem jajnika. W grupie chorych z rakiem jajnika, ze względu na częste zaawansowanie procesu nowotworowego oraz brak możliwości przeprowadzenia pierwotnej operacji u wszystkich pacjentek, badano tkanki jednego (większego) jajnika.

Ocena mikroskopowa guzów obejmowała typ histopatologiczny nowotworu. U chorych z guzami łagodnymi i o granicznej złośliwości oceniano obecność endometriozy i stanu zapalnego jako czynników ryzyka nowotworu złośliwego oraz obecność obrzęku i martwicy – obrazów najczęściej stwierdzanych w przypadku procesu złośliwego.

Materiał operacyjny do badań histopatologicznych był utrwalany w 10% zbuforowanej formalinie. W zależności od wielkości guza pobierano od 3 do 6 wycinków. Skrawki grubości 4 mikronów barwiono hematoksyliną z eozyną i mucykarminem oraz poddano badaniu immunohistochemicznemu.

Ocena stopnia złośliwości nowotworów została ustalona na podstawie ich cech morfologicznych i cytologicznych rekomendowanych przez WHO.

Obecność antygenu jądrowego Ki 67 badano, wykorzystując przeciwciała monoklonalne MIB-1. Reakcję przeprowadzano na odparafinowanych skrawkach w sposób rutynowy. Pod uwagę brano pola o największej ilości komórek z wyraźnie zabarwionym jądrem komórkowym. Analizy uzyskanych rezultatów dokonano według metody zaproponowanej przez Hsu Ch i wsp. (8). Wyniki podawano w procentach. Analizę statystyczną przeprowadzono, wykorzystując testy t-Studenta, test Manna-Whitneya oraz Fishera.

## WYNIKI

Zanalizowano typ histologiczny guzów jajnika. W grupach kobiet z gruczolakami jajnika i o granicznej złośliwości stwierdzono wyłącznie typ surowiczy i śluzowy nowotworu. U chorych z rakiem jajnika najczęściej występował typ surowiczy i endometrialny (tab. 1).

Tabela 1. Ocena histopatologiczna guzów w badanych grupach.

Typ histopatologiczny guza	Gruczolak n (%)	Guz graniczny n (%)	Rak n (%)
Surowiczy	20 (77)	14 (78)	12 (40)
Śluzowy	6 (23)	4 (22)	2 (6,7)
Typ szyjkowy	6	3	1
Typ jelitowy	–	1	1
Endometrialny	–	–	9 (30)
Jasnokomórkowy	–	–	3 (10)
Transitional	–	–	1 (3,3)
Złośliwy guz Brennera	–	–	1 (3,3)
Anaplastyczny	–	–	2 (6,7)

W gruczolakach i w guzach o granicznej złośliwości oceniono występowanie endometriozy, stanu zapalnego, obrzęku i martwicy, jako niekorzystnych czynników w procesie karcinogenezy. U żadnej kobiety ze zmianą łagodną nie stwierdzono obecności endometriozy i martwicy. Wśród chorych z granicznymi guzami jajnika najczęściej stwierdzano cechy stanu zapalnego i z podobną częstością obraz obrzęku i martwicy. Analiza statystyczna wykazała istotnie częstsze występowanie stanu zapalnego, endometriozy i martwicy w grupie kobiet z guzem granicznym w porównaniu do kobiet z gruczolakiem jajnika (tab. 2).

Tabela 2. Występowanie obrzęku, zapalenia, endometriozy i martwicy w gruczolakach jajnika i w guzach granicznych.

	Gruczolak n (%)	Guz graniczny n (%)	p
Obrzęk	14 (54)	12 (67)	ns
Zapalenie	5 (19)	15 (83)	< 0,0001
Endometrioza	–	4 (22)	< 0,05
Martwica	–	12 (67)	< 0,0001

Oceniono obecność antygenu proliferacji komórkowej (Ki 67). Średnie wartości Ki 67 dla grupy kobiet z gruczolakiem jajnika (n = 26) wyniosły  $0,2 \pm 0,14$  (zakres 0,05-0,65), dla guzów granicznych (n = 18) –  $1,15 \pm 1,13$  (zakres 0,16-4,62), dla raków (n = 30) –  $11,74 \pm 8,19$  (zakres 0,49-30,86). Analiza statystyczna wykazała, że istnieją wyraźne różnice średniej wartości Ki 67

między analizowanymi grupami. Dla wszystkich par p jest znacznie mniejsze niż 0,05 (tab. 3).

Zbadano korelację pomiędzy średnią wartością Ki 67 a typem histologicznym guza w trzech badanych grupach.

W grupie kobiet z gruczolakiem jajnika średnie wartości Ki 67 dla guzów surowicznych wyniosły 0,12, a dla śluzowych 0,34. Różnica ta jest istotna statystycznie (p = 0,019).

Podobnie, w grupie kobiet z guzem granicznym jajnika średnie wartości Ki 67 dla guzów surowicznych wyniosły 0,86, a dla śluzowych 2,43. Różnica ta również jest istotna statystycznie (p = 0,029).

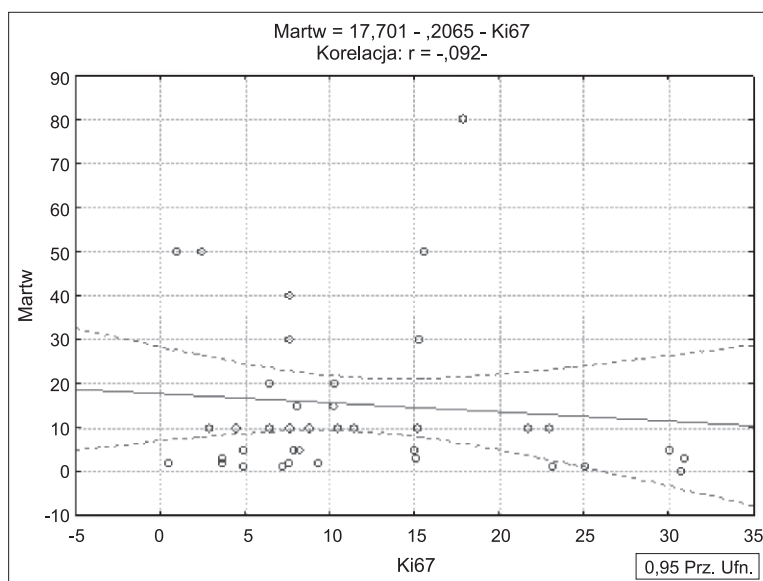
W grupie kobiet z rakiem jajnika zbadano, czy w dwóch najczęściej występujących podgrupach (rak surowiczy i endometrialny), istnieje istotna statystycznie zależność pomiędzy typem histologicznym nowotworu a średnią wartością Ki 67. Nie uzyskano istotnej statystycznie różnicy (12,76 vs 9,82; p = 0,28). Kolejno zbadano zależność pomiędzy średnią wartością Ki 67 a stopniem zaawansowania klinicznego. Nie uzyskano istotnych statystycznie różnic pomiędzy średnimi wartościami Ki 67 u chorych pomiędzy I i II a III stopniem zaawansowania nowotworu (9,5 vs 12,41; p = 0,33). Zbadano, czy istnieje istotna statystycznie zależność pomiędzy średnią wartością Ki 67 a stopniem zróżnicowania histopatologicznego nowotworu. Nie uzyskano istotnych statystycznie różnic pomiędzy średnimi wartościami Ki 67 u chorych ze stopniem zróżnicowania G<sub>1</sub> i G<sub>2</sub> a G<sub>3</sub> raka jajnika (10,41 vs 14,2; p = 0,16). Zbadano obecność korelacji pomiędzy rozległością martwicy w tkankach guza a wartością Ki 67 dla pacjentek z rakiem jajnika. Analiza statystyczna wykazała, że współczynnik korelacji wynosi -0,091978, co świadczy o braku korelacji między oboma parametrami (ryc. 1).

## DYSKUSJA I WNIOSKI

Pomimo wieloletnich badań i doświadczeń, poglądy na genезę raka jajnika wciąż ulegają zmianom. Obowiązujący dzisiaj dualistyczny model powstawania tego nowotworu wciąż podtrzymuje teorię, jakoby mniej agresywne raki powstawały na drodze: guz łagodny-o granicznej złośliwości-rak. Tak rozwijają się raki jajnika należące do typu I, rozpoznawane we wcześniejszych stadiach i o lepszym rokowaniu. W modelu tym prekursorami raka endometrioidalnego i jasnokomórkowego mogą być ogniska endometriozy (3). Wiadomo, że ogniska endometriozy związane są z lokalną reakcją zapalną. Pobudzone komórki układu immunologicznego, poprzez wytwarzanie cytokin i czynników wzrostu promują angiogenezę, proliferację komórkową, inwazję, przerzuty oraz powstawanie aktywnych form tlenu,

Tabela 3. Porównanie Indeksu Proliferacji w trzech grupach badanych.

Typ	Średnia	Średnia	t	df	p
Rak-gruczolak	11,74	0,201	7,298118	65	0,000000
Rak-graniczny	11,74	1,15	5,432702	56	0,000001
Graniczny-gruczolak	1,15	0,20	4,332708	43	0,000087



Ryc. 1. Ocena korelacji pomiędzy rozległością martwicy w tkankach guza a wartością Ki 67 u chorych z rakiem jajnika.

działających mutagennie (4). W przedstawionym przez nas opracowaniu istotnie częściej obserwowaliśmy obecność endometriozy i stanu zapalnego w guzach o granicznej złośliwości w porównaniu do łagodnych gruczolaków. Wu i wsp. (9) twierdzą, że ogniska ektopowego endometrium są 100 razy bardziej wrażliwe na działanie interleukiny 1, której działanie skutkuje wzrostem prostaglandyny E2, która to przyczynia się do wzrostu guza, proliferacji komórkowej, angiogenezy i zahamowania apoptozy.

**W przedstawionym przez nas badaniu oceniano odsetek intensywnie proliferujących komórek, wyrażony Indeks Proliferacji. Średnie wartości Ki 67 różniły się istotnie pomiędzy trzema badanymi grupami. Najwyższe były w grupie kobiet z rakiem jajnika, najniższe z guzem łagodnym i jest to zgodne z wynikami uzyskanymi przez innych autorów (7, 10-13).** Badanie aktywności proliferacyjnej guza powinno nam dostarczać obiektywnych danych co do złośliwego charakteru guza. Jednak biorąc pod uwagę zakres uzyskanych wartości Ki 67 w trzech grupach, należy zauważyć ich dużą rozpiętość i brak sztywnych granic dla guzów łagodnych, o granicznej złośliwości i złośliwych. Frigerio i wsp. (13) badając nabłonkowe guzy jajnika, wprowadzili punkt odcięcia 0,99 i 4,99 pomiędzy guzami łagodnymi, granicznymi i rakami, uzyskując zgodność z badaniem mikroskopowym w zakresie 70-84%. Zdarza się, że badanie histopatologiczne nabłonkowego guza jajnika jest trudne do interpretacji i rozróżnienie guza granicznej złośliwości od raka pomimo obowiązujących kryteriów dostarcza wielu problemów. Oznaczenie w takich sytuacjach MIB-1 jest pomocnym narzędziem w diagnostyce, nawet przy braku wartości granicznych pomiędzy guzami o niewielkim potencjale złośliwości a rakami.

Zaskakująca jest wyższa średnia wartość Ki 67 dla łagodnych i granicznych guzów śluzowych w porównaniu z guzami surowiczymi. Wyższe wartości Ki 67

dla śluzowych guzów granicznych uzyskali również Nakayama i wsp. (14). Pomimo że różnice te są istotne statystycznie, trudno jest odpowiedzieć na pytanie, czy ma to istotne znaczenie w procesie karcinogenezy. Wyjaśnienie tego zagadnienia wymaga dalszych badań na większej grupie pacjentek.

Interesujące jest, że nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy średnimi wartościami Ki 67 w grupie kobiet z rakiem surowiczym i endometrialnym jajnika. Brak istotnych różnic Ki 67 pomiędzy poszczególnymi typami histologicznymi raka jajnika uzyskali również Layfield i wsp. (6). Aijun i wsp. (7) natomiast stwierdzili istotnie wyższe MIB-1 dla raka endometrialnego jajnika.

Nie uzyskano istotnych statystycznie zależności pomiędzy Indeks Proliferacji a stopniem klinicznego zaawansowania oraz stopniem zróżnicowania histologicznego, co jest zgodne z obserwacjami innych autorów (6, 7, 11). Może to sugerować, że w jednym z mechanizmów karcinogenezy raka jajnika, w momencie pojawienia się destrukcyjnej inwazji w guzie granicznym, dochodzi do nasilenia aktywności proliferacyjnej nowotworu, która pozostaje później na stałym poziomie i nie zmienia się wraz z postępem choroby (7).

Ciekawa wydaje się obserwacja Garzetti i wsp. (11), którzy uzyskali istotnie wyższe średnie wartości Ki 67 u chorych pacjentek z nawrotem raka jajnika, w porównaniu do chorych żyjących bez choroby. Podobne wyniki uzyskali Layfield i wsp. (6). Chore w stadium zaawansowania III i IV raka jajnika z  $IP \geq 15\%$  miały istotnie krótsze przeżycia od chorych z  $IP < 15\%$ . Oznaczenie zatem IP wydaje się istotnym czynnikiem prognostycznym raka jajnika.

## PODSUMOWANIE

**Podsumowując**, istotne różnice średnich wartości antygenu proliferacji komórkowej w guzach łagodnych, o granicznej złośliwości i w rakach jajnika stwierdzono

w naszym badaniu oraz w licznych innych opracowaniach. Wyższy IP w guzach złośliwych może wyjaśniać monoklonalną ewolucję nowotworu (7). Warto również wspomnieć, że analizując grupy guz łagodny-graniczny-rak, badamy ścieżkę karcinogenezy

raków typu I. Z drugiej strony, jeżeli istnieją wątpliwości w diagnostyce histopatologicznej, to zwykle właśnie w tej grupie nowotworów i tutaj pomocnym narzędziem wydaje się oznaczanie Indeksu Proliferacji.

## PIŚMIENNICTWO

1. Bręborowicz J, Bręborowicz D: Patologia nowotworów jajnika wywodzących się z nabłonka pokrywającego i z podścieliska. [W:] Markowska J (red.): Ginekologia Onkologiczna. Wydawnictwo Urban & Partner, t. 2, Wrocław 2006; 856-866.
2. Fauvet R, Dufournet Ch, Poncelet Ch et al.: Expression of proapoptotic (p53, p21, bax, bak and fas) and anti-apoptotic (bcl-2, and bcl-x) protein in serous versus mucinous borderline ovarian tumors. *J Surg Oncol* 2005; 92: 337-343.
3. Nowak-Markwitz E, Spaczyński M: Rak jajnika – nowe spojrzenie na histogenezę i pochodzenie. *Gin Pol* 2012; 83: 454-457.
4. Munksgaard PS, Blaakaer J: The association between endometriosis and ovarian cancer: A review of histological, genetic and molecular alteration. *Gynecol Oncol* 2012; 124: 164-169.
5. Maccio A, Madeddu C: Inflammation and ovarian cancer. *Cytokine* 2012; 58: 133-147.
6. Layfield LJ, Saria E, Berchuck A et al.: Prognostic value of MIB-1 in advanced ovarian carcinoma as determined using automated immunohistochemistry and quantitative image analysis. *J Surg Oncol* 1997; 66: 230-237.
7. Aijun L, Lezhen Ch, Ngan H et al.: Apoptotic and proliferative activity in ovarian benign, borderline and malignant tumors. *Chin Med Sci J* 2002; 17: 106-111.
8. Hsu Ch-Y, Ming-Tak Ho D, Jang Ch-F, Chiang H: Interobserver reproducibility of MIB-1 Labeling Index in astrocytic tumors using different counting methods. *Modern Pathology* 2003; 16: 951-957.
9. Wu MH, Wang CA, Lin CC et al.: Distinct regulation of cyclooxygenase-2 by interleukin-1 beta in normal and endometriotic stromal cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 286-295.
10. Sylvia MT, Kumar S, Dasari P: The expression of immunohistochemical markers estrogen receptor, progesterone receptor, Her-2-neu, p53 and Ki 67 in epithelial ovarian tumors and its correlation with clinicopathologic variables. *Indian J Pathol Microbiol* 2012; 55: 33-37.
11. Garzetti GG, Ciavattini A, Goteri G et al.: Ki 67 antigen immunostaining (MIB-1 monoclonal antibody) in serous ovarian tumors: index of proliferative activity with prognostic significance. *Gynecol Oncol* 1995; 56: 169-174.
12. Huettner PH, Weinberg DS, Lage J: Assessment of proliferative activity in ovarian neoplasm by flow and static cytometry. *Am J Pathol* 1992; 141: 699-706.
13. Frigerio L, Agnello A, Sassi I et al.: Adjuvant role of MIB-1 in differentiating serous ovarian tumors – preliminary report. *Anticancer Research* 1997; 17: 1287-1292.
14. Nakayama K, Takebayashi Y, Hata K et al.: The proliferative activity of ovarian tumors of low malignant potential differs from that of ovarian carcinoma. *Anticancer Research* 2003; 23: 4657-4662.

otrzymano/received: 24.04.2013  
zaakceptowano/accepted: 05.06.2013

Adres/address:  
\*Małgorzata Gajewska  
I Katedra i Klinika Położnictwa i Ginekologii WUM  
Pl. Starynkiewicza 1/3, 02-015 Warszawa  
tel.: +48 (22) 502-14-30  
e-mail: ma.gajewska@gmail.com