

Determination of diagnostic value of selected immunohistochemical tests in patients with uterine corpus sarcoma and their therapeutic and prognostic usefulness

Określenie wartości diagnostycznej wybranych badań

immunohistochemicznych u chorych na mięsaki macicy w aspekcie ich przydatności terapeutycznej i prognostycznej

Определение диагностической величины избранных иммуногистохимических исследований больных страдающих саркомой матки в отношении их терапевтической и prognostической пригодности

¹ Klinika Nowotworów Narządów Płciowych Kobięcych, Centrum Onkologii – Instytut im Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie.

Kierownik Kliniki: doc. dr hab. n. med. Mariusz Bidziński

² Zakład Patomorfologii CSK MSWiA w Warszawie

Correspondence to: Klinika Nowotworów Narządów Płciowych Kobięcych, Centrum Onkologii – Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie w Warszawie, ul. Roentgena 5, 02-781 Warszawa, e-mail: jonska@wp.pl

Praca finansowana przez Komitet Badań Naukowych w ramach projektu badawczego nr 2PO5E 07 026

Summary

Uterine sarcomas represent a rare and heterogenous group of tumours, sometimes demonstrating multidirectional differentiation. Histological type of the sarcoma influences the choice of therapeutic modality. **Aim of paper:** Determination of diagnostic value of selected immunohistochemical studies (MIB1, caldesmon, desmin, SMA, SrMa, CKAE1/3) in the definition of histological type of tumour. Assessment of expression of the protein c-kit (CD117) MIB1 and inhibin and their prognostic role. **Material and method:** Study material consisted of a group of patients with uterine sarcoma, treated at the Center of Oncology in Warsaw, Poland, since 1999 thru 2006, from whom surgical specimens and paraffin blocks were obtained. Of 120 eligible patients, complete clinical data and specimens suitable for foreseen studies were available in 66 cases and this group became the subject of further analyses. Immunohistochemical (IHC) tests were performed using a panel of antibodies (SMA, SrMa, desmin, h-caldesmon, CD10, CKAE, MIB1, inhibin and CD117). Diagnostic value of IHC studies was assessed by descriptive statistical tests. Original histopathological findings were confronted with the results of validated IHC tests. Survival was assessed based on Kaplan-Meier curves and follow-up time – by an inverse Kaplan-Meier curve. Prognostic factors were analysed by the Cox method. Threshold of statistical significance has been set at $p=0.05$. **Results:** Original microscopic findings have had to be modified as to histological type of sarcoma in about 1/3 of the cases. Histological diagnosis was an independent prognostic factor, influencing both overall survival rate and time to tumour recurrence. Prognostic factors influencing recurrence-free survival were: invasion of perivascular lymph space (lymph space invasion, LSD), proliferative index (MB1) and severity of tumour cell necrosis. **Conclusions:** Application of a panel of suitable IHC tests contributes to a more precise determination of tumour type, assisting in an optimal choice of adjuvant treatment modality and thus in improvement of the patients' prognosis.

Key words: corpus uteri sarcoma, diagnosis, markers, immunohistochemistry, treatment

Streszczenie

Mięsaki macicy stanowią rzadko występującą, heterogenną grupę nowotworów, wykazującą niekiedy wielokierunkowe różnicowanie. Typ histopatologiczny mięsaka ma wpływ na wybór metody leczenia. **Cel:** Określenie przydatności diagnostycznej wybranych badań immunohistochemicznych (MIB1, kaldesmon, desmina, SMA, SrMa, CKAE1/3) w ocenie typu histopatologicznego. Ocena ekspresji białka c-kit (CD117),

MIB1, oraz inhibiny w aspekcie przydatności prognostycznej. **Materiał i metoda:** Materiał badawczy stanowiła grupa chorych na mięsaki macicy leczonych w Centrum Onkologii – Instytucie im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie w latach 1999-2006, od których uzyskano preparaty i bloczki parafinowe. Spośród 120 chorych pełne dane kliniczne i preparaty nadające się do zastosowania badań uzyskano od 66 chorych, która to grupa stała się przedmiotem analizy. Wykonano badania immunohistochemiczne z użyciem panelu przeciwciał: SMA, SrMa, desmina, h-kaldesmon, CD10, CKAЕ, MIB1, inhibina oraz CD117. Do oceny wartości diagnostycznej badań immunohistochemicznych (IHC) zastosowano statystykę opisową. Zestawiono wynik pierwotnego badania histopatologicznego z wynikiem zweryfikowanym badaniami IHC. Do oceny przeżycia zastosowano krzywą Kaplana-Meiera, czas obserwacji mierzono odwrotną metodą Kaplana-Meiera. Do analizy czynników predykcyjnych zastosowano metodę Coksa. Istotność statystyczną określono na poziomie $p=0,05$. **Wyniki:** W stosunku do rozpoznania pierwotnego typ histopatologiczny mięsaków został zmieniony w około 1/3 przypadków. Rozpoznanie histopatologiczne okazało się niezależnym czynnikiem rokowniczym mającym wpływ zarówno na przeżycie ogólne, jak i czas do nawrotu choroby. Czynnikiem rokowniczym w aspekcie przeżycia bez nawrotu choroby okazały się: zajęcie naczyniowej przestrzeni chłonnej (LSD), indeks proliferacyjny (MIB1), oraz stopień martwicy w komórkach guza. **Wnioski:** Zastosowanie panelu odpowiednich badań immunohistochemicznych ma wpływ na precyzyjne określenie charakteru guza, co niesie za sobą wybór odpowiedniej metody leczenia uzupełniającego, a tym samym, być może poprawę rokowania.

Słowa kluczowe: mięsaki macicy, diagnostyka, markery, immunohistochemia, leczenie

Содержание

Саркома матки относится к категории редко встречающейся гетерогенной группе новообразований, которая иногда проявляет тенденцию к дифференциации во многих направлениях. Одновременно гистопатологический тип саркомы влияет на избрание метода лечения. **Цель работы:** Определение диагностической пригодности избранных иммуногистохимических исследований (MIB1, кальдесмон, десмина, SMA, SrMa, ЦКАЕ1/3) при оценке гистопатологического типа. Оценка выразительности белка ц-кит (CD117), MIB1, а также Ингибина относительно прогностической пригодности. **Материал и метод:** Исследуемый материал составляла группа больных страдающих саркомой матки, которые лечились в Центре Онкологии Института им. Марии Склодовской-Кюри в Варшаве в течение 1999-2006 гг., от которых были получены препараты и парафиновые блоки. Из состава 120 больных, полные клинические данные и препараты пригодные для применения во время исследования, получены от 66 больных. Именно эта группа являлась предметом исследования. Были проведены иммуногистохимические исследования с применением списка противтел: SMA, SrMa, десмина, г-кальдесмон, ИД10, ЦКАЕ, MIB1, Ингибина, а также CD117. Для оценки диагностического значения иммуногистохимических исследований применялась описательная статистика. Сопоставлялись результаты первого гистопатологического исследования и проверенные иммуногистохимическими исследованиями. Для оценки продолжительности жизни применялась кривая Каплана-Мейера, время наблюдения в обратном направлении метода Каплана-Мейера. Для анализа прогностических факторов применялся метод Кокса. Статистическая существенность оценивалась на уровне $p=0,05$. **Результаты:** В сравнении с первичным распознаванием гистопатологический тип саркомы изменился в около одной третьей рассматриваемых случаев. Оказалось, что независимыми прогностическими факторами имеющими влияние как на общий период продолжительности жизни, так и на период до возобновления болезни, являются гистопатологические распознавания. Прогностическими факторами относительно продолжительности жизни без возобновления болезни оказались: объятие сосудистой лимфатической поверхности, пролиферационный индекс (MIB1), а также степень некроза в клетках опухоли. **Выводы:** Применение списка соответствующих иммуногистохимических исследований влияет на точное определение характера опухоли, что в свою очередь тесно связано с избранием соответствующего метода дополнительного лечения, а тем самым с улучшением распознавания.

Ключевые слова: саркома матки, диагностика, маркеры, иммуногистохимия, лечение

INTRODUCTION

Corpus uteri sarcoma constitute about 1-2% of all gynecological malignancies. This is a highly heterogenous group of tumours of mesenchymal origin, associated with a variable clinical course and differing in diagnostic criteria from other soft-tissue sar-

WSTĘP

Mięsaki trzonu macicy stanowią około 1-2% wszystkich nowotworów ginekologicznych. Tworzą one niejednorodną grupę nowotworów pochodzenia mezenchymalnego, która charakteryzuje się odmiennym przebiegiem klinicznym i kryteriami dia-

comas. They may demonstrate mono- or multidirectional differentiation towards uterine or extrauterine tissue types. On histogenetic grounds, they may be subdivided into 3 principal subgroups: 1) tumours originating in endometrial stroma (uterine mucosa), 2) tumours originating in myometrium (uterine smooth muscle) and 3) mixed tumours containing both epithelial and mesenchymal component. Due to low incidence rate and heterogeneity of this nosologic entity, it constitutes a difficult clinical problem, because collection of an adequate number of patients presenting with this condition and their complete diagnostic work-up is extremely difficult. To-date, no optimal diagnostic and therapeutic management guidelines have been developed and overall prognosis in corpus uteri sarcoma is grim.

From the clinical point of view, determination of histological type and degree of maturity of mesenchymal tumours in this location is of paramount importance. Muscular and stromal tumours of endometrial origin presenting a typical morphological appearance usually do not pose diagnostic problems and their histological evaluation is usually based on routine hematoxylin-eosin staining (HE). Nevertheless, there are cases with an equivocal microscopic appearance, which require implementation of additional techniques to determine their histogenesis. Problematic tumours of muscular origin include myoma variants and the so-called Sarcoma Trunci Uteri of Uncertain Malignant Potential (STUMP). Lack of cellular atypia and coagulation necrosis, even with elevated (up to 20) mitotic figures per high-power field, is consistent with a benign tumour type. Additional molecular studies of suppressor genes (*p21*, *p16*, *TP53*, *NM23*) or immunohistochemical tests (MIB1, TP53 and progesterone receptors) are useful in the differentiation of these tumour types.

Difficult problems are tumours with an atypical microscopic appearance, which require differentiation among tumours of muscular, stromal and endometrial origin. They include stromal tumours presenting features of smooth muscle or striated muscle metaplasia, foci of adipose tissue, bizarre cells and areas of hyaline degeneration. Another example of diagnostic problems is to differentiate a benign stromal tumour and epithelioid myoma or non-differentiated stromal sarcoma and highly malignant myosarcoma. Such cases require implementation of immunohistochemical studies using a panel of antibodies, typical for muscular differentiation, e.g. smooth muscle actin, desmin, sarcomeric myoglobin, h-caldesmon and CD10, a marker of stromal endometrial cells. Clinically useful is the assessment of tumour proliferative activity, expressed by its mitotic index Ki-67, determined by immunohistochemical technique using MIB1 antibodies.

Histological type of a mesenchymal tumour of corpus uteri, confirmed by molecular studies and assessment of cellular immunohistochemical markers is an impor-

gnostycznymi niż mięsaki tkanek miękkich. Mogą one wykazywać różnicowanie jedno- lub wielokierunkowe z tkanek typowych dla narządu lub występujących poza nim. Pod względem histogenezy dzielą się na trzy podstawowe grupy: 1) nowotwory z podścieliska błony śluzowej trzonu macicy, 2) guzy z mięśni gładkich, 3) nowotwory o mieszanej budowie złożonej z komponenty nabłonkowej i mezenchymalnej. Ze względu na niską zachorowalność oraz heterogenność grupy stanowią trudny problem kliniczny, ponieważ zebranie odpowiedniej liczby chorych z tym typem nowotworu oraz przeprowadzenie badania klinicznego jest niezwykle trudne. Do tej pory nie opracowano optymalnej metody postępowania diagnostycznego i terapeutycznego, dlatego rokowanie w mięsach macicy pozostaje niekorzystne. Z klinicznego punktu widzenia bardzo istotne jest określenie typu histologicznego i stopnia dojrzałości nowotworu mezenchymalnego trzonu macicy. Guzy pochodzenia mięśniowego i podścieliskowego, wywodzące się z endometrium o typowym obrazie morfologicznym, nie sprawiają problemów diagnostycznych, a ich rozpoznanie histopatologiczne zwykle opiera się na rutynowym barwieniu hematoksyliną i eozyną. Istnieją jednak przypadki o niejednoznacznym utkaniu mikroskopowym, wymagające zastosowania dodatkowych metod umożliwiających określenie ich histogenezy. Do problematycznych guzów pochodzenia mięśniowego należą histologiczne warianty mięśniaków oraz mięśniaki o nieokreślonym potencjale złośliwości (STUMP). Brak atypii komórkowej i martwicy skrzepowej, nawet przy wzroście liczby figur podziału do 20 w polu widzenia, przemawia za łagodnym charakterem guza. Dodatkowe badania molekularne genów supresorowych, takich jak *p21*, *p16*, *TP53*, *NM23*, lub immunohistochemiczne MIB1, TP53 i receptorów progesteronowych przydatne są w różnicowaniu wymienionych typów nowotworów.

Inną grupą są guzy o nietypowym obrazie mikroskopowym wymagające różnicowania między nowotworami pochodzenia mięśniowego i podścieliskowego z endometrium. Zalicza się do nich nowotwory podścieliskowe z obecnością metaplastji gładko- lub prążkowanego mięśniowej, występowaniem ognisk tkanki tłuszczowej, komórek monstualnych (*bizarre*) lub pól szkliwienia. Kolejnym przykładem trudności diagnostycznych jest odróżnienie łagodnego guzka podścieliskowego od mięśniaka epitelioidnego lub niezróżnicowanego mięsaka podścieliskowego od wysoko złośliwego mięśniakomięsaka. W tych przypadkach zalecane jest wykonanie badań immunohistochemicznych z użyciem panelu przeciwciał, typowych dla różnicowania mięśniowego, takich jak aktywna mięśni gładkich, desmina, mioglobina sarkomeryczna, h-kaldesmon, oraz CD10, marker komórek guzów podścieliskowych endometrium macicy. Przydatna klinicznie ocena aktywności proliferacyjnej guza (wyrażona indeksem mitotycznym Ki-67) jest badana metodą immunohistochemiczną z użyciem przeciwciała MIB1.

tant prognostic factor, enabling classification of patients in particular groups depending on expected survival and selection of treatment modality.

Techniques of molecular studies introduced in the recent years have made it possible to determine several factors, which may prove extremely useful in the determination of risk groups for recurrence of uterine sarcoma. This in turn may help to develop a suitable algorithm, assisting in qualification of patients for supplementing surgical treatment.

MATERIAL

Study material consisted of 79 out of 120 patients with uterine sarcomas, treated at the M. Curie-Skłodowska Institute of Oncology in Warsaw, Poland, since 1999 thru 2006, who provided surgical specimens and paraffin blocks. Due to lack of complete clinical data or limitations associated with inability to perform a particular immunohistochemical study because of damaged paraffin block or incorrect fixation technique used, final analysis encompassed 66 preparations. Analysed were histological preparations stained with hematoxylin-eosin of primary tumours and, in the case of dissemination or recurrence, also preparations of metastatic foci. Immunohistochemical studies were performed using a panel of antibodies SMA (smooth muscle actin), SrMa (sarcomeric actin), desmin, h-caldesmon (assessing muscular component) and CKAE1/3 (assessing epithelial component), as well as MIB1 (assessing proliferative activity) and CD10 (assessing muscular and epithelial component combined), inhibin and CD117.

Faced with a subjectivism bias of assessment of microvessels density as high in a few cases only, where smooth-muscle actin stained vessel walls, later in the course of the study this staining technique was abandoned. We relied on studies considered more objective and thus representing a greater diagnostic value.

Microscopic appearance and immunohistochemical studies enabled a precise determination of tumour type. Histopathological diagnoses included:

1. Tumours of muscular origin were encountered in 18 cases: epithelioid or myxoid myoma (n=4) and myosarcoma (n=14). Initial study revealed 1 case of myoma and 38 cases of leiomyosarcoma.
2. Tumours of endometrial stromal origin were diagnosed in 14 cases: low-grade stromal sarcomas (n=8) and non-differentiated sarcomas (n=6). Initial study revealed low-grade stromal sarcomas (n=14), which have been confirmed later, while non-differentiated sarcomas have not been confirmed.
3. Mixed tumours were diagnosed in 34 cases: 24 myosarcomas/stromal tumours and 10 malignant mixed mesodermal tumours. At first microscopic study, malignant mixed mesodermal tumours were diagnosed in 13 cases.

Typ histologiczny guza mezenchymalnego trzonu macicy poparty badaniami molekularnymi oraz immunohistochemicznymi markerów komórkowych jest czynnikiem rokowniczym, który pozwala przeprowadzić podział chorych na grupy w zależności od prognozowanego przeżycia i wyboru metody leczenia.

Zastosowane w ostatnich latach metody badań molekularnych stworzyły perspektywę oznaczania wielu czynników, których ocena może być bardzo przydatna dla opracowania grup ryzyka nawrotu mięsaków macicy. To z kolei pomoże wypracować właściwy algorytm, na podstawie którego chore będą kwalifikowane do leczenia uzupełniającego chirurgię.

MATERIAŁ

Materiał badawczy stanowiła grupa 79 ze 120 chorych na mięsaki macicy, leczonych w Centrum Onkologii – Instytucie im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie w latach 1999-2006, od których otrzymano preparaty i bloczki parafinowe. Ze względu na braki w dostępności do pełnych danych klinicznych lub ograniczenia wynikające z braku możliwości przeprowadzenia określonego badania immunohistochemicznego z powodu uszkodzenia bloczka parafinowego czy niepoprawne utrwalenie, ostatecznej analizie poddano 66 preparatów. Oceniono preparaty histopatologiczne zabarwione hematoksyliną i eozyną guzów pierwotnych, a w przypadkach rozsiewu lub wznów, również preparaty z ich guzów przerzutowych. Wykonano badania immunohistochemiczne z użyciem następującego panelu przeciwciał: SMA (aktywna mięśni gładkich), SrMa (aktywna sarkomeryczna), desmina, h-kaldesmon, oceniających komponent mięśniowy, CKAE1/3, oceniających komponent nabłonkowy, jak również MIB-1, w celu oceny aktywności proliferacyjnej, CD10 dla oceny komponentu mięśniowego i nabłonkowego, oraz inhibina i CD117.

Wobec subiektywizmu wyników badania gęstości mikronaczyń, od kontynuacji jej oznaczania odstąpiono, aby uniknąć błędów w interpretacji. Oparto się na badaniach uznanych za bardziej obiektywne, a tym samym prezentujących wyższą wartość diagnostyczną. Obraz mikroskopowy wraz z badaniami immunohistochemicznymi pozwolił na ustalenie dokładnego rozpoznania typów nowotworów. Wśród rozpoznań histopatologicznych były następujące utkania:

1. Guzy pochodzenia mięśniowego stwierdzono w 18 przypadkach (4 mięśniaki epitelioidne lub myksoidne, oraz 14 mięsakiomięśniaków). W badaniu pierwotnym 1 przypadek mięśniaka i 38 przypadków mięsakiomięśniaka.
2. Guzy pochodzące z podścieliska endometrium potwierdzono w 14 przypadkach: 8 mięsaków podścieliskowych o niskiej złośliwości oraz 6 mięsaków nieodróżnicowanych. W badaniu pierwotnym mięsaki podścieliskowe o niskiej złośliwości potwier-

In all cases, the diagnosis of muscular tumours was confirmed by a strong and uniformly distributed positive reaction to h-caldesmon, SMA, desmin, while reaction to CD10 was negative in 16 cases and weakly and focally positive in 2 cases.

Among stromal tumours, positive reaction to CD10 and negative reaction to the other markers has been confirmed in 8 cases.

Focal muscular differentiation was noticed in 3 cases and a differentiation towards germinal cord was noticed in 1 case. In the remaining 3 cases, all stromal and muscular markers were negative and final diagnosis was made based on microscopic appearance.

A comparison of original results of microscopic studies with those verified by IHC tests is presented in the table 1.

Presented data indicate, that original diagnosis of leiomyoma has been confirmed by IHC tests. When the original diagnosis was carcinosarcoma, subsequent IHC studies confirmed this in 69.2%, while in 30.8% original diagnosis was modified to leiomyosarcoma/sarcoma stromale. Also in the case of leiomyosarcoma, original diagnosis was confirmed in 32.1% of cases, while the remaining were changed to leiomyoma (5.3%), sarcoma non-differentiatum (10.5%), leiomyosarcoma stromale (42.1%) and sarcoma stromale (7.9%). Primary

dzono w 14 przypadkach, mięsaków nie zróżnicowanych nie potwierdzono.

- Guzy mieszane rozpoznano w 34 przypadkach: 24 miesakomięśniaki/guzy podścieliskowe oraz 10 złośliwych guzów mieszanych mezodermalnych. Pierwotnie złośliwe guzy mieszane mezodermalne rozpoznano w 13 przypadkach.

Rozpoznanie guzów mięśniowych we wszystkich przypadkach potwierdziły silna i jednolicie rozlana reakcja dodatnia na h-caldesmon, SMA, desminę oraz ujemna reakcja na CD10 w 16 przypadkach, słaba i ogniskowo dodatnia reakcja na CD10 w 2 przypadkach.

Wśród guzów podścieliskowych dodatkowa reakcja na CD10 przy ujemnej na pozostałe markery stwierdzona była w 8 przypadkach.

W kolejnych 3 przypadkach stwierdzono ogniskowe różnicowanie mięśniowe, a w 1 – w kierunku guzów sznurów płciowych. W pozostałych 3 przypadkach wszystkie markery podścieliskowe i mięśniowe były ujemne, a o rozpoznaniu zadecydował obraz mikroskopowy.

Zestawienie pierwotnego badania histopatologicznego z wynikiem zweryfikowanym badaniami IHC przedstawia tabela 1.

Jak wynika z przedstawionych danych, pierwotne rozpoznanie *leiomyoma* potwierdziło się w trakcie przeprowadzania badań IHC.

Verified histopathologic diagnosis <i>Zweryfikowany wynik badania histopatologicznego</i>	Original histopathologic result of microscopic study <i>Pierwotny wynik badania histopatologicznego</i>				Total <i>Razem</i>
	1 Sarcoma stromale	2 Leiomyosarcoma	3 Leiomyoma	6 Carcinosarcoma	
1 Sarcoma stromale	5 35.7%	3 7.9%			8 12.1%
2 Leiomyosarcoma	1 7.1%	13 34.2%			14 21.2%
3 Leiomyoma	1 7.1%	2 5.3%	1 100.0%		4 6.1%
5 Sarcoma non-differentiatum	2 14.3%	4 10.5%			6 9.1%
6 Carcinosarcoma	1 7.1%			9 69.2%	10 15.2%
10 Leiomyosarcoma/ sarcoma stromale	4 28.6%	16 42.1%		4 30.8%	24 36.4%
Total <i>Razem</i>	14 100.0%	38 100.0%	1 100.0%	13 100.0%	66 100.0%

Table 1. Comparison of results of original histopathological diagnoses based in microscopic findings with results verified by IHC studies

Tabela 1. Porównanie pierwotnego wyniku badania histopatologicznego z wynikiem zweryfikowanym badaniami IHC

diagnosis of sarcoma stromale was confirmed by IHC studies in 35.7%, while in 14.3% the tests revealed sarcoma non-differentiatum and in 28.6% – leiomyosarcoma/sarcoma non-differentiatum.

Upon performance of IHC studies, original diagnosis of histological type of sarcoma was changed in about 1/3 of cases, which might have influenced the type of therapy and prognosis.

STATISTICAL ANALYSIS

Diagnostic value of IHC studies has been evaluated using descriptive statistics. Results of original microscopic studies were compared with those verified by IHC studies. Microscopic appearance and IHC studies enabled a precise determination of tumour type.

Prognostic value of IHC studies was evaluated based on survival curves and time to disease recurrence. Survival time was calculated from surgery to death of whatever cause. Recurrence-free survival was calculated from surgery to first recurrence or death. Survival was assessed using the Kaplan-Meier curves⁽¹⁾ and follow-up time – using the inverse Kaplan-Meier technique⁽²⁾. Due to small sample size, analysis of prognostic factors was performed by stages. In the first stage, univariate analysis was performed, using the log-rank test. Analysis included the following potential prognostic factors: SMA, h-caldesmon, desmin, SrMa, CKAE1/3, MIB1, CD10, CD117, necrosis. In the second stage, the Cox proportional hazards model⁽³⁾ was adjusted based on selected prognostic factors, e.g. FIGO clinical stage, histological grade, number of mitoses, presence of necrotic foci and lymphatic space invasion (LSI). The model was adjusted by stepwise elimination of variables, adopting $p=0.05$ and $p=0.1$ as inclusion and exclusion values, respectively. After adjustment, the model was used for analysis of predictive independence of value of variables, whose predictive value has been first confirmed by unidimensional analysis. Assumptions about proportional risk functions were verified by graphic method. For all tests performed, the threshold of statistical significance was set at $p=0.05$.

RESULTS

Median follow-up time was 58 months. Curves of overall survival and recurrence-free survival are presented at tables 1 and 2. Calculated 5-years' and 10-years' survival rates were 42% and 36%, respectively. Recurrence-free survival for the entire patient population analysed is presented in the fig. 2.

Results of univariate and multivariate analysis of predictive factors are presented in table 2.

Risk of death associated with the diagnosis of carcinosarcoma turned out to be 5-fold higher than the

W przypadku pierwotnego rozpoznania *carcinosarcoma* w trakcie przeprowadzonych badań IHC wyniki te potwierdziły się w 69,2% przypadków, w 30,8% przypadków rozpoznanie pierwotne zmieniono na *leiomyosarcoma/sarcoma stromale*.

Również w przypadku rozpoznania *leiomyosarcoma* wyniki pierwotne potwierdziły się w 32,1% przypadków, pozostałe zostały zmienione na *leiomyoma* (5,3%), *sarcoma non-differentiatum* (10,5%), *leiomyosarcoma/sarcoma stromale* (42,1%), *sarcoma stromale* (7,9%).

Pierwotne rozpoznanie *sarcoma stromale* potwierdzono w trakcie badań IHC w 35,7%, w 14,3% potwierdzono *sarcoma non-differentiatum*, w 28,6% *leiomyosarcoma/sarcoma non-differentiatum*.

Po przeprowadzeniu badań immunohistochemicznych pierwotne rozpoznanie typu histologicznego mięsaka uległo zmianie w około 1/3 przypadków, co mogło mieć wpływ na rodzaj zastosowanej terapii i rokowanie.

METODY STATYSTYCZNE

Do oceny wartości diagnostycznej badań immunohistochemicznych (IHC) zastosowano statystykę opisową. Zestawiono wynik pierwotnego badania histopatologicznego z wynikiem zweryfikowanym badaniami IHC. Obraz mikroskopowy wraz z badaniami immunohistochemicznymi pozwolił na ustalenie dokładnego rozpoznania typów nowotworów.

Dla oceny wartości predykcyjnej badań IHC zastosowano analizę przeżycia oraz przeżycia do nawrotu choroby. Czas przeżycia liczono od operacji do zgonu z jakiegokolwiek powodu. Czas przeżycia bez nawrotu choroby mierzono od operacji do pierwszego nawrotu lub zgonu. Czas przeżycia oceniono metodą Kaplana-Meiera⁽¹⁾, a czas obserwacji – odwrotną metodą Kaplana-Meiera⁽²⁾. Ze względu na małą liczebność grupy analizę czynników predykcyjnych przeprowadzono etapowo. W pierwszym etapie przeprowadzono analizę jednoczynnikową, w której posłużono się testem log-rank. Do analizy włączono następujące potencjalne czynniki predykcyjne: SMA, h-kaldesmon, desmina, SrMa, CKAE1/3, MIB-1, CD10, CD117, martwica. W drugim etapie dopasowano model proporcjonalnego ryzyka Coksa⁽³⁾ w oparciu o wybrane czynniki prognostyczne, takie jak stopień klinicznego zaawansowania FIGO, typ histopatologiczny, liczba mitoz, występowanie pól martwicy oraz LSI (inwazja przestrzeni chłonnej). Model dopasowano metodą krokowej eliminacji zmiennych, dla warunku włączenia i wyłączenia odpowiednio: $p=0,05$ i $p=0,1$. Po dopasowaniu model posłużył do analizy niezależności predykcyjnej wartości zmiennych, których wartość predykcyjną stwierdzono na podstawie analizy jednowymiarowej. Założenie o proporcjonalności funkcji ryzyka weryfikowano metodą graficzną. Dla wszystkich testów przyjęto poziom istotności statystycznej równy 0,05.

equivalent mean risk for other histological types. Nevertheless, it appears that in view of dichotomic subdivision of diagnoses in two groups (carcinosarcoma vs. others), this results may be somewhat biased, as the sarcoma heading includes three very different groups of sarcomas. This kind of analysis would require a greater number of patients. Survival curves depicting these relationships are presented in the figures 3 and 4.

Multivariate analysis revealed a significant correlation between risk of death and a positive reaction to h-caldesmon and CD117, and between risk of recurrence (and death) and a positive reaction to h-caldesmon and CKAE1/3.

Positive result of IHC test for h-caldesmon was associated with a 5-fold higher risk of death, directly proportional to intensity of reaction. In the case of CD117, relative risk for lack of reaction was 5-fold lower than for it's presence. Also, a statistically significant influence on overall survival and recurrence-free survival, both in univariate and in multivariate analysis, was found for CKAE1/3. For the CKAE1/3 test, relative risk for lack of reaction was 9-fold higher than for it's occurrence.

Positive reaction to MIB1 is an expression of proliferative activity and in most cases is associated with an unfavourable prognosis. An analysis of the present material revealed statistical significance of MIB1 only

WYNIKI

Mediana czasu obserwacji wynosiła 58 miesięcy. Krzywe przeżycia i przeżycia bez nawrotu choroby przedstawiono na rysunkach 1 i 2. Odpowiednie pięcioletnie i dziesięcioletnie przeżycie wyniosło odpowiednio 42% i 36%. Podobnie przeżycie bez nawrotu choroby wyniosło 31% i 18%. Przeżycie bez nawrotu choroby dla całej grupy przedstawia rysunek 2.

Wyniki jednowariantowej i wielowariantowej analizy czynników predykcyjnych zawarte są w tabeli 2.

Ryzyko zgonu dla rozpoznania histopatologicznego *carcinosarcoma* okazało się pięciokrotnie wyższe niż odpowiednie średnie ryzyko dla innych typów histopatologicznych. Jednak wydaje się, że wobec podziału rozpoznai na dwie grupy (*carcinosarcoma* i inne) wynik może być nieco zafałszowany, ponieważ w przypadku mięsaków wyróżnia się trzy odmienne grupy tych nowotworów. Przeprowadzenie tej analizy wymaga nieco większych grup badanych. Krzywe przeżycia prezentujące powyższe zależności zawarte są na rysunkach 3 i 4. W analizie wieloczynnikowej istotny wpływ na ryzyko zgonu stwierdzono dla przypadków, w których wykazano reakcję na h-caldesmon i CD117, a na ryzyko nawrotu (lub zgonu) dla przypadków, w których wykazano reakcję na h-caldesmonu i CKAE1/3.

Variable Zmienna	Overall survival Przeżycie		Recurrence-free survival Przeżycie bez nawrotu	
	log-rank	Cox	log-rank	Cox
FIGO	n.s.	n.s.	0.024	n.s.
Histopathologic finding – carcinosarcoma <i>Histopatologia – carcinosarcoma</i>	<0.001	0.001	0.001	n.s.
Invasion of lymphatic vessels <i>Inwazja przestrzeni naczyń chłonnych</i>	n.s.	n.s.	0.009	0.031
SMA	0.007	n.s.	0.021	
h-caldesmon <i>h-kaldesmon</i>	0.014	0.046	0.038	0.038
CKAE1/3	<0.001	n.s.	<0.006	0.009
MIB1	n.s.		0.014	n.s.
CD117	<0.001	0.001	0.002	n.s.
Tumour cell necrosis <i>Obecność martwicy</i>	0.015	n.s.	0.005	n.s.
n.s. – non-significant <i>n.s. – brak istotności statystycznej</i>				

Table 2. Analysis of prognostic factors

Tabela 2. Analiza czynników predykcyjnych

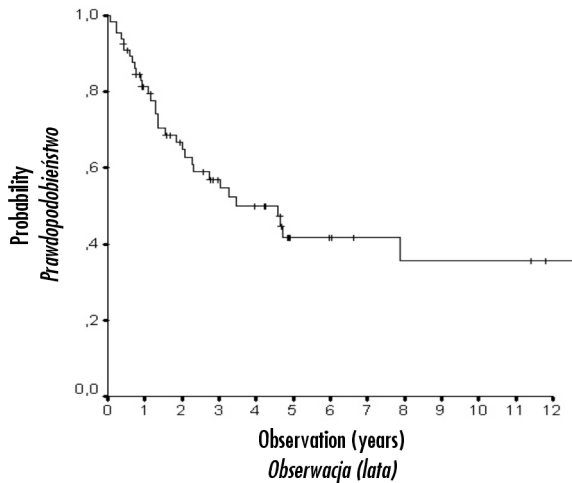


Fig. 1. Probability of overall survival for the entire group
Rys. 1. Prawdopodobieństwo przeżycia całkowitego dla całej grupy

at univariate analysis related to recurrence-free survival (log-rank test 0.014) (fig. 3).

In the present material, tumour necrosis turned out to statistically significant only at univariate analysis, both related to overall survival (log-rank test 0.015) and recurrence-free survival (log-rank test 0.005).

The above-mentioned correlations are presented in figures 6 and 7.

Invasion of perivascular lymphatic space (LSI) turned out a prognostically significant factor worth mentioning. An analysis of the present material revealed a statistically significant influence on recurrence-free survival, but not on overall survival, what might have fundamental clinical implications in the aspect of choice of adjuvant therapy. This correlation is presented in figure 8.

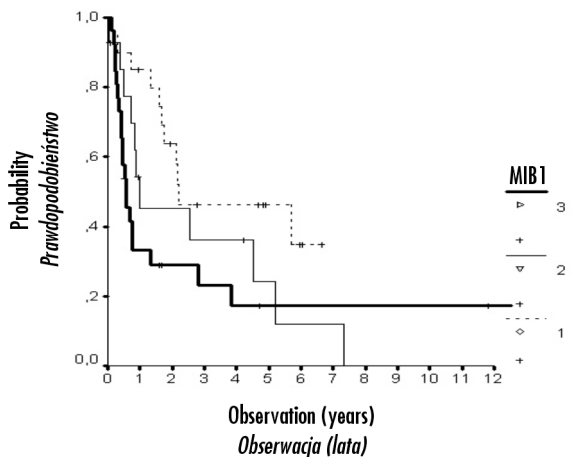


Fig. 3. Overall survival curve for the histopathological type carcinosarcoma

Rys. 3. Krzywa przeżycia całkowitego dla typu histopatologicznego carcinosarcoma

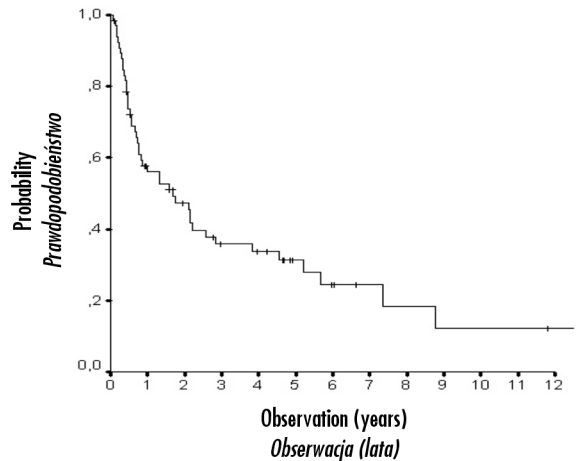


Fig. 2. Probability of recurrence-free survival for the entire group

Rys. 2. Prawdopodobieństwo przeżycia do nawrotu choroby dla całej grupy

Dla badania IHC na h-kaldesmon wykazano pięciokrotny wzrost ryzyka zgonu wraz ze wzrostem reakcji. W przypadku badania na CD117 ryzyko względne braku reakcji jest pięciokrotnie niższe niż ryzyko względne wystąpienia reakcji. Również istotny statystycznie wpływ na przeżycie całkowite i bez nawrotu choroby zarówno w analizie jedno-, jak i wielowariantowej wykazała reakcja na CKAE1/3. Dla badania CKAE1/3 ryzyko względne dla braku reakcji jest aż dziesięciokrotnie niższe niż dla wystąpienia reakcji.

Dodatnia reakcja na MIB1 jest wyrazem aktywności proliferacyjnej i w większości przypadków rokuje niekorzystnie. W wyniku analizy obecnego materiału istotność statystyczna MIB1 została wykazana jedynie w analizie jednoczynnikowej w aspekcie czasu wolnego od nawrotu choroby (test log-rank 0,014) (rys. 3).

W obecnie analizowanym materiale martwica guza okazała się istotna statystycznie jedynie w wyniku ana-

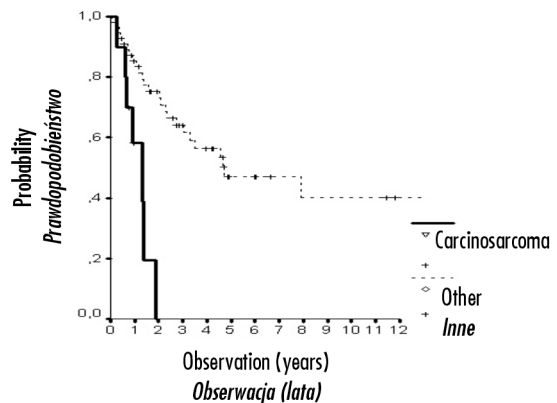


Fig. 4. Survival curve for recurrence-free survival for the histopathological type carcinosarcoma

Rys. 4. Krzywa przeżycia bez nawrotu choroby dla typu histopatologicznego carcinosarcoma

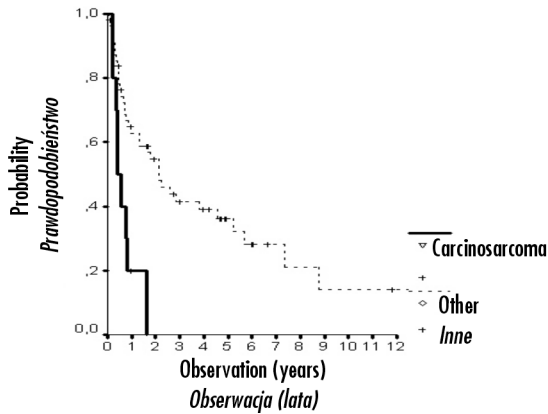


Fig. 5. Recurrence-free survival curves depending on MIB1 reaction

Rys. 5. Krzywe przeżycia bez nawrotu choroby w zależności od reakcji na MIB1

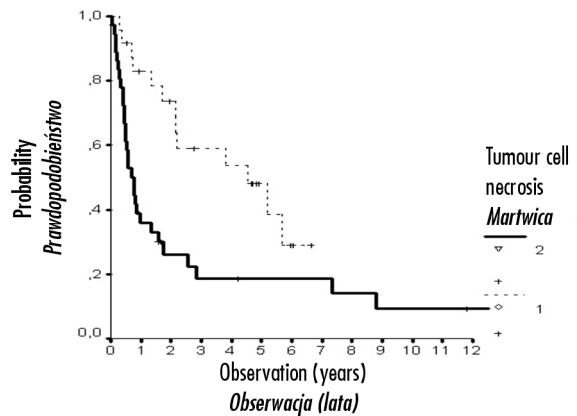


Fig. 6. Recurrence-free survival curve depending on presence of necrosis in tumour cells

Rys. 6. Krzywa przeżycia do nawrotu choroby w zależności od martwicy stwierdzanej w komórkach guza

SUMMARY OF RESULTS

1. Additional IHC studies resulted in modification of original microscopic diagnosis of histological type of tumour in about 30% of cases.
2. Tumour type carcinosarcoma turned out a highly significant independent and unfavourable prognostic factor ($p=0.001$).
3. Presence of tumour cell necrosis is an unfavourable prognostic factor, although in the present material this was confirmed by univariate analysis only.
4. Lymphatic space invasion is a significant prognostic factor in the aspect of time to disease recurrence.

DISCUSSION

Uterine sarcomas are rarely occurring malignancies. They constitute about 1-3% of all gynaecological neoplasms^(4,5). Due to heterogeneity of the group and low

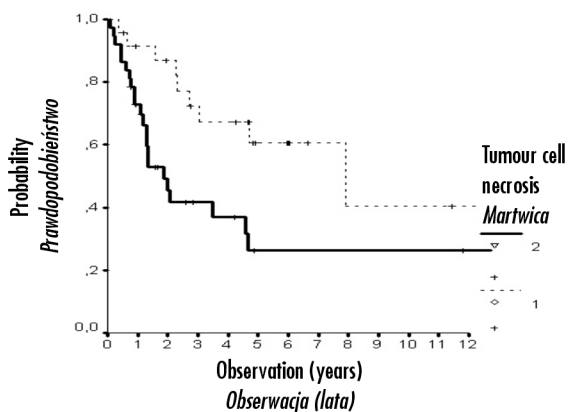


Fig. 7. Overall survival curve depending on presence of necrosis in tumour cells

Rys. 7. Krzywa przeżycia całkowitego w zależności od martwicy stwierdzanej w komórkach guza

lizi jednowariantowej zarówno w aspekcie wpływu na przeżycie całkowite (test log-rank 0,015), jak i na przeżycie bez nawrotu choroby (test log-rank 0,005). Ilustracje powyższej zależności przedstawiają rysunki 6 i 7.

Istotnym czynnikiem rokowniczym, na który należy zwrócić uwagę, jest inwazja naczyniowej przestrzeni chłonnej. W obecnie analizowanej pracy wykazała ona istotny statystycznie wpływ na przeżycie bez nawrotu choroby, natomiast nie na przeżycie całkowite, co może mieć istotne znaczenie kliniczne w aspekcie doboru leczenia uzupełniającego. Powyższą zależność przedstawia rysunek 8.

PODSUMOWANIE WYNIKÓW

1. Po przeprowadzeniu dodatkowych badań immunohistochemicznych rozpoznanie typu histopatologicznego guza uległo zmianie w około 30% przypadków.

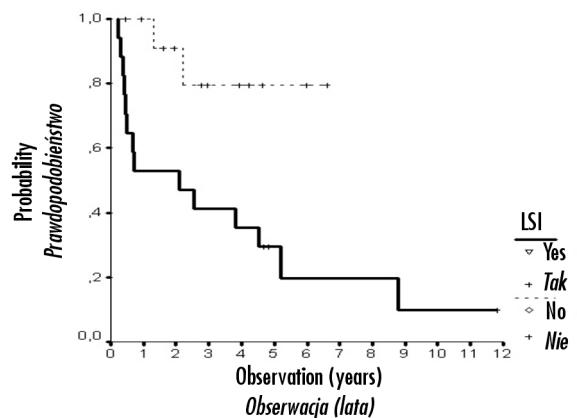


Fig. 8. Recurrence-free survival depending on invasion of lymphatic perivascular space by tumour cells

Rys. 8. Krzywa przeżycia do nawrotu choroby w zależności od inwazji chłonnej przestrzeni naczyniowej stwierdzanej w komórkach guza

incidence, they constitute a difficult clinical problem in the aspect of development of appropriate protocols of therapeutic management. These tumours are still associated with a very unfavourable prognosis^(4,6-9), therefore every effort should be made to improve survival in this patient population. From the clinical point of view, a key issue is determination of histological type and degree of maturity of a mesenchymal tumour of corpus uteri. Endometrial tumours of muscular and stromal origin with a typical morphological appearance, do not pose diagnostic problem and determination of their histopathological type is usually based on a routine hematoxylin-eosin staining. However, there are cases presenting an ambiguous microscopic appearance, which require additional methods to establish their histogenesis^(6,10-18). Concerning uterine sarcomas, the main problem is that without additional studies histopathological diagnosis may be incorrect, consequently leading to implementation of treatment modality inadequate for the particular tumour type. Upon additional ICH studies, original histopathologic diagnosis has had to be modified in about 30% of the cases.

The dimension of this issue is fundamental; therefore one of main aims of the present study was to try to develop an algorithm of IHC studies necessary for a precise histopathological diagnosis. In most cases, tumours have a complex structure; we focused our attention on additional prognostic factors, which should be taken into account when choosing a protocol of a surgery-supplementing adjuvant treatment^(5,8,9,12,19). In our material, one of the key unfavourable factors turned out to be histopathological type of tumour. Histopathological types were subdivided into 2 groups: proper sarcomas and sarcomas with an admixture of epithelial component. Analysis revealed that cases where a malignant mixed mesodermal tumour were associated with a least favourable prognosis. This is confirmed by the results of other authors^(7,8,20). In the paper by Chauveinc et al.⁽⁴⁾, the authors conclude that the least favourable are leiomyosarcoma cases. This indicated the necessity to include much more patients in the analysis and further studies to fully elucidate the issue.

A statistically significant prognostic factor influencing recurrence-free survival is invasion of lymphatic vessels. Published papers⁽⁷⁾ frequently quote this prognostic factor, also associated with overall survival. In our material, such a correlation did not occur. Neither was seen any such correlation in the paper by Randi et al.⁽¹⁸⁾ Degree of local invasion is also quoted as one of the key prognostic factors⁽⁷⁾. In our material, faced with other analysed factors associated with recurrence-free survival, this was statistically significant in univariate analysis only. There are papers putting in doubt this correlation⁽¹⁸⁾. Due to sample size, patients have been subdivided into 2 subgroups: early clinical stage (I+II) and late clinical stage (III+IV). Presence of necrosis in the material analysed

2. Typ histologiczny *carcinosarcoma* okazał się niezależnym, niekorzystnym czynnikiem rokowniczym ($p=0,001$).
3. Obecność martwicy w komórkach guza jest niekorzystnym czynnikiem rokowniczym, chociaż w obecnym materiale została potwierdzona jedynie w wyniku analizy jednowariantowej.
4. Istotnym czynnikiem rokowniczym okazała się inwazja chłonnej przestrzeni naczyniowej w aspekcie czasu do nawrotu choroby.

OMÓWIENIE

Mięsaki macicy są nowotworami występującymi rzadko. Stanowią około 1-3% wszystkich nowotworów ginekologicznych^(4,5). Ze względu na heterogenność grupy oraz niską zachorowalność stanowią trudny problem kliniczny w aspekcie opracowania odpowiednich schematów postępowania terapeutycznego. Są to nowotwory, których rokowanie w dalszym ciągu pozostaje niekorzystne^(4,6-9), dlatego należy dołożyć wszelkich starań, by uzyskać poprawę przeżyć w tym typie nowotworu. Z klinicznego punktu widzenia bardzo istotne jest określenie typu histologicznego i stopnia dojrzałości nowotworu mezenchymalnego trzonu macicy. Guzy pochodzenia mięśniowego i podścieliskowego, wywodzące się z endometrium o typowym obrazie morfologicznym, nie sprawiają problemów diagnostycznych, a ich rozpoznanie histopatologiczne zwykle opiera się na rutynowym barwieniu hematoksyliną i eozyną. Istnieją jednak przypadki o niejednoznacznym utkaniu mikroskopowym, wymagające zastosowania dodatkowych metod umożliwiających określenie ich histogenezy^(6,10-18). Głównym problemem przy rozpoznaniu histopatologicznym mięsaków macicy jest fakt, że bez przeprowadzenia dodatkowych badań może być ono nieprawidłowe, czego konsekwencją jest zastosowanie leczenia nieadekwatnego do danego typu histopatologicznego. Po przeprowadzeniu dodatkowych badań immunohistochemicznych w analizowanej obecnie grupie pierwotne rozpoznanie histopatologiczne zmieniono w około 30% przypadków.

Jest to olbrzymia skala problemu, dlatego jednym z głównych celów obecnego badania była próba opracowania algorytmu badań immunohistochemicznych niezbędnych do postawienia precyzyjnego rozpoznania histopatologicznego. Ponieważ guzy w większości przypadków mają budowę złożoną, zwrócono również uwagę na istnienie dodatkowych czynników rokowniczych, które należy uwzględnić przy doborze schematu leczenia uzupełniającego chirurgię^(5,8,9,12,19). W obecnie analizowanym materiale jednym z głównych niekorzystnych czynników okazał się rodzaj utkania histopatologicznego guza. Typy histopatologiczne zostały podzielone na dwie grupy: mięsaki właściwe i mięsaki z domieszką utkania nabłonkowego. W wyniku tej analizy okazało się, że przypadki, w których rozpoznano złośliwego mieszanego guza

was an unfavourable prognostic factor only in univariate analysis in the aspect of both overall survival and recurrence-free survival. This factor is of paramount importance in smooth-muscle tumours. Reported are cases of tumours with no evident necrosis but with an utterly aggressive course⁽²⁰⁾.

Independent on prognostic factors, an issue specially emphasized in the literature is the necessity to implement adequately chosen IHC studies in differential diagnosis of difficult mesenchymal tumours, where routine hematoxylin-eosin staining proved insufficient^(6,10,11,13-15,17,18). Precise histopathological diagnosis enables a choice of an optimal therapeutic modality^(4,5,18).

This is particularly important, as adjuvant treatment of sarcomas is still a matter of debate. Ineffective treatment, which may result in severe and frequent adverse effects, is unacceptable according to the principles of clinical oncology. Therefore, precise definition of histopathological type of the tumour is a fundamental issue.

CONCLUSIONS

1. Implementation of IHC studies resulted in a change of histopathological diagnosis in about 30% of the cases.
2. In our material, the worst prognosis was associated with mixed mesodermal tumour (carcinosarcoma).
3. Among prognostic factors studied, statistical significance has been demonstrated in association with lymphatic vessel invasion, tumour cell necrosis and positive h-caldesmon reaction.

BIBLIOGRAPHY:

PIŚMIENNICTWO:

1. Kaplan F.L., Meier P.: Nonparametric estimation from incomplete observations. *J. Am. Stat. Assoc.* 1958; 52: 457-481.
2. Schemper M., Smith T.L.: A note on quantifying follow-up in studies of failure time. *Control. Clin. Trials* 1996; 17: 343-346.
3. Cox D.R.: Regression models and life tables. *J. R. Stat. Soc. B* 1972; 34: 187-220.
4. Chauveinc L., Deniaud E., Plancher C. i wsp.: Uterine sarcomas: the Curie Institut experience. Prognosis factors and adjuvant treatments. *Gynecol. Oncol.* 1999; 72: 232-237.
5. Bodner K., Bodner-Adler B., Obermair A. i wsp.: Prognostic parameters in endometrial stromal sarcoma: a clinicopathologic study in 31 patients. *Gynecol. Oncol.* 2001; 81: 160-165.
6. Al-Nafussi A.: Uterine smooth-muscle tumours: practical approach to diagnosis. *Current Diagnostic Pathology* 2004; 10: 140-156.
7. Hoskins W., Perez C.A., Young R.H. (red.): Principles and Practice of Gynecologic Oncology. Corpus: Mesenchymal Tumors. Wyd. 4, Lippincott Williams & Wilkins, 2005: 873-894.
8. Vaidya A.P., Horowitz N.S., Oliva E. i wsp.: Uterine malignant mixed mullerian tumors should not be included in

mezodermalnego, rokowały najmniej korzystnie. Potwierdzają to również prace innych autorów^(7,8,20). Chauveinc i wsp.⁽⁴⁾ stwierdzili zaś, że najmniej korzystnie rokują przypadki mięsaka gładkokomórkowego. Wiąże się to z potrzebą włączenia do analizy większej liczby chorych, co jest przewidziane w kolejnych badaniach.

Statystycznie istotnym czynnikiem rokowniczym okazała się obecność inwazji naczyń chłonnych w aspekcie wpływu na czas wolny od nawrotu choroby. W publikacjach⁽⁷⁾ jest to często wymieniany czynnik rokowniczy, także w aspekcie wpływu na czas na przeżycie całkowite. W naszej pracy takiej zależności nie wykazano. W pracy Chauveinc i wsp.⁽⁴⁾ również nie stwierdzono takiej zależności. Stopień zaawansowania nowotworu wymieniany jest jako jeden z głównych czynników rokowniczych⁽⁷⁾. W opracowanym przez nas materiale, wobec innych analizowanych czynników dotyczących przeżycia bez nawrotu choroby, stopień zaawansowania wykazał istotność statystyczną wyłącznie w analizie jednowariantowej. Istnieją prace kwestionujące powyższą zależność⁽¹⁸⁾. Ze względu na liczebność grupy przypadki podzielono na dwie podgrupy: zaawansowanie wczesne (I+II) oraz późne (III+IV).

Obecność martwicy w badanym materiale okazała się czynnikiem niekorzystnym rokowniczo, jednak tylko w analizie jednowariantowej w aspekcie zarówno przeżycia całkowitego, jak i czasu wolnego od nawrotu choroby. Czynnik ten ma istotne znaczenie w ocenie guzów z mięśni gładkich. Opiswane są także przypadki guzów bez stwierdzonej martwicy o bardzo agresywnym przebiegu⁽²⁰⁾.

Niezależnie od czynników rokowniczych w literaturze szczególnie podkreślana jest konieczność stosowania odpowiednio dobranych badań immunohistochemicznych w diagnostyce różnicowej trudnych przypadków guzów mezenchymalnych, w których barwienie eozyną i hematoksyliną jest niewystarczające^(6,10,11,13-15,17,18). Precyzyjne rozpoznanie histopatologiczne pozwoli na wybór optymalnej metody terapeutycznej^(4,5,18).

Jest to szczególnie istotne, gdyż leczenie uzupełniające mięsaków jest przedmiotem dyskusji. Leczenie nieskuteczne, mogące powodować liczne efekty uboczne, jest z punktu widzenia reguł onkologicznych niedozwolone. Stąd tak duże znaczenie mają dokładne badania pozwalające precyzyjnie określić typ histologiczny mięsaka.

WNIOSKI

1. Wykazano, że w przypadku badań IHC pierwotne rozpoznanie histopatologiczne zmieniono w około 30% przypadków.
2. W analizowanej grupie najgorzej rokującym typem mięsaka był mieszany złośliwy guz mezodermalny (*carcinosarcoma*).
3. Spośród badanych czynników predykcyjnych statystycznie istotne znaczenie wykazano w przypadkach

- studies of endometrial carcinoma. *Gynecol. Oncol.* 2006; 103: 684-687.
9. Nordal R.R., Kristensen G.B., Stenwig A.E. i wsp.: An evaluation of prognostic factors in uterine carcinosarcoma. *Gynecol. Oncol.* 1997; 67: 316-321.
 10. Tse G.M., Tan P.H., Lui P.C. i wsp.: The role of immunohistochemistry for smooth-muscle actin, p63, CD10 and cytokeratin 14 in the differential diagnosis of papillary lesions of the breast. *J. Clin. Pathol.* 2007; 60: 315-320.
 11. Baker P., Oliva E.: Endometrial stromal tumours of the uterus: a practical approach using conventional morphology and ancillary techniques. *J. Clin. Pathol.* 2007; 60: 235-243.
 12. Kempson R.L., Hendrickson M.R.: Smooth muscle, endometrial stromal, and mixed Müllerian tumors of the uterus. *Mod. Pathol.* 2000; 13: 328-342.
 13. Chu P.G., Arber D.A., Weiss L.M., Chang K.L.: Utility of CD10 in distinguishing between endometrial stromal sarcoma and uterine smooth muscle tumors: an immunohistochemical comparison of 34 cases. *Mod. Pathol.* 2001; 14: 465-471.
 14. Mikami Y., Hata S., Kiyokawa T., Manabe T.: Expression of CD10 in malignant müllerian mixed tumors and adenosarcomas: an immunohistochemical study. *Mod. Pathol.* 2002; 15: 923-930.
 15. Nucci M.R., O'Connell J.T., Huettner P.C. i wsp.: h-Caldesmon expression effectively distinguishes endometrial stromal tumors from uterine smooth muscle tumors. *Am. J. Surg. Pathol.* 2001; 25: 455-463.
- inwazji naczyń chłonnych, obecności martwicy w komórkach guza, reakcji na h-kaldesmon.
-
16. Kir G., Cetiner H., Karateke A. i wsp.: Utility of MIB-1 and estrogen and progesterone receptor in distinguishing between endometrial stromal sarcomas and endometrial stromal nodules, highly cellular leiomyomas. *Int. J. Gynecol. Cancer* 2005; 15: 337-342.
 17. Simpson K.W., Albores-Saavedra J.: HMB-45 reactivity in conventional uterine leiomyosarcomas. *Am. J. Surg. Pathol.* 2007; 31: 95-98.
 18. Dorfman D.M., Bui M.M., Tubbs R.R. i wsp.: The CD117 immunohistochemistry tissue microarray survey for quality assurance and interlaboratory comparison: a College of American Pathologists Cell Markers Committee Study. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2006; 130: 779-782.
 19. Gerszten K., Faul C., Kounelis S. i wsp.: The impact of adjuvant radiotherapy on carcinosarcoma of the uterus. *Gynecol. Oncol.* 1998; 68: 8-13.
 20. Esposito N.N., Hunt J.L., Bakker A., Jones M.W.: Analysis of allelic loss as an adjuvant tool in evaluation of malignancy in uterine smooth muscle tumors. *Am. J. Surg. Pathol.* 2006; 30: 97-103.