

# Current Gynecologic Oncology

Official publication of Polish Gynecological Oncology Society  
Organ Polskiego Towarzystwa Ginekologii Onkologicznej  
Journal affiliated by Polish Society of Colposcopy and Uterine Cervical Pathology,  
and Polish Society for Hyperthermic Oncology  
Pismo afiliowane przy Polskim Towarzystwie Kolposkopii i Patofizjologii Szyjki Macicy  
oraz przy Polskim Towarzystwie Hipertermii Onkologicznej  
Dawniej „Ginekologia Onkologiczna”

[www.ginekologia.pl](http://www.ginekologia.pl)

## W numerze:

strona **78**

Ocena funkcji układu moczowego oraz komfortu życia kobiet po skojarzonym leczeniu raka endometrium

strona **85**

Histopatologia raków jajnika współistniejących z endometriozą

strona **93**

Rokownicze znaczenie stanu ogólnego WHO u chorych na raka szyjki macicy

## In this issue:

page **78**

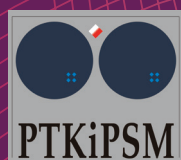
An assessment of the urinary function and the comfort of life in patients after endometrial cancer combined treatment

page **85**

Histology of endometriosis-associated ovarian carcinomas

page **93**

The prognostic value of the WHO status in cervical cancer patients



POLSKIE TOWARZYSTWO  
**HIPERTERMII**  
ONKOLOGICZNEJ





# CANDIVAC®

Suplement diety

## BĄDŹ ZE MNĄ INTYMNIEMIE



CANDIVAC® zawiera  
**lioofilizat grzybów:**

- *Candida albicans*
- *Candida crusei*
- *Candida glabrata*

występujących w naturalnym  
środowisku pochwy

**oraz lioofilizat bakterii:**

- *Propionibacterium acnes*.

CANDIVAC® jest preparatem zawierającym kombinację wybranych szczepów mikroorganizmów, które mogą korzystnie wpływać na funkcjonowanie układu moczowo-płciowego. Liofilizaty *Candida* zawarte w preparacie mogą sprzyjać ochronie organizmu przed wtargnięciem szkodliwych drobnoustrojów, wzmacniać układ odpornościowy i pomóc w przywróceniu naturalnej równowagi mikrobiologicznej pochwy.

**Skład:** 1 kapsułka zawiera liofilizat 5 mg substancji czynnych: *Candida albicans lysatum cryodesiccatum*, *Candida crusei lysatum cryodesiccatum*, *Candida glabrata lysatum cryodesiccatum*, *Propionibacterium acnes lysatum cryodesiccatum*. **Substancje pomocnicze – 195 mg:** Aerosilum, Saccharum lactis, Amylum solani. **Sposób użycia:** 1 kapsułka dziennie, na czczo przez okres 10 dni, przerwać na okres 20 dni i ponownie wznowić, podając 1 kapsułkę dziennie przez okres 10 dni. Po ukończeniu wyżej wymienionego cyklu podstawowego można po 20-dniowej przerwie kontynuować stosowanie preparatu CANDIVAC®. **Zawartość opakowania:** 30 kapsulek. **Uwaga:** Preparat przeznaczony dla osób dorosłych. Podawanie preparatu dzieciom oraz kobietom w ciąży po uprzedniej konsultacji z lekarzem. Nie przekraczać zalecanej dawki do spożycia w ciągu dnia. Preparat nie może być stosowany jako substytut zróżnicowanej diety. **Przechowywać:** W suchym, ciemnym miejscu, w temperaturze 15–25°C, w miejscu niedostępnym dla dzieci. **Dystrybutor:** Magre SC, ul. Zgoda 11/38, 05-800 Pruszków. **Producent:** Bioveta, a.s., Medical Department, Komenského 212, 683 23 Ivanovice na Hané, Czech Republic.

# Current Gynecologic Oncology

Official publication of Polish Gynecological Oncology Society  
Organ Polskiego Towarzystwa Ginekologii Onkologicznej  
Journal affiliated by Polish Society of Colposcopy and Uterine Cervical Pathology,  
and Polish Society for Hyperthermic Oncology  
Pismo afiliowane przy Polskim Towarzystwie Kolposkopii i Patofizjologii Szyjki Macicy  
oraz przy Polskim Towarzystwie Hipertermii Onkologicznej  
Dawniej „Ginekologia Onkologiczna”

## Publisher:

Małgorzata Pachecka

## Redakcja/Wydawnictwo:

Editorial office:

Medical Communications

ul. Powsińska 34

02-903 Warszawa

tel.: 22 651 97 83

e-mail: redakcja@ginekologia.com.pl

www.ginekologia.com.pl

## Chief of Editorial Staff:

Małgorzata Pachecka

501 507 055

## Editorial Secretary:

Marcin Mruwczynski

501 235 577

marcin.mruwczynski@medical.pl

## Subscription:

Irena Pachecka

501 235 588

## Advertising:

Elżbieta Tkaczyk-Iwanicka

501 507 044

## Composition and setting:

Renata Sufczyńska

## Translation:

Biuro Tłumaczeń Lingua Line

(to English and Russian)

## Proofreading:

Marta Durczyńska,

Marcin Mruwczynski

The Editors are not responsible for the contents  
of advertisements, publications and notices.

## Editor-in-Chief

*Redaktor Naczelny*

**Beata Śpiewankiewicz**

Warszawa

## Vice Editor-in-Chief

*Zastępca Redaktora Naczelnego*

**Jerzy Stelmachów**

Warszawa

## Associate Editor

*Redaktor Tematyczny*

**Agnieszka Nalewczyńska**

Warszawa

## Editorial Board

*Komitet Naukowy*

**Jörg Baltzer**

Niemcy

**Antoni Basta**

Kraków

**Tengiz Charkviani**

Tbilisi

**Janusz Emerich**

Gdańsk

**Gerald Gitsch**

Fryburg

**Robert Jach**

Kraków

**Vesna Kesić**

Belgrad

**Zbigniew Kojs**

Kraków

**Jolanta Kupryjańczyk**

Warszawa

**Maria Marchetti**

Padwa

**Janusz Marcickiewicz**

Göteborg

**Anna Markowska**

Poznań

**Janina Markowska**

Poznań

**Ryszard Poręba**

Tychy

**Marc Possover**

Kolonia

**Lukáš Rob**

Praga

**Andrzej Roszak**

Poznań

**Hüseyin Sahinbas**

Bochum

**Stefan Sajdak**

Poznań

**Joseph G. Schenker**

Jerozolima

**Jan Stencil**

Bratysława

**Laszlo Ungar**

Budapeszt

**Krzysztof Urbański**

Kraków

**Ignace Vergote**

Leuven

**Ludmyla I. Vorobyeva**

Kijów

**Holger Wehner**

Wilhelmshaven

**Łukasz Wicherek**

Bydgoszcz

## External reviewers

*Recenzenci zewnętrzni*

**Andrzej Bienkiewicz**

ginekologia onkologiczna, Łódź

**Bożena Czarkowska-Pączek**

patofizjologia, Warszawa

**Norbert Piotrkowicz**

radioterapia, Warszawa

**Piotr Radziszewski**

urologia, Warszawa

**Andrzej Stelmach**

chirurgia onkologiczna, Kraków



# Spis treści

## Contents

Official publication of Polish Gynecological Oncology Society  
Organ Polskiego Towarzystwa Ginekologii Onkologicznej  
Journal affiliated by Polish Society of Colposcopy and Uterine Cervical Pathology,  
and Polish Society for Hyperthermic Oncology  
Pismo afiliowane przy Polskim Towarzystwie Kolposkopii i Patofizjologii Szyjki Macicy  
oraz przy Polskim Towarzystwie Hipertermii Onkologicznej  
Dawniej „Ginekologia Onkologiczna”

### Redaktor Naczelny:

Prof. dr hab. n. med.  
Beata Śpiewankiewicz

Klinika Ginekologii Onkologicznej,  
Centrum Onkologii – Instytut  
im. Marii Skłodowskiej-Curie  
w Warszawie,  
ul. W.K. Roentgena 5,  
02-781 Warszawa

Redaktor Tematyczny:  
Agnieszka Nalewczynska  
e-mail: a.nalewczynska@op.pl

Zasady  
prenumeraty  
na stronie 84

Copyright 2015  
by Medical  
Communications

„Current Gynecologic Oncology”  
jest czasopiśmie otwartym (*open journal*),  
dostępnym w postaci elektronicznej  
bez opłat i innych barier na licencji  
Creative Commons Uznanie autorstwa  
– Użycie niekomercyjne  
– Bez utworów zależnych  
– CC BY-NC-ND  
(pewne prawa zastrzeżone  
na rzecz wydawcy i autorów).

### ARTYKUŁ REDAKCYJNY

EDITORIAL ..... 78

**Marcin Oplawski, Radosław Kosobudzki,  
Michał Kwiatkowski, Zbigniew Kojs**

Ocena funkcji układu moczowego oraz komfortu  
życia kobiet po skojarzonym leczeniu raka endometrium  
*An assessment of the urinary function  
and the comfort of life in patients  
after endometrial cancer combined treatment* ..... 78

### PRACE ORYGINALNE

ORIGINAL CONTRIBUTIONS ..... 85

**Elżbieta Stasienko, Magdalena Wiśniewska,  
Krzysztof Kamecki, Joanna Skręt-Magierło,  
Marcin Oplawski, Anna Brożyna,  
Magdalena Małeńczyk, Krzysztof Koper,  
Krzysztof Roszkowski**

Histopatologia raków jajnika współistniejących  
z endometriozą  
*Histology of endometriosis-associated  
ovarian carcinomas* ..... 85

**Agnieszka Żóćiak-Siwińska,  
Joanna Jońska-Gmyrek, Leszek Gmyrek**

Rokownicze znaczenie stanu ogólnego WHO  
u chorych na raka szyjki macicy  
*The prognostic value of the WHO status  
in cervical cancer patients* ..... 93

**Marcin Oplawski, Tomasz Bieda,  
Marcin Zarawski, Zbigniew Kojs**

Rozległość limfadenektomii w raku endometrium  
oraz jej wpływ na utratę krwi i czas trwania zabiegu  
*The extent of lymphadenectomy in endometrial cancer  
and its effect on blood loss and procedure duration* ..... 99

### PRACE POGLĄDOWE

REVIEWS ..... 106

**Wojciech M. Wysocki, Jerzy W. Mituś,  
Jan Gawętko, Zbigniew Kojs**

Jakie są perspektywy biopsji węzła chłonno-  
wartowniczego?  
*What are the perspectives for sentinel lymph  
node biopsy?* ..... 106

**Magdalena Pisarska-Krawczyk,  
Grażyna Jarząbek-Bielecka, Anna Grętkiewicz-Tomczyk,  
Małgorzata Mizgier, Witold Kędzia**

Guzy gonadalne jajnika ze szczególnym uwzględnieniem  
guza szkliwiejącego. Znaczenie wczesnej diagnostyki  
zmian jajnika  
*Gonadal tumors of the ovary with particular emphasis  
on sclerosing stromal tumors. The importance  
of early diagnosis in ovarian tumors* ..... 113

**Arkadiusz Gawryluk, Bartłomiej Noszczyk**

Właściwości i kliniczne możliwości zastosowania  
ludzkich komórek nabłonka owodni (HAEC)  
*Properties and clinical application of human  
amniotic epithelial cells (HAEC)* ..... 123

### REGULAMIN OGŁASZANIA PRAC

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS ..... 137

# Sposób na drogi moczowe

## URIVAC®

Suplement diety

to suplement diety zalecany do stosowania w profilaktyce nawracających stanów zapalnych dróg moczowych. Działanie preparatu opiera się na immunomodulacji, czyli wzmacnianiu układu odpornościowego organizmu poprzez podanie lizatów – wysoko oczyszczonych, nieszkodliwych części inaktywowanych mikroorganizmów – sześciu opatentowanych szczepów bakteryjnych, które stanowią najczęstszą przyczynę stanów zapalnych dróg moczowych.

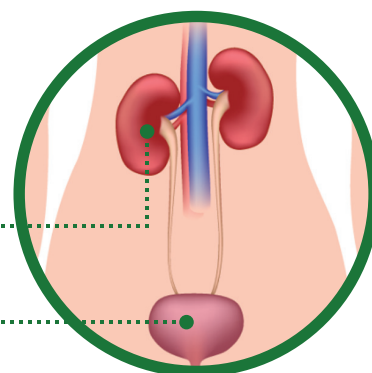


### Zakażenia układu moczowego (ZUM)

to druga co do częstości infekcja, po grypie i objawach grypopodobnych, z którą chorzy zwracają się do lekarza pierwszego kontaktu.





Lekarze rozróżniają zakażenia **dolnego** i **górnego** odcinka dróg moczowych. Zakażenia **górných** dróg moczowych to **ostre odmiedniczkowe zapalenie nerek** i jego powikłania.

Do zakażeń **dolnych** dróg moczowych należą **zapalenie pęcherza** oraz **zapalenie pęcherza wraz z zapaleniem cewki moczowej**.



Za około **80%** przypadków odpowiedzialna jest bakteria *Escherichia coli*.

### ZUM rozpoznaje się zazwyczaj po objawach, takich jak:

-  częste oddawanie moczu małymi porcjami
-  pieczenie w okolicy cewki moczowej
-  skurczowy ból w podbrzuszu
-  uczucie parcia na pęcherz i konieczność oddawania moczu również w nocy.

**Niekiedy mogą pojawić się gorączka, dreszcze, nudności, a także krew w moczu.**

**URIVAC®** zawiera liofilizat następujących mikroorganizmów:

***Klebsiella pneumoniae*** – pateczka zapalenia płuc o dużej zjadliwości, stanowi przyczynę zakażeń układu pokarmowego, kości, stawów i dróg moczowych, niekiedy doprowadzając również do wystąpienia sepsy.

***Pseudomonas aeruginosa*** – stanowi przyczynę infekcji w obrębie ucha środkowego i zewnętrznego u dzieci, zakażeń ran, zakażeń układu oddechowego, zakażeń wsierdza, zapalenia opon mózgowych, zakażeń układu moczowego, a także kości i stawów.

***Enterococcus faecalis*** – groźny paciorkowiec kałowy, powoduje najczęściej zapalenie wsierdza, zakażenia układu moczowego, zakażenia prostaty i najądrzy.

***Escherichia coli*** – pateczka okrężnicy, jest najczęstszą przyczyną zakażeń dróg moczowych (60–80%).

***Proteus mirabilis*** – stanowi przyczynę około 30% infekcji dróg moczowych u chłopców i młodych mężczyzn.

***Propionibacterium acnes*** – stanowi florę fizjologiczną skóry, układu pokarmowego, oddechowego oraz dróg moczowo-płciowych. U pacjentów z osłabioną odpornością może powodować zakażenia, a u młodzieży stanowi przyczynę 80% przypadków trądziku.



Marcin Oplawski<sup>1</sup>, Radosław Kosobudzki<sup>2</sup>, Michał Kwiatkowski<sup>1</sup>, Zbigniew Kojs<sup>2</sup>

## Ocena funkcji układu moczowego oraz komfortu życia kobiet po skojarzonym leczeniu raka endometrium

An assessment of the urinary function and the comfort of life in patients after endometrial cancer combined treatment

Оценка функции мочевого пузыря и качество жизни женщин после комбинированного лечения рака эндометрия

<sup>1</sup> Oddział Ginekologii i Położnictwa z Ginekologią Onkologiczną, Szpital Specjalistyczny im. Ludwika Rydygiera w Krakowie, Polska. Ordynator: dr n. med. Marcin Oplawski

<sup>2</sup> Klinika Ginekologii Onkologicznej, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Krakowie, Polska. Kierownik: dr hab. n. med. Paweł Blecharz

Adres do korespondencji: Dr n. med. Marcin Oplawski, Oddział Ginekologii i Położnictwa z Ginekologią Onkologiczną, Szpital Specjalistyczny im. Ludwika Rydygiera, os. Złotej Jesieni 1, 31-826 Kraków, tel.: +48 500 177 291, e-mail: oplawski.m@gmail.com

<sup>1</sup> Department of Gynecology and Obstetrics with Gynecologic Oncology, Ludwik Rydygier Memorial Specialist Hospital, Krakow, Poland. Head: Marcin Oplawski, MD, PhD

<sup>2</sup> Department of Gynecologic Oncology, Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Division in Krakow, Poland. Head: Paweł Blecharz, MD, PhD

Correspondence: Marcin Oplawski, MD, PhD, Department of Gynecology and Obstetrics with Gynecologic Oncology, Ludwik Rydygier Memorial Specialist Hospital, Złotej Jesieni 1, 31-826 Kraków, Poland, tel.: +48 500 177 291, e-mail: oplawski.m@gmail.com

### Streszczenie

Rak endometrium to obecnie najczęstszy nowotwór narządu rodno. Leczenie – wykorzystujące zabieg operacyjny, radioterapię i terapię systemową – jest coraz skuteczniejsze, a ocenę komfortu życia pacjentek poddaje się dokładnej analizie. Głównym czynnikiem obniżającym jakość życia chorych stają się problemy z oddawaniem moczu. Celem badania było uzyskanie informacji na temat funkcjonowania układu moczowego i jakości życia kobiet uznanych za wyleczone po skojarzonym leczeniu raka endometrium w porównaniu z tymi, którym macicę usunięto z przyczyn nieonkologicznych. Badaniu poddano 46 kobiet podzielonych na dwie grupy. Grupa pierwsza (badana) składała się z 23 pacjentek po skojarzonym leczeniu raka endometrium (IA, G1–G2), leczonych chirurgicznie i uzupełniającą brachyterapią, a grupa druga (kontrolna) – z 23 pacjentek po usunięciu macicy z przysadkami z powodów nieonkologicznych. Kobiety badano jednorazowo, między 6. a 12. miesiącem po zakończeniu leczenia. We wszystkich przypadkach przeprowadzono wywiad lekarski, badanie ginekologiczne, badanie urodynamiczne i badanie jakości życia. Analiza statystyczna wykazała istotną różnicę wyników badania urodynamicznego między grupami ( $p = 0,0193$ ). Odsetek kobiet, u których nie stwierdzono zmian, był zdecydowanie większy w grupie kontrolnej niż grupie badanej, gdzie wyniósł zaledwie 22%. W grupie badanej częściej niż w kontrolnej notowano przypadki wysiłkowego nietrzymania moczu, postaci mieszanej nietrzymania moczu i pęcherza nadreaktywnego. Okazało się także, że jakość życia pacjentek z porównywanych grup istotnie się różni ( $p = 0,0270$ ). Jej spadek stwierdzano znacząco częściej w grupie badanej – u 57% kobiet (w grupie kontrolnej – u 26%). Polepszenie jakości życia notowano w grupie badanej rzadziej (13%) niż w grupie kontrolnej (28%). Brachyterapia powoduje nasilenie zaburzeń w układzie moczowo-płciowym, co negatywnie wpływa na komfort życia po leczeniu onkologicznym.

**Słowa kluczowe:** rak endometrium, brachyterapia, wysiłkowe nietrzymanie moczu, badanie urodynamiczne, pęcherz nadreaktywny, mieszane nietrzymanie moczu

### Abstract

Endometrial cancer is currently the most common form of female reproductive tract tumors. The efficacy of treatment, which involves surgery, radiotherapy and systemic therapy, is increasing and the assessment of the quality of life of patients is subject to careful analysis. Difficulty in urination represents a major factor reducing the quality of life of patients. The aim of the study was to collect data on the urinary functioning and the quality of life in endometrial cancer patients considered cured after a combined treatment compared to patients after non-oncological hysterectomy. A total of 46 females divided into

two groups were included in the study. Group I (study group) included 23 endometrial cancer patients (stage IA, G1–G2) after combined treatment, who received surgical treatment and adjuvant brachytherapy; group II (control group) included 23 patients after non-oncological hysterectomy and uterine appendage removal. The patients were assessed once, between month 6 and 12 after treatment termination. Medical history, gynecologic examination, urodynamic testing and life quality assessment were performed in all patients. Statistical analysis showed a significant difference between the two groups in terms of urogynecologic outcomes ( $p = 0.0193$ ). The proportion of women without any disturbances was definitely higher in the control group (only 22%) vs. study group. Stress urinary incontinence, mixed incontinence and overactive bladder were more common in the study group compared to controls. Furthermore, a significant difference in the quality of life was shown between the compared groups of patients ( $p = 0.0270$ ). Reduced quality of life was significantly more common in the study group (57% vs. 26% of controls). Improvement of life quality was less common in the study group (13%) compared to controls (28%). Brachytherapy increases the severity of genitourinary disorders, which adversely affects the quality of life in patients after cancer therapy.

**Key words:** endometrial cancer, brachytherapy, stress urinary incontinence, urodynamic testing, overactive bladder, mixed incontinence

## Содержание

Рак эндометрия в настоящее время является наиболее распространенной формой рака репродуктивных органов. Лечение с использованием хирургии, радиотерапии и системной терапии является все более эффективным, а оценка качества жизни больных подробно анализируется. Основным фактором, снижающим качество жизни пациентов, становятся проблемы с мочеиспусканием. Цель исследования заключалась в получении информации о функционировании мочевыводящих путей и качества жизни женщин, считающихся вылеченными после комбинированного лечения рака эндометрия по сравнению с теми, которым матка была удалена не по онкологическим причинам. В исследовании участвовало 46 женщин, разделенных на две группы. Первая группа (исследуемая) состояла из 23 пациенток после комбинированного лечения рака эндометрия (IA, G1–G2), прошедших хирургическое лечение и дополнительную брахитерапию, а вторая группа (контрольная) – из 23 пациенток после удаления матки с придатками по неонкологическим причинам. Женщин обследовали один раз, между 6 и 12 месяцем после лечения. Во всех случаях провели медицинский опрос, гинекологическое обследование, уродинамическое обследование и исследование качества жизни. Статистический анализ показал значительную разницу в результатах урогинекологического обследования между группами ( $p = 0,0193$ ). Процент женщин, у которых не обнаружен процент изменений, был значительно больше в контрольной группе, чем в основной группе, где составлял едва ли 22%. В исследуемой группе чаще чем в контрольной встречались случаи недержания мочи при напряжении, смешанной формы недержания мочи и гиперактивного мочевого пузыря. Также оказалось, что качество жизни пациенток из сравненных групп существенно отличается ( $p = 0,0270$ ). Его снижение наблюдалось значительно чаще в основной группе – у 57% женщин (контрольная группа – у 26%). Улучшение качества жизни в основной группе встречалось реже (13%), чем в контрольной группе (28%). Брахитерапия вызывает усугубление нарушений в мочеполовой системе, что отрицательно сказывается на качестве жизни после онкологического лечения.

**Ключевые слова:** рак эндометрия, брахитерапия, недержания мочи при напряжении, уродинамическое обследование, гиперактивный мочевой пузырь, недержание мочи смешанного типа

## WSTĘP

Nowotwory żeńskiego układu płciowego (wraz z rakiem piersi) stanowią 40% zachorowań na wszystkie nowotwory u kobiet w Polsce. Rak endometrium ma wśród nich największą dynamikę wzrostu i obecnie odpowiada za 7,3% wszystkich zachorowań na nowotwory złośliwe żeńskich narządów płciowych w polskiej populacji<sup>(1)</sup>. Tendencja ta wiąże się z podniesieniem statusu społeczno-ekonomicznego, wzrostem długości życia i chorobami cywilizacyjnymi, takimi jak cukrzyca i nadciśnienie. Wraz z liczbą zachorowań rośnie liczba wyleczonych pacjentek.

Terapia najczęściej rozpoczyna się od zabiegu operacyjnego. Leczenie uzupełniające obejmuje brachyterapię i/lub radioterapię, a w przypadkach bardziej

## INTRODUCTION

Cancer of the female reproductive tract (including breast cancer) accounts for 40% of all cancer cases among women in Poland. Among these, endometrial cancer shows the highest growth rate and it currently accounts for 7.3% of all cases of female reproductive tract malignancies in the Polish population<sup>(1)</sup>. This tendency is associated with increased socioeconomic status and life expectancy as well as modern-age diseases, such as diabetes and hypertension. The increasing morbidity rate is accompanied by an increasing number of cured patients. The therapy usually begins with a surgery. Adjuvant therapy involves brachytherapy and/or radiotherapy as well as, in more advanced cases, chemotherapy and hormone therapy. The indications for postsurgical brachytherapy and



zaawansowanych – także chemioterapię i hormonoterapię. Wskazania do brachyterapii i radioterapii po zabiegu operacyjnym pozostają niejednoznaczne. Wyniki leczenia są zadowalające, czas przeżycia się wydłuża, dlatego dokładnie analizuje się ocenę komfortu życia pacjentek. Jak się wydaje, problemy z oddawaniem moczu to jedna z głównych przyczyn obniżenia jakości życia – problem dotyczy nawet 80% leczonych kobiet. W pierwszych 12 miesiącach po leczeniu skojarzonym pojawiają się objawy związane z obniżeniem podatności pęcherza moczowego i osłabieniem siły wypieracza oraz wysiłkowe nietrzymanie moczu. Występują one zarówno jako wczesny, jak i późny objaw popromienny.

## CEL PRACY

Celem badania jest uzyskanie informacji na temat funkcjonowania układu moczowego i jakości życia (*quality of life*, QOL) kobiet uznanych za wyleczone po skojarzonym leczeniu raka endometrium w porównaniu z tymi, którym usunięto macicę z powodów nieonkologicznych.

## MATERIAŁ I METODY

Badaniu ankietowemu i uroginekologicznemu poddano 46 pacjentek. Badania zostały przeprowadzone przez doświadczonego ginekologa (specjalizującego się w uroginekologii) i wyspecjalizowanego psychologa klinicznego. Uczestniczki podzielono na dwie grupy.

Grupa pierwsza (badana) składała się z 23 pacjentek po skojarzonym leczeniu raka endometrium w stopniu zaawansowania IA (stopień zróżnicowania: G1–G2), leczonych w Szpitalu Specjalistycznym im. Rydygiera oraz w Centrum Onkologii w Krakowie. Kobiety te przeszły radykalny zabieg operacyjny i brachyterapię; nie stwierdzono u nich wznowy procesu nowotworowego. Badano je jednorazowo, między 6. a 12. miesiącem po zakończeniu leczenia. W grupie drugiej (kontrolnej), złożonej z 23 osób, znalazły się pacjentki po usunięciu macicy z przysadkami z powodów nieonkologicznych, badane między 6. a 12. miesiącem po zabiegu. Badanie funkcji pęcherza i ankiety dotyczące jakości życia oceniono w Oddziale Ginekologii i Położnictwa z Ginekologią Onkologiczną Specjalistycznego Szpitala im. Rydygiera w Krakowie. We wszystkich przypadkach wykluczono proces zapalny, przeprowadzono wywiad lekarski, badanie ginekologiczne, badanie urodynamiczne oraz badanie QOL, składające się z kwestionariusza STAI (*State-Trait Anxiety Inventory* – Inwentarz Stanu i Cechy Lęku), za pomocą którego przeanalizowano samoocenę pacjentek. Określono także poziom depresji według Becka.

Analizie poddano wynik badań uroginekologicznych w trzech możliwych rozpoznaniach:

- wysiłkowe nietrzymanie moczu (WNM);
- pęcherz nadreaktywny (*overactive bladder*, OAB);
- postać mieszaną nietrzymania moczu (MNM).

radiation therapy remain ambiguous. Treatment outcomes are satisfactory and the overall survival is longer. Therefore, the quality of life in these patients is carefully analyzed. It seems that problems with urination are one of the main causes of decreased quality of life, which affects up to 80% of treated patients. Symptoms of reduced bladder compliance and weaker detrusor as well as stress incontinence occur during the first 12 months following combined therapy. These occur as both early and late treatment-related toxicity.

## AIM OF THE STUDY

The aim of the study was to collect data on the urinary functioning and the quality of life (QOL) in patients considered cured following a combined treatment of endometrial cancer compared to patients after non-oncological hysterectomy.

## MATERIAL AND METHODS

The questionnaire and urogynecologic testing included 46 patients. The testing was performed by an experienced gynecologist (specializing in urogynecology) as well as by a specialized clinical psychologist. The subjects were divided into two groups. Group I (study group) included 23 patients after combined treatment of stage IA endometrial cancer (the differentiation grade: G1–G2) at the Ludwik Rydygier Memorial Specialist Hospital as well as in the Cancer Center in Cracow. The patients had undergone radical hysterectomy and brachytherapy; no recurrence was observed in the subjects. The testing was performed once, between month 6 and 12 after treatment termination. Group II (control group) of 23 subjects included patients after non-oncological hysterectomy with uterine appendage removal, assessed between month 6 and 12 after surgical treatment. Urinary bladder function and QOL were assessed at the Department of Gynecology and Obstetrics with Gynecologic Oncology of the Ludwik Rydygier Memorial Specialist Hospital in Krakow. In all cases, the inflammatory process was excluded, medical history was collected, gynecologic and urodynamic evaluation was performed, as well as QOL assessment using the State-Trait Anxiety Inventory (STAI) was used for patient self-assessment analysis. Furthermore, the level of depression was assessed using Beck Depression Inventory. Urogynecologic outcomes were assessed in relation to three possible diagnoses:

- stress urinary incontinence (SUI);
- overactive bladder (OAB);
- mixed incontinence (MI).

The results were compared between the groups. STATISTICA 10.0 (StatSoft Inc., USA) was used for data analysis. The chi-square test ( $\chi^2$ ) was used for the analysis of association between two qualitative characteristics. Results with the *p*-value lower than 0.05 were considered statistically significant.

Wyniki badań porównano między grupami. Do analizy danych wykorzystano pakiet STATISTICA 10.0 (Stat-Soft Inc., USA). Do badania zależności między dwiema cechami jakościowymi stosowano test  $\chi^2$  (chi-kwadrat). Za istotne statystycznie uznawano wyniki, w których przypadku prawdopodobieństwo testowe  $p$  było niższe od 0,05.

## WYNIKI

Analiza statystyczna wykazała istotną różnicę między grupami pod względem wyników badania uroginekologicznego ( $p = 0,0193$ ). Odsetek kobiet, u których nie stwierdzono zmian, był zdecydowanie większy wśród pacjentek nieonkologicznych (65%), a w grupie z rakiem endometrium jedynie u 22% uczestniczek nie odnotowano zmian. Wśród pacjentek onkologicznych częściej niż w grupie kontrolnej notowano przypadki wysiłkowego nietrzymania moczu, postaci mieszanej nietrzymania moczu i pęcherza nadreaktywnego (tab. 1, ryc. 1).

## RESULTS

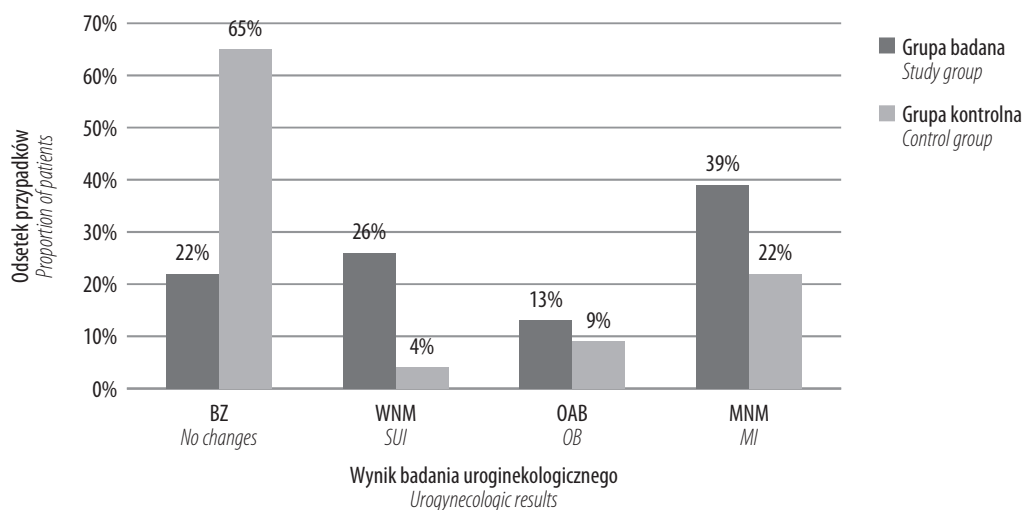
Statistical analysis showed a significant difference between the two groups in terms of urogynecologic outcomes ( $p = 0.0193$ ). The proportion of women with no urinary disturbances was significantly higher in non-oncological patients (65%), whereas the absence of urinary disturbances was reported in only 22% of endometrial cancer patients. Stress urinary incontinence, mixed incontinence and overactive bladder were more common in oncological patients compared to controls (Tab. 1, Fig. 1).

Furthermore, a significant difference in the quality of life was shown between the compared groups of patients ( $p = 0.0270$ ). A decrease in the quality of life was significantly more common in endometrial cancer patients (57%) compared to non-oncological patients (26%). Improvement in the quality life was less common in the study group (13%) than in controls (28%). Unchanged quality of life was reported with the same frequency in both groups (Tab. 2, Fig. 2).

Wynik badania <i>Test results</i>	Grupa <i>Patient population</i>		Wartość $p$ <i>p-value</i>
	Badana <i>Study group</i>	Kontrolna <i>Control group</i>	
Brak zmian (BZ) <i>No changes</i>	5 22%	15 65%	0,0193
Wysiłkowe nietrzymanie moczu (WNM) <i>Stress urinary incontinence (SUI)</i>	6 26%	1 4%	
Pęcherz nadreaktywny (OAB) <i>Overactive bladder (OB)</i>	3 13%	2 9%	
Postać mieszana nietrzymania moczu (MNM) <i>Mixed incontinence (MI)</i>	9 39%	5 22%	

Tab. 1. Porównanie wyników badania uroginekologicznego w grupie badanej i kontrolnej

Tab. 1. Comparison of urogynecologic results in the study group vs. control group



Ryc. 1. Porównanie wyników badania uroginekologicznego w grupie badanej i kontrolnej

Fig. 1. Comparison of urogynecologic results in the study group vs. control group



Stwierdzono także, że jakość życia kobiet z porównywanych grup istotnie się różni ( $p = 0,0270$ ). U pacjentek z rakiem endometrium spadek jakości życia występował znacząco częściej (57%) niż u tych bez choroby nowotworowej (26%). W grupie badanej rzadziej notowano polepszenie jakości życia (13%) niż w grupie kontrolnej (28%). Brak zmian jakości życia stwierdzano z podobną częstością w obu grupach (tab. 2, ryc. 2)

### OMÓWIENIE

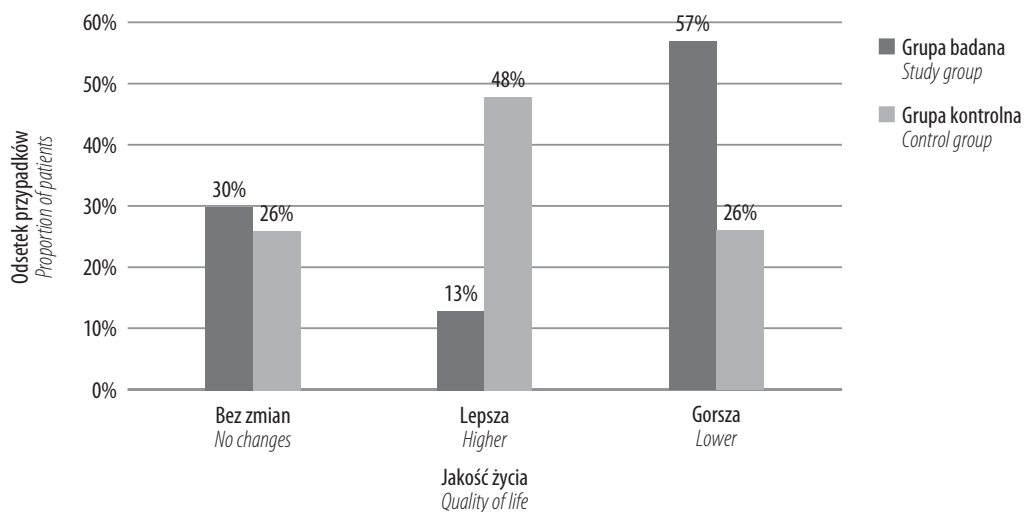
Wyniki przeprowadzonego badania wskazują, że jednym z podstawowych problemów kobiet po leczeniu skojarzonym raka endometrium są zaburzenia oddawania moczu. Wpływa to nie tylko na komfort życia pacjentek, lecz także na samoocenę w zakresie szeroko pojętego zdrowia. Zdaniem Bartodzieja i wsp. radykalne leczenie operacyjne raka szyjki macicy prowadzi do zaburzeń układu moczowego w postaci „pęcherza hipertonicznego”<sup>(2)</sup>. Naik i wsp. twierdzą jednak, iż po pewnym czasie od operacji radykalnej objawy częściowo ustępują<sup>(3)</sup>. Jednak w nowotworach

### DISCUSSION

The results of the study indicate that impaired urination is one of the basic problems in endometrial cancer patients after combined treatment. It affects both, the quality of life and the self-assessment of general health status. According to Bartodziej *et al.*, radical surgical treatment of cervical cancer leads to urinary disorders in the form of hypertonic bladder<sup>(2)</sup>. However, Naik *et al.* are of the opinion that the symptoms partially resolve some time after the surgery<sup>(3)</sup>. However, in the case of endometrial cancer, unlike in cervical cancer, the extent of hysterectomy is usually classified as Piver II, and the radical character of the procedure mainly involves the removal of the vaginal cuff and the lymph nodes. Many authors have reported significantly lower (less than 50%) proportion of such complications after Piver II hysterectomy as compared to Piver III<sup>(4,5)</sup>. Therefore, it seems that adjuvant therapy, brachytherapy in particular, has the greatest effects on urinary dysfunction in endometrial cancer. Pisarska *et al.*, who assessed post-brachytherapy patients, obtained

Jakość życia Quality of life	Grupa Patient population		Wartość p p-value
	Badana Study group	Kontrolna Control group	
Bez zmian No changes	7	6	0,0270
	30%	26%	
Lepsza Higher	3	11	
	13%	48%	
Gorsza Lower	13	6	
	57%	26%	

Tab. 2. Porównanie jakości życia pacjentek z grupy badanej i grupy kontrolnej  
Tab. 2. Comparison of the quality of life in the study group vs. control group



Ryc. 2. Porównanie jakości życia pacjentek z grupy badanej i grupy kontrolnej  
Fig. 2. Comparison of the quality of life in the study group vs. control group

endometrium – inaczej niż w raku szyjki macicy – zakres operacji usunięcia macicy jest najczęściej klasyfikowany jako Piver II, a radykalność zabiegu polega głównie na usunięciu mankietu pochwy i węzłów chłonnych. Wielu autorów odnotowało zdecydowanie mniejszy (poniżej 50%) odsetek takich powikłań po zabiegu typu Piver II w porównaniu z Piver III<sup>(4,5)</sup>. Dlatego wydaje się, że w przypadku raka endometrium największy wpływ na występowanie zaburzeń układu moczowego ma leczenie uzupełniające, głównie brachyterapia. Pisarska i wsp., którzy oceniali chore po brachyterapii, uzyskali wyniki mogące potwierdzać tę hipotezę<sup>(6,7)</sup>. Gilbaz i wsp. stwierdzili największy wzrost dolegliwości u pacjentek po leczeniu operacyjnym z radioterapią. Po prostym usunięciu macicy obserwowali natomiast zmniejszenie się dolegliwości – najprawdopodobniej z tego względu, że leczenie operacyjne z przyczyn ginekologicznych mogło zawierać również wskazania uroginekologiczne, których korekcja poprawiła działanie układu moczowo-płciowego<sup>(8)</sup>.

Choo i wsp. badali pacjentów leczonych z powodu raka prostaty (m.in. uzupełniającą radioterapią, tolerowaną przez mężczyzn bardzo dobrze). Głównym elementem obniżającym jakość ich życia okazały się problemy urologiczne<sup>(9)</sup>. Lin i wsp. ocenili w badaniu urodynamicznym chore przed leczeniem operacyjnym i stwierdzili, że jedynie 17% kobiet z rakiem szyjki macicy nie miało problemów uroginekologicznych. W związku z większymi obciążeniami internistycznymi pacjentek z rakiem endometrium w ich przypadku może być podobnie<sup>(10)</sup>. Ponieważ obecnie stosowane techniki *nerve-sparing* dodatkowo zmniejszają ryzyko uszkodzeń układu nerwowego pacjentek leczonych operacyjnie<sup>(11)</sup>, nasze wyniki wiążemy raczej z zastosowanym leczeniem uzupełniającym – brachyterapią – niż z zabiegiem operacyjnym.

## WNIOSKI

Stosowanie leczenia uzupełniającego w postaci brachyterapii prowadzi do nasilenia zaburzeń w układzie moczowo-płciowym, co negatywnie wpływa na komfort życia pacjentek po udanym leczeniu raka endometrium. Aby tego uniknąć, należy wykorzystać wszystkie możliwości diagnostyczne, ułatwiające prawidłową kwalifikację do uzupełniającej brachyterapii.

### Konflikt interesów

*Autorzy nie zgłaszają finansowych ani osobistych powiązań z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby negatywnie wpłynąć na treść publikacji oraz rościć sobie prawo do tej publikacji.*

results supporting this hypothesis<sup>(6,7)</sup>. Gilbaz *et al.* found the greatest increase in symptoms in patients after surgical treatment and radiotherapy, whereas they observed reduced symptoms after simple hysterectomy. This probably resulted from the fact that surgical treatment could also include urogynecologic indications, whose treatment improved the genitourinary function<sup>(8)</sup>. Choo *et al.* assessed patients receiving treatment for prostate cancer (using, among other things, adjuvant radiotherapy, which was very well-tolerated). Urological problems were shown to be the major factor reducing the quality of life in these patients<sup>(9)</sup>. Lin *et al.* performed a preoperative urodynamics assessment of patients and found that only 17% of cervical cancer patients did not develop urogynecologic disorders. The same may be probably observed in endometrial cancer patients due to their higher comorbidity burden<sup>(10)</sup>. Since the currently used nerve-sparing techniques reduce the risk of damage to the nervous system in patients receiving surgical treatment<sup>(11)</sup>, our findings are associated with adjuvant therapy, i.e. brachytherapy, rather than with surgical treatment.

## CONCLUSIONS

The use of adjuvant treatment in the form of brachytherapy increases the severity of genitourinary disorders, which adversely affects the quality of life in patients after cancer therapy. All diagnostic tools which aid an appropriate qualification of patients for adjuvant brachytherapy should be used in order to avoid these complications.

### Conflict of interest

*The authors do not report any financial or personal links with other persons or organizations, which might affect negatively the content of this publication or claim authorship rights to this publication.*

## Piśmiennictwo/References

- Zwierko M, Wronkowski Z: Epidemiologia. In: Markowska J, Mądry R (eds.): Zarys ginekologii onkologicznej. Vol. 1, Termedia, Poznań 2012: 25–48.
- Bartodziej U, Szyłło K, Włodarczyk B *et al.*: Analiza wybranych parametrów badania urodynamicznego w aspekcie funkcjonowania dolnego odcinka układu moczowego u chorych na raka szyjki macicy po radykalnej histerektomii i radioterapii. *Prz Menopauzalny* 2008; 6: 332–337.
- Naik R, Nwabinelli J, Mayne C *et al.*: Prevalence and management of (non-fistulous) urinary incontinence in women following radical hysterectomy for early stage cervical cancer. *Eur J Gynaecol Oncol* 2001; 22: 26–30.
- Landoni F, Maneo A, Cormio G *et al.*: Class II versus class III radical hysterectomy in stage IB–IIA cervical cancer: a prospective randomized study. *Gynecol Oncol* 2001; 80: 3–12.
- Zullo MA, Mancini N, Angioli R *et al.*: Vesical dysfunction after radical hysterectomy for cervical cancer: a critical review. *Crit Rev Oncol Hematol* 2003; 48: 287–293.
- Pisarska M, Sajdak S: Lower urinary tract function after postoperative radiotherapy in the treatment of cervical cancer. *Eur J Gynaecol Oncol* 2003; 24: 490–494.
- Pisarska M, Samulak D, Obrębowska A *et al.*: Ocena cystometryczna zmian w układzie moczowym u kobiet leczonych kompleksowym napromienianiem z powodu raka szyjki macicy i raka endometrium. *Rep Pract Oncol Radiother* 2000; 5: 21–22.
- Gilbaz E, Gungor Ugurlucan F, Aslay I *et al.*: The effects of simple and radical hysterectomy and radiotherapy on lower urinary tract symptoms and urodynamics. *Eur J Gynaecol Oncol* 2013; 34: 248–253.
- Choo R, Do V, Herschorn S *et al.*: Urodynamic changes at 18 months post-therapy in patients treated with external beam radiotherapy for prostate carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2002; 53: 290–296.
- Lin HH, YU HJ, Sheu BC *et al.*: Importance of urodynamic study before radical hysterectomy for cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2001; 81: 270–272.
- Skreń-Magierło J, Naróg M, Kruczek A *et al.*: Radical hysterectomy during the transition period from traditional to nerve-sparing technique. *Gynecol Oncol* 2010; 116: 502–505.

## Zasady prenumeraty kwartalnika „Current Gynecologic Oncology”

- Prenumeratę można rozpocząć od dowolnego numeru pisma. Prenumerujący otrzyma zamówione numery kwartalnika pocztą na podany adres.
- Pojedynczy egzemplarz kwartalnika kosztuje 40 zł. Przy zamówieniu rocznej prenumeraty (4 kolejne numery) koszt całorocznej prenumeraty wynosi 120 zł. Koszt całorocznej prenumeraty zagranicznej wynosi 40 euro.
- Istnieje możliwość zamówienia numerów archiwalnych (do wyczerpania nakładu). Cena numeru archiwalnego – 40 zł.
- Zamówienie można złożyć:
  - Wypełniając załączony blankiet i dokonując wpłaty w banku lub na poczcie.
  - Dokonując przelewu z własnego konta bankowego (ROR) – wpłaty należy kierować na konto: Medical Communications Sp. z o.o., ul. Powsińska 34, 02-903 Warszawa Deutsche Bank PBC SA 42 1910 1048 2215 9954 5473 0001 Prosimy o podanie dokładnych danych imiennych i adresowych.
  - Drogą mailową: redakcja@ginekologia.com.pl.
  - Telefonicznie: 22 651 97 83.
  - Wypełniając formularz prenumeraty zamieszczony na stronie www.ginekologia.com.pl.
- Zamawiający, którzy chcą otrzymać fakturę VAT, proszeni są o kontakt z redakcją.

## Rules of subscription to the quarterly “Current Gynecologic Oncology”

- Subscription may begin at any time. Subscribers will receive ordered volumes of the journal to the address provided.
- A single volume of the quarterly costs 40 PLN (10 EUR). The cost of annual subscription (4 consecutive volumes) is 120 PLN. The cost of annual subscription for foreign subscribers is 40 EUR.
- Archival volumes may be ordered at a price of 40 PLN per volume until the stock lasts.
- Orders may be placed:
  - By filling-in attached form and making a payment by bank or post-office.
  - By making a money transfer from own bank account – payments should be made payable to: Medical Communications Sp. z o.o., ul. Powsińska 34, 02-903 Warszawa Deutsche Bank PBC SA 42 1910 1048 2215 9954 5473 0001 For foreign subscribers: Account Name: Medical Communications Sp. z o.o. Bank Name: Deutsche Bank PBC S.A. Bank Address: 02-903 Warszawa, ul. Powsińska 42/44 Account number: 15 1910 1048 2215 9954 5473 0002 SWIFT Code/IBAN: DEUTPLPK Please provide a precise address and nominative data.
  - By e-mail: redakcja@ginekologia.com.pl.
  - By phone: +48 22 651 97 83.
  - Filling-in a subscription form, which may be found on the page www.ginekologia.com.pl.
- Customers wishing a VAT invoice, are requested to contact directly the Editor.



Elżbieta Stasienko<sup>1</sup>, Magdalena Wiśniewska<sup>2</sup>, Krzysztof Kamecki<sup>3</sup>,  
 Joanna Skręt-Magierło<sup>1</sup>, Marcin Opławski<sup>1</sup>, Anna Brożyna<sup>4,5</sup>,  
 Magdalena Maleńczyk<sup>1</sup>, Krzysztof Koper<sup>2,6</sup>, Krzysztof Roszkowski<sup>6,7</sup>

Received: 09.06.2015

Accepted: 25.06.2015

Published: 31.07.2015

## Histopatologia raków jajnika współistniejących z endometriozą

### Histology of endometriosis-associated ovarian carcinomas

### Гистопатология рака яичников, сопровождающаяся эндометриозом

<sup>1</sup> Oddział Kliniczny Ginekologii Onkologicznej, Centrum Onkologii im. Prof. Franciszka Łukaszczyka w Bydgoszczy, Polska

<sup>2</sup> Oddział Chemioterapii, Centrum Onkologii im. Prof. Franciszka Łukaszczyka w Bydgoszczy, Polska

<sup>3</sup> Oddział Kliniczny Urologii Onkologicznej, Centrum Onkologii im. Prof. Franciszka Łukaszczyka w Bydgoszczy, Polska

<sup>4</sup> Zakład Patologii Nowotworów, Centrum Onkologii im. Prof. Franciszka Łukaszczyka w Bydgoszczy, Polska

<sup>5</sup> Zakład Patologii Nowotworów, Collegium Medicum Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, Polska

<sup>6</sup> Katedra Onkologii, Radioterapii i Ginekologii Onkologicznej, Collegium Medicum Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, Polska

<sup>7</sup> Oddział Radioterapii, Centrum Onkologii im. Prof. Franciszka Łukaszczyka w Bydgoszczy, Polska

Adres do korespondencji: Elżbieta Stasienko, Oddział Kliniczny Ginekologii Onkologicznej, Centrum Onkologii im. Prof. Franciszka Łukaszczyka, ul. Dr Izabeli Romanowskiej 2, 85-796 Bydgoszcz, tel.: +48 535 535 045, e-mail: elzbieta.stasienko@gmail.com

<sup>1</sup> Clinical Department of Gynecologic Oncology, The Franciszek Łukaszczyk Oncology Centre in Bydgoszcz, Poland

<sup>2</sup> Department of Chemotherapy, The Franciszek Łukaszczyk Oncology Centre in Bydgoszcz, Poland

<sup>3</sup> Clinical Department of Oncological Urology, The Franciszek Łukaszczyk Oncology Centre in Bydgoszcz, Poland

<sup>4</sup> Department of Tumor Pathology, The Franciszek Łukaszczyk Oncology Centre in Bydgoszcz, Poland

<sup>5</sup> Department of Tumor Pathology, Nicolaus Copernicus University in Toruń, Collegium Medicum, Poland

<sup>6</sup> Department of Oncology, Radiotherapy and Gynecologic Oncology, Nicolaus Copernicus University in Toruń, Collegium Medicum, Poland

<sup>7</sup> Department of Radiotherapy, The Franciszek Łukaszczyk Oncology Centre in Bydgoszcz, Poland

Correspondence: Elżbieta Stasienko, Clinical Department of Gynecologic Oncology, The Franciszek Łukaszczyk Oncology Centre, Dr Izabeli Romanowskiej 2, 85-796 Bydgoszcz, Poland, tel.: +48 535 535 045, e-mail: elzbieta.stasienko@gmail.com

#### Streszczenie

**Cel:** Celem pracy jest prezentacja zróżnicowania histopatologicznego raków jajnika współistniejących z endometriozą. **Materiał i metody:** Korzystając ze szpitalnej bazy danych, przeanalizowaliśmy wyniki histopatologiczne pacjentek z rakiem jajnika, które były operowane między 2004 a 2010 rokiem w Centrum Onkologii w Bydgoszczy. U 62 chorych potwierdziliśmy endometriozę i raka jajnika w jednym preparacie tkankowym. **Wyniki:** Wydaje się, iż endometrioza wpływa na rozwój specyficznych typów histopatologicznych raków jajnika. Spośród 62 pacjentek 53,22% (33 przypadki) miało raka endometrioidalnego, 25,8% (16) – raka jasnokomórkowego, 19,35% (12) – raka surowiczego, a 1,61% (1) – raka śluzowego. Nasze wyniki potwierdzają tezę, że endometrioza może promować rozwój określonych typów histopatologicznych raka jajnika. Odnotowaliśmy częstsze występowanie raka endometrioidalnego i jasnokomórkowego niż innych podtypów raka jajnika, a także przewagę raka jasnokomórkowego wśród raków powstałych w bliźnie po laparotomii. W grupie pacjentek z rakiem w bliźnie trzy (75%) miały raka jasnokomórkowego, a jedna – surowiczego. **Podsumowanie:** Jeśli przyjąć klasyczne kryteria Sampsona, typ endometrialny był najczęstszym rozpoznaniem histopatologicznym u pacjentek z rakiem jajnika, któremu towarzyszyła endometrioza. Typ jasnokomórkowy okazał się zaś najczęstszym rozpoznaniem wśród chorych z rakiem, któremu towarzyszyła endometrioza w bliźnie po laparotomii.

**Słowa kluczowe:** endometrioza, rak jajnika, histopatologia

#### Abstract

**Objective:** The objective of this study was to demonstrate the histological diversity of endometriosis-associated ovarian carcinoma. **Material and methods:** Using record linkage techniques, we have conducted histopathological assessment in patients with endometriosis-associated ovarian cancer who received surgical treatment between 2004–2010 in the Oncology Centre in Bydgoszcz. Endometriosis and cervical carcinoma were confirmed in one tissue specimen in 62 patients. **Results:** Endometriosis seemed to promote the development of specific histologic types of ovarian cancer. Of 62 subjects, 53.22% (33/62) had endometrioid adenocarcinoma, 25.8% (16/62) had clear-cell carcinoma, 19.35% (12/62) had serous adenocarcinoma, and 1.61% (1/62) had mucinous adenocarcinoma. Our results support the hypothesis that coexistent

endometriosis is more often associated with endometrioid and clear-cell carcinomas than other histologic subtypes as well as that clear-cell variant is the most common cancer developing in the abdominal wall scar from a previous laparotomy. Among patients with endometriosis-associated ovarian carcinoma in the abdominal scar, three (75%) had clear-cell carcinoma and one had papillary serous adenocarcinoma. **Conclusions:** According to Sampson's criteria, endometrioid carcinoma of the ovary was the most common histological diagnosis in patients with endometriosis-associated ovarian carcinoma. The clear-cell variant of cancer was the most common type in patients with endometriosis-associated ovarian carcinoma in the abdominal scar after laparotomy.

**Key words:** endometriosis, ovarian cancer, histopathology

## Содержание

**Цель:** Цель работы заключается в представлении гистологического деления рака яичников, сопровождающаяся эндометриозом. **Материал и методы:** Используя базу данных больницы, мы проанализировали гистологические результаты пациенток с раком яичников, оперированных в период между 2004 и 2010 годом в Центре онкологии в Быдгоще. У 62 пациентов мы подтвердили эндометриоз и рак яичника в одном тканевом препарате. **Результаты:** Предполагается, что эндометриоз влияет на развитие конкретных гистологических типов рака яичников. Из 62 пациенток 53,22% (33 случая) имело эндометриоидный рак, 25,8% (16) – почечно-клеточный рак, 19,35% (12) – серозный рак и 1,61% (1) – коллоидный рак. Наши результаты поддерживают концепцию, что эндометриоз может способствовать развитию конкретных гистологических типов рака яичников. Мы зафиксировали более частую заболеваемость на рак эндометриоидный и почечно-клеточный, чем другие подтипы рака яичников, а также преобладание почечно-клеточного рака среди раков, возникающих в рубцах после лапаротомии. В группе пациенток с раком в рубце три (75%) имели почечно-клеточный рак, а одна – серозный. **Подводя итоги:** Если взять классический критерий Сампсона, эндометриальный тип оказался самым распространенным гистологическим диагнозом у больных с раком яичника, сопровождаемым эндометриозом. Ясно почечно-клеточный тип оказался наиболее распространенным диагнозом среди больных на рак, в сопровождении эндометриозом в рубцах после лапаротомии.

**Ключевые слова:** эндометриоз, рак яичников, гистология

## WSTĘP

Choć prowadzone są intensywne badania, związek endometriozy z rakiem jajnika pozostaje niewyjaśniony<sup>(1-4)</sup>. Przebieg kliniczny endometriozy – mimo braku konsekwencji katabolicznych dla ustroju – ma wiele cech wspólnych z nowotworem. Niekontrolowany podział komórek, tworzenie wszczepów w sąsiednie tkanki, destrukcja podścieliska, możliwość rozsiewu do narządów odległych oraz podobne czynniki ryzyka i estrogenozależny wzrost są przyczynami domniemywać na temat możliwości wspólnego pochodzenia tych dwóch chorób<sup>(5)</sup>.

Przypadek transformacji endometriozy w zmianę złośliwą po raz pierwszy opisał Sampson w 1925 roku<sup>(6)</sup>. W swojej pracy sformułował trzy warunki, które muszą być spełnione, aby rozpoznać raka powstałego w ognisku endometriozy. Są to: współistnienie tkanki endometrialnej i raka w tym samym jajniku, różnicowanie guza złośliwego w kierunku endometriotycznym oraz brak ogniska pierwotnego w innym narządzie. W 1953 roku Scott<sup>(7)</sup> zaproponował czwarty warunek – bezpośrednie przejście łagodnej zmiany endometrialnej w utkanie raka jajnika w jednym preparacie histologicznym. Wiele badań<sup>(8-10)</sup> sugeruje zwiększone ryzyko zachorowania na nowotwory złośliwe u kobiet z endometriozą. Tylko 25% tych raków powstaje poza miednicą, natomiast aż 75% – w narządach płciowych, a zwłaszcza w jajnikach. Transformacja złośliwa zmian endometriotycznych umiejscowionych

## INTRODUCTION

Despite intensive research, the relationship between endometriosis and ovarian cancer remains unclear<sup>(1-4)</sup>. Although the clinical course of endometriosis does not involve catabolic consequences, it shares a number of common features with cancer. Uncontrollable cell division, invasion of the neighboring tissues, stromal destruction, the ability to spread to distant organs as well as similar risk factors and estrogen-related growth all lead to assumptions on the common origin of these two conditions<sup>(5)</sup>.

In 1925, Sampson first described malignant changes in endometriosis<sup>(6)</sup>. The author formulated three conditions of endometriosis-associated cancer diagnosis. These are as follows: the coexistence of endometrial tissue and carcinoma in the same ovary, malignant tumor endometrial differentiation and the absence of primary focus in other organs. In 1953 Scott<sup>(7)</sup> proposed another condition, i.e. direct transformation of benign endometrial lesion into ovarian carcinoma observed in one histological specimen.

A number of studies<sup>(8-10)</sup> suggest an increased risk of malignancies in females with endometriosis. Only 25% of these carcinomas develop outside the pelvis, whereas as much as 75% – in the genital organs, particularly the ovaries. Malignant transformation of extragonadal endometriosis is rare, and only 30 cases of cancer in the abdominal

ekstragonadalnie jest zjawiskiem rzadkim, a raka w bliżniej brzusznej po laparotomii opisano w zaledwie 30 przypadkach<sup>(11)</sup>. Pearce i wsp.<sup>(12)</sup> przeanalizowali dane z 13 badań typu *case-control* i potwierdzili zwiększone ryzyko jasnokomórkowego oraz endometrialnego raka jajnika w przypadku współistniejącej endometriozy. Według klasyfikacji Kurmana i Shaha<sup>(13)</sup> raki związane z pierwotną zmianą endometriotyczną zaliczane są do typu I raków jajnika.

## MATERIAŁ I METODY

Rekrutacja uczestniczek badania polegała na przeszukiwaniu elektronicznej bazy pacjentów leczonych w latach 2004–2010 w Centrum Onkologii w Bydgoszczy. Kryterium włączenia do badania było współistnienie endometriozy i raka jajnika w jednym pooperacyjnym preparacie tkankowym, co znajdowało odzwierciedlenie w wyniku badania histopatologicznego. Preparaty – wykonane w sposób standardowy, utrwalone w formalinie, zatopione w parafinie, wybarwione hematoxyliną i eozyną – zostały poddane ponownej ocenie histopatologicznej, w której potwierdzono raka jajnika współistniejącego z endometriozą. Endometriozę i raka jajnika zdefiniowano według kryteriów Światowej Organizacji Zdrowia<sup>(14,15)</sup>. Ostatecznie do badania włączono 62 pacjentki operowane w Centrum Onkologii w Bydgoszczy (ryc. 1).

## WYNIKI

Pośród 62 pacjentek, u których potwierdziliśmy współistnienie endometriozy i raka jajnika w jednym pooperacyjnym preparacie histopatologicznym, 33 chore (53,22%) miały raka endometrioidalnego, 16 (25,8%) – raka jasnokomórkowego, 12 (19,35%) – raka surowiczego, a 1 (1,61%) – raka śluzowego. Uzyskane przez nas wyniki potwierdzają hipotezę, że raki jajnika współistniejące ze zmianami o charakterze endometriozy

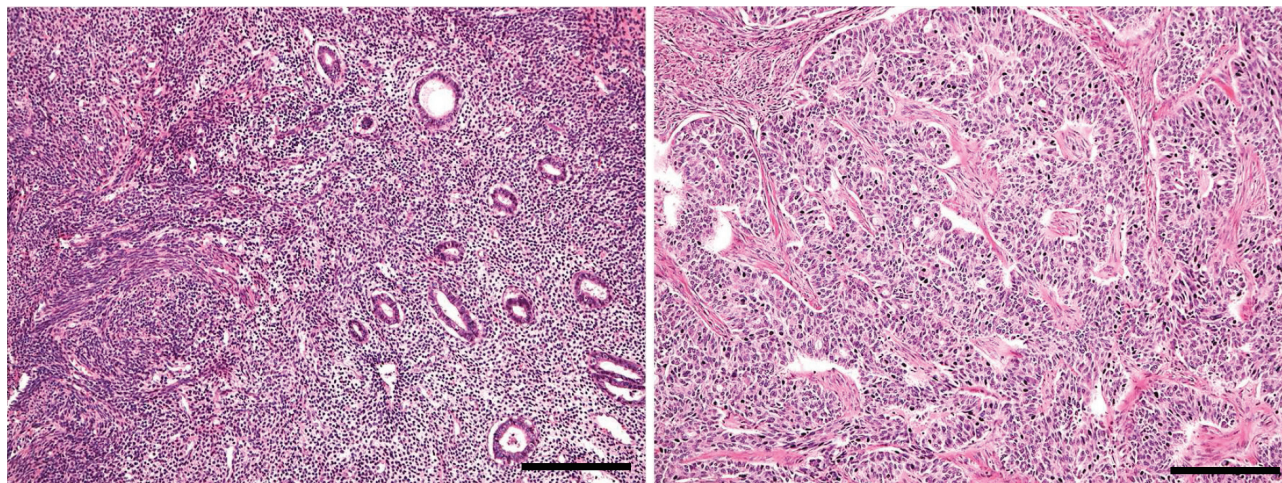
scar after laparotomy were described<sup>(11)</sup>. Pearce *et al.*<sup>(12)</sup> analyzed data from 13 case-control studies and confirmed the increased risk of clear-cell carcinoma and ovarian endometrioid carcinoma in patients with coexistent endometriosis. According to classification by Kurman and Shih<sup>(13)</sup>, cancers associated with primary endometrial lesions belong to class I ovarian cancers.

## MATERIAL AND METHODS

Recruitment of subjects involved the search through the electronic database of patients treated in the period 2004–2010 at the Oncology Centre in Bydgoszcz. The coexistence of endometriosis and ovarian cancer in one postoperative tissue specimen, confirmed in histological examination, was an inclusion criterion. Preparations, which were prepared in a standard manner, fixed in formalin, embedded in paraffin, stained with hematoxylin and eosin, were subject to histological reassessment, which confirmed endometriosis-associated ovarian carcinoma. Endometriosis and ovarian cancer were defined according to World Health Organization guidelines<sup>(14,15)</sup>. Ultimately, 62 patients receiving surgical treatment at the Oncology Centre in Bydgoszcz were included in the study (Fig. 1).

## RESULTS

Among 62 patients with confirmed coexistence of endometriosis and ovarian cancer in one postoperative tissue specimen, 33 (53.22%) patients had endometrioid carcinoma, 16 (25.8%) patients had clear-cell carcinoma, 12 (19.35%) patients had serous carcinoma, and 1 (1.61%) patient had mucinous carcinoma. Our findings support the hypothesis that ovarian cancers coexisting with endometriosis are usually represented by endometrioid or clear-cell carcinomas



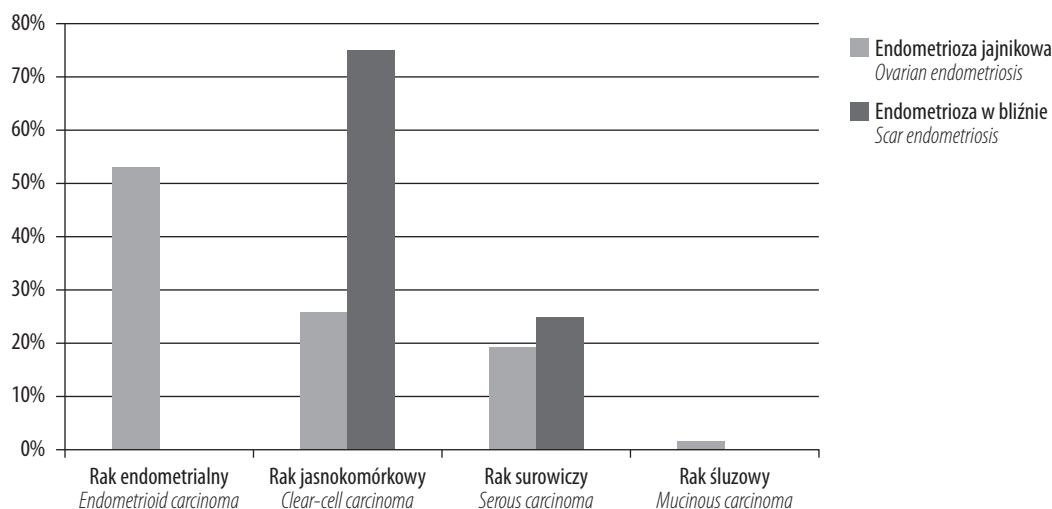
Ryc. 1. Ognisko endometriozy oraz rak endometrialny jajnika u pacjentki włączonej do prezentowanych badań – rutynowe preparaty barwione H&E, skala 200  $\mu$ m

Fig. 1. A focus of endometriosis and endometrioid carcinoma of the ovary in a patient included in the present study – standard preparations stained with H&E, scale bar: 200  $\mu$ m



są najczęściej rakami endometrioidalnymi lub jasnokomórkowymi, a także to, że raki powstałe z uprzednio stwierdzonej endometriozy w bliźnie po laparotomii mają najczęściej strukturę jasnokomórkową. Spośród czterech pacjentek z guzem nowotworowym zlokalizowanym w bliźnie trzy miały raka jasnokomórkowego, a jedna – raka surowiczego (ryc. 2, tab. 1–4).

as well as the fact that cancers developing from previously identified endometriosis in the abdominal scar after laparotomy are usually clear cell cancers. Among the four patients with the tumor located in the abdominal scar, three had clear-cell carcinoma and one had papillary serous carcinoma (Fig. 2, Tabs. 1–4).



Ryc. 2. Histopatologia raków jajnika związanych z endometriozą  
Fig. 2. Histology of endometriosis-associated ovarian carcinomas

	FIGO I	FIGO II	FIGO III	FIGO IV
<b>Rak endometrialny</b> <i>Endometrioid carcinoma</i>	23 (37,09%)	-	10 (16,13%)	-
<b>Rak jasnokomórkowy</b> <i>Clear-cell carcinoma</i>	10 (16,13%)	-	6 (9,68%)	-
<b>Rak surowiczny</b> <i>Serous carcinoma</i>	-	-	12 (19,35%)	-
<b>Rak śluzowy</b> <i>Mucinous carcinoma</i>	-	-	1 (1,61%)	-

Tab. 1. Podział raków jajnika związanych z endometriozą jajnikową pod względem zaawansowania klinicznego według FIGO

Tab. 1. Division of ovarian endometriosis-associated carcinomas in terms of clinical FIGO stage

	G1	G2	G3
<b>Rak endometrialny</b> <i>Endometrioid carcinoma</i>	24	5	4
<b>Rak jasnokomórkowy</b> <i>Clear-cell carcinoma</i>	-	1	15
<b>Rak surowiczny</b> <i>Serous carcinoma</i>	-	-	12
<b>Rak śluzowy</b> <i>Mucinous carcinoma</i>	-	1	-

Tab. 3. Podział raków jajnika związanych z endometriozą jajnikową pod względem stopnia zróżnicowania histopatologicznego (grading)

Tab. 3. Division of ovarian endometriosis-associated carcinomas in terms of histological differentiation (grading)

	FIGO I	FIGO II	FIGO III	FIGO IV
<b>Rak endometrialny</b> <i>Endometrioid carcinoma</i>	-	-	-	-
<b>Rak jasnokomórkowy</b> <i>Clear-cell carcinoma</i>	-	-	3	-
<b>Rak surowiczny</b> <i>Serous carcinoma</i>	-	-	1	-
<b>Rak śluzowy</b> <i>Mucinous carcinoma</i>	-	-	-	-

Tab. 2. Podział raków jajnika związanych z endometriozą w bliźnie pod względem zaawansowania klinicznego według FIGO

Tab. 2. Division of ovarian endometriosis-associated carcinomas located in the scar in terms of clinical FIGO stage

	G1	G2	G3
<b>Rak endometrialny</b> <i>Endometrioid carcinoma</i>	-	-	-
<b>Rak jasnokomórkowy</b> <i>Clear-cell carcinoma</i>	-	-	3
<b>Rak surowiczny</b> <i>Serous carcinoma</i>	-	-	1
<b>Rak śluzowy</b> <i>Mucinous carcinoma</i>	-	-	-

Tab. 4. Podział raków jajnika związanych z endometriozą w bliźnie pod względem stopnia zróżnicowania histopatologicznego (grading)

Tab. 4. Division of ovarian endometriosis-associated carcinomas located in the scar in terms of histological differentiation (grading)

## OMÓWIENIE

Wydaje się, iż endometrioza promuje rozwój określonych histopatologicznych typów raka jajnika. Zgodnie z kryteriami molekularnymi Shiha i Kurmana<sup>(13-15)</sup> raki nabłonkowe jajnika dzieli się na dwa typy: I oraz II.

Raki związane z endometriozą reprezentują typ I karcinogenezy. Raki tego typu rozwijają się wolno, mają wysoki stopień zróżnicowania histopatologicznego (*grading*), a tym samym niski potencjał mitotyczny. W toku rozwoju często prezentują uchwytą w badaniach diagnostycznych zmianę prekursorową o charakterze łagodnym czy zmianę graniczną, z której się rozwijają. Do raków typu I zaliczamy: wysoko zróżnicowane raki surowicze, śluzowe i endometrioidalne jajnika, jak również raki jasnokomórkowe i z komórek przejściowych, stanowiące łącznie do 25% wszystkich zmian złośliwych rozwijających się w jajniku. Raki te mają względnie stabilny genom, a najczęstsze mutacje dotyczą genów *K-RAS*, *BRAF*, *PTEN*, *BCL-2* i *ARID1A*.

Z kolei raki typu II są guzami szybko się rozprzestrzeniającymi, o pierwotnie dużym zaawansowaniu w obrębie jamy brzusznej i miednicy oraz niezwykle agresywnym przebiegu klinicznym, bez uchwytnej uprzednio zmiany prekursorowej. Raki te stanowią 75% złośliwych zmian jajnika. Zaliczamy do nich nisko zróżnicowane raki surowicze, raki niezróżnicowane i *carcinosarcoma*. Typ II raka jajnika jest genetycznie niestabilny i charakteryzuje się obecnością wielu mutacji (najczęstsza – w genie *p53*). W retrospektywnym badaniu kohortowym (20 686 pacjentek) Brinton i wsp.<sup>(16)</sup> wykazali wzrost zachorowań na choroby rozrostowe, w tym raka jajnika, raka piersi i układu krwiotwórczego, wśród kobiet z endometriozą. Ryzyko zachorowania zwiększało się wraz z czasem od zdiagnozowania endometriozy. Średni współczynnik występowania (*standardized incidence ratio*, SIR) przy 95-procentowym przedziale ufności (*confidence interval*, CI) wyniósł dla raka jajnika 1,9, ale już po 10 latach od postawienia diagnozy rósł do 4,2 (95% CI: 2,0–7,7). Kolejne badanie kohortowe, obejmujące 28 163 kobiety, również wykazało korelację między ryzykiem zachorowania na raka jajnika a zdiagnozowaną wcześniej endometriozą<sup>(17)</sup>. W 2004 i 2005 roku ukazały się wyniki następných badań kohortowych<sup>(18-20)</sup>, wykazujących częstsze rozpoznania raka jajnika u kobiet leczących się z powodu niepłodności pierwotnej na tle endometriozy (SIR 4,19, 95% CI: 2,0–7,7). W badaniach tych pacjentki z endometriozą chorowały też znamienne częściej na inne nowotwory, np. czerniaki, raki jelita grubego, tarczycy. Melin i wsp.<sup>(21)</sup> w badaniu z udziałem 64 492 kobiet nie wykazali częstszych zachorowań na nowotwory złośliwe w grupie pacjentek z endometriozą (SIR 1,04) w porównaniu z grupą kontrolną, ale odnotowali znamienne częstsze zachorowania na raka jajnika (1,43, 95% CI: 1,2–1,7), raki układu dokrewnego (1,36, 95% CI: 1,2–1,6), guzy mózgu (1,22, 95% CI: 1,0–1,4) i chłoniaki niezłaziarnicze (1,24, 95% CI: 1,0–1,5). Także w tym badaniu ryzyko zachorowania na raka rosło (SIR 2,23) wraz z czasem

## DISCUSSION

It seems that endometriosis promotes the development of specific histologic types of ovarian cancer. According to molecular criteria of Shih and Kurman<sup>(13-15)</sup>, two types of epithelial ovarian cancers are distinguished, i.e. type I and type II.

Endometriosis-associated cancers represent type I carcinogenesis. These tumors show slow development, are well differentiated and thus show low mitotic potential. In the course of their development, benign precursor lesion or borderline lesion, from which they develop, may be often observed during diagnostic testing. Type I cancers include well differentiated serous carcinomas, mucinous and endometrioid ovarian cancers as well as clear-cell carcinomas and transitional cell cancers, accounting for up to 25% of all ovarian malignancies. These cancers have relatively stable genome, with the most common mutations in *K-RAS*, *BRAF*, *PTEN*, *BCL-2* and *ARID1A*.

Type II carcinomas are tumors that spread rapidly, show high primary advancement within the abdomen and pelvis as well as very aggressive clinical course with no detectable precursor lesion. These cancers account for 75% of ovarian malignancies and include low-differentiated serous carcinomas, undifferentiated carcinomas and carcinosarcomas. Type II ovarian cancer is genetically unstable and shows multiple mutations, with most common in *p53* gene. Brinton *et al.*<sup>(16)</sup> conducted a retrospective cohort study including 20,686 patients and showed an increased incidence of proliferative diseases, including ovarian, breast and hematologic cancers, in women with endometriosis. The risk of cancer increased with time since diagnosis of endometriosis. The standardized incidence ratio (SIR) with 95% confidence interval (CI) was 1.9 for ovarian cancer, however, it increased up to 4.2 (95% CI: 2.0–7.7) after 10 years since diagnosis. Another cohort study including 28,163 women also showed a correlation between the risk of ovarian cancer and previously diagnosed endometriosis<sup>(17)</sup>. Further cohort studies were published in 2004 and 2005<sup>(18-20)</sup>, and showed that the diagnosis of ovarian cancer was more common in women receiving treatment for endometriosis-related primary infertility (SIR 4.19, 95% CI: 2.0–7.7). These studies showed that other types of tumors, such as melanoma, colon or thyroid cancer, were more common in endometriosis patients. Melin *et al.*<sup>(21)</sup>, in their study including 64,492 women, did not report a more frequent occurrence of malignant tumors in endometriosis patients (SIR 1.04) compared to controls, however, they observed significantly increased incidence of ovarian cancers (1.43, 95% CI: 1.2–1.7), endocrine carcinomas (1.36, 95% CI: 1.2–1.6), brain tumors (1.22, 95% CI: 1.0–1.4) and non-Hodgkin lymphomas (1.24, 95% CI: 1.0–1.5) in this patient population. This study also showed that the risk of cancer increased (SIR 2.23) with the duration of endometriosis (10–15 years and more). Patients diagnosed

trwania endometriozy (10–15 lat i więcej). W grupie kobiet, u których rozpoznano endometriozę po histerektomii, nie wykazano natomiast zwiększonego ryzyka zachorowania na raka jajnika. Co istotne, w powyższym badaniu około 81% pacjentek miało histopatologiczne potwierdzenie endometriozy. Kobayashi i wsp.<sup>(22)</sup> w badaniu kohortowym na 6398 pacjentkach z endometriozą jajnikową potwierdzili wystąpienie raka jajnika u 46 chorych (*follow-up* do 17 lat od pierwszej diagnozy), co daje SIR = 8,95. Zauważyć jednak należy, że tylko około 30% uczestniczek badania miało histopatologiczne potwierdzenie endometriozy.

Olson i wsp.<sup>(23)</sup> nie wykazali związku endometriozy z rakiem jajnika. Jest to największe dotychczas badanie prezentujące takie wyniki; spośród 37 434 kobiet w wieku pomenopauzalnym 1392 samodzielnie zgłosiły wcześniejsze występowanie endometriozy. Trzeba podkreślić niską jakość konstrukcji badania: rozpoznanie endometriozy nie było w żaden sposób weryfikowane przez specjalistów.

Niewyjaśnione pozostaje to, czy ewentualna predyspozycja do rozwoju raka jajnika dotyczy wybranych (rak endometrioidalny i jasnokomórkowy), czy może wszystkich podtypów histologicznych<sup>(24,25)</sup>. W artykule przeglądowym z 2014 roku<sup>(26)</sup> zauważono, że w 39,2% przypadków endometrioza towarzyszy rakowi jasnokomórkowemu, w 21,2% – endometrioidalnemu, w 3,3% – surowiczemu, a w 3% – śluzowemu.

Ze względu na zróżnicowanie histopatologiczne raki jajnika mają różny przebieg kliniczny i różną wrażliwość na leczenie adiuwantowe. Boyraz i wsp.<sup>(27)</sup> opisali związek między endometriozą a rakiem jajnika oraz zróżnicowali podtypy histologiczne tego raka pod względem częstości współistnienia ze zmianami o charakterze endometriozy. W grupie 1086 pacjentek tylko u 45 (4,1%) odnaleziono ogniska raka i endometriozy. Wśród tych kobiet 37,8% miało raka jasnokomórkowego, 33,3% – endometrioidalnego, 13% – surowiczego, 8% – śluzowego. Raki, w których przypadku pooperacyjne badania histopatologiczne nie wykazały zmian endometriotycznych, w 50–60% były rakami surowiczymi, w 10% – śluzowymi, w 8% – jasnokomórkowymi, a w 7% – endometrioidalnymi. Choć rak jasnokomórkowy jajnika ma gorsze rokowanie niż raki należące do innych podtypów histologicznych, około 60% raków jajnika związanych z endometriozą jest rozpoznawanych w pierwszym stadium zaawansowania według FIGO<sup>(28,29)</sup>. Poza tym uważa się, iż w rakach ze współistniejącą endometriozą wyniki leczenia są lepsze – ze względu na szybką manifestację choroby. Buis i wsp.<sup>(10)</sup> oszacowali, że ryzyko rozwoju guzów o pośrednim typie złośliwości i raków z prekursorowych zmian endometriotycznych rośnie 3–8 razy.

Rak endometrioidalny jajnika w chwili rozpoznania jest zazwyczaj rakiem wysoko zróżnicowanym (*low-grade*, G1–G2) ograniczonym do jajników. Można go także scharakteryzować określonym profilem markerów molekularnych. Najbardziej swoiste są: mutacja somatyczna genu *CTNNB1*, kodującego β-kateninę, a także genów *PTEN* i *PIK3CA* oraz niestabilność mikrosatelitarna wywołana metylacją promotora genu *MLH1*<sup>(30)</sup>.

with endometriosis after hysterectomy did not show an increased risk of ovarian cancer. Importantly, endometriosis was confirmed histologically in about 81% of patients included in the above mentioned study. Kobayashi *et al.*<sup>(22)</sup> conducted a cohort study including 6,398 patients with ovarian endometriosis and confirmed ovarian cancer in 46 patients (follow-up was up to 17 years since the original diagnosis) (SIR = 8.95). However, it should be noted that endometriosis was confirmed histologically in only 30% of subjects.

Olson *et al.*<sup>(23)</sup> found no relationship between endometriosis and ovarian cancer. So far, this has been the largest study showing such results; among 37,434 postmenopausal women, 1,392 patients reported previous endometriosis. It should be emphasized, however, that the quality of study design was poor: endometriosis diagnosis was not verified by experts.

It remains unclear whether potential predisposition to ovarian cancer is associated with only selected (endometrioid and clear-cell carcinoma) or perhaps all histological subtypes of cancer<sup>(24,25)</sup>. It was noticed in a review paper in 2014<sup>(26)</sup> that endometriosis coexists with clear-cell carcinoma in 39.2%, endometrioid carcinoma in 21.2%, serous carcinoma in 3.3% and mucinous carcinoma in 3% of cases. As a result of histological diversity of ovarian cancers, their clinical course and sensitivity to adjuvant therapy differs. Boyraz *et al.*<sup>(27)</sup> described a relationship between endometriosis and ovarian cancer as well as distinguished its histological subtypes related to the frequency of coexistence with endometriosis. Among 1,086 patients, cancer and endometriosis were detected in only 45 (4.1%) subjects. Among these women, 37.8% had clear-cell carcinoma, 33.3% had endometrioid carcinoma, 13% had serous carcinoma, and 8% had mucinous carcinoma. Among cancers without coexistent endometriosis confirmed histologically during postoperative evaluation, 50–60% were serous carcinomas, 10% were mucinous carcinomas, 8% were clear-cell carcinomas, and 7% were endometrioid carcinomas. Although clear-cell carcinoma has worse prognosis compared to cancers belonging to other histological subtypes, about 60% of endometriosis-associated ovarian cancers are diagnosed in the first FIGO stage<sup>(28,29)</sup>. Furthermore, the treatment outcomes in endometriosis-associated cancers are considered better due to rapid manifestation of the disease. Buis *et al.*<sup>(10)</sup> estimated a 3–8-fold increase in the risk of moderately malignant tumors and tumors developing from precursor endometriosis.

At diagnosis, endometrioid ovarian cancer usually presents as well differentiated (low grade, G1–G2) cancer limited to the ovaries. It is also characterized by a specific profile of molecular markers. The most specific markers include somatic mutation of *CTNNB1*, encoding β-catenin, *PTEN* and *PIK3CA* mutations as well as microsatellite instability caused by methylation of *MLH1* gene<sup>(30)</sup>.

These cancers account for up to 10% of ovarian cancers and show 80% survival rate during 5-year follow-up period for FIGO stage I<sup>(10)</sup>.



Raki te stanowią do 10% raków jajnika, a w I stopniu zaawansowania klinicznego według FIGO cechują się 80-procentową przeżywalnością w 5-letniej obserwacji<sup>(10)</sup>.

W chwili rozpoznania rak jasnokomórkowy jajnika w około 50% przypadków znajduje się w pierwszym stadium zaawansowania klinicznego według FIGO. W około 50% tych raków udowodniono bezpośredni związek z endometriozą miednicy<sup>(31)</sup>. Guzy występują przeważnie jednostronnie, mają charakter dużych torbieli z martwicą i wylewami krwawymi. Komórki guzów, wykazujące ekspresję dla CK7, CEA, CA-125 i CD 15, cechują się atypią jądra komórkowego, charakterystyczną, obfitą, jasną cytoplazmą i obecnością komórek *hobnail* z jądrem położonym na obrzeżach. Markerem molekularnym około 60% raków jasnokomórkowych jest mutacja w obrębie genu *PIK3CA*<sup>(32)</sup>. Rak jasnokomórkowy jajnika stanowi około 6% raków tego narządu, a rokowanie jest zazwyczaj dobre (70% 5-letnich przeżyć). Tylko w kilku pracach typu *case report* potwierdzono współistnienie endometriozy i jej transformację w raka słuźowego jajnika<sup>(33)</sup>. Andolf i wsp.<sup>(34)</sup> oszacowali ryzyko wystąpienia endometriozy po wykonanej procedurze medycznej w grupie 708 090 kobiet, u których diagnozę po raz pierwszy postawiono po cięciu cesarskim. Okazało się, że u kobiet, które urodziły dzieci w wyniku cięcia cesarskiego, endometriozę rozpoznawano częściej niż u tych, które urodziły siłami natury. Jedynie 0,1% porodów zabiegowych powikłanych było powstaniem endometriozy w bliźnie, jednak powikłanie to dotyczyło aż 9% kobiet, u których poród zakończył się cesarskim cięciem. Udowodniono, że ryzyko rozwoju endometriozy po cięciu cesarskim wzrasta w porównaniu z porodem siłami natury – ryzyko względne (*relative risk*, RR) wynosi 1,8 (95% CI: 1,7–1,9), ale nie zależy od liczby cięć cesarskich. Wicherek i wsp.<sup>(35)</sup> opisali zależność rozwoju endometriozy w bliźnie po cięciu cesarskim od czasu jego wykonania. Endometrioza pojawiała się częściej po elektrywnych cięciach cesarskich (69%) niż po cięciach cesarskich wykonanych po rozpoczęciu porodu (31%) – ze względu na brak specyficznych zmian w obrębie komórek układu immunologicznego przed samoistnym zainicjowaniem czynności skurczowej. Paull i wsp.<sup>(36)</sup> odnotowali 10 razy częstsze występowanie endometriozy w bliźnie po epizjotomii w przypadkach, w których po porodzie dokonywano wyłęczekowania macicy ze względu na stwierdzone braki w utkanie popłodu. W wywiadzie przeprowadzonym z pacjentkami operowanymi w naszym ośrodku z powodu raka w bliźnie po laparotomii u każdej z kobiet potwierdziliśmy wykonanie elektrywnego cięcia cesarskiego jako sposobu ukończenia ostatniej ciąży. Zarówno u naszych pacjentek, jak i u ponad 30 chorych opisywanych w literaturze głównym rozpoznaniem histopatologicznym w tak umiejscowionych rakach jest rak jasnokomórkowy.

## PODSUMOWANIE

Zebrałiśmy wyniki badań histopatologicznych pacjentek z rakiem jajnika operowanych w Centrum Onkologii w Bydgoszczy między 2004 a 2010 rokiem. Tylko 5,1%

FIGO stage I clear-cell ovarian carcinoma is diagnosed in approximately 50% of cases. A direct relationship with pelvic endometriosis was shown for about 50% of these carcinomas<sup>(31)</sup>. Usually, these tumors are unilateral, in the form of large cysts with necrotic and hemorrhagic regions. Tumor cells expressing CK7, CEA, CA-125 and CD 15 show nuclear atypia, characteristic, abundant, bright cytoplasm and the presence of hobnail cells with the nucleus located peripherally. *PIK3CA* mutation is a molecular marker for about 60% of clear cell carcinomas<sup>(32)</sup>. Clear cell ovarian carcinoma accounts for about 6% of all ovarian cancers and the prognosis is usually good (the 5-year survival rate is 70%). The coexistence of endometriosis and its transformation into mucinous ovarian carcinoma was confirmed in only few case reports<sup>(33)</sup>.

Andolf *et al.*<sup>(34)</sup> estimated the risk of endometriosis following medical procedure in a group of 708,090 women who were first diagnosed after cesarean section. It was shown that endometriosis was more common in patients undergoing cesarean section compared to those undergoing natural labor. Complications in the form of endometriosis in the scar were observed in only 0.1% of patients, however, these affected 9% of patients after cesarean section. It was shown that the risk of endometriosis developing after cesarean section is increased compared to natural delivery, with the relative risk (RR) of 1.8 (95% CI: 1.7–1.9), regardless of the number of procedures. Wicherek *et al.*<sup>(35)</sup> described a relationship between the development of endometriosis in cesarean section scar and its timing. Endometriosis was more common in elective cesarean sections (69%) compared to those performed during spontaneous labor (31%), which resulted from the absence of specific changes in the immune cells prior to spontaneous initiation of contractile activity. Paull *et al.*<sup>(36)</sup> reported 10-times more frequent occurrence of endometriosis in the episiotomy scar in patients undergoing uterine curettage after delivery due to remaining placental tissue. As shown in medical history of patients receiving surgical treatment in our center due to cancer occurring in a laparotomy scar, last pregnancy termination by means of elective cesarean section was confirmed in all patients. Clear-cell carcinoma was the major histological diagnosis among cancers located in the scar for both, our patients as well as more than 30 patients described in the literature.

## SUMMARY

We have collected histological data of patients with ovarian carcinoma who received treatment in the period 2004–2010 at the Oncology Centre in Bydgoszcz. Among all these patients, carcinoma with coexisting pelvic endometriosis was found in only 5.1% of women. According to Sampson's criteria, endometrioid carcinoma was the most common histological diagnosis among pelvic carcinomas, while clear-cell carcinoma was the most common type among cancers arising from endometriosis in the abdominal wall scar after laparotomy.

wszystkich pacjentek z rakiem jajnika operowanych w naszym ośrodku miało opisanego raka współistniejącego z endometriozą. Jeśli przyjąć klasyczne kryteria Sampsona, rak endometrialny był najczęstszym rozpoznaniem histopatologicznym wśród raków jajnika w miednicy, a rak jasnokomórkowy – najczęstszym typem spośród raków powstałych w endometriozie w bliźnie po laparotomii.

#### Konflikt interesów

*Autorzy nie zgłaszają finansowych ani osobistych powiązań z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby negatywnie wpłynąć na treść publikacji oraz rościć sobie prawo do tej publikacji.*

#### Piśmiennictwo/References

1. Goumenou A, Matalliotakis I, Mahutte N *et al.*: Endometriosis mimicking advanced ovarian cancer. *Fertil Steril* 2006; 86: 219. e23–e25.
2. Kajihara H, Yamada Y, Shigetomi H *et al.*: The dichotomy in the histogenesis of endometriosis-associated ovarian cancer: clear cell-type *versus* endometrioid-type adenocarcinoma. *Int J Gynecol Pathol* 2012; 31: 304–312.
3. Tanase Y, Furukawa N, Kobayashi H *et al.*: Malignant transformation from endometriosis to atypical endometriosis and finally to endometrioid adenocarcinoma within 10 years. *Case Rep Oncol* 2013; 6: 480–484.
4. Van Gorp T, Amant F, Neven P *et al.*: Endometriosis and the development of malignant tumours of the pelvis. A review of literature. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2004; 18: 349–371.
5. Thomas EJ, Campbell IG: Evidence that endometriosis behaves in a malignant manner. *Gynecol Obstet Invest* 2000; 50 Suppl 1: 2–10.
6. Sampson JA: Endometrial carcinoma of the ovary, arising in endometrial tissue in that organ. *Arch Surg* 1925; 10: 1–72.
7. Scott RB, Te Linde RW, Wharton LR Jr: Further studies on experimental endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1953; 66: 1082–1103.
8. Boyraz G, Selcuk I, Yazicioğlu A *et al.*: Ovarian carcinoma associated with endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2013; 170: 211–213.
9. Heidemann LN, Hartwell D, Heidemann CH *et al.*: The relation between endometriosis and ovarian cancer – a review. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2014; 93: 20–31.
10. Buis CC, van Leeuwen FE, Mooij TM *et al.*: Increased risk for ovarian cancer and borderline ovarian tumours in subfertile women with endometriosis. *Hum Reprod* 2013; 28: 3358–3369.
11. Shalin SC, Haws AL, Carter DG *et al.*: Clear cell adenocarcinoma arising from endometriosis in abdominal wall cesarean section scar: a case report and review of the literature. *J Cutan Pathol* 2012; 39: 1035–1041.
12. Pearce CL, Templeman C, Rossing MA; Ovarian Cancer Association Consortium: Association between endometriosis and risk of histological subtypes of ovarian cancer: a pooled analysis of case-control studies. *Lancet Oncol* 2012; 13: 385–394.
13. Kurman RJ, Shih IM: The origin and pathogenesis of epithelial ovarian cancer: a proposed unifying theory. *Am J Surg Pathol* 2010; 34: 433–443.
14. Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS *et al.* (eds.): WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs. IARC Press, Lyon 2014: 97–100.
15. Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS *et al.* (eds.): WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs. IARC Press, Lyon 2014: 15–40.
16. Kurman RJ, Shih IM: Pathogenesis of ovarian cancer: lessons from morphology and molecular biology and their clinical implications. *Int J Gynecol Pathol* 2008; 27: 151–160.

#### Conflict of interest

*The authors do not report any financial or personal links with other persons or organizations, which might affect negatively the content of this publication or claim authorship rights to this publication.*

17. Kurman RJ, Vang R, Junge J *et al.*: Papillary tubal hyperplasia: the putative precursor of ovarian atypical proliferative (borderline) serous tumors, noninvasive implants, and endosalpingiosis. *Am J Surg Pathol* 2011; 35: 1605–1614.
18. Brinton LA, Sakoda LC, Sherman ME *et al.*: Relationship of benign gynecologic diseases to subsequent risk of ovarian and uterine tumors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 2929–2935.
19. Borgfeldt C, Andolf E: Cancer risk after hospital discharge diagnosis of benign ovarian cysts and endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2004; 83: 395–400.
20. Brinton LA, Lamb EJ, Moghissi KS *et al.*: Ovarian cancer risk associated with varying causes of infertility. *Fertil Steril* 2004; 82: 405–414.
21. Brinton LA, Westhoff CL, Scoccia B *et al.*: Causes of infertility as predictors of subsequent cancer risk. *Epidemiology* 2005; 16: 500–507.
22. Ness RB, Cramer DW, Goodman MT *et al.*: Infertility, fertility drugs, and ovarian cancer: a pooled analysis of case-control studies. *Am J Epidemiol* 2002; 155: 217–224.
23. Melin A, Sparén P, Persson I *et al.*: Endometriosis and the risk of cancer with special emphasis on ovarian cancer. *Hum Reprod* 2006; 21: 1237–1242.
24. Kobayashi H, Sumimoto K, Moniwa N *et al.*: Risk of developing ovarian cancer among women with ovarian endometrioma: a cohort study in Shizuoka, Japan. *Int J Gynecol Cancer* 2007; 17: 37–43.
25. Olson JE, Cerhan JR, Janney CA *et al.*: Postmenopausal cancer risk after self-reported endometriosis diagnosis in the Iowa Women's Health Study. *Cancer* 2002; 94: 1612–1618.
26. Jimbo H, Yoshikawa H, Onda T *et al.*: Prevalence of ovarian endometriosis in epithelial ovarian cancer. *Int J Gynaecol Obstet* 1997; 59: 245–250.
27. Boyraz G, Selcuk I, Yazicioğlu A *et al.*: Ovarian carcinoma associated with endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2013; 170: 211–213.
28. Nezhat FR, Pejovic T, Reis FM *et al.*: The link between endometriosis and ovarian cancer: clinical implications. *Int J Gynecol Cancer* 2014; 24: 623–628.
29. Nezhat F, Apostol R, Mahmouq M *et al.*: Malignant transformation of endometriosis and its clinical significance. *Fertil Steril* 2014; 102: 342–344.
30. Kumar S, Munkarah A, Arabi H *et al.*: Prognostic analysis of ovarian cancer associated with endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 2011; 204: 63.e1–63.e7.
31. Cho KR, Shih I-M: Ovarian cancer. *Annu Rev Pathol* 2009; 4: 287–313.
32. Bell KA, Kurman RJ: A clinicopathologic analysis of atypical proliferative (borderline) tumors and well-differentiated endometrioid adenocarcinomas of the ovary. *Am J Surg Pathol* 2000; 24: 1465–1479.
33. Lim D, Oliva E: Precursors and pathogenesis of ovarian carcinoma. *Pathology* 2013; 45: 229–242.
34. Andolf E, Thorsell M, Källén K: Caesarean section and risk for endometriosis: a prospective cohort study of Swedish registries. *BJOG* 2013; 120: 1061–1065.
35. Wicherek L, Klimek M, Skręt-Magierło J *et al.*: The obstetrical history in patients with Pfannenstiel scar endometriomas – an analysis of 81 patients. *Gynecol Obstet Invest* 2007; 63: 107–113.
36. Paull T, Tedeschi LG: Perineal endometriosis at the site of episiotomy scar. *Obstet Gynecol* 1972; 40: 28–34.

Agnieszka Żółciak-Siwińska<sup>1</sup>, Joanna Jońska-Gmyrek<sup>2</sup>, Leszek Gmyrek<sup>3</sup>**Rokownicze znaczenie stanu ogólnego WHO u chorych na raka szyjki macicy****The prognostic value of the WHO status in cervical cancer patients****Прогностическое значение общего состояния ВОЗ у больных на рак шейки матки**<sup>1</sup> Zakład Brachyterapii, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Warszawa, Polska<sup>2</sup> Klinika Nowotworów Układu Moczowego, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Warszawa, Polska<sup>3</sup> Oddział Ginekologii Onkologicznej, Szpital Specjalistyczny im. Świętej Rodziny, Warszawa, Polska

Adres do korespondencji: Agnieszka Żółciak-Siwińska, Zakład Brachyterapii, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, ul. Roentgena 5, 02-781 Warszawa, tel.: +48 508 122 331, e-mail: agnieszka.zolciak@wp.pl

<sup>1</sup> Department of Brachytherapy, The Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Warsaw, Poland<sup>2</sup> Department of Urooncology, The Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Warsaw, Poland<sup>3</sup> Department of Gynecological Oncology, The Holy Family Hospital, Warsaw, Poland

Correspondence: Agnieszka Żółciak-Siwińska, Department of Brachytherapy, The Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Roentgen Street 5, 02-781 Warsaw, Poland, tel.: +48 508 122 331, e-mail: agnieszka.zolciak@wp.pl

**Streszczenie**

**Wstęp/Cel:** Stan ogólny, oceniany w skali WHO, u chorych na raka szyjki macicy przed rozpoczęciem leczenia jest czynnikiem często niedocenianym. Celem badania była ocena rokowniczej wartości stanu ogólnego chorych na raka szyjki macicy. **Metoda:** Przedmiotem retrospektywnej analizy była grupa 142 chorych na raka gruczołowego i 242 chorych na raka płaskonabłonkowego szyjki macicy w stopniach zaawansowania I–IV według klasyfikacji FIGO. Chore były leczone w okresie pomiędzy styczniem 1989 a grudniem 1999 roku z zastosowaniem chirurgii i uzupełniającej radioterapii lub samodzielnej radioterapii. Przeprowadzono wielowariantową analizę Coxa, uwzględniając czynniki kliniczne i histopatologiczne. **Wyniki:** Średnia wieku pacjentek wyniosła 54 lata (25–85 lat), mediana okresu obserwacji – 52 miesiące (9–174 miesięcy). Niezależnie od innych czynników stan ogólny chorych oceniany w skali WHO (1–3 vs 0) wykazał statystycznie istotny wpływ na przeżycie całkowite [HR = 2,5 (1,4, 4,5),  $p = 0,002$ ] i przeżycie wolne od nawrotu choroby [HR = 2,1 (1,2, 3,5),  $p = 0,005$ ] u chorych na raka gruczołowego szyjki macicy. Nie wykazano wpływu stanu ogólnego na wyniki leczenia u chorych na raka płaskonabłonkowego szyjki macicy. **Wnioski:** Wydaje się, iż stan ogólny chorych na raka szyjki macicy, oceniany w skali WHO, jest ważnym czynnikiem rokowniczym, który może być pomocny w kwalifikowaniu chorych do odpowiedniej metody leczenia.

**Słowa kluczowe:** rak szyjki macicy, stan ogólny, wyniki leczenia**Abstract**

**Background/Aims:** The pretreatment World Health Organization performance status in cervical cancer patients is very often underestimated. The aim of this study was to assess the World Health Organization performance status as a prognostic factor in patients with cervical cancer. **Methods:** A total of 142 cervical adenocarcinoma and 242 squamous cell cancer patients with FIGO stage I–IV were included in the retrospective analysis. All patients received surgical treatment and complementary radiotherapy or radiotherapy alone between January 1989 and December 1999. The multivariate Cox analysis, taking into account the clinical and histological factors, was performed. **Results:** The median age of patients was 54 years (range 25–85 years); the median follow-up time was 52 months (range 9–174 months). Regardless of other factors, the World Health Organization status (1–3 vs. 0) showed statistically significant association with the overall survival [HR= 2.5 (1.4, 4.5),  $p = 0.002$ ] and the disease free survival [HR = 2.1 (1.2, 3.5),  $p = 0.005$ ] in adenocarcinoma patients. No impact of the performance status on treatment outcomes was observed in patients with cervical squamous cell cancer. **Conclusion:** The World Health Organization performance status in cervical adenocarcinoma patients seems to be an important prognostic factor which may prove helpful in the qualification for an appropriate treatment.

**Key words:** cervical cancer, general condition, treatment outcomes



## Содержание

**Вступление/Цель:** Общее состояние, оцениваемое в масштабе ВОЗ, у пациентов с раком шейки матки до начала лечения, часто недооценивалось. Целью исследования была оценка прогностического значения общего состояния больных на рак шейки матки. **Метод:** Предметом ретроспективного анализа была группа из 142 пациентов с аденокарциномой и 242 пациентов с плоскоклеточным раком шейки матки на I–IV ст адии по классификации Международной федерации гинекологии и акушерства. Пациенток лечили с января 1989 года по декабрь 1999 года с использованием хирургии и адъювантной радиотерапии либо одиночной радиотерапии. Провели многовариантный анализ Соха, учитывая клинические и гистопатологические факторы. **Результаты:** Средний возраст пациенток составил 54 года (25–85 лет), средний период наблюдения – 52 месяца (9–174 месяцев). Независимо от других факторов, общее состояние больных, оцениваемое по шкале ВОЗ (1–3 vs. 0) показало статистически существенное влияние на общую выживаемость [HR = 2,5 (1,4, 4,5),  $p = 0,002$ ] и выживаемость без рецидивов [HR = 2,1 (1,2, 3,5),  $p = 0,005$ ] у пациенток с аденокарциномой шейки матки. Не оказалось влияния общего состояния на результаты лечения у больных с плоскоклеточным раком шейки матки. **Выводы:** Предполагается, что общее состояние пациенток с раком шейки матки, оцениваемое в масштабах ВОЗ, является важным прогностическим фактором, который может быть полезным в зачислении пациенток к соответствующему методу лечения.

**Ключевые слова:** рак шейки матки, общее состояние, результаты лечения

## WSTĘP

Według światowych statystyk rak szyjki macicy jest jednym z najczęściej występujących nowotworów. W raku szyjki macicy czynnikami rokowniczymi są: utkanie histologiczne, wielkość i stopień zróżnicowania guza, stopień zaawansowania według klasyfikacji FIGO (Międzynarodowej Federacji Ginekologów i Położników), stan węzłów chłonnych oraz stan ogólny pacjentki oceniany w skali WHO. W przeciwieństwie do nowotworów zlokalizowanych w innych miejscach<sup>(2)</sup> do tej pory przeprowadzono niewiele badań<sup>(1)</sup> dotyczących korelacji pomiędzy stanem ogólnym a wynikami leczenia pacjentek z rakiem szyjki macicy. Celem badania była analiza stanu ogólnego ocenianego w skali WHO jako czynnika rokowniczego wpływającego na wyniki leczenia chorych z rakiem szyjki macicy.

## MATERIAŁ I METODY

W okresie pomiędzy styczniem 1989 a grudniem 1999 roku w Centrum Onkologii – Instytucie im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie leczeniu poddano 142 pacjentki z rakiem gruczołowym (*cervical adenocarcinoma*, AC) oraz 242 pacjentki z rakiem płaskonabłonkowym szyjki macicy (*cervical squamous cell cancer*, SCC). Wszystkie chore leczono z zastosowaniem chirurgii i uzupełniającej radioterapii lub samodzielnej radioterapii. Do analizy statystycznej włączono dane dotyczące 384 pacjentek. Nowotwór został potwierdzony histologicznie u wszystkich chorych. Ocenę wyjściowego stopnia zaawansowania nowotworu oparto na badaniu klinicznym oraz tomografii komputerowej jamy brzusznej i miednicy. Oceniono również wyniki badań radiologicznych klatki piersiowej oraz parametry biochemiczne krwi. W przypadku pacjentek z podejrzeniem nacieku pęcherza moczowego lub odbytnicy wykonano również odpowiednio cystoskopię lub

## INTRODUCTION

Cervical cancer (CC) is one of the most common cancers in the world statistics. Prognostic factors for CC include histological texture, tumor size and differentiation, the International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) stage, nodal status and the World Health Organization (WHO) performance status. The correlation between performance status and treatment outcomes in CC patients has been the subject of very few studies<sup>(1)</sup>, in contrast to other cancer locations<sup>(2)</sup>. The aim of the study was to analyze the WHO performance status as a prognostic factor influencing treatment outcomes in cervical cancer patients.

## MATERIAL AND METHODS

A total of 142 consecutive patients with cervical adenocarcinoma (AC) and 242 patients with cervical squamous cell cancer (SCC) were treated at The Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center in Warsaw in the period between January 1989 and December 1999. All patients received surgical treatment and complementary radiotherapy or radiotherapy alone. A total of 384 patients were included in the statistical analysis. Cancer was confirmed histologically in all patients. The initial staging involved clinical examination as well as abdominal and pelvic computed tomography. Chest radiogram and blood chemistry were assessed. Cystoscopy or rectoscopy with biopsy confirmation was performed in patients presenting with suspected infiltration of the bladder or rectum.

Patients with risk factors in postsurgical histological protocol were treated with external beam radiation therapy (EBRT) combined with brachytherapy (BT) or BT alone using Ir-192 or Cs-137.

The 4-field or 2-field treatment technique was performed. The target in 2D EBRT treatment planning was defined

rektoskopię z potwierdzeniem występowania zmian na podstawie wyników biopsji.

Pacjentki z czynnikami ryzyka w protokole pooperacyjnego badania histologicznego leczono z zastosowaniem radioterapii z użyciem wiązek zewnętrznych (teleterapii – *external beam radiation therapy*, EBRT) w połączeniu z brachyterapią (BT) lub samej brachyterapii, z wykorzystaniem izotopów Ir-192 lub Cs-137.

Stosowano technikę cztero- lub dwupolową. W planowaniu dwuwymiarowym (2D) teleterapii obszar docelowy napromieniowania określono na podstawie kostnych punktów orientacyjnych i obliczono z zastosowaniem systemu Mevoplan, zgodnie z protokołem ICRU 50 (*The International Committee on Radiation Units and Measurements*) i napromieniano fotonami wysokiej energii wytwarzanymi w akceleratorze liniowym (X6, 9 Megaelectronvolts) lub izotopem Co60. EBRT stosowano w dobowych dawkach frakcyjnych wynoszących 1,8–2 Gy, do osiągnięcia dawek całkowitych wynoszących do 45–50 Gy. W przypadku większości pacjentek dawka wynosiła 46 Gy w 23 frakcjach po 2 Gy. Brachyterapię planowano w systemie 2D, zgodnie z Raportem ICRU nr 38. Pacjentki nieoperacyjne napromieniano BT HDR, przepisując cztery frakcje po 7,5 Gy, a przy użyciu LDR podawano dwie frakcje mniej więcej po 20 Gy na punkty A. U pacjentek po histerektomii napromieniano szczyt pochwy, podając 22,5 Gy/3 frakcje/5 mm od powierzchni aplikatora, stosując brachyterapię HDR. W tym czasie nie stosowano radiochemioterapii opartej na cisplatynie.

Badania kontrolne prowadzono w trzymiesięcznych odstępach w ciągu pierwszych dwóch lat oraz w sześciomiesięcznych odstępach w ciągu kolejnych 3 lat.

Przeprowadzono analizę wielowariantową Coxa w odniesieniu do przeżycia całkowitego (*overall survival*, OS) oraz przeżycia wolnego od nawrotu choroby (*disease-free survival*, DFS). W analizie uwzględniono stopień zaawansowania wg klasyfikacji FIGO, wiek pacjentki, średnicę guza ocenioną przed rozpoczęciem leczenia, typ histologiczny nowotworu, stan ogólny oceniany w skali WHO (WHO 1–3 vs 0) oraz stężenie hemoglobiny (Hb) przed rozpoczęciem leczenia. Za istotną statystycznie uznano wartość  $p < 0,05$ .

## WYNIKI

Średni wiek pacjentek wynosił 54 lata (25–85 lat), a mediana okresu obserwacji – 52 miesiące (9–174 miesięcy). Zgodnie z klasyfikacją FIGO stopień I stwierdzono u 111 (29%) pacjentek, II – u 132 (34%), III – u 130 (34%), a IV – u 11 (3%) chorych. Średnie stężenie hemoglobiny wynosiło 12,1 mg/ml (4,1–16 mg/ml). U większości pacjentek (92%) stan ogólny w skali WHO oceniono na 0–1. U większości chorych (57%) średnica guza wynosiła ponad 3 cm. Odsetek dobrze i umiarkowanie zróżnicowanych cech histologicznych wyniósł 60%. Leczeniu operacyjnemu poddano 53% pacjentek z rakiem gruczołowym i 23% z rakiem płaskonabłonkowym szyjki macicy. U 49,5% pacjentek

by bony landmarks and calculated with Mevoplan system, according to ICRU (The International Committee on Radiation Units and Measurements) 50 and irradiated with high megavoltage photons from a linear accelerator (X6, 9 Megaelectronvolts) or Co60. EBRT was administered in daily fractions of 1.8–2 Gy, with a total dose of up to 45–50 Gy to the elective area. The standard dose for most of the patients was 46 Gy in 23 daily fractions, 2 Gy per fraction. BT was planned in 2D, according to the ICRU Report No. 38. Four HDR fractions of 7.5 Gy and two LDR fractions about 20 Gy were prescribed to point-A for inoperable patients. In patients after hysterectomy BT was applied to the upper 1/3 of vagina, 22.5 Gy/5 mm from the applicator surface, in three HDR fractions. Radiochemotherapy with cisplatin was not applied during that period. Follow-up checks were performed every 3 months during the first 2 years, and every 6 months throughout the next 3 years.

The multivariate Cox analysis related to the overall survival (OS) and the disease free survival (DFS) was performed. The following elements were included in the analysis: FIGO stage, age, pretreatment tumor diameter, histological type of the tumor, WHO performance status (WHO 1–3 vs. 0), and pretreatment hemoglobin (Hb) level.  $P$ -values of  $<0.05$  were considered statistically significant.

## RESULTS

The median age of patients was 54 years (range 25–85 years) and the median follow-up time for the living patients was 52 months (range 9–174 months). FIGO stage I was found in 111 (29%) patients, stage II – in 132 (34%), stage III – in 130 (34%) and stage IV – in 11 (3%) patients. The mean Hb level was 12.1 mg/mL (range 4.1–16 mg/mL). Most patients (92%) had WHO performance status of 0–1. Most (57%) patients had a tumor diameter over 3 cm. The percentage of well and moderately differentiated histological features was 60%. Surgery was performed in 53% of AC patients and 23% of SCC patients. The Wertheim–Meigs surgery was performed in 49.5%, simple hysterectomy – in 43.5% and adnexectomy or debulking – in 7.0% of patients. EBRT was performed in 340 (88.5%) patients, BT alone or combined with EBRT – in 257 (70%) patients.

In multivariate analysis, regardless of other clinical and histological factors, the WHO performance status (1–3 vs. 0) in AC patients showed statistically significant correlation with the OS ( $p = 0.002$ ), the hazard ratio [HR (95% confidence interval, CI)] = 2.5 (1.4, 4.5)], and the DFS [ $p = 0.005$ , HR (95% CI) = 2.1 (1.2, 3.5)] (Figs. 1, 2). The WHO performance status (1–3 vs. 0) had no statistically significant effects on the OS ( $p = 0.12$ ) or the DFS ( $p = 0.35$ ) in SCC patients.

## DISCUSSION

Performance status assessment is an attempt to quantify the patient's well-being and activities of daily life. The most

przeprowadzono operację Wertheima–Meigsa, 43,5% chorych poddano prostej histerektomii, a u 7,0% wykonano adneksotomię lub cytoredukcję. Teleterapię (EBRT) zastosowano u 340 (88,5%) pacjentek, natomiast brachyterapię (BT) samodzielną lub w skojarzeniu z teleterapią – u 257 (70%) chorych.

W analizie wielowariantowej dotyczącej chorych na raka gruczołowego szyjki macicy niezależnie od innych czynników klinicznych lub histologicznych wykazano statystycznie istotny związek pomiędzy stanem ogólnym chorych ocenianym w skali WHO (1–3 vs 0) a przeżyciem całkowitym ( $p = 0,002$ ), współczynnikiem ryzyka [HR (95% przedział ufności, CI) = 2,5 (1,4, 4,5)] oraz przeżyciem wolnym od nawrotu choroby [ $p = 0,005$ , HR (95% CI) = 2,1 (1,2, 3,5)] (ryc. 1, 2). W przypadku pacjentek z rakiem płaskonabłonkowym szyjki macicy nie wykazano statystycznie istotnego wpływu stanu ogólnego chorych ocenianego w skali WHO (1–3 vs 0) na przeżycie całkowite ( $p = 0,12$ ) lub przeżycie wolne od nawrotu choroby ( $p = 0,35$ ).

## OMÓWIENIE

Ocena stanu ogólnego stanowi próbę ilościowego określenia samopoczucia pacjenta oraz wykonywanych przez niego codziennych czynności. Najpowszechniej stosowanymi narzędziami są skala Karnofsky'ego oraz skala Zubroda (WHO)<sup>(4)</sup>. Skala Karnofsky'ego ma rozpiętość od 100 do 0, gdzie 100 oznacza stan idealny, a 0 – zgon. Rozpiętość skali Zubroda (WHO) wynosi od 0 do 5, gdzie 0 oznacza sprawność prawidłową, a 5 – zgon. Zaletą skali WHO w stosunku do skali Karnofsky'ego jest jej prostota – z tego względu skalę tę zastosowano w obecnym badaniu.

Skojarzenie radiochemioterapii i brachyterapii stanowi standardowe leczenie radykalne u pacjentek z rakiem szyjki macicy w stadium zaawansowanym. Słabym punktem prezentowanego badania jest retrospektywny charakter analizy oraz brak jednoczesowego stosowania cisplatyny i napromieniowania EBRT w badanym okresie. Jednak analizowana grupa pacjentek była duża i wszystkie chore leczone według tego samego protokołu. Dane dotyczące chorych z rakiem płaskonabłonkowym szyjki macicy pochodzą z krótszego okresu, co miało na celu uzyskanie liczby pacjentek zbliżonej do liczby chorych z rakiem gruczołowym szyjki macicy. Na podstawie analizy wielowariantowej według modelu Coxa stwierdzono, że stan ogólny oceniany wg skali WHO stanowi statystycznie istotny czynnik rokowniczy u pacjentek z rakiem gruczołowym szyjki macicy. W prezentowanym badaniu nie stwierdzono statystycznie istotnego wpływu stanu ogólnego ocenianego wg skali WHO na prawdopodobieństwo przeżycia całkowitego lub przeżycia wolnego od nawrotu choroby.

Jednak na podstawie najnowszej analizy piśmiennictwa mającej na celu ocenę stanu ogólnego pacjenta jako czynnika rokowniczego potwierdzono znacznie większy wskaźnik 5-letniego przeżycia u pacjentek z rakiem

generally used scoring systems are the Karnofsky score<sup>(3)</sup> and the Zubrod score (WHO)<sup>(4)</sup>. The Karnofsky score runs from 100 to 0, where 100 is “perfect” health and 0 is death. The WHO or Zubrod score runs from 0 to 5, with 0 meaning “perfect” health and 5 meaning death. The advantage of the WHO scale over the Karnofsky scale lies in its simplicity. Therefore, the scale was used in our study.

Radiochemotherapy combined with BT is the standard radical treatment for advanced stage cervical cancer. The weak point of our study was the retrospective character of the analysis and the lack of concurrent cisplatin-based chemotherapy with EBRT at that time. However, the study cohort was large and all patients were treated according to the same protocol. Data on SCC patients was derived from a shorter term in order to achieve a comparable number to AC patients. According to multivariate analysis, the WHO performance status was a statistically significant prognostic factor for AC cervical patients. We have detected no statistically significant effect of the WHO performance status on the probability of overall survival or disease-free survival in patients with cervical SCC.

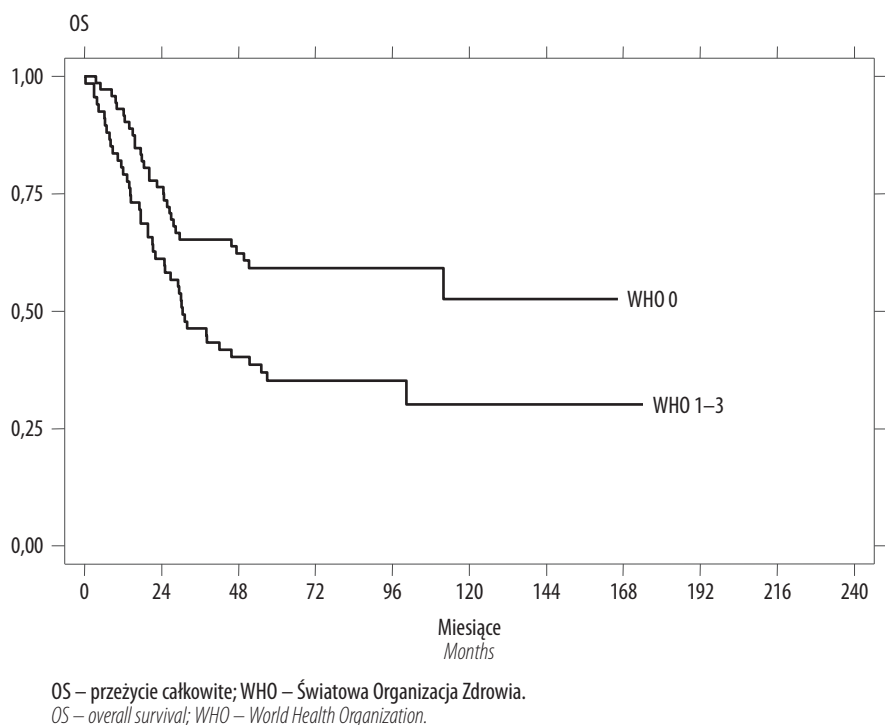
However, recent analysis of literature assessing the performance status as a prognostic factor confirms a significantly higher 5-year overall survival rate in patients with SCC with good performance status<sup>(5)</sup>. The evaluation of WHO performance status in cervical cancer patients at diagnosis may indicate a more aggressive type of malignant disease. For locally advanced cervical cancer in elderly women, performance status, comorbidity index and tumor size were even stronger prognostic factors for OS than the FIGO stage<sup>(6)</sup>. Particular attention is paid to the performance status when deciding on curative treatment in patients with stage IV cancer. According to Zighelboim *et al.*, the use of radiotherapy and multidrug chemotherapy in patients with stage IVB CC and good performance status was well tolerated and resulted in higher survival rates than previously reported. The OS was 44% at 36 months and 22% at 5 years<sup>(7)</sup>. The assessment of performance status and quality of life in terminally ill patients is an important issue, which improves the quality of supportive care<sup>(8)</sup>.

In summary, performance status in AC patients is an important prognostic factor, which may prove useful in qualifying for an appropriate treatment.

### Conflict of interest

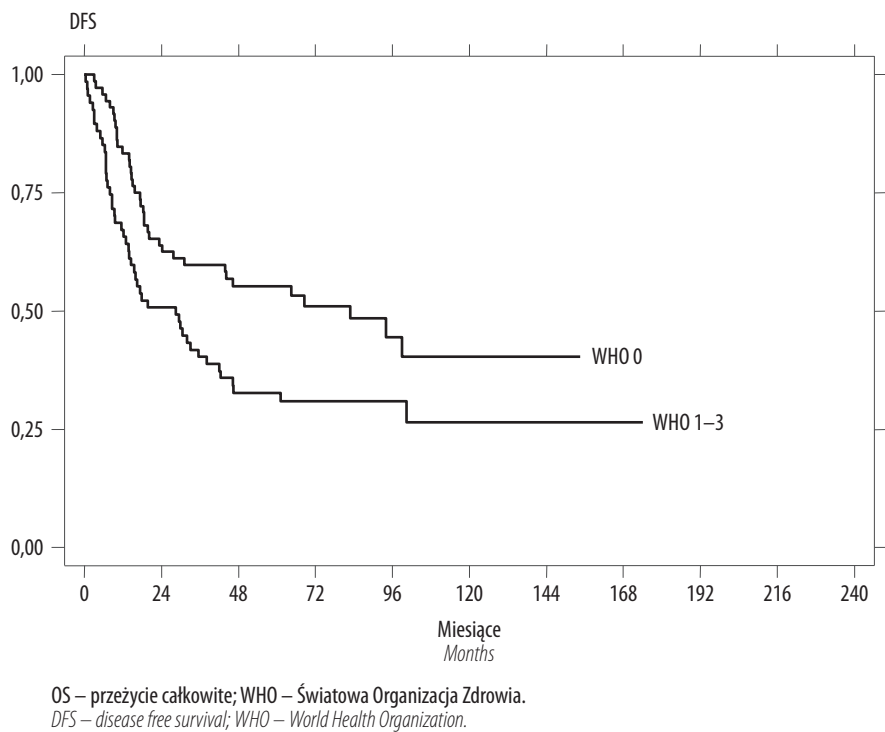
*The authors do not report any financial or personal links with other persons or organizations, which might affect negatively the content of this publication or claim authorship rights to this publication.*





Ryc. 1. Zależność przeżycia całkowitego od stanu ogólnego pacjentek z rakiem gruczolowym szyjki macicy ocenianego w skali WHO, test logarytmiczny rang,  $p = 0,002$

Fig. 1. The dependence of the OS on the WHO pretreatment status in cervical adenocarcinoma patients, log rank test,  $p = 0.002$



Ryc. 2. Zależność przeżycia bez postępu choroby od stanu ogólnego pacjentek z rakiem gruczolowym szyjki macicy ocenianego w skali WHO, test logarytmiczny rang,  $p = 0,005$

Fig. 2. The dependence of the DFS on the WHO pretreatment status in cervical adenocarcinoma patients, log rank test,  $p = 0.005$

płaskonabłonkowym szyjki macicy wykazujących dobry stan ogólny<sup>(5)</sup>. Ocena stanu ogólnego wg skali WHO w ramach diagnostyki pacjentek z rakiem szyjki macicy może wskazywać na bardziej agresywny rodzaj raka. W przypadku miejscowo zaawansowanego raka szyjki macicy u kobiet w podeszłym wieku stan ogólny pacjentki, wskaźnik chorób współistniejących oraz wielkość guza stanowiły jeszcze silniejsze czynniki rokownicze przeżycia całkowitego niż stopień zaawansowania raka wg klasyfikacji FIGO<sup>(6)</sup>. Szczególną uwagę zwraca się na stan ogólny chorych podczas podejmowania decyzji dotyczącej leczenia pacjentek z rakiem w stadium IV. W badaniu Zigelboima i wsp. zastosowanie radioterapii i chemioterapii wielolekowej było dobrze tolerowane u pacjentek z rakiem szyjki macicy w stadium IVB, które wykazywały dobry stan ogólny, i wiązało się z wyższym współczynnikiem przeżycia. Przeżycie ogólne wynosiło 44% po 36 miesiącach i 22% po 5 latach<sup>(7)</sup>. Ważną kwestią jest ocena stanu ogólnego i jakości życia śmiertelnie chorych pacjentek, gdyż podnosi ona jakość terapii wspomagających<sup>(8)</sup>. Podsumowując, stan ogólny chorych z rakiem gruczołowym szyjki macicy stanowi ważny czynnik rokowniczy, który może okazać się pomocny w kwalifikowaniu pacjentek do odpowiedniej metody leczenia.

#### Konflikt interesów

*Autorzy nie zgłaszają finansowych ani osobistych powiązań z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby negatywnie wpłynąć na treść publikacji oraz rościć sobie prawo do tej publikacji.*

#### Piśmiennictwo/References

1. Lanciano RM, Won M, Coia LR *et al.*: Pretreatment and treatment factors associated with improved outcome in squamous cell carcinoma of the uterine cervix: a final report of the 1973 and 1978 patterns of care studies. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1991; 20: 667–676.
2. Corrêa GT, Bandeira GA, Cavalcanti BG *et al.*: Analysis of ECOG performance status in head and neck squamous cell carcinoma patients: association with sociodemographical and clinical factors, and overall survival. *Support Care Cancer* 2012; 20: 2679–2685.
3. Karnofsky DA, Burchenal JH: The clinical evaluation of chemotherapeutic agents in cancer. In: MacLeod CM (ed.): *Evaluation of Chemotherapeutic Agents*. Columbia University Press, New York 1949: 196.
4. Oken MM, Creech RH, Tormey DC *et al.*: Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol* 1982; 5: 649–655.
5. Ozsaran Z, Kamer S, Yalman D *et al.*: Treatment results and prognostic factors for cervical cancer patients treated by radiochemotherapy with weekly cisplatin. *Eur J Gynaecol Oncol* 2007; 28: 196–200.
6. Park JH, Kim YS, Ahn SD *et al.*: Concurrent chemoradiotherapy or radiotherapy alone for locally advanced cervical cancer in elderly women. *Tumori* 2010; 96: 959–965.
7. Zigelboim I, Taylor NP, Powell MA *et al.*: Outcomes in 24 selected patients with stage IVB cervical cancer and excellent performance status treated with radiotherapy and chemotherapy. *Radiat Med* 2006; 24: 625–630.
8. Spoozak L, Seow H, Liu Y *et al.*: Performance status and symptom scores of women with gynecologic cancer at the end of life. *Int J Gynecol Cancer* 2013; 23: 971–978.

Marcin Oplawski<sup>1</sup>, Tomasz Bieda<sup>2</sup>, Marcin Zarawski<sup>1</sup>, Zbigniew Kojs<sup>2</sup>

## Rozległość limfadenektomii w raku endometrium oraz jej wpływ na utratę krwi i czas trwania zabiegu

### The extent of lymphadenectomy in endometrial cancer and its effect on blood loss and procedure duration

### Обширность лимфаденэктомии в раке эндометрия и ее влияние на потерю крови и продолжительности процедуры

<sup>1</sup> Oddział Ginekologii i Położnictwa z Ginekologią Onkologiczną, Szpital Specjalistyczny im. Ludwika Rydygiera w Krakowie, Polska. Ordynator Oddziału: dr n. med. Marcin Oplawski

<sup>2</sup> Klinika Ginekologii Onkologicznej, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Krakowie, Polska. Kierownik Kliniki: dr hab. n. med. Paweł Blecharz

Adres do korespondencji: Dr n. med. Marcin Oplawski, Oddział Ginekologii i Położnictwa z Ginekologią Onkologiczną, Szpital Specjalistyczny im. Ludwika Rydygiera, os. Złotej Jesieni 1, 31-826 Kraków, tel.: +48 500 177 291, e-mail: oplawski.m@gmail.com

<sup>1</sup> Department of Gynecology and Obstetrics with Gynecologic Oncology, Ludwik Rydygier Memorial Specialist Hospital, Krakow, Poland. Head: Marcin Oplawski, MD, PhD

<sup>2</sup> Department of Gynecologic Oncology, Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Division in Krakow, Poland. Head: Paweł Blecharz, MD, PhD

Correspondence: Marcin Oplawski, MD, PhD, Department of Gynecology and Obstetrics with Gynecologic Oncology, Ludwik Rydygier Memorial Specialist Hospital, Złotej Jesieni 1, 31-826 Kraków, tel.: +48 500 177 291, e-mail: oplawski.m@gmail.com

#### Streszczenie

Stopień zaawansowania klinicznego raka endometrium ocenia się na podstawie klasyfikacji chirurgiczno-patomorfologicznej. Problemem klinicznym jest zakres usuwanych węzłów chłonnych. Praca miała na celu ocenę występowania przerzutów w węzłach chłonnych biodrowych i okołoaortalnych oraz porównanie wybranych czynników ryzyka operacyjnego w przypadku poszerzenia zabiegu o usunięcie tych węzłów. Grupę kontrolną stanowiło 27 pacjentek, u których wycięcie macicy poszerzono o usunięcie węzłów chłonnych biodrowych, a grupę badaną – 30 pacjentek, którym usunięto węzły biodrowe i okołoaortalne. Oceniono częstość występowania przerzutów, porównano czas trwania zabiegu i utratę krwi. Przerzuty w węzłach chłonnych stwierdzono u 10 (17,5%) kobiet. W grupie pierwszej u czterech (14,8%) pacjentek wystąpiły przerzuty w węzłach biodrowych. W grupie drugiej stwierdzono przerzuty w węzłach u sześciu (20%) chorych: izolowane okołoaortalne u dwóch (6,67%), a okołoaortalne i biodrowe – u czterech (13,33%) kobiet. Stwierdzono istotną statystyczną różnicę ( $p = 0,0035$ ) czasu trwania zabiegów: w przypadku limfadenektomii biodrowej mediana wyniosła 102,5 minuty, a w przypadku limfadenektomii biodrowej i okołoaortalnej – 132,5 minuty; maksymalny czas wykonania limfadenektomii biodrowej i okołoaortalnej był o 20 minut dłuższy. Nie stwierdzono istotnej różnicy w ilości krwi utraconej przez pacjentki ( $p = 0,4980$ ). Mimo to zwraca uwagę znacznie wyższa wartość maksymalna objętości utraconej krwi w grupie badanej. Należy dostosować usuwanie węzłów chłonnych okołoaortalnych w raku endometrium do ogólnego stanu zdrowia chorej oraz maksymalnie wykorzystać możliwości diagnostyki przedoperacyjnej. Aby ryzyko operacyjne było jak najmniejsze, zabieg powinien wykonać doświadczony specjalista w oddziale ginekologii onkologicznej. Informacja na temat stanu węzłów chłonnych jest najważniejszym czynnikiem rokowniczym w przypadku raka endometrium i pozwala na prawidłową kwalifikację do leczenia uzupełniającego.

**Słowa kluczowe:** rak endometrium, leczenie chirurgiczne, węzły okołoaortalne, węzły miedniczne, limfadenektomia

#### Abstract

The clinical staging of endometrial cancer is performed based on surgical-pathological criteria. The extent of lymph node dissection represents a clinical problem. The study was performed in order to assess the occurrence of metastases in iliac and para-aortic lymph nodes as well as to compare selected surgical risk factors in the case of extending the surgery with the dissection of these lymph nodes. The control group included 27 patients undergoing hysterectomy with iliac lymph node dissection; the study group included 30 patients after iliac and para-aortic lymph node removal. The incidence of metastases



was assessed as well as the duration of procedure and intraoperative blood loss were compared. Metastases to lymph nodes were found in 10 (17.5%) females. Iliac lymph node metastases were detected in four patients (14.8%) in group I. In group II, metastases were detected in six (20%) patients: isolated para-aortic metastases in two patients (6.67%), para-aortic and iliac metastases in four (13.33%) patients. Statistically significant difference ( $p = 0.0035$ ) was found in the duration of procedures: the median was 102.5 minutes for iliac lymphadenectomy, and 132.5 minutes for iliac/para-aortic lymphadenectomy; the maximum duration of iliac/para-aortic lymphadenectomy was 20 minutes longer. There was no statistically significant difference in blood loss ( $p = 0.4980$ ). However, significantly higher maximum blood loss volume was noticeable in the study group. It is necessary to adjust the para-aortic lymphadenectomy in endometrial cancer to patient's health status as well as to make maximum use of preoperative diagnostics. The procedure should be performed by a specialist experienced in gynecologic oncology to minimize the surgical risk. Information on lymph node status is the most important prognostic factor in endometrial cancer, which allows for a proper qualification for adjuvant therapy

**Key words:** endometrial cancer, surgical treatment, para-aortic lymph nodes, pelvic lymph nodes, lymphadenectomy

## Содержание

Клиническая стадия рака эндометрия оценивается на основании хирургическо-патологической классификации. Клинической проблемой является обширность удаленных лимфатических узлов. Работа заключалась в оценке распространенности метастазов в подвздошных лимфатических узлах и парааортальных и сравнении отдельных операционных рисков в случае расширения операции за счет удаления этих узлов. Контрольная группа состояла из 27 пациенток, у которых удаление матки расширено за счет удаления подвздошных лимфатических узлов, а исследованная группа – из 30 пациенток, которым удалили подвздошные лимфатические узлы и парааортальные узлы. Анализировалась частота появления метастазов, сравнивалась продолжительность операции и потеря крови. Метастазы в лимфатических узлах обнаружены у 10 (17,5%) женщин. В первой группе у четырех (14,8%) пациенток выступили метастазы у подвздошных узлах. Во второй группе обнаружили метастазы в узлах у шести (20%) пациенток: изолированные парааортальные у двух (6,67%), а парааортальные и подвздошные – у четырех (13,33%) женщин. Обнаружена значительная статистическая разница ( $p = 0,0035$ ) продолжительности процедур: в случае подвздошной лимфаденэктомии средняя составляла 102,5 минуты, а в случае подвздошной и парааортальной лимфаденэктомии – 132,5 минуты; максимальное время проведения подвздошной и парааортальной лимфаденэктомии было на 20 минут дольше. Не обнаружена существенная разница в объеме кровопотери пациентом ( $p = 0,4980$ ). Несмотря на это, обращает внимание гораздо более высокое максимальное значение объема кровопотери в основной группе. Необходимо учитывать при удалении парааортальных лимфатических узлов в раке эндометрия общее состояние здоровья пациентки и максимально использовать возможность предоперационной диагностики. Чтобы операционный риск был максимально низким, процедуру должен проводить опытный специалист в отделении онкологической гинекологии. Информация о состоянии лимфатических узлов является наиболее важным прогностическим фактором для развития рака эндометрия и позволяет провести правильный отбор для адьювантной терапии.

**Ключевые слова:** рак эндометрия, хирургическое лечение, парааортальные узлы, узлы малого таза, лимфаденэктомия

## WSTĘP

Rak endometrium należy do najczęstszych nowotworów narządu rodnego, a tendencja jego występowania jest wzrostowa. Dotychczasowe wyniki leczenia są uznawane za dość zadowalające. W odniesieniu do raka endometrium stosuje się chirurgiczno-patomorfologiczną klasyfikację zaawansowania nowotworu FIGO, zmodyfikowaną w 2009 roku<sup>(1)</sup>. Klasyfikacja ta w większości przypadków warunkuje rozpoczęcie postępowania terapeutycznego od leczenia chirurgicznego.

Problemem klinicznym jest rozległość zabiegu w zakresie usuwania węzłów chłonnych. Ograniczenie zakresu leczenia operacyjnego wiąże się zwykle z ogólnym stanem zdrowia pacjentek – często obciążonych otyłością, nadciśnieniem, cukrzycą oraz innymi chorobami internistycznymi. Prawidłowe leczenie chirurgiczne to główny czynnik prognostyczny w raku endometrium. Usunięcie węzłów

## INTRODUCTION

Endometrial cancer is one of the most common female genital cancers with an increasing incidence rate. So far, treatment outcomes have been considered satisfactory. FIGO staging based on surgical-pathologic findings, which was modified in 2009, is used in endometrial cancer<sup>(1)</sup>. In most cases, FIGO staging determines a surgery as the initiation of therapeutic management. The extent of lymph node dissection represents a clinical problem. The limited surgical extent is usually associated with the general health status of patients, who often suffer from obesity, hypertension, diabetes or other internal diseases. Proper surgical treatment is the primary prognostic factor in endometrial cancer. Lymphadenectomy affects the overall survival and the relapse-free survival. Despite modification of FIGO staging, which now contains information on lymph node metastases in relation to stage III cancer,

chłonnych wpływa na czas przeżycia i czas wolny od nawrotu choroby. Mimo zmiany klasyfikacji FIGO, która w odniesieniu do stopnia III zawiera obecnie informację o przerzutach w węzłach chłonnych, w literaturze brakuje jasnych kryteriów umożliwiających kwalifikację przedoperacyjną co do rozległości tego zabiegu, a zwłaszcza usuwania węzłów okołoaortalnych.

## CEL PRACY

Praca ma na celu ocenę występowania przerzutów w węzłach chłonnych miednicy mniejszej i węzłach okołoaortalnych u pacjentek z rakiem endometrium oraz porównanie wybranych czynników ryzyka operacyjnego w przypadku poszerzenia zabiegu o usunięcie węzłów okołoaortalnych.

## MATERIAŁ I METODY

Do badania włączono 57 pacjentek z rakiem błony śluzowej macicy, u których pierwotnie wykonano zabieg operacyjny. Chore podzielono na dwie grupy, jednorodne morfologiczno-klinicznie. Wszystkie zabiegi odbyły się w Oddziale Ginekologii i Położnictwa z Ginekologią Onkologiczną Specjalistycznego Szpitala im. Rydygiera w Krakowie w latach 2013–2015. Każdy zabieg przeprowadził lekarz mający doświadczenie w zakresie operacyjnego leczenia onkologicznego.

W grupie pierwszej (kontrolnej), składającej się z 27 pacjentek, wykonano jedynie systemowe usunięcie biodrowych węzłów chłonnych. W grupie drugiej (badanej), w której znalazło się 30 kobiet, wykonano systemową limfadenektomię biodrową i okołoaortalną. W grupie pierwszej oceniono występowanie przerzutów w węzłach biodrowych, w drugiej – występowanie przerzutów w węzłach biodrowych i okołoaortalnych. Porównano czas trwania zabiegu i utratę krwi.

Do analizy danych wykorzystano pakiet STATISTICA 10.0 (StatSoft Inc., USA). Zgodność cech ilościowych z rozkładem normalnym sprawdzono za pomocą testu Shapiro–Wilka, a do testowania istotności różnic cech ilościowych między grupami użyto testu *U* Manna–Whitneya. Za istotne statystycznie uznawano wyniki, w których przypadku prawdopodobieństwo testowe *p* było mniejsze od 0,05.

## WYNIKI

Przerzuty w węzłach chłonnych stwierdzono u 10 (17,5%) operowanych kobiet. W grupie pierwszej u czterech (14,8%) pacjentek wystąpiły przerzuty w węzłach biodrowych. W grupie drugiej stwierdzono przerzuty węzłowe w sześciu (20%) przypadkach, w tym izolowane do węzłów okołoaortalnych u dwóch (6,67%), a okołoaortalne i biodrowe – u czterech (13,33%) chorych.

Na podstawie analizy otrzymanych wyników stwierdzono, że czas trwania limfadenektomii biodrowej różni się istotnie statystycznie od czasu trwania limfadenektomii biodrowej i okołoaortalnej ( $p = 0,0035$ ). W przypadku limfadenektomii

the literature lacks clear criteria allowing for preoperative classification in terms of surgical extent, particularly in relation to para-aortic lymph node removal.

## AIM OF THE PAPER

The study was performed in order to assess the occurrence of metastases in pelvic and para-aortic lymph nodes in patients with endometrial cancer as well as to compare the selected preoperative risk factors in the case of extending the surgery with para-aortic lymph node dissection.

## MATERIAL AND METHODS

A total of 57 patients with endometrial cancer who had primarily undergone surgical treatment were included in the study. The patients were divided into two morphologically and clinically homogeneous groups. All procedures were performed between 2013 and 2015, in the Department of Gynecology and Obstetrics with Gynecologic Oncology, in Ludwik Rydygier Memorial Specialist Hospital in Krakow. Each procedure was performed by a physician experienced in surgical oncology.

Systematic pelvic lymphadenectomy was performed in group I (control group) including 27 patients. Systematic pelvic and para-aortic lymphadenectomy was performed in group II (study group) consisting of 30 females. The first group was assessed for iliac lymph node metastases; the second group was assessed for iliac and para-aortic metastases. Surgery duration and blood loss were compared. STATISTICA 10.0 (StatSoft Inc., USA) was used for data analysis. The Shapiro–Wilk test was used to check if quantitative characteristics conformed to normal distribution, while the Mann–Whitney *U* test was used to test the statistical significance of the differences in quantitative characteristics between the groups. Results with *p*-value of less than 0.05 were considered statistically significant.

## RESULTS

Lymph node metastases were detected in 10 (17.5%) patients. In group I, pelvic lymph node metastases were detected in four (14.8%) patients. In group II, lymph node metastases were detected in six (20%) patients: isolated para-aortic metastases in two patients (6.67%), para-aortic and iliac metastases in four (13.33%) patients. Based on outcome analysis, statistically significant difference was found between the duration of iliac lymphadenectomy and iliac/para-aortic lymphadenectomy ( $p = 0.0035$ ). The median of duration was 102.5 minutes for pelvic lymphadenectomy, and 132.5 minutes for iliac/para-aortic lymphadenectomy (Tab. 1, Fig. 1). The maximum recorded duration of iliac/para-aortic lymphadenectomy was 20 minutes longer than the maximum duration of iliac lymphadenectomy

miednicznej mediana tego czasu wyniosła 102,5 minuty, a w przypadku limfadenektomii biodrowej i okołoaortalnej – 132,5 minuty (tab. 1, ryc. 1). Maksymalny zanotowany czas trwania limfadenektomii biodrowej i okołoaortalnej był o 20 minut dłuższy od maksymalnego czasu trwania limfadenektomii biodrowej (tab. 1, ryc. 1).

Pod względem ilości krwi traconej przez pacjentki nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy między zabiegami ( $p = 0,4980$ ). Mediana ubytku krwi była taka sama niezależnie do rodzaju zabiegu i wynosiła 500 ml. Mimo to zwraca uwagę znacznie wyższa wartość maksymalna objętości utraconej krwi w przypadku bardziej rozległego z analizowanych zabiegów (tab. 2, ryc. 2).

### OMÓWIENIE

Pomimo zmiany klasyfikacji FIGO w 2009 roku, która zakłada ocenę węzłów chłonnych, kwestia wykonywania limfadenektomii miednicznej i okołoaortalnej u kobiet z rakiem endometrium jest nadal otwarta.

(Tab. 1, Fig. 1). No statistically significant difference was observed between the two procedures in relation to blood loss ( $p = 0.4980$ ). The median of blood loss remained unchanged, i.e. 500 mL, regardless of the type of procedure. However, significantly higher maximum blood loss volume was noticeable in the case of a more extensive surgery (Tab. 2, Fig. 2).

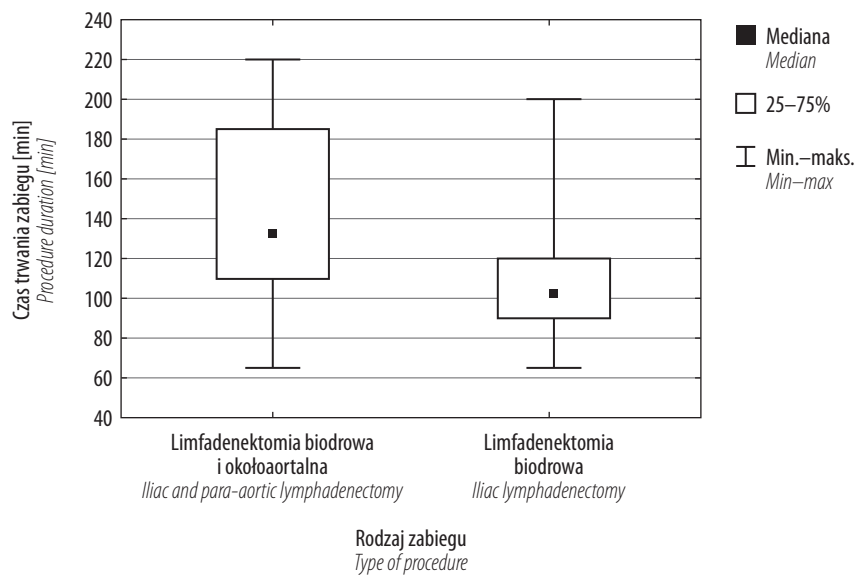
### DISCUSSION

Despite FIGO modification in 2009 involving lymph node assessment, the issue of iliac and para-aortic lymphadenectomy in endometrial cancer is still an open issue. The recommendations of the European Society of Gynaecological Oncology (ESGO) determine the extent of systemic lymph node dissection in endometrial cancer<sup>(2)</sup>. Classification proposed by Pomel *et al.* further specifies the extent of para-aortic lymph node dissection<sup>(3)</sup>. Kitchener *et al.* in their randomized, multicenter ASTEC trial, which was continued for a period of several years in the United States and

Rodzaj zabiegu <i>Type of procedure</i>	Czas operacji [min] <i>Duration of surgery [min]</i>						Wartość p <i>p-value</i>
	N	Mediana <i>Median</i>	Min. <i>Min</i>	Maks. <i>Max</i>	Dolny kwartył <i>Lower quartile</i>	Górny kwartył <i>Upper quartile</i>	
Limfadenektomia biodrowa <i>Iliac lymphadenectomy</i>	27	102,5	65,0	200,0	90,0	120,0	0,0035
Limfadenektomia biodrowa i okołoaortalna <i>Iliac + para-aortic lymphadenectomy</i>	30	132,5	65,0	220,0	110,0	185,0	

Tab. 1. Porównanie czasu trwania zabiegu operacyjnego w zależności od jego rodzaju

Tab. 1. Comparison of procedure duration depending on its type



Ryc. 1. Porównanie czasu trwania zabiegu operacyjnego w zależności od jego rodzaju

Fig. 1. Comparison of procedure duration depending on its type

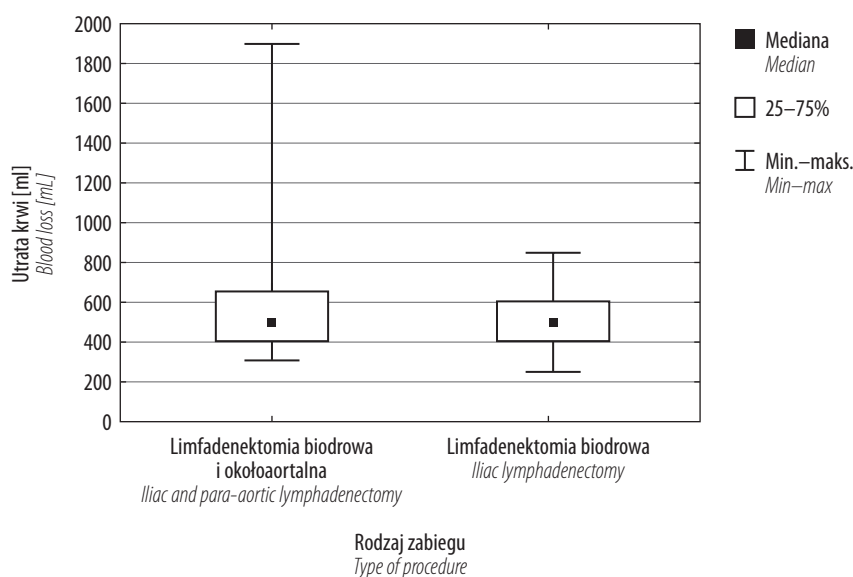


Rekomendacje Europejskiego Towarzystwa Ginekologii Onkologicznej (*European Society of Gynaecological Oncology, ESGO*) określają zakres systemowego usunięcia węzłów chłonnych w nowotworach narządu rodnego<sup>(2)</sup>. Klasyfikacja zaproponowana przez Pomela i wsp. dodatkowo uściśla zakres usuwanych węzłów okołoaortalnych<sup>(3)</sup>. Kitchener i wsp. w kilkuletnim randomizowanym badaniu wielośrodkowym grupy ASTEC, przeprowadzonym w Stanach Zjednoczonych i Europie, nie stwierdzili korzyści dla pacjentek z usuwania węzłów chłonnych miednicy w raku endometrium, jeśli chodzi o pięcioletnie przeżycia i czas wolny od wznowy<sup>(4)</sup>. Wskazali natomiast zwiększone ryzyko operacyjne takiego zabiegu – sugerują więc celowość limfadenektomii jedynie u chorych gorzej rokujących. Forde i wsp. wyciągnęli podobne wnioski odnośnie do limfadenektomii biodrowej i okołoaortalnej<sup>(5)</sup>. Z kolei w japońskim badaniu Ueda i wsp. podważyli sens wykonywania limfadenektomii właśnie w zaawansowanych nowotworach – zabiegi takie uznano za nieprzynoszące korzyści<sup>(6)</sup>. W kolejnym wielośrodkowym japońskim badaniu

Europe, found no benefits associated with pelvic lymph node removal in patients with endometrial cancer in relation to five-year survival and recurrence-free survival<sup>(4)</sup>. Furthermore, the authors showed an increased surgical risk of such procedure and suggested that lymphadenectomy should be used only in patients with poorer prognosis. Similar conclusions regarding iliac and para-aortic lymphadenectomy were reached by Forde *et al.*<sup>(5)</sup> A Japanese study by Ueda *et al.* questioned the appropriateness of lymphadenectomy in advanced cancer – such procedures were not considered beneficial<sup>(6)</sup>. Another Japanese, multicenter, retrospective trial (SEPAL) showed the presence of metastases in both, pelvic and para-aortic lymph nodes in all stages in 18% of women as well as provided evidence for the beneficial effects of lymphadenectomy on survival and recurrence-free survival<sup>(7)</sup>. Furthermore, attention was paid to the presence of isolated metastases only in the para-aortic lymph nodes, as supported by our findings. As shown in the presented study, prolonged surgery duration was the only negative aspect – there were no significant

Rodzaj zabiegu <i>Type of procedure</i>	Utrata krwi [ml] <i>Blood loss [mL]</i>						Wartość p <i>p-value</i>
	N	Mediana <i>Median</i>	Min. <i>Min</i>	Maks. <i>Max</i>	Dolny kwartył <i>Lower quartile</i>	Górny kwartył <i>Upper quartile</i>	
Limfadenektomia biodrowa <i>Iliac lymphadenectomy</i>	27	500,0	250,0	850,0	400,0	600,0	0,4980
Limfadenektomia biodrowa i okołoaortalna <i>Iliac + para-aortic lymphadenectomy</i>	30	500,0	300,0	1900,0	400,0	650,0	

Tab. 2. Porównanie objętości utraconej krwi w zależności od rodzaju zabiegu operacyjnego  
Tab. 2. Comparison of blood loss depending on the type of surgical procedure



Ryc. 2. Porównanie objętości utraconej krwi w zależności od rodzaju zabiegu operacyjnego  
Fig. 2. Comparison of blood loss depending on the type of surgical procedure

retrospektywnym (SEPAL) stwierdzono obecność przerzutów łącznie w węzłach miednicy i okołoaortalnych we wszystkich stadiach zaawansowania u 18% kobiet, a także udowodniono korzystny wpływ limfadenektomii na czas przeżycia i czas wolny od wznowy<sup>(7)</sup>. Ponadto zwrócono uwagę na występowanie izolowanych przerzutów jedynie w węzłach okołoaortalnych, co znalazło potwierdzenie w naszych obserwacjach.

W wynikach prezentowanego tu badania przedłużony czas operacji okazał się jej głównym negatywnym skutkiem – nie zaobserwowaliśmy znaczącego wpływu zabiegu na obciążenie chorych, przy czym limfadenektomię zawsze wykonywał doświadczony lekarz. Podobnie było w badaniu SEPAL, w którym (w przeciwieństwie do próby ASTEC) brały udział tylko wyspecjalizowane ośrodki ginekologii onkologicznej, co najprawdopodobniej wpłynęło na wyniki i jakość leczenia. Turan i wsp. oraz Smith i wsp. podkreślają, że o wynikach decydują jakość pierwotnego zabiegu operacyjnego i możliwości organizacyjne ośrodka<sup>(8,9)</sup>. Większość autorów podkreśla zwiększone ryzyko okołoperacyjne jako argument przeciw limfadenektomii systemowej w raku endometrium, co wiąże się najczęściej z fenotypem pacjentek (triada: otyłość, nadciśnienie i cukrzyca)<sup>(10)</sup>.

Ponieważ około 80% chorych jest niepotrzebnie narażonych na uraz operacyjny, poszukuje się sposobów na ograniczenie takiej ingerencji. Wykorzystuje się m.in. biopsję węzła wartowniczego – jako postępowanie mniej inwazyjne. Frumovitz i wsp. oraz Pityński i wsp. zastosowali tę technikę, lecz w raku endometrium – w przeciwieństwie do raka szyjki macicy i sromu – nie uzyskano zadowalających efektów; uzasadniono brakiem możliwości efektywnego podania znacznika<sup>(11,12)</sup>. Petersen i wsp. uznają ocenę śródoperacyjną węzłów chłonnych za zbyt mało precyzyjną<sup>(13)</sup>. Eltabbakh i wsp. wskazują natomiast na laparoskopię jako metodę bezpieczniejszą. Zgodnie z ich wynikami taki zabieg (wykonany przez doświadczonego operatora) jest równoważny z metodą otwartą<sup>(14)</sup>. Kolejny element, który mógłby zawęzić grupę operowaną radykalnie, to rozszerzenie diagnostyki obrazowej o badania MRI czy stosowanie kryteriów Mayo – jak postulują Kang i wsp.<sup>(15)</sup> Jeśli jednak wykluczmy grupę małego ryzyka, w której limfadenektomia wydaje się niepotrzebna, to jak odniesiemy się do badania Uedy i wsp., którzy wskazali, że właśnie w zaawansowanym nowotworze taki zabieg nie wpływa na pięcioletnie przeżycie i czas wolny od wznowy<sup>(6)</sup>?

## WNIOSKI

Należy dostosować usuwanie okołoaortalnych węzłów chłonnych w raku endometrium do ogólnego stanu zdrowia pacjentki i maksymalnie wykorzystać możliwości diagnostyki przedoperacyjnej. Choć wyniki leczenia tego nowotworu są dobre, to w celu zmniejszenia ryzyka operacyjnego zabieg powinien być wykonywany w oddziale ginekologii onkologicznej – przez lekarza doświadczonego w danej technice operacyjnej (laparotomia, laparoscopia).

effects of the procedure on the surgical burden in patients. However, it should be noted that lymphadenectomy was always performed by an experienced physician. Similarly, SEPAL study was limited to centers specialized in gynecologic oncology (as opposed to ASTEC), which probably influenced both the outcomes and the quality of treatment. Turan *et al.* and Smith *et al.* emphasize that treatment outcomes are determined by the quality of the primary surgery as well as by the organizational capabilities of a given center<sup>(8,9)</sup>. Most authors emphasize the increased perioperative risk as an argument against systematic lymphadenectomy in endometrial cancer, which is usually associated with patient phenotype (the triad: obesity, hypertension, and diabetes)<sup>(10)</sup>.

Approximately 80% of patients are unnecessarily exposed to surgical trauma, therefore ways to limit such intervention are presently sought. For example, sentinel lymph node biopsy is used as a less invasive method. This technique was used by Frumovitz *et al.* and Pityński *et al.*, however, in contrast to cervical and vulvar cancer, no satisfactory results were obtained in endometrial cancer; which was justified by the lack of possibility to effectively administer a tracer<sup>(11,12)</sup>. According to Petersen *et al.*, the intraoperative assessment of lymph nodes is too imprecise<sup>(13)</sup>. Eltabbakh *et al.* consider laparoscopy as a safer method. Their results indicate that the procedure (performed by an experienced person) is equivalent to an open surgical method<sup>(14)</sup>. The extension of imaging diagnostics with MRI or the use of Mayo diagnostic criteria could be another element to limit the group of patients undergoing radical procedure, as postulated by Kang *et al.*<sup>(15)</sup> However, if we exclude the low-risk group, where lymphadenectomy seems unnecessary, then how do we refer to the study by Ueda *et al.*, who showed that the procedure had no effects on the 5-year survival and recurrence-free survival?<sup>(6)</sup>

## CONCLUSIONS

It is necessary to adjust the para-aortic lymphadenectomy in endometrial cancer to patient's overall health status and to make maximum use of preoperative diagnostics. Although treatment outcomes in this type of cancer are satisfactory, the procedure should be performed in the department of gynecologic oncology, by a specialist experienced in a given surgical technique (laparotomy, laparoscopy) to minimize the surgical risk. Information on lymph node status is the most important prognostic factor in endometrial cancer as it allows for a proper qualification for adjuvant therapy.

### Conflict of interest

The authors do not report any financial or personal links with other persons or organizations, which might affect negatively the content of this publication or claim authorship rights to this publication.

Informacja na temat stanu węzłów chłonnych jest w przypadku raka endometrium najważniejszym czynnikiem rokowniczym, gdyż pozwala na prawidłową kwalifikację do leczenia uzupełniającego.

#### Konflikt interesów

Autorzy nie zgłaszają finansowych ani osobistych powiązań z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby negatywnie wpłynąć na treść publikacji oraz rościć sobie prawo do tej publikacji.

#### Piśmiennictwo/References

1. Lewin SN, Herzog TJ, Barrena Medel NI *et al.*: Comparative performance of the 2009 International Federation of Gynecology and Obstetrics' staging system for uterine corpus cancer. *Obstet Gynecol* 2010; 116: 1141–1149.
2. Benedetti Panici P, di Donato V, Plotti F *et al.*: Role of lymphadenectomy in gynaecologic cancers. In: Ayhan A, Gultekin M, Dursun P (eds.): *Textbook of Gynaecological Oncology*. Güneş Publishing, Ankara 2010: 252–256.
3. Pomel C, Naik R, Martinez A *et al.*: Systematic (complete) para-aortic lymphadenectomy: description of a novel classification with technical and anatomical considerations. *BJOG* 2012; 119: 249–253.
4. ASTEC study group; Kitchener H, Sward AM, Qian Q *et al.*: Efficacy of systematic pelvic lymphadenectomy in endometrial cancer (MRC ASTEC trial): a randomised study. *Lancet* 2009; 373: 125–136.
5. Forde GK, Carlson JW, Downey GO *et al.*: A quality process study of lymph node evaluation in endometrial cancer. *Int J Gynecol Pathol* 2011; 30: 335–339.
6. Ueda Y, Okazawa M, Enomoto T *et al.*: Dissection of unsuspected para-aortic lymph nodes does not improve prognosis of advanced endometrial carcinoma with intra- or extra-abdominal metastasis. *Anticancer Res* 2011; 31: 4513–4517.
7. Todo Y, Kato H, Kaneuchi M *et al.*: Survival effect of para-aortic lymphadenectomy in endometrial cancer (SEPAL study): a retrospective cohort analysis. *Lancet* 2010; 375: 1165–1172.
8. Turan T, Hizli D, Sarici S *et al.*: Is it possible to predict para-aortic lymph node metastasis in endometrial cancer? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2011; 158: 274–279.
9. Smith DC, Macdonald OK, Lee CM *et al.*: Survival impact of lymph node dissection in endometrial adenocarcinoma: a surveillance, epidemiology, and end results analysis. *Int J Gynecol Cancer* 2008; 18: 255–261.
10. Furberg AS, Thune I: Metabolic abnormalities (hypertension, hyperglycemia and overweight), lifestyle (high energy intake and physical inactivity) and endometrial cancer risk in a Norwegian cohort. *Int J Cancer* 2003; 104: 669–676.
11. Frumovitz M, Bodurka DC, Broaddus RR *et al.*: Lymphatic mapping and sentinel node biopsy in women with high-risk endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 2007; 104: 100–103.
12. Pityński K, Basta A, Oplawski M *et al.*: Znakowanie węzłów limfatycznych i poszukiwanie węzła wartowniczego w raku szyjki macicy, raku endometrium i raku sromu. *Ginekol Pol* 2003; 74: 830–835.
13. Petersen RW, Quinlivan JA, Casper GR *et al.*: Endometrial adenocarcinoma – presenting pathology is a poor guide to surgical management. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2000; 40: 191–194.
14. Eltabbakh GH, Shamonki MI, Moody JM *et al.*: Laparoscopy as the primary modality for the treatment of woman with endometrial carcinoma. *Cancer* 2001; 91: 378–387.
15. Kang S, Todo T, Odagiri T *et al.*: A low-risk group of lymph node metastasis is accurately identified by Korean gynecologic oncology group criteria in two Japanese cohorts with endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 2013; 129: 33–37.



Wojciech M. Wysocki<sup>1</sup>, Jerzy W. Mituś<sup>1,2</sup>, Jan Gawętko<sup>3</sup>, Zbigniew Kojs<sup>4</sup>

## Jakie są perspektywy biopsji węzła chłonnego wartowniczego?

### What are the perspectives for sentinel lymph node biopsy?

### Каковы перспективы биопсии сторожевого лимфоузла?

<sup>1</sup> Klinika Chirurgii Onkologicznej, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Krakowie, Polska

<sup>2</sup> Katedra Anatomii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum w Krakowie, Polska

<sup>3</sup> Instytut Pielęgniarstwa i Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Rzeszowski, Polska

<sup>4</sup> Klinika Ginekologii Onkologicznej, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Krakowie, Polska

Adres do korespondencji: Jerzy W. Mituś, Klinika Chirurgii Onkologicznej, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Krakowie, ul. Garncarska 11, 31-115 Kraków, +48 12 422 49 28, e-mail: jerzy.mitus@gmail.com

<sup>1</sup> Department of Oncologic Surgery, Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Division in Krakow, Poland

<sup>2</sup> Department of Anatomy, Jagiellonian University, Collegium Medicum in Krakow, Poland

<sup>3</sup> Institute of Nursing and Health Sciences, University of Rzeszow, Poland

<sup>4</sup> Department of Gynecologic Oncology, Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Division in Krakow, Poland

Correspondence: Jerzy W. Mituś, Department of Oncologic Surgery, Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Division in Krakow, Garncarska 11, 31-115 Kraków, Poland, tel.: +48 12 422 49 28, e-mail: jerzy.mitus@gmail.com

#### Streszczenie

W kilku ostatnich dekadach wprowadzano do praktyki klinicznej ocenę regionalnego zaawansowania nowotworu złośliwego opartą na identyfikacji tego węzła chłonnego, który jest obciążony największym ryzykiem umiejscowienia się w nim przerzutu. To standard postępowania w przypadku raka piersi, czerniaka i raka z komórek Merkla. Prawdopodobne przyszłe zmiany w praktyce klinicznej w zakresie związanym z biopsją wartowniczego węzła chłonnego można przyporządkować do trzech obszarów: techniki identyfikacji tego węzła, metod pozwalających na weryfikację przerzutów w jego obrębie oraz konsekwencji terapeutycznych wyniku oceny. Można się spodziewać postępującego ograniczania inwazyjności identyfikacji węzła wartowniczego. Dojdzie też zapewne do rezygnacji ze stosowania radioizotopu i barwnika. Sondy molekularne, przygotowywane indywidualnie dla każdego chorego na podstawie molekularnej charakterystyki guza i sprzężone z cząsteczkami umożliwiającymi ich wizualizację przezskórną, pozwolą na skuteczną i nieinwazyjną weryfikację zajęcia wartowniczego węzła chłonnego. W związku z rozwojem ukierunkowanych molekularnie i bardzo efektywnych metod zindywidualizowanego leczenia zachowawczego w odległej perspektywie będziemy świadkami całkowitej rezygnacji z uzupełniającego leczenia miejscowego (chirurgicznego lub napromieniania) mimo potwierdzenia obecności przerzutu w wartowniczym węzle chłonnym. Zgodnie z obecnymi rekomendacjami dotyczącymi postępowania w przypadku niezaawansowanego raka piersi po spełnieniu określonych warunków można odstąpić od uzupełniającej limfadenektomii pachowej. Koncepcja wartowniczego węzła chłonnego będzie nadal odgrywać istotną rolę w ocenie stopnia zaawansowania choroby i kwalifikacji do leczenia pacjentów z niezaawansowanymi nowotworami złośliwymi o różnych typach histologicznych i lokalizacjach narządowych. Jednocześnie będzie rósł udział metod nieinwazyjnych – zarówno w obszarze identyfikacji, jak i weryfikacji wartowniczego węzła chłonnego.

**Słowa kluczowe:** biopsja węzła chłonnego wartowniczego, przyszłość, kierunki rozwoju

#### Abstract

Local staging of malignancy, introduced in the past few decades into clinical practice, is based on the identification of the lymph node in which metastasis is most likely to occur (sentinel node biopsy). This is a standard of care for breast cancer, melanoma and Merkel-cell carcinoma. Potential changes in the clinical practice of sentinel node biopsy can be assigned to three areas: identification of sentinel lymph node, evaluation of nodal metastases and the therapeutic consequences of the outcomes. In the future, gradual reduction in the invasiveness of sentinel node identification may be expected. Also, the use of radioisotope and blue dye will probably be abandoned. Molecular probes prepared individually for each patient, based on the molecular characteristics of the tumor and conjugated to molecules enabling transcutaneous visualization will allow for an effective, reliable

and non-invasive evaluation of the sentinel lymph node. Adjuvant local treatment (surgery or irradiation) will be abandoned in the distant future, even in the case of a confirmed presence of metastasis in sentinel lymph node due to the development of molecularly targeted and very effective methods of individualized conservative treatment. According to the current guidelines on the treatment of early-stage breast cancer, the need for complementary axillary lymphadenectomy may be eliminated in certain circumstances. Sentinel lymph node biopsy will continue to play an important role in staging and therapeutic qualification of patients with early-stage malignant tumors of different histological types and different locations. At the same time, the use of non-invasive methods will increase – both in identification and evaluation of sentinel lymph nodes.

**Key words:** sentinel lymph node biopsy, perspectives, development trends

## Содержание

В последние несколько десятилетий, в клиническую практику ввели оценку региональной стадии злокачественной опухоли, основанную на идентификации лимфатического узла с наивысшим риском появления в нем метастазов. Это стандарт медицинской процедуры в случае рака молочной железы, меланомы и рака из клеток Меркеля. Возможные будущие изменения в клинической практике в области, связанной с биопсией сторожевого лимфоузла, можно отнести к трем направлениям: технологии идентификации этого узла, методов, позволяющих проверку метастазов в его области и терапевтических последствий результата оценки. Можно ожидать постепенное ограничение инвазивности идентификации сторожевого лимфоузла. Вероятно откажутся от использования радиоизотопа и красителя. Молекулярные зонды, подготовленные индивидуально для каждого пациента на основании молекулярной характеристики опухоли и сочетаемые с молекулами, позволяющими их чрескожную визуализацию, позволят проводить эффективную и неинвазивную оценку распространения на сторожевой лимфоузл. В связи с развитием молекулярно направленных и очень эффективных методов индивидуального консервативного лечения, в отдаленной перспективе мы станем свидетелями полного отказа от дополнительного местного лечения (хирургия или радиотерапия), несмотря на подтверждение метастазов в сторожевых лимфатических узлах. В соответствии с нынешними рекомендациями, касающимися процедур в случае рака молочной железы на ранней стадии, после выполнения определенных условий можно отказаться от дополнительной пазушной лимфаденэктомии. Концепция сторожевого лимфатического узла в дальнейшем будет продолжать играть важную роль для оценки стадии заболевания и направления на лечение пациентов со злокачественным раком разного гистологического типа и локализации в органах на ранней стадии. Одновременно будет возрастать доля неинвазивных методов – как в области идентификации, так и проверки сторожевого лимфатического узла.

**Ключевые слова:** биопсия сторожевого лимфатического узла, будущее, тенденция развития

## WPROWADZENIE

**W** kilku ostatnich dekadach wprowadzano do praktyki klinicznej ocenę regionalnego zaawansowania nowotworu złośliwego opartą na metodzie identyfikacji tego węzła chłonnego, który jest obarczony największym ryzykiem umiejscowienia się w nim przerzutu<sup>(1,2)</sup>. Wartość biopsji wartowniczego węzła chłonnego nie budzi wątpliwości w przypadku raka piersi, czerniaka i raka z komórek Merkla<sup>(3-5)</sup>. W przypadku wielu innych nowotworów złośliwych – m.in. raka szyjki macicy, raka sromu, raka odbytu, raka jelita grubego, raka żołądka, raka tarczycy – rola tej biopsji nie jest jeszcze ustalona<sup>(6-12)</sup>.

## PROGNOZY ROZWOJU

Prawdopodobne przyszłe zmiany w praktyce klinicznej w zakresie związanym z biopsją wartowniczego węzła chłonnego można przyporządkować do trzech obszarów:

1. zagadnienia techniczne identyfikacji węzła wartowniczego:
  - obecnie identyfikacja opiera się na fizycznych właściwościach nieswoistych barwników/radioznaczników

## INTRODUCTION

**L**ocal staging of malignancy, which was introduced in the past few decades into clinical practice, is based on the identification of the lymph node in which metastasis is the most likely to occur (sentinel node biopsy)<sup>(1,2)</sup>. Undoubtedly, sentinel lymph node biopsy is of great value in breast cancer, melanoma and Merkel-cell carcinoma<sup>(3-5)</sup>. In the case of a number of other malignancies, such as cervical, vulvar, rectal, colon, stomach, or thyroid cancer, the role of biopsy has not yet been specified<sup>(6-12)</sup>.

## DEVELOPMENT FORECASTS

The potential future changes in clinical practice in the field of sentinel lymph node biopsy can be attributed to three areas:

1. technical aspects of sentinel lymph node identification:
  - currently, the identification is based on the physical properties of non-specific dyes/radiotracers and the dynamics of lymphatic drainage of certain anatomical region;
  - in the future, the procedure will probably involve the use of molecular probes specific for particular cancer

- i dynamiki spływu chłonki z danego obszaru anatomicznego;
  - w przyszłości procedura będzie się zapewne opierać na użyciu sond molekularnych swoistych dla konkretnego nowotworu i sprzężonych ze znacznikiem mającym cechy fizyczne umożliwiające jego śródoperacyjne odszukanie;
  - w dalszej perspektywie można oczekiwać stopniowego wzrostu swoistości identyfikacji dzięki zindywidualizowanym sondom molekularnym i rozwojowi nieinwazyjnych metod lokalizacji węzła wartowniczego;
2. metody weryfikacji przerzutu w obrębie węzła:
    - obecnie weryfikacja polega na wycięciu węzła i badaniu mikroskopowym;
    - w przyszłości będzie możliwa igłowa weryfikacja przezskórna pod kontrolą badań obrazowych, charakteryzująca się dostateczną czułością;
    - w dalszej perspektywie stosowana będzie weryfikacja molekularna z wykorzystaniem sond genomowych swoistych dla danego chorego i dla danego guza;
  3. konsekwencje terapeutyczne oceny wartowniczego węzła chłonnego:
    - obecnie następstwem stwierdzenia przerzutu jest usunięcie odpowiedniej grupy węzłów chłonnych;
    - w niedalekiej przyszłości spodziewać się można odstąpienia od uzupełniającej limfadenektomii w określonych sytuacjach klinicznych;
    - w dalszej perspektywie nastąpić może całkowita rezygnacja z uzupełniającej limfadenektomii w związku z rozwojem ukierunkowanych molekularnie i bardzo efektywnych metod zindywidualizowanego leczenia zachowawczego.

## ZAGADNIENIA TECHNICZNE

W latach 60. i 70. XX wieku próby identyfikacji wartowniczego węzła chłonnego polegały na palpacyjnej ocenie adekwatnej grupy węzłów, np. w przypadku raka prącia naciągnięto skórę w okolicy pachwinowej i poszukiwano węzła położonego w sąsiedztwie guzka łonowego<sup>(2)</sup>. W 1970 roku u chorych na raka piersi po raz pierwszy użyto błękitnego barwnika w celu uwidocznienia węzła chłonnego<sup>(13)</sup>, a w 1980 zastosowano limfoscyntyografię<sup>(14)</sup>. W roku 1992 wykorzystano łącznie barwnik i radioizotop u pacjentów z czerniakiem skóry<sup>(15)</sup>. Tak zaczęła się rozwijać obecnie stosowana technika identyfikacji wartowniczego węzła chłonnego.

Od lat 60. systematycznie zmniejszał się zakres operacji niezbędnej do odszukania właściwego węzła: pierwotnie konieczne było szerokie rozpreparowanie części okolicy pachwinowej, a obecnie (dzięki ręcznym detektorom promieniowania gamma) wystarcza niewielkie cięcie. W przyszłości można się spodziewać postępującego ograniczenia inwazyjności identyfikacji węzła wartowniczego. Zapewne dojdzie też do rezygnacji z radioizotopu i barwnika.

- and coupled with a tracer showing physical characteristics that allow for its intraoperative detection;
  - in the long run, gradual increase can be expected in the specificity of identification using individualized molecular probes and the development of non-invasive methods of sentinel lymph node localization;
2. evaluation method for lymph node metastasis:
    - currently, the assessment involves removal of lymph node for microscopic examination;
    - in the future, needle transcutaneous evaluation controlled by imaging techniques and showing sufficient sensitivity will be possible;
    - in the long run, molecular evaluation using genomic probes specific for both, the patient and the tumor will be available;
  3. therapeutic implications of sentinel lymph node assessment:
    - currently, identification of metastasis is followed by the removal of the involved group of lymph nodes;
    - in the near future, it can be expected that the need for complementary axillary lymphadenectomy will be eliminated in certain circumstances;
    - in the long run, complete abandonment of complementary lymphadenectomy due to the development of molecularly targeted and very effective methods of individualized maintenance treatment may be expected.

## TECHNICAL ISSUES

In the 60s and 70s of the 20<sup>th</sup> century, the attempts to identify sentinel lymph node involved palpation assessment of adequate group of lymph nodes, e.g. in the case of penile cancer, the skin was incised in the groin area, and the lymph node in the vicinity of the pubic tubercle was searched for<sup>(2)</sup>. In 1970, blue dye was used for the first time in breast cancer patients in order to visualize the lymph node<sup>(13)</sup>. In 1980, lymphoscintigraphy was used<sup>(14)</sup>. In 1992, dye and radioisotope were used simultaneously in patients with skin melanoma<sup>(15)</sup>. This is how the development of the current technique for sentinel lymph node identification was initiated.

Since the 60's, the extent of surgeries needed to detect the correct lymph node has systematically decreased: originally, extensive incision in the groin area was necessary. Currently (owing to manual gamma radiation detector) only small incision is needed. In the future, gradual reduction in the invasiveness of sentinel node identification may be expected. Also, the use of radioisotope and blue dye will probably be abandoned.

Indocyanine green fluorescence imaging has been successfully applied for some time (Fig. 1)<sup>(16,17)</sup>. Research on the use of ultrasound (US) to identify sentinel lymph node (currently, the sensitivity and specificity of US are insufficient: 60% and 80%, respectively) is being conducted<sup>(18)</sup>. New imaging techniques using ultrasound raise hope for efficacy improvement: transcutaneous identification of sentinel lymph node by intradermal microbubble

Od pewnego czasu z powodzeniem stosuje się metodę fluorescencyjną – z wykorzystaniem zieleni indocyjaninowej (ryc. 1)<sup>(16,17)</sup>. Trwają badania nad wykorzystywaniem ultrasonografii (USG) do identyfikacji wartowniczego węzła chłonnego (na razie czułość i swoistość badania USG nie są pod tym względem dostatecznie dobre: odpowiednio 60% i 80%)<sup>(18)</sup>. Nowe techniki obrazowania z wykorzystaniem ultrasonografii stwarzają nadzieję na poprawę efektywności: przezskórna identyfikacja wartowniczego węzła chłonnego za pomocą wstrzykiwanych śródskórnie mikro-pęcherzyków i oceny ultrasonograficznej (*contrast-enhanced ultrasound*, CEUS) zawartości jamy pachowej uzupełnionej przezskórną biopsją odszukanych w ten sposób wartowniczych węzłów chłonnych odznacza się dużą skutecznością<sup>(19)</sup>. W piśmiennictwie dostępne są również opisy metod nawigacji śródoperacyjnej, które umożliwiają fuzję danych z tomografii komputerowej sprzężonej z pozytonową tomografią emisyjną (PET/TK) i USG – w ten sposób podejrzany (w związku z dużą wartością wskaźnika SUV) węzeł chłonny w dole pachowym można zidentyfikować i wyciąć pod kontrolą USG<sup>(20)</sup>.

## WERYFIKACJA WĘZŁA

Obecnie jedynym powszechnie akceptowanym sposobem weryfikacji przerzutu w zidentyfikowanym uprzednio węzle wartowniczym jest jego wycięcie i badanie mikroskopowe.

Podejmowano próby wykorzystania biopsji przezskórnej. W niewielkiej grupie chorych wykazano, że przezskórna identyfikacja z użyciem sondy gamma i przezskórna biopsja gruboigłowa odnalezionego w ten sposób węzła wartowniczego dostarczają informacji klinicznych o wartości porównywalnej do klasycznej biopsji węzła wartowniczego.

Dokładność (celność) biopsji węzła wartowniczego pod kontrolą ultrasonografii okazała się znakomita (umieszczenie igły w węzle potwierdzono w późniejszym badaniu mikroskopowym całego węzła)<sup>(21)</sup>. Wciąż jednak utrzymują się obawy dotyczące zagrożenia znacznym odsetkiem wyników fałszywie ujemnych, co sprawia, że takie postępowanie nie znajduje szerokiego zastosowania. Nie opracowano dotąd możliwych do rutynowego wykorzystania swoistych znaczników wskazujących podczas badania USG prawdziwy wartowniczy węzeł chłonny. To z kolei powoduje, że identyfikacja węzła wymagającego biopsji przezskórnej opiera się na subiektywnej ocenie (np. „największy” lub „podejrzany” węzeł)<sup>(22)</sup>. CEUS pozwala w pewnym stopniu zobiektywizować identyfikację węzła<sup>(19)</sup>.

Trwają również próby zmierzające do wyeliminowania konieczności wykonywania cienko- lub gruboigłowej biopsji. Oczekuje się, że możliwa będzie weryfikacja stanu wartowniczego węzła chłonnego za pomocą samych metod obrazowania. W niewielkich próbach z wykorzystaniem elastografii i konwencjonalnej ultrasonografii wykazano bardzo dobrą zdolność dyskryminacyjną zajętych

injection and ultrasound assessment (contrast-enhanced ultrasound, CEUS) of the content of the axillary cavity, supplemented with transcutaneous biopsy of the identified sentinel lymph nodes shows high efficacy<sup>(19)</sup>. In the literature there are also descriptions of intraoperative navigation methods that allow to connect the data from computed tomography with positron emission tomography (PET/CT) and US – in this way the suspected (in view of high SUV) lymph node in the armpit can be identified and dissected under US control<sup>(20)</sup>.

## LYMPH NODE EVALUATION

Currently, dissection followed by microscopic evaluation is the only widely accepted method for verifying metastasis in the previously identified sentinel lymph node.

There have been attempts to use transcutaneous biopsy. It was demonstrated in a small group of patients that transcutaneous identification using gamma probes and percutaneous thick needle biopsy of the identified sentinel lymph node provide clinical data of value comparable to classic sentinel lymph node biopsy.



Ryc. 1. Obraz śródoperacyjny procedury biopsji węzła wartowniczego z wykorzystaniem zieleni indocyjaninowej oraz używany sprzęt (zdjęcie dzięki uprzejmości Dr hab. n. med. Dawida Murawy z Wielkopolskiego Centrum Onkologii)

Fig. 1. Intraoperative image of sentinel node biopsy procedure using indocyanine green and used equipment (image by of Dawid Murawa, MD, PhD, Wielkopolskie Cancer Centre)



i niezajętych przez czerniaka powierzchniowych pachowych węzłów chłonnych<sup>(23)</sup>.

Z kolei w przypadku chorych na raka piersi analizuje się przydatność specjalnych protokołów obrazowania metodą rezonansu magnetycznego (*magnetic resonance imaging*, MRI) i wstrzykiwania okołootoczkowo specyficznych środków kontrastowych (*ultrasmall paramagnetic iron oxide*, USPIO). Jony żelaza nie gromadzą się w tych częściach węzłów chłonnych, w których są przerzuty, dlatego uwidocznienie nierównomiernego rozkładu sygnału w MRI pozwala na nieinwazyjną identyfikację obecności przerzutu w pachowym węzle chłonnym<sup>(24)</sup>.

Koncepcja wizualizacji nieprawidłowości w sposób dynamiczny i czynnościowy nie jest nowa, od wielu lat wykorzystuje się ją podczas PET/TK. Znaczniki stosowane w PET/TK są jednak nieswoiste nie tylko dla poszczególnych typów nowotworów złośliwych, lecz także – niestety – dla nowotworów *per se*. Można oczekiwać, że w przyszłości sondy molekularne, przygotowywane indywidualnie dla każdego chorego na podstawie charakterystyki guza i sprzężone z cząsteczkami umożliwiającymi ich wizualizację przezskórną, pozwolą na pewną i nieinwazyjną weryfikację zajęcia wartowniczego węzła chłonnego.

## KONSEKWENCJE TERAPEUTYCZNE

Pierwotnie celem weryfikacji wartowniczego węzła chłonnego było – w razie potwierdzenia przerzutu – uzasadnienie wycięcia odpowiedniej grupy węzłów. Jednak kilka lat temu pojawiły się przesłanki kwestionujące ten dogmat: w 2011 roku (a później w aktualizacji z roku 2013) w rekomendacjach Sankt Gallen dotyczących postępowania w przypadku niezaawansowanego raka piersi uznano, że obecność makroprzerzutów w 1–2 wartowniczych węzłach chłonnych pozwala – po spełnieniu określonych warunków – na bezpieczne odstępnie od uzupełniającej limfadenektomii pachowej<sup>(25)</sup>. Ten zapis, powielony w innych światowych<sup>(26)</sup> i krajowych<sup>(27)</sup> zaleceniach, wskazuje na prawdopodobny kierunek ewolucji całej koncepcji biopsji wartowniczego węzła chłonnego: stopniowo zmniejszać się będzie znaczenie chirurgii jako metody uzupełniającego leczenia regionalnego u chorych na raka piersi z potwierdzonym ograniczonym zajęciem regionalnych węzłów chłonnych. Niewykluczone, iż chirurgię wkrótce zastąpi w tym zastosowaniu inna metoda leczenia miejscowego – radioterapia.

Możliwość bezpiecznego odstępnie od uzupełniającego usunięcia odpowiedniej grupy regionalnych węzłów chłonnych pojawiła się także w przypadku niektórych chorych na czerniaka, i to mimo potwierdzenia obecności przerzutu nowotworu w wartowniczym węzle chłonnym<sup>(28)</sup>.

Należy zatem oczekiwać, że w związku z rozwojem ukierunkowanych molekularnie i bardzo efektywnych metod zindywidualizowanego leczenia zachowawczego w odległej perspektywie będziemy świadkami całkowitej

The accuracy of sentinel node biopsy under ultrasound control was shown to be excellent (needle insertion in the lymph node was confirmed in a subsequent microscopic examination of the entire lymph node)<sup>(21)</sup>. However, concerns remain in relation to the risk of significant rate of false negative results. Therefore, the procedure is not widely applied. Specific tracers, which could be used routinely to identify the real sentinel lymph node during US, have not been developed yet. This in turn causes that identification of lymph node requiring transcutaneous biopsy is based on a subjective assessment (e.g. “the largest” or “suspicious” lymph node)<sup>(22)</sup>. CEUS allows for a relatively objective identification of lymph node<sup>(19)</sup>.

There are also attempts to eliminate the need for fine- or thick-needle biopsy. It is expected that evaluation of the sentinel lymph node status using the same imaging techniques will be possible. Minor attempts using elastography and conventional ultrasonography have shown very good discriminatory ability of superficial axillary lymph nodes affected or unaffected by melanoma<sup>(23)</sup>.

In the case of patients with breast cancer, the usefulness of magnetic resonance imaging (MRI) protocols and periareolar injection of specific contrast media (ultrasmall paramagnetic iron oxide, USPIO) are analyzed. Iron ions do not accumulate in the parts of lymph nodes with metastases, resulting in uneven distribution of MRI signal, which allows for a non-invasive identification of metastasis in the axillary lymph node<sup>(24)</sup>.

The concept of visualization of abnormalities in a dynamic and functional way is not new as it has been applied during PET/CT for many years. PET/CT tracers are non-specific not only for different types of malignant tumors, but also, unfortunately, for tumors *per se*. It can be expected that molecular probes prepared individually for each patient based on characteristics of the tumor, and conjugated to molecules enabling transcutaneous visualization will allow, in the future, for an effective, reliable and non-invasive verification of sentinel lymph node.

## THERAPEUTIC CONSEQUENCES

Originally, sentinel lymph node evaluation was intended to provide justification for the resection of lymph nodes with confirmed metastases. However, a few years ago evidence questioning this dogma appeared: in 2011 (and in the subsequent update in 2013) it was considered in the St. Gallen’s recommendations on the management in patients with early-stage breast cancer that the presence of macrometastases in 1–2 sentinel lymph nodes allowed, under certain conditions, to safely abandon the complementary axillary lymphadenectomy<sup>(25)</sup>. This recommendation, repeated in other worldwide<sup>(26)</sup> and national<sup>(27)</sup> guidelines, indicates the likely direction in the evolution of the whole concept of sentinel lymph node biopsy: the significance of surgery as the method of supplementary local treatment in breast cancer patients with confirmed,

rezygnacji z uzupełniającego leczenia miejscowego (chirurgicznego lub napromieniania) mimo potwierdzenia obecności przerzutu w wartowniczym węzle chłonnym.

## PODSUMOWANIE

Naszym zdaniem koncepcja wartowniczego węzła chłonnego będzie nadal odgrywać istotną rolę w ocenie stopnia zaawansowania choroby i kwalifikacji do leczenia pacjentów z niezaawansowanymi nowotworami złośliwymi o różnych typach histologicznych i lokalizacjach narządowych. Musimy jednak – jako zabiegowcy – przyznać, że udział chirurgów w identyfikacji, weryfikacji i miejscowym postępowaniu uzupełniającym podejmowanym w przypadku stwierdzenia przerzutu w wartowniczym węzle chłonnym będzie się systematycznie zmniejszał. Rósł będzie za to udział metod nieinwazyjnych – zarówno w identyfikacji, jak i w weryfikacji wartowniczego węzła chłonnego.

### Konflikt interesów

*Autorzy nie zgłaszają żadnych finansowych ani osobistych powiązań z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby negatywnie wpłynąć na treść publikacji oraz rościć sobie prawo do tej publikacji.*

*Artykuł oparto na wykładach pierwszego autora prezentowanych podczas XIX Konferencji Naukowo-Szkoleniowej „Ginekologia Onkologiczna” (Niepołomice, wrzesień 2014 r.) oraz konferencji „Węzeł wartowniczy – co wiemy w 2014 r.” (Poznań, listopad 2014 r.). Materiały służące do przygotowania wykładów i niniejszego artykułu wykorzystano także do opracowania rozdziału Przyszłość biopsji węzła wartowniczego: rozkwit czy zmierzch?, który wszedł w skład podręcznika Węzeł chłonny wartowniczy (seria wydawnicza „Biblioteka Chirurga Onkologa”, Via Medica, Gdańsk 2014).*

### Piśmiennictwo/References

1. Gould EA, Winship T, Philbin PH *et al.*: Observations on a “sentinel node” in cancer of the parotid. *Cancer* 1960; 13: 77–78.
2. Cabanas RM: An approach for the treatment of penile carcinoma. *Cancer* 1977; 39: 456–466.
3. Senkus E, Kyriakides S, Penault-Llorca F *et al.*; ESMO Guidelines Working Group: Primary breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2013; 24 Suppl 6: vi7–vi23.
4. Dummer R, Hauschild A, Guggenheim M *et al.*; ESMO Guidelines Working Group: Cutaneous melanoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2012; 23 Suppl 7: vii86–vii91.
5. Swann MH, Yoon J: Merkel cell carcinoma. *Semin Oncol* 2007; 34: 51–56.
6. Colombo N, Carinelli S, Colombo A *et al.*; ESMO Guidelines Working Group: Cervical cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2012; 23 Suppl 7: vii27–vii32.
7. Miyashiro I, Hiratsuka M, Sasako M *et al.*; Gastric Cancer Surgical Study Group (GCSSG) in the Japan Clinical Oncology Group (JCOG): High false-negative proportion of intraopera-

limited regional involvement of lymph nodes will gradually decrease. It is possible that surgery will soon be replaced with a different method of local treatment, i.e. radiotherapy.

The safe withdrawal from the complementary removal of a specified group of regional lymph nodes is also possible in some patients with melanoma, even in the case of confirmed metastasis in the sentinel lymph node<sup>(28)</sup>.

Therefore, it can be expected that adjuvant local treatment (surgery or irradiation) will be abandoned in the distant future, even in the case of confirmed presence of metastasis in the sentinel lymph node due to the development of molecularly targeted and highly effective methods of individualized conservative treatment.

## CONCLUSIONS

We believe that sentinel lymph node biopsy will continue to play an important role in staging and therapeutic qualification of patients with early-stage malignant tumors of different histological types and locations. However, as surgeons, we must admit that our role in identification, evaluation and local supplementary management in the case of metastasis in sentinel lymph node will be gradually reduced. At the same time the use of non-invasive methods will increase – both in identification and evaluation of sentinel lymph nodes.

### Conflict of interests

*The authors do not report any financial or personal connections with other individuals or organizations which could negatively affect the content of the publication and claim the right to this publication.*

*The article was based on the lectures presented by the first author during the 19<sup>th</sup> Training Conference “Oncological Gynaecology” (Niepołomice, September 2014) and the Conference “Sentinel Lymph Node – what we know in 2014” (Poznań, November 2014). The materials for preparation of lectures and this article were also used to develop the chapter The future of sentinel node biopsy: flourish or twilight?, which was included in the manual Sentinel lymph node (publishing series “Biblioteka Chirurga Onkologa”, Via Medica, Gdańsk 2014).*

8. Jeziorski A, Polkowski W, Kołodziejczyk P *et al.*: Węzeł chłonny wartowniczy w raku żołądka. In: Jeziorski A, Piekarski J (eds.): Węzeł chłonny wartowniczy w chorobach nowotworowych. Fundacja Polski Przegląd Chirurgiczny, Warszawa 2010: 78–91.
9. Noorani A, Rabey N, Durrani A *et al.*: Systematic review of sentinel lymph node biopsy in anal squamous cell carcinoma. *Int J Surg* 2013; 11: 762–766.
10. Kaczka K, Celnik A, Luks B *et al.*: Sentinel lymph node biopsy techniques in thyroid pathologies – a meta-analysis. *Endokrynol Pol* 2012; 63: 222–231.

11. Hassanzade M, Attaran M, Treglia G *et al.*: Lymphatic mapping and sentinel node biopsy in squamous cell carcinoma of the vulva: systematic review and meta-analysis of the literature. *Gynecol Oncol* 2013; 130: 237–245.
12. van der Zaag ES, Bouma WH, Tanis PJ *et al.*: Systematic review of sentinel lymph node mapping procedure in colorectal cancer. *Ann Surg Oncol* 2012; 19: 3449–3459.
13. Kett K, Varga G, Lukács L: Direct lymphography of the breast. *Lymphology* 1970; 3: 2–12.
14. Christensen B, Blichert-Toft M, Siemssen OJ *et al.*: Reliability of axillary lymph node scintiphography in suspected carcinoma of the breast. *Br J Surg* 1980; 67: 667–668.
15. Morton DL, Wen DR, Wong JH *et al.*: Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* 1992; 127: 392–399.
16. Sugie T, Sawada T, Tagaya N *et al.*: Comparison of the indocyanine green fluorescence and blue dye methods in detection of sentinel lymph nodes in early-stage breast cancer. *Ann Surg Oncol* 2013; 20: 2213–2218.
17. Polom K, Murawa D, Nowaczyk P *et al.*: Breast cancer sentinel lymph node mapping using near infrared guided indocyanine green and indocyanine green – human serum albumin in comparison with gamma emitting radioactive colloid tracer. *Eur J Surg Oncol* 2012; 38: 137–142.
18. Houssami N, Ciatto S, Turner RM *et al.*: Preoperative ultrasound-guided needle biopsy of axillary nodes in invasive breast cancer: meta-analysis of its accuracy and utility in staging the axilla. *Ann Surg* 2011; 254: 243–251.
19. Sever AR, Mills P, Weeks J *et al.*: Preoperative needle biopsy of sentinel lymph nodes using intradermal microbubbles and contrast-enhanced ultrasound in patients with breast cancer. *AJR Am J Roentgenol* 2012; 199: 465–470.
20. Futamura M, Morimitsu K, Nawa M *et al.*: Novel navigation surgery using image fusion of PET/CT and sonography for axillary neoplasm: First experience. *Int J Surg Case Rep* 2013; 4: 719–722.
21. Testori A, Meroni S, Moscovici OC *et al.*: Surgical sentinel lymph node biopsy in early breast cancer. Could it be avoided by performing a preoperative staging procedure? A pilot study. *Med Sci Monit* 2012; 18: CR543–CR549.
22. Britton P, Moyle P, Benson JR *et al.*: Ultrasound of the axilla: where to look for the sentinel lymph node. *Clin Radiol* 2010; 65: 373–376.
23. Hinz T, Hoeller T, Wenzel J *et al.*: Real-time tissue elastography as promising diagnostic tool for diagnosis of lymph node metastases in patients with malignant melanoma: a prospective single-center experience. *Dermatology* 2013; 226: 81–90.
24. Johnson L, Pinder SE, Douek M: Deposition of superparamagnetic iron-oxide nanoparticles in axillary sentinel lymph nodes following subcutaneous injection. *Histopathology* 2013; 62: 481–486.
25. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS *et al.*; Panel members: Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol* 2013; 24: 2206–2223.
26. National Comprehensive Cancer Network: Breast Cancer Version 2.2015.
27. Jassem J, Krzakowski M (eds.): Rak piersi. In: Krzakowski M, Warzocha K (eds.): Zalecenia postępowania diagnostyczno-terapeutycznego w nowotworach złośliwych – 2013 r. Vol. 1, Via Medica, Gdańsk 2013: 211–264.
28. Nagaraja V, Eslick GD: Is complete lymph node dissection after a positive sentinel lymph node biopsy for cutaneous melanoma always necessary? A meta-analysis. *Eur J Surg Oncol* 2013; 39: 669–680.

Magdalena Pisarska-Krawczyk<sup>1,2</sup>, Grażyna Jarząbek-Bielecka<sup>3</sup>,  
Anna Grętkiewicz-Tomczyk<sup>3</sup>, Małgorzata Mizgier<sup>4</sup>, Witold Kędzia<sup>3</sup>

Received: 10.06.2015

Accepted: 25.06.2015

Published: 31.07.2015

## Guzy gonadalne jajnika ze szczególnym uwzględnieniem guza szkliwiejącego. Znaczenie wczesnej diagnostyki zmian jajnika

Gonadal tumors of the ovary with particular emphasis on sclerosing stromal tumors.

The importance of early diagnosis in ovarian tumors

Гонадные опухоли яичника с особым акцентом на опухоли из клеток хилуса.

Значение ранней диагностики изменений яичника

<sup>1</sup> Katedra Zdrowia Matki i Dziecka, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, Polska. Kierownik Katedry: prof. dr hab. n. med. Krzysztof Szymanowski

<sup>2</sup> Państwowa Wyższa Szkoła Zawodowa im. Prezydenta Stanisława Wojciechowskiego w Kaliszu, Polska

<sup>3</sup> Pracownia Ginekologii Wieku Rozwojowego i Seksuologii, Klinika Ginekologii, Katedra Perinatologii i Ginekologii, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, Polska. Kierownik Kliniki: prof. dr hab. n. med. Witold Kędzia

<sup>4</sup> Zakład Dietetyki, Katedra Higieny Żywności Człowieka, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Polska. Kierownik Zakładu i Katedry: prof. dr hab. Jan Jeszka

Adres do korespondencji: Małgorzata Mizgier, Zakład Dietetyki, Katedra Higieny Żywności Człowieka, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 31, 60-624 Poznań

<sup>1</sup> Department of Maternal and Child Health, Poznan University of Medical Sciences, Poland. Head of the Department: Professor Krzysztof Szymanowski, MD, PhD

<sup>2</sup> President Stanislaw Wojciechowski Vocational State School in Kalisz, Poland

<sup>3</sup> Unit of Developmental Age Gynecology and Sexology, Division of Gynecology, Department of Perinatology and Gynecology, Poznan University of Medical Sciences, Poland.

Head of the Division: Professor Witold Kędzia, MD, PhD

<sup>4</sup> Division of Nutrition, Department of Hygiene and Human Nutrition, Poznan University of Life Science, Poland. Head of the Division and Department: Professor Jan Jeszka, MD, PhD

Correspondence: Małgorzata Mizgier, Division of Nutrition, Department of Hygiene and Human Nutrition, Poznan University of Life Science, Wojska Polskiego 31, 60-624 Poznań, Poland

### Streszczenie

Mimo dynamicznego postępu medycyny nowotwory jajnika pozostają poważnym problemem diagnostycznym i terapeutycznym. Trwają poszukiwania idealnej metody wczesnego rozpoznawania zmian złośliwych jajnika. Zmiany te, choć najczęściej występują u dojrzałych kobiet, dotyczyć mogą także dziewcząt (np. nowotwory germinalne). Szacuje się, że guzy gonadalne stanowią około 7% nowotworów złośliwych jajnika, są zatem rzadkie. Zmiany należące do tej specyficznej grupy rozwijają się zarówno z elementów gonady żeńskiej, jak i z elementów gonady męskiej oraz z komórek podścieliska i fibroblastów. Aż 70% złośliwych guzów gonadalnych to ziarniszczyki: 95% w postaci dojrzałej, 5% – w postaci młodzieńczej. Do guzów gonadalnych zalicza się ponadto guzy z grupy otoczkowiaków i włókniaków, guzy z komórek Leydiga i Sertolego, a także zmiany niezwykle rzadkie, takie jak *gynandroblastoma*, guzy sznurów płciowych i zrębu z obrączkowatymi cewkami oraz guzy szkliwiejące. Budowę histologiczną guzów szkliwiejących cechuje utkanie komórkowe układu dokrewnego gonady żeńskiej i męskiej. Z tego powodu są one często nowotworami hormonalnie czynnymi, co znajduje odzwierciedlenie w przebiegu klinicznym choroby. Guz szkliwiejący podścieliska jajnika jest niezwykle rzadkim nowotworem z grupy otoczkowo-włóknistej. W pracy przedstawiono jego cechy makro- i mikroskopowe, diagnostykę, symptomatologię i metody leczenia. Podkreślono wagę wczesnego wykrywania zmian nowotworowych jajnika.

**Słowa kluczowe:** jajnik, nowotwór, guz szkliwiejący

### Abstract

Despite the dynamic advances in medicine, ovarian tumors still remain a serious diagnostic and therapeutic issue. There is an ongoing search for an ideal method of early detection of ovarian malignancy. Although malignant lesions are most common in adult women, they may also occur in teenage girls (e.g. germ cell tumors). It is estimated that gonadal tumors account for about 7% of ovarian malignancies, therefore they are considered rare. Tumors belonging to this specific group develop both from female and male gonad components as well as from stromal cells and fibroblasts. Granulosa cell tumors account for as much as 70% of malignant gonadal tumors: 95% in the mature form and 5% in the juvenile form. Gonadal tumors further include thecomas and fibromas, Sertoli–Leydig cell tumors as well as very rare tumors, such as gynandroblastoma, sex cord



tumors with annular tubules and sclerosing stromal tumors. The histological structure of sclerosing stromal tumors shows male and female gonadal endocrine cells. For this reason, these tumors often show hormonal activity, as reflected in the clinical course of the disease. Sclerosing stromal tumor of the ovary is an extremely rare cancer belonging to the theca cell-fibrous group. The paper presents macro- and microscopic characteristics, diagnostics, symptomatology and therapeutic methods in sclerosing stromal tumor patients. The importance of early ovarian malignancy detection was emphasized.

**Key words:** ovary, cancer, sclerosing stromal tumor

## Содержание

Несмотря на динамические достижения в медицине опухоли яичника остаются серьезной диагностической и терапевтической проблемой. Продолжается поиск идеального метода обнаружения злокачественных новообразований яичников на ранней стадии. Эти изменения, хотя чаще всего выступают у взрослых женщин, могут также встречаться у девочек (напр. герминогенные опухоли). Считается, что опухоли половых желез составляют примерно 7% злокачественных опухолей яичников, следовательно являются редкими. Изменения, относящиеся к этой специфической группе, развиваются как из элементов женских гонад, так и с элементов мужской гонады и стромальных клеток и фибробластов. 70% злокачественных гонадных опухолей гранулезоклеточные: 95% в зрелой форме, 5% – в начальной. К гонадным опухолям принадлежат также опухоли из теком и фибром, опухоли из клеток Сертоли–Лейдига, а также крайне редкие изменения, такие как гинандробластома, опухоли половых шнуров и кольцеобразных каналов, а также опухоли из клеток хилуса. Гистологическое строение опухолей из клеток хилуса характеризуется клеточным плетением эндокринной системы женской и мужской гонад. Поэтому они часто являются гормонально активными опухолями, что отражается в клиническом течении заболевания. Опухоль из клеток хилуса стромы яичника является чрезвычайно редким новообразованием оболочко-волокнистой группы. В статье представлены макроскопические и микроскопические черты, диагностика, симптоматика и методы лечения. Подчеркивается важность ранней диагностики раковых поражений яичников.

**Ключевые слова:** яичник, рак, опухоль из клеток хилуса

## WSTĘP

**S**zacuje się, że guzy gonadalne stanowią około 7% nowotworów złośliwych jajnika, są to zatem rzadko występujące nowotwory. Tworzą one bardzo specyficzną grupę; rozwijają się zarówno z elementów gonady żeńskiej, jak i z elementów gonady męskiej oraz z komórek podścieliska i fibroblastów. Aż 70% złośliwych guzów gonadalnych to ziarniszczaki: 95% w postaci dojrzałej, 5% – w postaci młodzieńczej.

Do guzów gonadalnych zalicza się również guzy z grupy otoczkowiaków i włókniaków, guzy z komórek Leydiga i Sertolego, a także zmiany niezwykle rzadkie, takie jak *gynandroblastoma*, guzy sznurów płciowych i zrębu z obrączkowatymi cewkami oraz guzy szkliwiejące (*sclerosing stromal tumor*, SST). Budowę histologiczną SST cechuje utkanie komórkowe układu dokrewnego gonady żeńskiej i męskiej. Z tego powodu guzy szkliwiejące są często nowotworami hormonalnie czynnymi, co znajduje odzwierciedlenie w przebiegu klinicznym choroby<sup>(1-3)</sup>.

### CECHY MAKRO- I MIKROSKOPOWE GUZA SZKLIWIEJĄCEGO JAJNIKA

Makroskopowo jest to guz torbielowaty, torbielowato-lity. Część lita stanowi zwykle biała lub jasnożółta masa, poprzedzielana ogniskami rozdzęcia (przypominającymi torbiele). Rzadko obserwuje się ogniska martwicy czy miejsca

## INTRODUCTION

**I**t is estimated that gonadal tumors account for about 7% of ovarian malignancies, therefore they are considered rare. They represent a specific group and develop both from female and male gonad components as well as from stromal cells and fibroblasts. Granulosa cell tumors account for as much as 70% of malignant gonadal tumors: 95% in the mature form and 5% in the juvenile form.

Gonadal tumors further include tumors belonging to the group of thecomas and fibromas, Sertoli–Leydig cell tumors as well as very rare tumors, such as gynandroblastoma, sex cord tumors with annular tubules and sclerosing stromal tumors (SST). The histological structure of SSTs shows male and female gonadal endocrine cells. For this reason, these tumors often show hormonal activity, as reflected in the clinical course of the disease<sup>(1-3)</sup>.

### MACRO- AND MICROSCOPIC CHARACTERISTICS OF THE OVARIAN SCLEROSING STROMAL TUMORS

Macroscopically, they are usually observed as cystic, cystic-solid tumors. The solid portion is usually comprised of white or pale-yellow mass divided by cyst-like emphysemas. Necrosis or bleeding are rarely observed. The tumor is bordered by a tight grayish capsule, separating it

krwawienia. Guz otacza szczelna szarawa torebka, dobrze oddzielająca go od tkanki jajnika. W obrazie mikroskopowym zwracają uwagę struktury pseudozrazikowe, powstałe wskutek obrzęku podścieliska. W tych miejscach pod dużym powiększeniem ujawnia się bogata sieć naczyń włosowatych z naczyniami pączkującymi i sinusoidalnymi. W łożu włóknisto-szklwiejącym widoczne są grupy komórek wrzecionowatych, a pomiędzy nimi – skupiska jasnych owalnych komórek z kropelkami lipidów<sup>(3-7)</sup>.

Do badań niezbędnych w diagnostyce tego guza należy zaliczyć (oprócz wywiadu, badania hormonalnego i oznaczenia markerów nowotworowych) badania obrazowe. Najbardziej podstawowe jest badanie ultrasonograficzne (USG). Według danych z piśmiennictwa zaleca się też ocenę przepływu w naczyniach guza (wskaźnik pulsacji – *pulsatility index*, PI; wskaźnik oporu, *resistance index* – RI; maksymalna prędkość skurczowa – *peak systolic velocity*, PSV) za pomocą techniki dopplerowskiej. Coraz większą rolę w rozpoznawaniu SST przypisuje się tomografii komputerowej – CT i rezonansowi magnetycznemu – MRI (ze środkiem cieniującym lub bez niego). Technika dynamicznego CT i MRI (metoda szybkiej sekwencji zdjęć po dożylnym podaniu środka kontrastowego) ukazuje charakterystyczne cechy opisywanego guza, odróżniające go od pozostałych guzów jajnika. Ta metoda wydaje się bardzo obiecująca w diagnostyce przedoperacyjnej, pozwala bowiem na wstępne ustalenie rozpoznania i zaplanowanie zakresu operacji.

Jeśli chodzi o ocenę makroskopową, należy dodać, że guz szklwiejący jajnika jest dobrze ograniczonym nowotworem o średnicy około 8 cm<sup>(8,9)</sup>. Nierzadko osiąga duże rozmiary, jak u pacjentki opisanej przez Changa i wsp. – 17 × 12 × 8 cm<sup>(8-10)</sup>. Guz, w obrazie makroskopowym zwykle kilkupłatowy, ma strukturę litą (część) lub torbielowo-litą. Otacza go jasnoczerwona połyskująca torebka, na której widać niewielką ilość skrzepniętej krwi<sup>(11-14)</sup>. Torebka po przecięciu odkrywa masę zawierającą zróżnicowane tkanki z licznymi ogniskami krwotocznymi i żółtawymi, podzielonymi cystycznymi tworami przypominającymi zmiany degeneracyjne. Lita część guza ma barwę białą lub jasnożółtą – występuje w drobnych skupiskach<sup>(9,15-19)</sup>. W obrębie masy guza mogą być też widoczne zwapnienia<sup>(5,8,15,18)</sup>.

Mikroskopowo guz różni się od innych nowotworów jajnika układem pseudozrazikowym: obszary bogatokomórkowe poprzedzielane są skupiskami torbielek, pasmami kolagenu, obfitym unaczynieniem oraz różnorodnymi komórkami z wyraźną wakuolizacją cytoplazmy. Wyróżniono dwa typy komórek wchodzących w skład SST: komórki wrzecionowate (przypominające fibroblast) i komórki owalne z eozynochłonną cytoplazmą. Mają one pojedyncze jądro – owalne bądź okrągłe<sup>(5,7,9,17)</sup>. Charakterystyczną cechą guza jest obecność cienkościennych naczyń różnego kalibru, które często penetrują między pseudozraziki i występują na peryferiach tkanki guza<sup>(9,17-19)</sup>. Pseudozrazikowość i obfite unaczynienie to cechy niezmiernie rzadko spotykane w otoczkowiakach, włókniakach czy

from the ovarian tissue. Pseudolobular structures, which develop as a result of stromal edema, are noticeable in the microscopic picture. High magnification of these sites reveals abundant capillary network with budding and sinusoidal capillaries. Groups of spindle-shaped cells separated by the clusters of bright, oval-shaped cells with lipid droplets are present in the fibrous-sclerosing mass<sup>(3-7)</sup>.

Imaging techniques are one of the necessary tools for tumor diagnostics (in addition to medical history, hormonal and tumor marker assessment), with ultrasound (US) being the main imaging test. It is also recommended in the literature that tumor blood flow assessment using Doppler technique (pulsatility index, PI; resistance index, RI; peak systolic velocity, PSV) should be performed. Computed tomography (CT) and magnetic resonance imaging (MRI) (with or without contrast agent) seem to play an increasing role in SST diagnostics. The dynamic CT and MRI (a method using a rapid sequence of images following contrast agent administration) reveals the characteristic features of the tumor, distinguishing it from other ovarian tumors. This method seems very promising for the preoperative diagnostics as it allows for a preliminary diagnosis as well as to plan the scope of a surgery.

Regarding the macroscopic assessment, it should be added that the sclerosing stromal tumor of the ovary is a well-delimited tumor with a diameter of about 8 cm<sup>(8,9)</sup>. It often reaches large size, e.g. 17 × 12 × 8 cm, as reported by Chang *et al.*<sup>(8-10)</sup> Macroscopically, the tumor usually consists of several lobes, and has a solid (more commonly) or cystic-solid structure. It is closed in a bright red, glistening capsule with small amount of clotted blood<sup>(11-14)</sup>. The incision of the tumor capsule reveals mass containing differentiated tissues with multiple sites of bleeding and yellowish, divided cyst-like formations resembling degenerative lesions. The solid portion of the tumor is white or pale-yellow in color and occurs in the form of fine clusters<sup>(9,15-19)</sup>. Calcifications may also be seen in the tumor mass<sup>(5,8,15,18)</sup>.

The tumor differs microscopically from other ovarian tumors in terms of its pseudolobular system: the hypercellular areas are divided by cystic clusters, bands of collagen, abundant vascularization and various cells with distinct cytoplasmic vacuolization. Two types of cells present in SSTs may be distinguished: spindle-shaped cells (similar to fibroblasts) and oval cells with eosinophilic cytoplasm. These often contain a single, oval or round nucleus<sup>(5,7,9,17)</sup>. The presence of thin-walled vessels of different caliber, which often penetrate between the pseudolobules and are found in cancer peripheral tissue, is a characteristic feature of this tumor<sup>(9,17-19)</sup>. The pseudolobular form and abundant vascularization are extremely rare features in theca cell tumors, fibromas or Krukenberg tumors. Therefore, it is considered that the above mentioned features distinguish the discussed tumor from other ovarian tumors<sup>(8)</sup>.

guzach Krukenberga. Dlatego też wymienione cechy uznaje się za odróżniające omawiany nowotwór od pozostałych guzów jajnika<sup>(8)</sup>.

## DIAGNOSTYKA

Do badań przedoperacyjnych należy zaliczyć diagnostykę hormonalną (uznawaną za mniej znaczącą), oznaczenie markera CA-125 i diagnostykę obrazową (USG, CT, MRI). Ultrasonografia jest badaniem podstawowym i najłatwiej dostępnym<sup>(18-21)</sup>.

U większości chorych z guzem szkliwiejącym jajnika nie wykazuje się aktywności hormonalnej guza, chociaż część autorów opisuje dolegliwości będące następstwem wydzielania przez niego estrogenów, progesteronu czy testosteronu. U dziewcząt może to wywołać przedwczesne dojrzewanie<sup>(14)</sup>. Marelli powołuje się na pracę Damjanowa z 1975 roku, w której opisany guz wykazywał aktywność hormonalną<sup>(9,17-21)</sup>. Inni badacze w nielicznych pracach również odnotowali obecność zaburzeń wynikających z tej aktywności<sup>(6,7,14,20,21)</sup>. Chalvardjian i Scully, którzy opisywali pierwsze 10 przypadków SST, nie stwierdzili aktywności hormonalnej tych guzów<sup>(10)</sup>.

Przedoperacyjnie oprócz CA-125 często oznaczane są inne markery typowe dla chorób nowotworowych: CA-19-9, CEA, AFP czy podjednostka beta gonadotropiny kosmówkowej<sup>(18-21)</sup>.

Podwyższony poziom CA-125 może występować u kobiet cierpiących na zespół Meigsa wywołany przez guz szkliwiejący jajnika, ale i wtedy, gdy jedną ze składowych zespołu jest jeden z następujących guzów: *thecoma*, *fibroma*, *cellular fibroma*, *leiomyoma*, *Brenner tumor*, *granulosa cell tumor*. Zauważono, że u pacjentek z rozpoznaniem zespołem Meigsa poziom markera normalizuje się w bardzo wczesnym okresie pooperacyjnym. Dotychczas opisano 23 przypadki zespołu Meigsa z podwyższonym poziomem tego markera<sup>(5)</sup>. U chorych z SST poziom CA-125 zwykle nie przekracza granic normy. Lee i wsp. obserwowali pięć kobiet z tym guzem i tylko jedna z nich miała podwyższony poziom CA-125<sup>(16)</sup>.

Część autorów, chcąc znaleźć więcej cech charakterystycznych dla SST, wykonywała rozmaite barwienia immunohistochemiczne. Kim i wsp. wybarwiali marker CD31 śródbłonna naczyń guza i w ten sposób ujawnili jego bogate unaczynienie. Wybarwienie aktywności mięśni gładkich ukazuje pozytywną reakcję cytoplazmatyczną i wspiera proces diagnostyczny<sup>(17)</sup>. Nie jest to badanie wykonywane standardowo. W kilku pracach immunohistochemiczne barwienie dla wimentyny i receptorów progesteronowych dało wynik pozytywny<sup>(15,20)</sup>. Są też autorzy, którzy podjęli się oznaczenia przeciwciał przeciw cytokeratynom czy wybarwienia komórek nowotworu na obecność inhibiny alfa<sup>(15)</sup>.

Według danych z piśmiennictwa guz szkliwiejący jajnika bezwzględnie wymaga diagnostyki radiologicznej, która ułatwia podjęcie decyzji co do zakresu operacji – decyzji bardzo ważnej, ponieważ pacjentkami bywają bardzo

## DIAGNOSTICS

The preoperative diagnostic tests include hormonal diagnostics (considered to be less significant), CA-125 assessment and diagnostic imaging (US, CT, MRI). Ultrasonography is the primary and the most available diagnostic tool<sup>(18-21)</sup>. The majority of patients with an ovarian sclerosing stromal tumor do not show the hormonal activity of the tumor, although some authors report the occurrence of symptoms secondary to estrogen, progesterone or testosterone secreted by the tumor. This activity may result in precocious puberty in girls<sup>(14)</sup>. Marelli cites a study by Damjanow (1975), who described a tumor showing hormonal activity<sup>(9,17-21)</sup>. Few studies by other researchers also report disorders due to hormonal activity<sup>(6,7,14,20,21)</sup>. Chalvardjian and Scully, who described the first 10 SST cases, did not observe any hormonal activity of these tumors<sup>(10)</sup>.

Apart from the CA-125 assay, other preoperative diagnostic tests include the assessment of other common tumor markers, such as CA-19-9, CEA, AFP or chorionic gonadotropin beta subunit<sup>(18-21)</sup>.

Increased CA-125 levels may be detected in women with Meigs' syndrome caused by the ovarian sclerosing stromal tumor, but also if one of the syndrome components is represented by one of the following: thecoma, fibroma, cellular fibroma, leiomyoma, Brenner tumor or granulosa cell tumor. It was noted in patients diagnosed with Meigs' syndrome that the levels of this biomarker normalize rapidly in the very early postoperative period. So far, 23 cases of Meigs' syndrome with elevated CA-125 levels have been described<sup>(5)</sup>. SST patients show CA-125 levels within the normal range. Lee *et al.* monitored five patients with this tumor and only one of them showed elevated CA-125 levels<sup>(16)</sup>.

In order to identify more SST characteristics, some authors performed a variety of immunohistochemical staining. Kim *et al.* stained CD31 on vascular endothelium of the tumor and revealed it rich vascularization. The staining of smooth muscle actin revealed positive cytoplasmic reaction and supported the diagnostic process<sup>(17)</sup>. However, this is not a routine diagnostic test. In several studies, immunohistochemical staining for vimentin and progesterone receptors was positive<sup>(15,20)</sup>. There are also authors who performed an assay of anti-cytokeratin antibodies or stained tumor cells for alpha-inhibin<sup>(15)</sup>.

According to literature data, diagnostic radiology is absolutely necessary in ovarian sclerosing stromal tumors to aid the process of decision-making regarding the scope of procedure, which is of high importance due to the young age of some of the patients. As already mentioned, Doppler ultrasound is the basic diagnostic test. CT and MRI assessments have been regarded as methods equal to ultrasound evaluation for some time now. The transvaginal ultrasound reveals ovarian sclerosing stromal tumors as well-delimited lesions with inhomogenous echogenicity, and closed in a capsule<sup>(2)</sup>. Foci of calcifications may

młode kobiety. Podstawowym badaniem jest, jak już wspomniano, USG z użyciem techniki dopplerowskiej. Od pewnego czasu na równi z oceną ultrasonograficzną traktuje się ocenę opisywanego guza za pomocą CT i MRI. W obrazie ultrasonografii przezpochwowej guzy szklawiejące jajnika są widoczne jako zmiany o niejednorodnej echogenności, dobrze ograniczone, otoczone torebką<sup>(2)</sup>. W obrębie masy guza widać ogniska zwapnień<sup>(8)</sup>. Cystyczny obraz guza z nieregularnymi przegrodami, które od strony cysty mają czasami wyrosłe brodawkowate razem z litymi ogniskami, może błędnie sugerować złośliwość nowotworu<sup>(17,19)</sup>. Wykonanie przepływów dopplerowskich pozwala ujawnić obecność unaczynienia przypominającego koło ze szprychami, typowego dla tego guza<sup>(2,20)</sup>. Naczynia występują bardzo licznie, umiejscawiają się obwodowo i wnikają między pseudozraziki. Dodatkowo charakteryzują się niską opornością bez cech przecieków tętniczo-żylnych. Wielu autorów porównuje obraz unaczynienia SST do tego obserwowanego w naczyniakach – obraz „hemangiopericytomopodobny”<sup>(2,5,8,15,17,18,20)</sup>.

Lee i wsp. pokusili się w swojej pracy o bardziej szczegółową ocenę unaczynienia guza. Nie tylko dokonali oceny ilościowej, lecz także oszacowali PI, RI i PSV. Trzy z siedmiu zaprezentowanych przypadków wykazały niskooprowne przepływy z obniżoną wartością PI i RI oraz zmiennymi wartościami PSV<sup>(16)</sup>. Według autorów przyczyną powstawania bogatego unaczynienia guza jest – stale wydzielany przez luteinizowane otoczkowopodobne komórki – naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu VEGF (*vascular endothelial growth factor*), nazywany również czynnikiem przepuszczalności naczyń (*vascular permeability factor*, VPF) lub waskulotropiną. Ta obserwacja wyjaśnia jednocześnie, skąd biorą się rozdęcia otaczające obszary ubogokomórkowe. Lee twierdzi też, że VPF powoduje zwiększoną przepuszczalność ścian naczyniowych<sup>(16)</sup>. VEGF jest obecnie uznawany za kluczowy czynnik regulujący fizjologiczną i patologiczną angiogenezę. Jego wzmożoną ekspresję zauważono w tkance różnych nowotworów i w surowicy osób chorych. Przykładami mogą tu być nowotwory piersi, prostaty, nerki, płuc i jelita grubego.

W obrazie CT guz szklawiejący podścieliska prezentuje się jako wielozrazikowa, niejednorodnie wysycana, lita masa. Część autorów obserwowała liczne zwapnienia, w innych pracach w ogóle nie uwidoczniono takich obszarów<sup>(6,15)</sup>. W badaniu pozbawionym kontrastu odnotowuje się przestrzenie płynowe<sup>(15)</sup>. Dynamiczna tomografia, polegająca na szybkiej sekwencji zdjęć po podaniu środka kontrastującego, ukazuje znaczne wysycenie obszaru obwodowego masy guza we wczesnej fazie (początkowe zdjęcia) i dośrodkową progresję wysycenia (zdjęcia późniejsze)<sup>(6,8,15,20)</sup>. Nie występuje powiększenie węzłów chłonnych miednicy mniejszej ani węzłów okolicy przyaortalnej w odcinku lędźwiowym<sup>(6,18,20)</sup>.

W badaniu MRI zmiana przyjmuje układ strefowy. Widoczna jest słabo wysycana cienkościenna otoczka w czasach T1- i T2-zależnych, prawdopodobnie odpowiadająca

be seen in the tumor mass<sup>(8)</sup>. The cystic image of the tumor with irregular dividing walls, which may occasionally have a verrucous excrescence with solid foci on the cystic side of the tumor, may incorrectly suggest malignancy<sup>(17,19)</sup>. Doppler flow allows to reveal spoke-wheel-like vasculature, which is typical of this tumor<sup>(2,20)</sup>. The vessels are very numerous, located peripherally and penetrating between the pseudobulbes. They are additionally characterized by low resistance without the signs of arteriovenous leaks. Many authors compare the image of SST vascularization with the one observed in hemangiomas, i.e. ‘hemangiopericytoma-like’<sup>(2,5,8,15,17,18,20)</sup>.

Lee *et al.* attempted to perform a more detailed assessment of tumor vascularization in their study. They performed a quantitative assessment and also calculated the PI, RI and PSV. Three of the seven presented cases showed low-resistance flow with reduced PI and RI as well as variable PSV<sup>(16)</sup>. According to the authors, the abundant vascularization of the tumor is caused by the vascular endothelial growth factor (VEGF), also known as vascular permeability factor (VPF) or vasculotropin, which is continuously secreted by the luteinized theca-like cells. This finding also explains the occurrence of emphysemas around the hypocellular areas. Lee further claims that the VPF causes increased vascular wall permeability<sup>(16)</sup>. The VEGF is currently considered a key factor regulating both physiological and pathological angiogenesis. Its increased expression was observed in the tissue of various tumors as well as in the serum of patients. Breast, prostate, kidney, lung and colon cancers may serve as examples.

CT shows sclerosing stromal tumors as multilobular, heterogeneously enhancing, solid mass. Some of the authors observed multiple calcifications, while other studies did not report the presence of such areas<sup>(6,15)</sup>. Non-contrast scans reveal fluid-filled spaces<sup>(15)</sup>. Dynamic tomography, which uses a rapid sequence of images following contrast agent administration, reveals significant enhancement in the peripheral area of the mass of the early-stage tumor (initial images) and centripetal progression of enhancement (further images)<sup>(6,8,15,20)</sup>. There was no lymphadenopathy in the pelvis minor or in the lumbar periaortic area<sup>(6,18,20)</sup>.

The MRI shows a zonular system of the lesion. Poorly enhancing, thin-walled capsule in T1- and T2-weighted images, probably corresponding to the capsule of the tumor may be seen. Another peripheral zone has low signal intensity on T1-weighted images and very high signal intensity on T2-weighted images, especially within the walls that divide the tumor mass into lobules. The intermediate zone of the tumor has low signal intensity on T1-weighted images and medium signal intensity on T2-weighted images in the tumor lobes. The central part of the tumor mass has low signal intensity on T1-weighted images and very high signal intensity on T2-weighted images. Empty vascular channels may be seen in the vicinity of the lesion<sup>(6,8,15,17,20)</sup>. It was concluded that sclerosing stromal tumor has a characteristic CT and MRI image that could serve as a basis for the



torebce guza. Kolejna strefa obwodowa ma niski sygnał w czasie T1-zależnym i bardzo wysoki sygnał w T2-zależnym, szczególnie w obrębie przegród dzielących masę guza na płaty. Strefa pośrednia ma niski sygnał w czasie T1-zależnym i sygnał pośredni w czasie T2-zależnym w obszarze płatów guza. Centralna część masy ma niski sygnał w czasie T1-zależnym i bardzo wysoki w T2-zależnym. W sąsiedztwie zmiany widoczne są puste przepływy naczyniowe<sup>(6,8,15,17,20)</sup>. Uznano, że szkliwiejący guz podścieliska jajnika daje w badaniach CT i MRI charakterystyczny obraz, który mógłby być podstawą ostatecznej diagnozy przedoperacyjnej, ponieważ ściśle odpowiada późniejszej ocenie mikroskopowej<sup>(6,18)</sup>.

Guzy z grupy guzów podścieliska, takie jak *thecoma* czy *fibroma* – w przeciwieństwie do guza szkliwiejącego – mają nieznaczne wysycenie (niski sygnał w czasie T2-zależnym) w obrazie CT i MRI z kontrastem oraz późne i słabe wysycenie w technice dynamicznej CT i MRI. Natomiast guzy nabłonkowe jajnika wcześniej i szybko wysycają się kontrastem, ale też szybko się go pozbywają<sup>(6,15,16,20)</sup>. Kawamura i wsp. opisali przypadek SST, którego obraz tomograficzny był nie do odróżnienia od cystycznych guzów nabłonkowych. Przypadek ten nie został jednak dostatecznie oceniony, gdyż nie wykonano dynamicznego badania CT z oceną wczesnego i późnego wysycenia kontrastem<sup>(15)</sup>.

Pomimo znacznego rozwoju diagnostyki obrazowej do ustalenia ostatecznej diagnozy zawsze wymagane jest badanie histopatologiczne materiału pobranego podczas operacji.

Guzy szkliwiejące podścieliska jajnika to niezwykle rzadkie nowotwory z grupy otoczkowo-włóknistej, stanowiące – jak podają Matsubayashi i wsp. – 6% guzów pochodzenia gonadalnego<sup>(6)</sup>. Po raz pierwszy guz tego typu opisali w 1973 roku Chalvardjian i Scully<sup>(10)</sup>. Do dziś zaprezentowano około 100 przypadków zachorowania na ten nowotwór na świecie. Aż 80% pacjentek z SST nie ukończyło 30. roku życia<sup>(11-13)</sup>. Inne zmiany pochodzenia gonadalnego, przykładowo *fibroma* i *thecoma*, są natomiast częściej spotykane u kobiet starszych (50–60 lat). Co charakterystyczne, występująca u pacjentek atroficzna tkanka jajnika lokalizuje się na peryferiach guza. SST sporadycznie występuje u ciężarnych<sup>(14-18,20)</sup>. W tej grupie częściej obserwuje się torbiele ciała żółtego (we wczesnej ciąży), łagodne potworki, gruczolaki torbielowate.

Szkliwiejący guz jajnika występuje zwykle jednostronnie, przeważnie (71%) po stronie prawej<sup>(9)</sup>. Uznano to za cechę charakterystyczną tego nowotworu<sup>(5,9)</sup>. Istnieje znikoma liczba doniesień na temat jego obustronnego występowania. Należy do nich praca Changa i wsp. opisująca 11-letnią dziewczynkę, u której przypadkowo wykryto obustronny guz szkliwiejący jajnika<sup>(8)</sup>. Jest to zarazem jedna z dwóch prac dotyczących dziewczynek z SST przed pierwszą miesiączką<sup>(8,11,12)</sup>. Inny ciekawy przypadek – 29-letniej kobiety z zespołem Gorlina leczonej klomifenem z powodu niepłodności – przedstawili Ismail i Walker. U pacjentki po zajściu w ciążę ujawniły się obustronne guzy SST<sup>(7,8,13)</sup>.

final preoperative diagnosis since it closely correlates with the subsequent microscopic evaluation<sup>(6,18)</sup>.

Tumors belonging to the group of stromal tumors, such as thecomas or fibromas, show poor CT and MRI contrast enhancement (low signal intensity on T2-weighted images) as well as late and poor dynamic CT and MRI enhancement. In contrast, epithelial ovarian tumors show early and rapid contrast enhancement, but also rapidly eliminate the contrast agent<sup>(6,15,16,20)</sup>. Kawamura *et al.* described a case of SST, whose CT image was indistinguishable from cystic epithelial tumors. However, the assessment of this case was insufficient as it lacked dynamic CT with the evaluation of early and late contrast enhancement<sup>(15)</sup>.

Despite significant advances in diagnostic imaging, histopathological examination of the material collected during a procedure is always required for the final diagnosis.

Ovarian sclerosing stromal tumors are represented by very uncommon tumors belonging to the group theca cell-fibrous tumors, which account for 6% of gonadal tumors according to Matsubayashi *et al.*<sup>(6)</sup> This type of tumor was first described in 1973 by Chalvardjian and Scully<sup>(10)</sup>. So far, 100 cases of this tumor were reported worldwide. As many as 80% of SST patients are below 30 years of age<sup>(11-13)</sup>. Other gonadal lesions, such as fibroma and thecoma, are more common in older women (50–60 years). The atrophic ovarian tissue is located on tumor periphery, which is a characteristic feature. SST sporadically occurs in pregnant women<sup>(14-18,20)</sup>. Cysts of the corpus luteum (in early pregnancy), benign teratomas and cystic adenomas are more common in this group.

Ovarian sclerosing stromal tumors are usually unilateral, most frequently (71%) situated on the right side<sup>(9)</sup>, which was considered a characteristic feature of this tumor<sup>(5,9)</sup>. Reports related to the bilateral occurrence of this tumor are sparse. One of these is a study by Chang *et al.* describing a case of accidental detection of a bilateral ovarian sclerosing stromal tumor in an 11-year-old girl<sup>(8)</sup>. This is one of the two studies related to girls with SST occurring prior to the first period<sup>(8,11,12)</sup>. Another interesting case related to a 29-year-old woman with Gorlin's syndrome, receiving clomifene therapy for infertility was presented by Ismail and Walker. The patient developed bilateral SSTs following conception<sup>(7,8,13)</sup>. The authors suspected that the tumors developed from the preexisting ovarian fibromas. Gorlin's syndrome (also known as Gorlin–Goltz syndrome) results from an autosomal, dominant genetic defect. The disease is characterized by multiple cutaneous basal-cell carcinomas, bifid ribs, skeletal abnormalities (especially in the splanchnocranium), the presence of odontogenic cysts, hyperandrogenism and calcifying ovarian fibromas<sup>(8,13)</sup>.

## TUMOR SYMPTOMATOLOGY

As indicated in the literature, the most common symptoms reported by SST patients are menstrual disorders (metrorrhagia and polymenorrhea), including postmenopausal

Autorzy podejrzewali, że powstały one na bazie wcześniej istniejących włókniaków jajnika. Zespół Gorlina (inaczej: zespół Gorlina–Goltza) to defekt genetyczny dziedziczony w sposób autosomalny dominujący. Schorzenie charakteryzuje się licznymi złośliwymi nowotworami podstawnokomórkowymi skóry, rozszczepem żeber, nieprawidłowościami szkieletu (szczególnie twarzoczaszki), obecnością torbieli zębopochodnych, hiperandrogenizmu i wapniejących włókniaków jajnika<sup>(8,13)</sup>.

## SYMPTOMATOLOGIA GUZA

Jak wskazują dane z piśmiennictwa, najczęstszymi objawami, na które skarżą się chore z SST, są: zaburzenia miesiączkowania o charakterze *metrorrhagia* i *polymenorrhoea*, w tym krwawienie u kobiet po menopauzie, bóle w podbrzuszu<sup>(6,8,9,20)</sup>. Inne symptomy to niepłodność i (rzadko) wolny płyn w jamie brzusznej<sup>(2,9,10,15,17,20)</sup>.

Krwawienia pomenopauzalne i rozrost endometrium zaobserwowali u swoich pacjentek Min-yi i Gee – do ich prac odwołał się Marelli i wsp.<sup>(9)</sup> Wiryliczacja będąca skutkiem opisywanego guza jest bardzo rzadka; najczęściej stanowi odrębny, niezależny problem. Dość nietypowy, jeśli chodzi o symptomy, był wspomniany przypadek 11-letniej dziewczynki skierowanej do leczenia operacyjnego przez lekarza rodzinnego, który palpacyjnie wyczuł przez powłoki brzuszne duży, twardy, nieruchomy, niebolesny guz w okolicy nadłonowej, sięgający aż do wysokości pępka. Dziewczynka nie zgłaszała żadnych dolegliwości<sup>(8)</sup>. Nie zaobserwowano u niej cech wiryliczacji<sup>(8,18,20)</sup>. Nie miała obciążonego wywiadu rodzinnego. Poziom hormonów płciowych i markerów nowotworowych utrzymywał się w granicach normy<sup>(8)</sup>.

Skrajnie rzadkim przypadkiem jest zespół Meigsa wywołany przez szkliewięjącego guza podścieliska. Jak dotąd udokumentowano trzy przypadki, m.in. ten opisany poniżej, pochodzący z Korei. Praca Junga i wsp. z 2006 roku dotyczy 50-letniej wieloródki, która zgłosiła się do lekarza z powodu trudności w oddychaniu i powiększenia obwodu brzucha. W badaniu brzucha stwierdzono głuchy odgłos opukowy, płyn oraz twardy guz sięgający 5 cm poniżej pępka, nieznacznie tkliwy, położony typowo – po stronie prawej. Duszność zgłaszana przez pacjentkę wynikała z obecności wysięku w opłucnej, widocznego po stronie prawej na zdjęciu rentgenowskim klatki piersiowej<sup>(5)</sup>. To jeden z kilku charakterystycznych objawów zespołu Meigsa, zanikający już w czwartym dniu po operacyjnym usunięciu zmiany. Tylko ten jeden przypadek spośród trzech wspomnianych dotyczy kobiety w wieku pomenopauzalnym.

Zaledwie kilka prac omawia występowanie szkliewięjącego guza jajnika u ciężarnych<sup>(7,14,20)</sup>. Przypadek 30-letniej pacjentki w 13. tygodniu ciąży opublikowali Calabrese i wsp. Kobieta zgłosiła się do lekarza prowadzącego z objawami bólu w miednicy mniejszej i dysurii. Nie wykazywała cech wiryliczacji. W badaniu palpacyjnym brzucha stwierdzono duży, ruchomy, tkliwy guz, który następnie oceniono w badaniu MRI (15 × 14 × 14 cm)<sup>(20)</sup>.

bleeding and lower abdominal pain<sup>(6,8,9,20)</sup>. Other symptoms include infertility and (rarely) free fluid in the abdomen<sup>(2,9,10,15,17,20)</sup>.

Postmenopausal bleeding and endometrial hyperplasia were observed by Min-yi and Gee, whose studies were cited by Marelli *et al.*<sup>(9)</sup> Virilization caused by the described tumor is highly uncommon; it usually represents a separate and independent issue. Quite unusual symptoms were observed in the above mentioned case of the 11-year-old girl referred for surgical treatment by her general practitioner, who palpated through the abdominal integuments a large, hard, immobile, painless tumor in the suprapubic region, reaching up to the navel<sup>(8)</sup>. The child reported no complaints<sup>(8)</sup>. No signs of virilization were observed<sup>(8,18,20)</sup>. No relevant medical history was reported. The levels of sex hormones and cancer markers remained within the normal range<sup>(8)</sup>.

Meigs' syndrome caused by sclerosing stromal tumor is extremely rare and only three cases have been reported to date, e.g. the below case from Korea. Jung *et al.* (2006) described a case of a 50-year-old multiparous female, who presented at a doctor due to difficulty breathing and an enlarged abdominal circumference. Abdominal examination revealed dull percussion sound, fluid and a hard tumor reaching 5 cm, which was situated below the navel, was slightly tender and typically located – on the right side of the abdomen. The dyspnea reported by the patient was caused by pleural effusion, which could be seen on the right side on the chest X-ray image<sup>(5)</sup>. This is one of the few characteristic symptoms of Meigs' syndrome, which subsides on the fourth day after tumor excision. Of the three mentioned cases, this is the only one concerning a postmenopausal woman.

Only few studies have been devoted to the occurrence of ovarian sclerosing stromal tumor in pregnancy<sup>(7,14,20)</sup>. Calabrese *et al.* described a case of a 30-year-old patient in the 13<sup>th</sup> week of pregnancy. The woman reported to her doctor with the symptoms of pelvic pain and dysuria. No symptoms of virilization were observed. Abdominal palpation revealed a large, mobile, tender tumor, which was subsequently evaluated using the MRI (15 × 14 × 14 cm)<sup>(20)</sup>.

## TREATMENT

SST treatment is mainly based on a surgical procedure involving tumor extirpation<sup>(8,9)</sup>. Such operative treatment is usually sufficient. Additionally, depending on the conditions and tumor size, removal of the affected ovary and/or the adjacent fallopian tube may be necessary.

The surgery is performed prior to pregnancy termination in most cases of pregnant patients with ovarian tumor. This is due to the fact that 2–5% of lesions are malignant, and the benign ones are usually large in size, which may cause problems during labor<sup>(18,19,21,22)</sup>. The 30-year-old pregnant patient with ovarian sclerosing stromal tumor, whose case was mentioned in the literature, also received

## LECZENIE

Leczenie SST opiera się głównie na działaniu chirurgicznym i polega na usunięciu guza przez wyluszczenie<sup>(8,9)</sup>. Jest to często wystarczające leczenie operacyjne. Dodatkowo – w zależności od warunków i wielkości nowotworu – może być konieczne usunięcie zmienionego przez guz jajnika lub/i jajowodu po danej stronie.

Kobiety ciężarne z rozpoznaniem guzem jajnika w większości przypadków są operowane przed ukończeniem ciąży. Wynika to z faktu, że 2–5% zmian ma charakter złośliwy, a te łagodne to często duże guzy, mogące stanowić przeszkodę podczas porodu<sup>(18,19,21,22)</sup>. U opisywanej w piśmiennictwie ciężarnej 30-latkę z guzem szkliwiejącym jajnika operację również wykonano przed rozwiązaniem – z uwagi na dużą objętość zmiany i nasilające się dolegliwości. Zabieg obejmował usunięcie prawego jajnika z jajowodem i całego, nieregularnego guza. U 16-letniej pacjentki Kima i wsp., mimo młodego wieku, także wykonano operację – lewostronną salpingo-ooforektomię i częściową resekcję sieci większej. Usunięto też znaczną ilość płynu z jamy brzusznej<sup>(17,18,20,21)</sup>. Z kolei 50-letnia wieloródka z zespołem Meigsa opisana przez Junga i wsp. została poddana całkowitej hysterektomii i obustronnej salpingo-ooforektomii wraz z usunięciem masy guza. Z jamy brzusznej ewakuowano dużą ilość płynu<sup>(5)</sup>. Na tak rozległy zakres operacji wpłynęły następujące czynniki: podwyższony poziom markera CA-125, wodobrzusze i wiek pacjentki<sup>(21,22)</sup>.

Efekty leczenia chirurgicznego zależą od zakresu operacji. Pacjentka Junga z zespołem Meigsa już czwartego dnia po zabiegu nie wykazywała cech wysięku opłucnowego na zdjęciu rentgenowskim, a marker CA-125 nie przekraczał normy<sup>(5)</sup>. Większość kobiet z omawianym nowotworem zaczyna regularnie miesiączkować w ciągu kilku miesięcy po zabiegu<sup>(6,19)</sup>. Jak piszą Marelli i wsp., u jednej z ich pacjentek czas ten wynosił 48 miesięcy, kolejną zaszła w ciążę po 3 miesiącach, a pięć pozostałych nie zgłaszała dolegliwości, które wcześniej stały się powodem konsultacji lekarskiej<sup>(9)</sup>. Inni autorzy odnotowali regularne cykle menstruacyjne po roku<sup>(15)</sup>. Nie obserwowano nawrotów miejscowych ani odległych po leczeniu guza SST<sup>(18,19,21,22)</sup>.

Należy podkreślić, że **nowotwór jajnika to poważny problem**, dlatego nie ustają poszukiwania idealnej metody wczesnego diagnozowania zmian złośliwych tego narządu.

## METODY DIAGNOZOWANIA ZMIAN ZŁOŚLIWYCH JAJNIKA

Podstawowym narzędziem w diagnostyce zmian jajnika jest niewątpliwie badanie ultrasonograficzne – właśnie na jego podstawie ocenia się, czy dana zmiana ma charakter złośliwy, czy łagodny, i planuje sposób dalszego postępowania. Wiele dodatkowych informacji wnoszą inne badania obrazowe, takie jak CT, MRI i pozytonowa tomografia emisyjna (PET); niestety pewnym ograniczeniem jest trudniejszy dostęp do tych badań. Dlatego też – obok wywiadu, badania

surgical treatment prior to pregnancy termination due to the large size of the lesion and the increasing severity of the symptoms. The surgery involved a resection of the right ovary, the Fallopian tube and the entire, irregular tumor. Surgical procedure, i.e. left-sided salpingo-oophorectomy and partial resection of the greater omentum, was also performed in the 16-year-old patient described by Kim *et al.* despite her young age. Significant amount of abdominal fluid was also removed<sup>(17,18,20,21)</sup>. A total hysterectomy with bilateral salpingo-oophorectomy and tumor removal was performed in the 50-year-old multiparous patient with Meigs' syndrome, as reported by Jung *et al.* Significant amount of abdominal fluid was evacuated<sup>(5)</sup>. Such a large extent of the surgery was determined by the following factors: increased CA-125 levels, ascites and the patients' age<sup>(21,22)</sup>. The effects of surgical treatment depend on the extent of the procedure. Jung's patient with Meigs' syndrome did not show any X-ray evidence of pleural effusion and had CA-125 levels within the normal range already on the fourth day after the surgery<sup>(5)</sup>. In most patients with sclerosing stromal tumor, regular menstruation begins within several months after the surgery<sup>(6,19)</sup>. As reported by Marelli *et al.* this duration was 48 months in one of their patients, whereas another patient became pregnant after 3 months, and five other patients did not report any of the complaints that previously led to medical consultation<sup>(9)</sup>. Other authors reported regular menstrual cycles after a year<sup>(15)</sup>. No local or delayed recurrence was reported following SST therapy<sup>(18,19,21,22)</sup>.

It should be emphasized that **the ovarian cancer is a serious problem**, therefore the search for an ideal method of early diagnostics of ovarian malignancies is still continued.

## DETECTION OF OVARIAN MALIGNANCY

Ultrasound is undoubtedly the primary tool for ovarian diagnostics; it serves as a basic assessment determining whether a given lesion is malignant or benign as well as is used for planning further patient management. Other imaging techniques, such as CT, MRI and positron emission tomography (PET) provide a substantial amount of additional data; unfortunately their availability is limited. Therefore, apart from medical history, physical examination and ultrasound, laboratory tests are an essential element of ovarian tumor diagnostics.

### Laboratory tests in ovarian tumor diagnostics

The group of **tumor markers** used in diagnostics is still growing, and many of these will be evaluated for clinical usefulness. The primary, routinely assayed tumor markers include **cancer antigen 125 (CA-125) levels**. It is a cell membrane glycoprotein, normally produced by the epithelial cells of the fetal body cavities, peritoneum, pleura, endometrium, Fallopian tubes and cervical mucosa.

fizykalnego i badania USG – niezbędnym ogniwem w łańcuchu diagnostycznym guzów jajnika są badania laboratoryjne.

### Badania laboratoryjne w diagnostyce guzów jajnika

Grupa wykorzystywanych **markerów nowotworowych** cały czas rośnie, a wiele z nich czeka w kolejce do badań naukowych nad przydatnością kliniczną. Do podstawowych, wręcz rutynowo oznaczanych markerów należy stężenie **antygeny nowotworowego CA-125**. Jest on glikoproteiną błon komórkowych, wytwarzaną w zdrowym organizmie przez komórki nabłonka jam ciała płodu, komórki nabłonka otrzewnej, opłucnej, endometrium, jajowodów, słuźówki szyjki macicy. Choć poziom CA-125 może być podwyższony z innych powodów, jego czułość w diagnostyce raka jajnika pozostaje bardzo wysoka. Marker ten oznacza się również w procesie monitorowania procesu leczniczego czy wykrywania wznowy raka<sup>(23-25)</sup>.

W celu podniesienia skuteczności szacowania ryzyka złośliwości wykrytej zmiany jajnika przy uwzględnieniu statusu hormonalnego kobiety opracowano **algorytm o nazwie ROMA** (Risk of Ovarian Malignancy Algorithm). W jego skład wchodzi: **CA-125** oraz **HE4** (*human epididymis protein 4*), czyli podfrakcja 4 ludzkiego białka z komórek nabłonkowych najądrza, którego stężenie we krwi rośnie w przypadku obecności nabłonkowego raka jajnika. Nowy marker HE4 stosuje się głównie w monitorowaniu leczenia i wykrywaniu wznowy raka<sup>(23-25)</sup>.

**Zastosowanie algorytmu ROMA podnosi czułość i swoistość kwalifikacji pacjentki do grupy wysokiego lub niskiego ryzyka złośliwości zmiany obecnej w jajniku – z ważnym rozróżnieniem kobiet przed menopauzą i tych po menopauzie.**

Kolejnym markerem wykorzystywanym m.in. w diagnostyce nowotworów jajnika jest **CA-19-9**. **Zwiększone stężenie tego markera obserwuje się także w nowotworach przewodu pokarmowego czy w zapaleniu trzustki.**

Do innych markerów, mniej specyficznych dla raka jajnika, należy **antygen rakowo-płodowy CEA** (*carcinoembryonic antigen*)<sup>(23-25)</sup>.

Trzeba mieć na uwadze, iż **markery nowotworowe – służące zarówno do diagnozowania, jak i oceny skuteczności leczenia poszczególnych zmian – są niezwykle zróżnicowane**. Wiąże się to bezpośrednio z wielką różnorodnością histologiczną nowotworów jajnika. Wobec mnogości nowotworów istnieje konieczność ciągłego doskonalenia metod diagnostycznych. W rozpoznawaniu i ocenie stanów nowotworowych stosuje się więc również takie markery, jak ludzka gonadotropina kosmówkowa (**beta-HCG**), alfa-fetoproteina (**AFP**), dehydrogenaza mleczanowa (**LDH**), **estradiol**, **testosteron**, **inhibina jajnikowa** i kilka innych<sup>(23-25)</sup>.

**Ocena poziomu poszczególnych markerów nowotworowych to bardzo ważny, ale nie jedyny element diagnostyczny u kobiet z rozpoznaniem albo podejrzanym nowotworem.**

Although the levels of CA-125 may be elevated for other reasons, the sensitivity of this marker in ovarian tumor diagnostics is very high. CA-125 is also assayed in the monitoring of the therapeutic process or to detect cancer recurrence<sup>(23-25)</sup>. The **Risk of Ovarian Malignancy Algorithm (ROMA)** was developed to increase the efficacy of estimating the risk of malignancy of the identified ovarian lesions, taking into account the patient's hormonal status. The test involves an assessment of **CA-125** and the human epididymis protein 4 (**HE4**), the serum levels of which increase in the presence of epithelial ovarian cancer. HE4 is a new biomarker used for treatment monitoring and to detect recurrent cancer<sup>(23-25)</sup>.

**ROMA algorithm is used to improve sensitivity and specificity in the differentiation between patients at high and low risk of ovarian malignancy, taking into account the differentiation between premenopausal and postmenopausal women.**

**CA-19-9** is another marker used, among other things, for ovarian tumor diagnostics. **Elevated Ca-19-9 serum levels are also observed in gastrointestinal cancers and pancreatitis.**

Other markers, which are less specific for ovarian cancer, include the **carcinoembryonic antigen (CEA)**<sup>(23-25)</sup>.

It should be noted that **tumor markers, which are used for both diagnostics and the assessment of treatment efficacy, are very varied**. This is directly associated with the vast histological variety of ovarian tumors. Such a multitude of cancers requires continuous improvement of diagnostic methods. Therefore, the following markers are also used for the diagnosis and assessment of cancer: human chorionic gonadotropin (**beta-HCG**), alpha-fetoprotein (**AFP**), lactate dehydrogenase (**LDH**), **estradiol**, **testosterone**, **ovarian inhibin** and several others<sup>(23-25)</sup>.

**An assessment of tumor marker levels is a highly important, although not necessary diagnostic element in women with diagnosed or suspected tumor.** An assessment of patient's health status, including standard tests, such as blood cell count, is also important. Furthermore, liver (e.g. ALT, AST, total bilirubin, GGTP) and kidney (creatinine, urea, uric acid, urinalysis) function should be assessed<sup>(23-25)</sup>.

The presented analysis of the diagnostic methods used in ovarian cancer is to **emphasize that an early detection of the suspected tumors often determines the success of treatment, which is of particular importance as ovarian tumors do not cause any symptoms for a long time**<sup>(3,23-25)</sup>.

#### Conflict of interest

*The authors do not report any financial or personal links with other persons or organizations, which might affect negatively the content of this publication or claim authorship rights to this publication.*



Istotna jest też ocena stanu zdrowia z uwzględnieniem podstawowych badań, takich jak morfologia krwi. Ponadto trzeba ocenić funkcjonowanie wątroby (przez oznaczenie m.in. ALT, AST, bilirubiny całkowitej, GGTP) i nerek (kreatynina, mocznik, kwas moczowy, ogólne badanie moczu)<sup>(23–25)</sup>.

Przedstawiona analiza metod diagnostyki zmian jajnika ma na celu podkreślenie, że **wczesne wykrycie podejrzanych zmian często decyduje o powodzeniu leczenia – co jest szczególnie ważne wobec faktu, że nowotwory jajników długo nie dają żadnych objawów**<sup>(3,23–25)</sup>.

#### Konflikt interesów

*Autorzy nie zgłaszają finansowych ani osobistych powiązań z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby negatywnie wpłynąć na treść publikacji oraz rościć sobie prawo do tej publikacji.*

#### Piśmiennictwo/References

1. Markowska J, Mardas M: Zasady leczenia guzów gonadalnych jajnika. *Curr Gynecol Oncol* 2010; 8: 265–272.
2. Korczyński J, Gottwald L, Pasz-Walczak G *et al.*: Szkliewięjący guz podścieliska jajnika u 30-letniej chorej. Opis przypadku i przegląd piśmiennictwa. *Ginek Pol* 2005; 76: 471–475.
3. Pisarska-Krawczyk M, Spaczyński M, Pisarski T: Nowotwory jajnika. In: Pisarski T. (ed.): *Fizjopatologia jajnika: podręcznik dla lekarzy i studentów*. Termedia, Poznań 1998: 39–71.
4. Mikami M, Fukuchi T, Takehara K *et al.*: Tumor imprint cytology of sclerosing tumor of the ovary. *Diagn Cytopathol* 2003; 28: 54–57.
5. Jung NH, Kim T, Kim HJ *et al.*: Ovarian sclerosing stromal tumor presenting as Meigs' syndrome with elevated CA-125. *J Obstet Gynaecol Res* 2006; 32: 619–622.
6. Matsubayashi R, Matsuo Y, Doi J *et al.*: Sclerosing stromal tumor of the ovary: radiologic findings. Case report. *Eur Radiol* 1999; 9: 1335–1338.
7. Ismail SM, Walker SM: Bilateral virilizing sclerosing stromal tumours of the ovary in a pregnant woman with Gorlin's syndrome: implications for pathogenesis of ovarian stromal neoplasms. *Histopathology* 1990; 17: 159–163.
8. Chang W, Oiseth JS, Orentlicher R *et al.*: Bilateral sclerosing stromal tumor of the ovaries in a premenarchal girl. *Gynecol Oncol* 2006; 101: 342–345.
9. Marelli G, Carinelli S, Mariani A *et al.*: Sclerosing stromal tumor of the ovary. Report of eight cases and review of the literature. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1998; 76: 85–89.
10. Chalvardjian A, Scully RE: Sclerosing stromal tumors of the ovary. *Cancer* 1973; 31: 664–670.
11. Fefferman NR, Pinkney LP, Rivera R *et al.*: Sclerosing stromal tumor of the ovary in a premenarche female. *Pediatr Radiol* 2003; 33: 56–58.
12. Szporek B, Kuśnierczyk-Grochowina D, Cieślak T: Badanie cefalometryczne w zespole Gorlina. *Dent Med Probl* 2003; 40: 411–415.
13. Cashell AW, Cohen ML: Masculinizing sclerosing stromal tumor of the ovary during pregnancy. *Gynecol Oncol* 1991; 43: 281–285.
14. Torricelli P, Caruso Lombardi A, Boselli F *et al.*: Sclerosing stromal tumor of the ovary: US, CT, and MRI findings. *Abdom Imaging* 2002; 27: 588–591.
15. Kawamura N, Kamo I, Shigyo R: Sclerosing stromal tumor of the ovary. *Am J Surg Pathol* 1987; 22: 83–92.
16. Lee MS, Cho HC, Lee YH *et al.*: Ovarian sclerosing stromal tumors: gray scale and color Doppler sonographic findings. *J Ultrasound Med* 2001; 20: 413–417.
17. Kim JY, Jung KJ, Chung DS *et al.*: Sclerosing stromal tumor of the ovary: MR-pathologic correlation in three cases. *Korean J Radiol* 2003; 4: 194–199.
18. Joja I, Okuno K, Tsunoda M *et al.*: Sclerosing stromal tumor of the ovary: US, MR, and dynamic MR findings. *J Comput Assist Tomogr* 2001; 25: 201–206.
19. Kędzia H: Nowotwory gonadalne jajnika. In: Kędzia H (ed.): *Nowotwory narządów płciowych kobiety*. Ośrodek Wydawnictw Naukowych, Poznań 1997: 101–117.
20. Calabrese M, Zandrino F, Giasotto V *et al.*: Sclerosing stromal tumor of the ovary in pregnancy: clinical, ultrasonography, and magnetic resonance imaging findings. *Acta Radiol* 2004; 45: 189–192.
21. Grętkiewicz-Tomczyk A, Jarząbek-Bielecka G, Friebe Z: Szkliewięjący guz jajnika u 15-letniej dziewczynki. *Now Lek* 2009; 78: 85–90.
22. Spaczyński M: Onkologia ginekologiczna. In: Bręborowicz GH (ed.): *Położnictwo i ginekologia*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2005: 856–857.
23. Markowska J, Mądry R, Markowska A: Rak jajnika. In: Markowska J, Mądry R (eds.): *Ginekologia onkologiczna*. MedPharm Polska, Wrocław 2008: 803–948.
24. Rzepka-Górska I: Nowotwory nienabłonkowe jajnika. In: Markowska J, Mądry R (eds.): *Ginekologia onkologiczna*. MedPharm Polska, Wrocław 2008: 949–958.
25. Wcisło G, Szczylik C: Rak jajnika. Termedia, Poznań 2011: 149–180.

Arkadiusz Gawryluk<sup>1</sup>, Bartłomiej Noszczyk<sup>2</sup>

## Właściwości i kliniczne możliwości zastosowania ludzkich komórek nabłonka owodni (HAEC)

### Properties and clinical application of human amniotic epithelial cells (HAEC)

### Свойства и клинические возможности применения эпителиальных клеток амниотической оболочки человека (HAEC)

<sup>1</sup> Klinika Ginekologii Onkologicznej, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie, Polska

<sup>2</sup> Zakład Chirurgii Plastycznej Endoskopowej, Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny im. prof. W. Orłowskiego Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego w Warszawie, Polska  
Adres do korespondencji: Arkadiusz Gawryluk, Klinika Ginekologii Onkologicznej, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, ul. W.K. Roentgena 5, 02-781 Warszawa, e-mail: arkadiuszgawryluk@interia.pl

<sup>1</sup> Department of Gynecologic Oncology, Maria Skłodowska-Curie Institute of Oncology in Warsaw, Poland

<sup>2</sup> Department of Endoscopic Plastic Surgery, Prof. W. Orłowski Independent Teaching Hospital, Medical Centre for Postgraduate Education, Warsaw, Poland

Correspondence: Arkadiusz Gawryluk, Department of Gynecologic Oncology, Maria Skłodowska-Curie Institute of Oncology in Warsaw, W.K. Roentgena 5, 02-781 Warsaw, Poland, e-mail: arkadiuszgawryluk@interia.pl

#### Streszczenie

Współczesna medycyna coraz większe nadzieje pokłada w niezróżnicowanych komórkach progenitorowych różnego pochodzenia i o różnym stopniu plastyczności. Ich najbardziej zasobnym, odnawialnym i niekontrowersyjnym źródłem wydają się tkanki łożyska i krew pępowinowa. Jedynie w tej grupie komórki nabłonkowe pochodzą z owodni, wykorzystywane często w całości jako allogeniczny opatrunek biologiczny. Mają one szereg niezwykłych cech, takich jak względny brak ekspresji antygenów zgodności tkankowej, plastyczność (umożliwiająca różnicowanie w cały szereg komórek nabłonkowych i mezenchymalnych) oraz brak zdolności do nowotworzenia. Komórki nabłonka owodni są jedynymi nabłonkowymi komórkami łożyska. Uważa się, że nawet w donoszonej ciąży zachowują właściwości progenitorowe (pluripotencjalne). Wynika to prawdopodobnie z faktu, iż pomijają różnicowanie towarzyszące gastrulacji. Cechy te przejawiają zresztą wszystkie komórki łożyska, różniące się od komórek nabłonka owodni jedynie nienabłonkowym pochodzeniem. W hodowli komórki nabłonka owodni charakteryzują się dużą plastycznością: ulegają stymulacji do różnicowania w kierunku adypocytów, chondrocytów, osteocytów, miocytów, kardiomiocytów, neurocytów, komórek trzustki i hepatocytów. Dotychczas nie udało się jednak skierować ich rozwoju w kierunku naskórka. Uzyskanie nabłonka wielowarstwowego w hodowli komórek nabłonka owodni miałyby ogromne znaczenie dla inżynierii tkankowej opatrunków biologicznych. Błony owodniowe wykorzystywane są w tym celu od wielu lat, jednak wskutek złożonej struktury i wymagań metabolicznych nie ulegają wżganiu – wysychają po położeniu na powierzchni rany. Niektóre badania wskazują natomiast, że nabłonek izolowany z owodni mógłby się wżgać, nadawałby się zatem do allogenicznych przeszczepów.

**Słowa kluczowe:** komórki nabłonka owodni, owodnia, inżynieria tkankowa, hodowle komórkowe, opatrunki biologiczne

#### Abstract

In the contemporary medicine, undifferentiated progenitor cells of various origin and various degree of plasticity have become highly promising. Their most abundant, renewable and uncontroversial sources are placental tissues and umbilical blood. The only epithelial cells in this group come from the amnion which is used as a whole as an allogenic biological dressing. They have a range of unusual properties, such as the relative lack of histocompatibility antigens, plasticity (enabling their differentiation into a number of epithelial and mesenchymal cells) and the lack of neoplastic capacity. Amniotic epithelial cells are the only epithelial cells of the placenta. It is believed that they retain their progenitor (pluripotent) properties even in term pregnancies. This probably results from the fact that they omit the differentiation that accompanies gastrulation. Such features are typical of all placental cells which differ from amniotic epithelial cells

only in their non-epithelial origin. In culture conditions, amniotic epithelial cells are characterized by a considerable plasticity: they can be stimulated to differentiate into adipocytes, chondrocytes, osteocytes, myocytes, cardiomyocytes, neurocytes, pancreatic cells and hepatocytes. To date, however, the attempts to direct their development towards the epidermis have not been successful. Obtaining multilayer epidermis in amniotic epithelial culture would be of considerable importance for tissue engineering of biological dressings. Amniotic membranes have been used for this purpose for many years, but because of their complex structure and metabolic requirements, they do not heal but dry up when applied to the wound. Some reports, however, indicate that the epithelium isolated from the amnion could be able to heal thus being suitable for allogenic grafts.

**Key words:** amniotic epithelial cells, amniotic membrane, tissue engineering, cell culture, biological dressing

## Содержание

Современная медицина все большие надежды возлагает на неделимые клетки-предшественники различного происхождения и уровня пластичности. Их наиболее распространенным, возобновляемым и непротиворечивым источником являются ткани плаценты и пуповинная кровь. Единственные из этой группы эпителиальные клетки происходят из амниона, часто используемого в качестве аллогенной биологической перевязки. Они имеют ряд необычных черт, таких как относительное отсутствие экспрессии антигенов гистосовместимости, пластичность (позволяющая разделение на целый ряд эпителиальных и мезенхимальных клеток) и отсутствие способности к канцерогенезу. Эпителиальные клетки амниона являются единственными эпителиальными клетками плаценты. Считается, что даже в доношенной беременности они сохраняют свойства клеток-предшественников (плюрипотентных). Это, по всей вероятности, следует из того факта, что связано с тем, что опускают деление, сопровождающую гастрюляцию. Эти черты демонстрируют все клетки плаценты, отличающиеся от эпителиальных клеток амниона только не эпителиальным происхождением. В выращивании эпителиальных клеток амниона характеризуются высокой пластичностью: подвергаются стимулированию разделения в направлении адипоцитов, хондроцитов, остеоцитов, миоцитов, кардиомиоцитов, невроцитов, клеток поджелудочной железы и гепатоцитов. До этого времени не удалось направить их развития в сторону эпидермиса. Получение многослойного эпителия в выращивании эпителиальных клеток амниона будут иметь большое значение для тканевой инженерии биологических перевязок. Амниотические мембраны используются с этой целью уже многие годы, однако в следствии сложной структуры и метаболических требований не приживаются – высыхают после положения на поверхности раны. Некоторые исследования все же показывают, что эпителий, полученный из амниона мог бы приживаться, следовательно, подходил бы для аллотрансплантатов.

**Ключевые слова:** эпителиальные клетки амниона, амнион, тканевая инженерия, выращивание клеток, биологические перевязки

## BUDOWA I WŁAŚCIWOŚCI BŁONY OWODNIOWEJ

Owodnia to cienka (0,02–0,5 mm) i przezroczysta błona, zbudowana z kilku warstw. Najbardziej wewnętrzną warstwą w stosunku do jamy owodni jest jednowarstwowy nabłonek, sześcienny bądź cylindryczny, pokrywający grubą błonę podstawną. Poniżej znajduje się tkanka łączna, która składa się z warstw: zbitej, fibroblastów oraz gąbczastej (ryc. 1). We wczesnej fazie rozwoju zawiera ona bardzo cienkie włókna srebrochłonne, zastępowane kilkoma typami kolagenu produkowanego przez fibroblasty. Błona podstawna owodni jest jedną z najgrubszych błon znalezionych w ludzkiej tkance. Histochemicznie bardzo przypomina spojówkę. Dzięki swojej integralności, elastyczności i przezroczystości może mieć szerokie spektrum zastosowań, m.in. jako materiał dla zewnętrznej rekonstrukcji gałki ocznej. Jest idealnym substratem wspierającym wzrost komórek progenitorowych nabłonka poprzez przedłużanie ich życia i zapobieganie apoptozie<sup>(1)</sup>. Błona owodniowa produkuje transformujący czynnik wzrostu (*transforming growth factor*, TGF), mogący pobudzać

## STRUCTURE AND PROPERTIES OF THE AMNION

The amnion is a thin (0.02–0.5 mm) and transparent membrane that consists of several layers. The innermost layer in relation to the amniotic cavity is single-layer cuboidal or cylindrical epithelium that covers a thick basement membrane. Below, there is the connective tissue that consists of several layers: compact, fibroblast and spongy (Fig. 1). At the early stage of development, it contains very thin argyrophilic fibers which are replaced by several types of collagen produced by fibroblasts. The basement layer of the amnion is one of the thickest membranes found in human tissues. It bears a histochemical resemblance to the conjunctiva. Thanks to its integrity, flexibility and transparency, it can be broadly used e.g. as a material for outer ocular surface restoration. It is an ideal substrate for progenitor epithelial cell culture by prolonging their lifespan and preventing apoptosis<sup>(1)</sup>. The amnion produces transforming growth factor (TGF) that is able to promote epithelialization as well as modulate fibroblast proliferation and differentiation<sup>(2)</sup>. It does not demonstrate histocompatibility

epitelializację, modulować rozmnażanie i różnicowanie fibroblastów<sup>(2)</sup>. Nie wykazuje ekspresji antygenów zgodności tkankowej, co pozwala na jej przeszczepianie bez dodatkowego stosowania immunosupresji i ryzyka odrzucenia. Dzięki działaniu przeciwzapalnemu błona stymuluje procesy reepitelializacji i reinerwacji<sup>(3)</sup>. Poza tym z łatwością się przyjmuje – tworzy nową błonę powierzchniową chroniącą tkanki, które pokrywa. Redukuje proliferację fibroblastów i bliznowacenie oraz stymuluje apoptozę komórek zapalnych. Ma silne właściwości antybakteryjne, co przekłada się na niskie ryzyko powikłań pooperacyjnych<sup>(4)</sup>. Bardzo ważnymi cechami błony owodniowej są łatwa dostępność i prawie nieograniczone możliwości jej uzyskania.

### PRÓBY KLINICZNEGO WYKORZYSTANIA OWODNI

Do pierwszego odnotowanego zastosowania błony owodniowej w medycynie doszło już w 1910 roku, kiedy to Davis użył błon płodowych w leczeniu oparzeń termicznych<sup>(5)</sup>. W 1913 roku Sabella wykorzystał błonę w leczeniu oparzeń i owrzodzeń skóry. Zaobserwował m.in. brak zakażeń, zmniejszenie bólu i wzrost tempa reepitelializacji uszkodzonych powierzchni skóry<sup>(6)</sup>.

Podjęto również szereg prób wykorzystania owodni przy rekonstrukcji jamy ustnej i pęcherza moczowego czy wytwarzaniu sztucznej pochwy oraz w różnorodnych zabiegach operacyjnych w obrębie głowy, szyi i jamy brzusznej.

W 1940 roku de Rötth jako pierwszy przedstawił pracę, w której opisał zastosowanie błony owodniowej wraz z kosmówką w leczeniu zrostów spojówki powiekowej i gałkowej<sup>(7)</sup>. Od tego czasu przeprowadzono wiele badań – potwierdziły one użyteczność owodni w leczeniu schorzeń okulistycznych i ujawniły jej wyjątkowe właściwości. Jednym z nowszych i bardziej interesujących doniesień w okulistyce było wykorzystanie owodni jako nośnika pozbawionego komórek do hodowli rąbkowych komórek macierzystych. Wiadomo, iż nabłonek regeneruje się z progenitorowych komórek macierzystych umiejscowionych

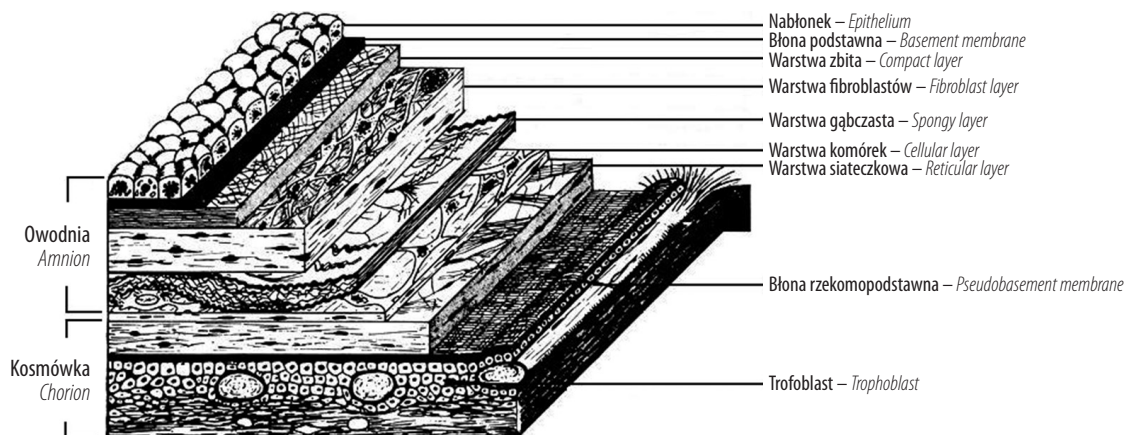
antigen expression thereby being suitable for grafting with no additional use of immunosuppression and without a risk of rejection. Owing to its anti-inflammatory properties, the membrane promotes re-epithelialization and re-innervation processes<sup>(3)</sup>. Moreover, it is accepted easily – it forms a new surface layer protecting tissues underneath. It reduces fibroblast proliferation and scar formation, and stimulates inflammatory cell apoptosis. It exhibits potent antibacterial properties, which translates to a low risk of postoperative complications<sup>(4)</sup>. The availability and nearly unrestricted possibilities of obtaining the amniotic membrane are ones of its important features.

### CLINICAL APPLICATIONS OF THE AMNION

The amniotic membrane was used in medicine for the first time in 1910 by Davis who treated thermal burns<sup>(5)</sup>. In 1913, Sabella used the membrane for treating skin burns and ulcerations. He observed no infections, pain reduction and faster epithelialization of damaged skin surfaces<sup>(6)</sup>.

Moreover, it was also attempted to use the amnion for the reconstruction of the oral cavity and urinary bladder or for producing an artificial vagina as well as in a range of surgical procedures within the head, neck and abdomen.

In 1940, de Rötth was the first to publish a paper that described the usage of the amnion and chorion in treating adhesions between the bulbar and palpebral conjunctiva<sup>(7)</sup>. Since then, numerous studies have been conducted which have confirmed the usefulness of the amnion in treating ocular diseases and revealed its exceptional properties. One of the latest and more interesting reports in the field of ophthalmology concerns the use of the amnion as a cell-free carrier for limbal stem cell culture. It is known for a fact that the epithelium regenerates from progenitor stem cells located near the corneal limbus. They are a source of migrating and differentiating daughter cells. Schwab *et al.* have used this method to perform limbal cell transplantation in 18 patients with ocular surface defects;



Ryc. 1. Schemat dojrzałej, wielowarstwowej błony owodniowo-kosmówkowej  
Fig. 1. Mature multilayer amniochorionic membrane



w pobliżu rąbka (rogówka), od których migrują i różnicują się nowe komórki potomne. Schwab i wsp. przy użyciu tej metody przeprowadzili przeszczep komórek rąbkowych u 18 pacjentów z powierzchownym uszkodzeniem gałki ocznej – 75% z nich wyleczono bez żadnych powikłań<sup>(8)</sup>. Inna grupa badaczy w testach preklinicznych wykorzystwała komórki macierzyste z jednego oka, namnażając je w laboratorium na specjalnym podłożu (mikroczipie), a następnie na błonie owodniowej pozbawionej komórek. W efekcie została ona porośnięta warstwą komórek macierzystych. Drugim ważnym etapem było kliniczne sprawdzenie funkcjonalności tak uzyskanych komórek macierzystych na królikach z uszkodzoną rogówką. Dzięki autologicznemu przeszczepowi około 60% królików skutecznie wyleczono. Ponadto w okulistyce błonę owodniową stosowano m.in. w leczeniu oparzeń chemicznych, bliznowaciejącego zapalenia spojówek, wrzodów rogówki, pemfigoidu pęcherzowego, zespołu Stevensona–Johnsona, skrzydlika i ciężkich zespołów suchego oka<sup>(9)</sup>.

Nowe możliwości regeneracji chorych lub uszkodzonych tkanek dostępne dzięki metodom inżynierii tkankowej (*tissue engineering*, TE) sprawiają, iż błona owodniowa znajduje coraz więcej zastosowań w medycynie. Do rekonstrukcji uszkodzonych tkanek i narządów służy zazwyczaj metoda polegająca na namnożeniu wyizolowanych komórek z tkanki biorcy w warunkach *in vitro* (np. keratynocytów), a następnie – wysianiu ich na rusztowania (skafoldy) i dalszej hodowli. Rusztowania przygotowuje się z odpowiednich biozgodnych materiałów, które ulegają powolnej degradacji i resorpcji w organizmie. Większość zapewnia hodowli trójwymiarową przestrzeń, gdzie komórki mogą rosnąć i się dzielić. Podjęto szereg prób wykorzystania błony owodniowej w inżynierii tkankowej. Jej specyficzna struktura i biologiczna żywotność dały podstawy, by uznać ją za idealne źródło do tworzenia biologicznego rusztowania (po jej uprzednim przetworzeniu i usunięciu komórek).

Do tej pory przeprowadzono kilka eksperymentów z użyciem błony owodniowej jako rusztowania. Wykazano przydatność substancji zewnątrzkomórkowej (*extracellular matrix*, ECM) owodni w regeneracji nerwów obwodowych. Ponadto stwierdzono, iż błona owodniowa jest biodegradowalnym skafoldem z unikalnymi właściwościami biochemicznymi i mechanicznymi sprzyjającymi regeneracji nerwowej<sup>(10)</sup>. Przedstawiono również możliwość wykorzystania owodni pozbawionej komórek jako warstwy odżywiającej dla części komórek macierzystych potrzebnych do różnicowania neuronów<sup>(11)</sup>. Może ona także służyć jako nośnik dla chondrocytów i być wykorzystywana w regeneracji chrząstki<sup>(12)</sup>. Podczas wysiewania komórek nabłonkowych i mezenchymalnych na rusztowania komórkowe powstałe z błony owodniowej zaobserwowano intensywne łączenie komórek i wykazano ich zdolność do przenikania substancji gąbczastej owodniowego skafoldu. To potencjalnie obiecujące podejście do leczenia przedwczesnego pęknięcia błon płodowych<sup>(13)</sup>.

the diseases were treated in 75% of patients with no complications<sup>(8)</sup>. Other researchers have used stem cells of one eye in preclinical tests and replicated them in a laboratory on a special medium (microchip) and then on the acellular amniotic membrane. As a result, it became overgrown with stem cells. The second important stage was the clinical evaluation of the functionality of the stem cells obtained on rabbit models with corneal defects. Thanks to autologous skin grafts, approximately 60% of rabbits were effectively treated. Moreover, the amniotic membrane has been used in ophthalmology to treat: chemical burns, cicatricial conjunctivitis, corneal ulcers, bullous pemphigoid, Stevenson–Johnson syndrome, pterygium and severe dry eye syndrome<sup>(9)</sup>.

New possibilities of regenerating damaged or pathologically altered tissues available thanks to tissue engineering (TE) make the amnion more and more useful in medicine. Damaged tissues and organs are usually repaired using a method that consists in the *in vitro* multiplication of isolated host cells (e.g. keratinocytes) followed by their placement on scaffolds and further culture. Scaffolds are made of appropriate biocompatible materials that undergo slow degradation and resorption in the organism. Most of them enable a three-dimensional culture space where cells can grow and divide. There have been multiple attempts of using the amniotic membrane in tissue engineering. Its specific structure and biological viability renders it an ideal material for creating a biological scaffold (after its processing and cell removal).

To date, several experiments with the use of the amnion as a scaffold have been carried out. The amniotic extracellular matrix (ECM) has been proven useful in peripheral nerve regeneration. Moreover, it has been established that the amnion is a biodegradable scaffold with unique biochemical and mechanical properties conducive to nervous regeneration<sup>(10)</sup>. Another paper reports the usage of acellular amniotic membrane as a feeder layer for some stem cells needed for neuronal differentiation<sup>(11)</sup>. It can also serve as a chondrocyte carrier and may be used for cartilage regeneration<sup>(12)</sup>. When inoculating amnion scaffolds with epithelial and mesenchymal cells, it was observed that cells connected intensively and were able to permeate the spongy layer of the scaffold. This is a potentially promising approach to the treatment of premature rupture of the fetal membranes<sup>(13)</sup>.

Moreover, it has also been attempted to use the amnion in wound healing. Allogenic amniotic grafts are currently used in the treatment of severe burns, lower limb ulceration as well as laryngological, urological and ophthalmological wounds<sup>(14)</sup>. Tyszkiewicz *et al.* have developed a method for the processing, storing and sterilization of human amniotic allografts prepared as biological dressings for skin burns. They suggested that, following chorion separation, the epithelial side of the amnion should be placed directly on polyester. After application to the wound, the epithelial side with the basement membrane

Podjęto również próby wykorzystania owodni w gojeniu ran. Allogeniczne przeszczepy owodniowe są obecnie używane do leczenia ciężkich oparzeń, owrzodzeń kończyn dolnych, ran laryngologicznych, urologicznych i okulistycznych<sup>(14)</sup>. Tyszkiewicz i wsp. opracowali metodę obróbki, przechowywania i sterylizacji ludzkich allograftów owodniowych przygotowywanych jako bioopatrunki do pokrywania oparzeń skóry. Zasugerowali, aby po oddzieleniu kosmówki stroną nabłonkową owodni umieścić bezpośrednio na poliestrze. Po pokryciu rany strona nabłonkowa z błoną podstawną staje się stroną zewnętrzną. Pobudza ona migrację, zapewnia umocowanie i rozprzestrzenianie się komórek gospodarza, a w efekcie przyspiesza epitelializację. Badacze zauważyli, że liofilizowane, napromieniane przeszczepy są wchłaniane w ciągu kilku dni, podczas gdy głęboko zamrożone lepiej przylegają do rany i utrzymują się do 3 tygodni po przeszczepieniu<sup>(15)</sup>. *In vivo* biokompatybilność błony owodniowej została oszacowana przez podskórne wszczepienie owodni pozbawionej komórek myszom – na okres 3 miesięcy. Analiza próbek pobranych od myszy wykazała, iż owodnia pozbawiona komórek ulega zasiedleniu niewielką liczbą komórek T oraz znaczną liczbą fibroblastów, makrofagów i komórek endotelialnych, co dowiodło skuteczności klinicznej. Bezkomórkowa owodnia wspomaga przyleganie i namnażanie ludzkich fibroblastów i keratynocytów. Poza tym błona owodniowa może dostarczać allogenicznych komórek do leczenia owrzodzenia stopy cukrzycowej, ubytków rogówki i ciężkich oparzeń skóry<sup>(16)</sup>.

## KOMÓRKI PROGENITOROWE OWODNI

Współcześnie zainteresowanie błoną owodniową w transplantologii zmalało na korzyść komórek nabłonkowych i mezenchymalnych owodni. Komórki nabłonka owodni, podobnie jak szereg innych komórek izolowanych z łożyska i pępowiny, przyciągają ostatnio uwagę świata nauki ze względu na potwierdzoną plastyczność, czyli zdolność do zastępowania brakujących komórek innego rodzaju. Ta cecha charakteryzuje komórki macierzyste. Mają one zdolność do potencjalnie nieograniczonej liczby podziałów oraz różnicowania się do innych typów komórek. Ze względu na te właściwości dzielą się na: totipotentjalne (embrionalne komórki macierzyste, wyodrębnione z zarodka na etapie blastocysty, które mogą dać początek całemu organizmowi), pluripotentjalne (embrionalne komórki macierzyste, które mogą się różnicować w każdy typ wyspecjalizowanej komórki, z wyjątkiem komórek rozrodczych), multipotentjalne (somatyczne komórki macierzyste, mające możliwość stałego wytwarzania nowych komórek, które mogą się różnicować w różne typy komórek o podobnych właściwościach), unipotentjalne, czyli komórki prekursorowe (mogą się różnicować tylko do jednego typu komórek). Biorąc pod uwagę pochodzenie, komórki macierzyste dzieli się na somatyczne (dorosłe) i embrionalne. Embrionalne komórki macierzyste

becomes the outer side. It promotes migration, attachment and spreading of host cells, thus accelerating epithelialization. The authors observed that lyophilized irradiated grafts were resorbed within several days whereas the deep frozen ones adhered to the wound better and persisted for 3 weeks after grafting<sup>(15)</sup>. The *in vivo* biocompatibility of the amnion has been evaluated on the basis of subcutaneous cell-free amnion implantation to mice for the period of 3 months. The analysis of murine samples revealed that the acellular amnion was settled with a low number of T cells and a considerable number of fibroblasts, macrophages and endothelial cells, which proved its clinical efficacy. The acellular amnion supports the attachment and proliferation of human fibroblasts and keratinocytes. What is more, it can deliver allogenic cells to treat diabetic foot ulcers, corneal defects, and severe skin burns<sup>(16)</sup>.

## AMNIOTIC PROGENITOR CELLS

Currently, the interest in the use of the amnion in transplantology has somewhat extinguished to the benefit of epithelial and mesenchymal amniotic cells. As other cells isolated from the placenta and umbilicus, amniotic epithelial cells are of interest to scientists worldwide because of their confirmed plasticity, i.e. the ability to replace the missing cells of a different type. This is a characteristic of stem cells. They are capable of potentially non-restricted division and differentiation into other cell types. Owing to these properties, they are divided into: totipotent cells (embryonic stem cells isolated from an embryo during the blastocyst stage; they can give rise to the entire organism), pluripotent cells (embryonic stem cells that can differentiate into any specialized cells except for reproductive cells), multipotent cells (somatic stem cells that have the potential to continuously create new cells which can differentiate into a variety of cells with similar properties) and unipotent i.e. precursor cells (which can differentiate into only one cell type). When considering the origin, stem cells are divided into somatic and embryonic ones. Embryonic stem cells can be totipotent (when they originate from a several-cell embryo) or pluripotent (when they originate from the inner cell mass of a blastocyst).

When cells of umbilical blood, amniotic fluid and umbilical cord are excluded, human amniotic epithelial cells (HAECs) are the only non-mesenchymal fetal cells isolated from the placenta. They differentiate from the epiblast, which is the source of all three germ layers, approximately 8 days after fertilization when it still has the pluripotent properties. That is why some authors are of the opinion that HAECs omit the differentiation that accompanies gastrulation (15<sup>th</sup>–17<sup>th</sup> day) thereby retaining partial pluripotency<sup>(17)</sup>.

A blastocyst consists of compact cells, which form the inner cell mass or embryoblast, and flat cells that form the outer layer of a blastocyst (trophoblast). The trophoblast develops into the chorion and subsequently – the placenta.

mogą być totipotencjalne (gdy pochodzą z kilkukomórkowego embrionu) lub pluripotencjalne (gdy pochodzą z węzła zarodkowego blastocysty).

Jeśli nie uwzględnimy komórek krwi pępowinowej, płynu owodniowego i nabłonka sznura pępowinowego, komórki nabłonkowe owodni (*human amniotic epithelial cells*, HAEC) są jedynymi komórkami o niemezenchymalnym pochodzeniu płodowym izolowanymi z łożyska. Różnicują się one z epiblastu, który jest źródłem wszystkich trzech listków zarodkowych, około 8. dnia po zapłodnieniu, gdy wciąż zachowuje on właściwości pluripotencjalne. Stąd zdaniem części autorów HAEC pomijają różnicowanie towarzyszące gastrulacji (15.–17. dzień), zachowując przynajmniej częściową pluripotencjalność<sup>(17)</sup>.

Blastocysta składa się ze skupionych komórek, które tworzą węzeł zarodkowy lub embrioblast, oraz ze spłaszczonej warstwy komórek ułożonych na obwodzie blastocysty – stanowiących trofoblast. Trofoblast przekształca się w kosmówkę, a następnie w łożysko. Około 7.–8. dnia po zapłodnieniu rozpoczyna się proces implantacji blastocysty w głąb warstwy zbitą błonę śluzową macicy i dalszy rozwój łożyska. Na tym etapie rozwoju trofoblast ma dwie warstwy: wewnętrzną, czyli komórek cytotrofoblastu, oraz zewnętrzną, czyli komórek syncytiotrofoblastu. Około 8. dnia rozwoju embrioblast także różnicuje się na dwie warstwy komórek: wewnętrzną (hipoblast) oraz zewnętrzną (epiblast) (ryc. 2). Epiblast jest źródłem wszystkich trzech listków zarodkowych i ostatecznie kształtuje rozwijający się embrion. Zarodek, pępowina i nabłonek owodni wywodzą się z epiblastu. W tym samym czasie szczeliny pomiędzy komórkami cytotrofoblastu i epiblastu zlewają się w jamkę – jamę owodni, a pojawiające się w jej górnym biegunie komórki to komórki owodniotwórcze (amnioblasty). Amnioblasty wyściełają całą jamę owodni, po czym różnicują się do komórek nabłonka owodni. Warstwę zewnętrzną owodni tworzy mezoderma pozazarodkowa, która wnika między trofoblast a warstwę amnioblastów<sup>(18,19)</sup>.

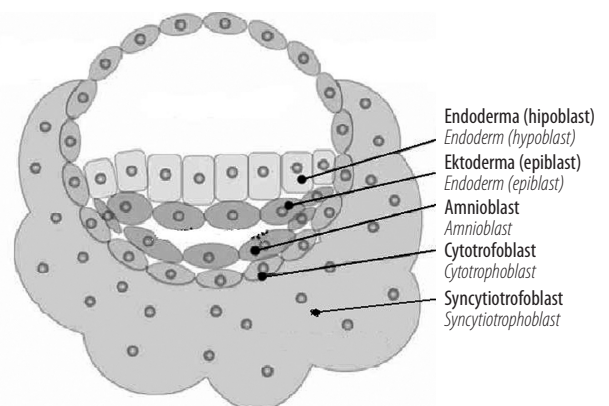
## IZOLACJA HAEC

Izolację komórek HAEC opisano w kilku protokołach, w których wystąpiły pewne różnice<sup>(20)</sup>. W skrócie wygląda ona następująco: łożyska były pozyskiwane z elektywnych cięć cesarskich niepowikłanych ciąży. Układano je matczyną powierzchnią na sterylnym stoliku operacyjnym, następnie odcinano sznur pępowiny i nacinano powierzchnię owodniową łożyska na krzyż. Z każdej części zdejmowano owodnię (rozpoczynano od strony położonego w środku kikutu pępowiny). Błony po wypłukaniu umieszczono na 10 minut w naczyniu z roztworem 0,05% trypsyny z kwasem etylenodiaminotetraoctowym (EDTA) w celu usunięcia reszty krwinek. Po przełożeniu do kolejnego naczynia z trypsyną pozostawiono je na kolejne 40 minut. Po tym czasie blokowano enzym pożywką. Jeżeli liczba uzyskanych komórek nie była zadowalająca, błony przekładano ponownie do świeżej trypsyny na

About 7–8 days after fertilization, the blastocyst begins its implantation process into a compact layer of the endometrium and continues the development of the placenta. At this stage, the trophoblast consists of two layers: inner, i.e. cytotrophoblast, and outer, i.e. syncytiotrophoblast cells. Approximately on the 8<sup>th</sup> day of development, the embryoblast also differentiates into two cell layers: the inner (hypoblast) and outer (epiblast) one (Fig. 2). The epiblast constitutes the source of three germ layers and ultimately shapes the developing embryo. The embryo, umbilicus and amniotic epithelium derive from the epiblast. At the same time, gaps between cytotrophoblast and epiblast cells fuse to form the amniotic cavity, and cells that appear on its upper pole are amnioblasts (amnion forming cells). Amnioblasts line the entire amniotic cavity and then differentiate into amniotic epithelial cells. The outer amniotic layer is composed of the extraembryonic mesoderm which reaches between the trophoblast and the amnioblast layer<sup>(18,19)</sup>.

## HAEC ISOLATION

HAEC isolation has been described in several slightly differing protocols<sup>(20)</sup>. In short, the procedure is as follows: term placentas were obtained from elective cesarean section procedures terminating uncomplicated pregnancies. They were placed on a sterile field with the maternal surface facing down. Subsequently, the umbilical cord was trimmed and an X-shaped incision was performed on the amniotic surface of the placenta. From each part, the amnion was peeled (starting from the area of the umbilical stump located in the center). After washing, amnion membranes were placed in a tube with 0.05% trypsin with ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) for 10 minutes in order to remove the remaining blood cells. Subsequently, the amnion was transferred to another tube with trypsin and incubated for 40 minutes. After this, the enzyme was blocked with a medium. If the cell count was not satisfactory, the membranes were transferred to fresh trypsin



Ryc. 2. Budowa ludzkiego embrionu około 8. dnia po zapłodnieniu

Fig. 2. Human embryo approximately 8 days after fertilization

następnie 40 minut. Odwirowany osad z obu naczyń zbierano do jednej probówki i filtrowano. Według autorów zaletą tej metody izolacji HAEC jest ich ogromna liczebność (ponad 100 milionów komórek pobranych z jednej owodni). Hodowle komórkowe zakładano na pożywkę DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) z dodatkiem naskórkowego czynnika wzrostu (*epidermal growth factor*, EGF), na której komórki się rozmnażały, ujawniając typową morfologię nabłonka jednowarstwowego, sześciennego. Przed ostatecznym starzeniem komórki można było pasażować 2–5 razy<sup>(21)</sup>.

## CHARAKTERYSTYKA HAEC

W hodowlach namnażające się HAEC tworzą populacje komórek nabłonkowych o jednolitej morfologii. Nawet morfologicznie homogeniczne kultury mogą jednak zawierać typy komórek o różnym potencjale wzrostu i różnicowania. Świeżo po wyizolowaniu HAEC wykazują ekspresję takich samych markerów powierzchniowych komórek jak inne komórki macierzyste: SSEA-3 i SSEA-4 (*stage specific embryonic antigen*), TRA-1-60, TRA-1-81 (*tumor rejection antigen*). Ponadto wykazują ekspresję markerów charakterystycznych dla pluripotencjalnych komórek macierzystych: OCT-4 (*octamer-binding protein 4*), SOX-2 (*SRY-related HMG-box gene 2*) oraz białka Nanog<sup>(22)</sup>. OCT-4 jest jednym z czynników transkrypcji odgrywających główną rolę w utrzymywaniu pluripotencjalności i możliwości samoodnowy. Należy do rodziny POU (*Pit-Oct-Unc*) regulatorów transkrypcji oraz reguluje pluripotencjalność ludzkich i mysich embrionalnych komórek macierzystych (*embryonic stem cells*, ESC)<sup>(23)</sup>. Epiblast, który preadresowuje początek rozwojowy HAEC, wykazuje ekspresję czynnika transkrypcyjnego do momentu różnicowania. Tamagawa i wsp. założyli linie komórkowe z komórek pochodzących w całości z owodni. Linie zawierały komórki nabłonkowe owodni i mezenchymalne fibroblasty. Zmieszano je następnie z wczesnymi mysimi komórkami zarodkowymi, aby utworzyć chimerę. Rozwijający się embrion utrzymywano do czasu uformowania trzech listków zarodkowych, w których komórki ksenogeniczne rozwijały się tak samo jak płodowe komórki gospodarza. Doniesienie Tamagawy to istotny dowód na istnienie pluripotencjalności *in vitro*<sup>(24)</sup>.

Aktywność telomerazy jest wykrywalna w ESC, MAPC (*multipotent adult progenitor cells*), komórkach zarodkowych i 80% próbek ludzkich guzów. Telomerazoaktywne embrionalne komórki macierzyste (*human embryonic stem cells*, HESC) wstrzyknięte domięśniowo myszom z ciężkim niedoborem odporności tworzą guzy. Z kolei po wstrzyknięciu 0,5–2 milionów HAEC około 50 myszom i obserwacji średnio przez około 60 dni (maksymalnie 516) żaden przeszczep nie doprowadził do rozwoju guza u myszy z głębokim upośledzeniem odporności. Wysoce prawdopodobne, że brak aktywności telomerazy w HAEC może się przyczyniać do hamowania nowotworzenia<sup>(25)</sup>.

again for 40 minutes. The centrifuged sediment was collected into one tube and filtered. The authors of this method claim that it enables a huge number of HAECs to be isolated (over 100 million cells from one amnion), which is an advantage of this method. Cell cultures were established on a DMEM medium (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) supplemented with epidermal growth factor (EGF) where cells proliferated revealing the typical morphology of one-layer cuboidal epithelium. The cells could be subcultured 2–5 times before ageing<sup>(21)</sup>.

## HAEC CHARACTERISTICS

In culture conditions, proliferating HAECs create epithelial cell populations of homogeneous morphology. However, even morphologically homogeneous cultures can contain cell types of various potential for growth and differentiation. Directly after isolation, HAECs demonstrate the expression of the same surface markers as in other stem cells: SSEA-3 and SSEA-4 (stage specific embryonic antigen) as well as TRA-1-60 and TRA-1-81 (tumor rejection antigen). Moreover, they show the expressiveness of the markers characteristic of pluripotent stem cells: OCT-4 (octamer-binding protein 4), SOX-2 (SRY-related HMG-box gene 2) and Nanog protein<sup>(22)</sup>. OCT-4 is one of the transcription factors that play a key role in maintaining pluripotency and the ability to self-regenerate. It belongs to the POU family (Pit-Oct-Unc) of transcription regulators and regulates the pluripotency of human and murine embryonic stem cells (ESCs)<sup>(23)</sup>. The epiblast, which readresses the initial development of HAECs, demonstrates the expression of a transcription factor to the moment of differentiation. Tamagawa *et al.* established cell lines of stem cells derived entirely from the amnion. The lines contained amniotic epithelial cells and mesenchymal fibroblasts. Subsequently, they were mixed with early murine embryonic cells to create a chimera. The developing embryo was sustained until the formation of three germ layers in which xenogeneic cells developed identically to the host fetal cells. The report of Tamagawa constitutes significant evidence for the presence of *in vitro* pluripotency<sup>(24)</sup>.

The activity of telomerase is detectable in ESCs, MAPCs (multipotent adult progenitor cells), embryonic cells and in 80% of human tumor samples. Human embryonic stem cells (HESCs) that express telomerase develop into tumors when injected intramuscularly to severely immunocompromised mice. By contrast, after injection of 0.5–2 million HAECs to approximately 50 mice and after their observation for about 60 days (maximum 516 days), no graft led to the development of a tumor in severely immunocompromised mice. It is highly likely that the lack of telomerase activity in HAECs can contribute to the blocking of neoplastic processes<sup>(25)</sup>. A simple karyotype analysis has shown no cytogenetic anomalies of cultured HAECs, and their safety in transplantology has been confirmed clinically.



Nie stwierdzono żadnych cytogenetycznych anomalii hodowlanych HAEC w prostej analizie kariotypu, a ich bezpieczeństwo w transplantologii zostało potwierdzone klinicznie.

Badacze przeszczepili również HAEC na przedramiona ochotników. Nie zauważyli żadnej reakcji immunologicznej, w żadnym przypadku nie stwierdzili też rozwoju guza<sup>(26)</sup>. Wiadomo, iż HAEC wykazują ekspresję monomorficznego, nieklasycznego antygenu HLA-G (*human leukocyte antigens*)<sup>(27)</sup>, natomiast nie mają na swoich powierzchniach polimorficznych antygenów zgodności tkankowej HLA-A, HLA-B (klasa Ia) oraz HLA-DR (klasa II)<sup>(28)</sup>. Powstało kilka prac poświęconych immunogenności HAEC. Jak wykazano, supernatanty HAEC wytwarzają czynniki, które znacząco hamują aktywność chemotaktyczną neutrofilów i makrofagów względem MIP-2 (*macrophage inflammatory protein*). Ponadto redukują proliferację limfocytów T i B po mitogenicnej stymulacji oraz pobudzają ich apoptozę. W przeciwieństwie do limfocytów makrofagi i neutrofile są odporne na apoptozę indukowaną przez HAEC, jednak HAEC hamują migrację makrofagów *in vitro*<sup>(29)</sup>. Porównywano również efekty immunosupresyjne dwóch odrębnych typów komórek macierzystych z owodni. Pomimo odmiennej morfologii i ekspresji markerowej komórki nabłonkowe i mezenchymalne owodni mają zbliżony potencjał modulacji reakcji immunologicznych *in vitro*<sup>(30)</sup>. Powyższe obserwacje prowadzą do wniosku, że HAEC nie są rozpoznawane przez system immunologiczny oraz że allogeniczne przeszczepy z HAEC mogą przeżyć przez czas nieokreślony.

Na podstawie analiz immunohistochemicznych i genetycznych stwierdzono, iż HAEC mają potencjał różnicowania się do komórek wszystkich trzech listków zarodkowych *in vitro*: endodermy (wątroba, trzustka), mezodermy (kardiomiocyty) i ektodermy (komórki nerwowe)<sup>(31)</sup>. Jak dowiedli Sakuragawa i wsp., hodowlane HAEC wykazują ekspresję markerową glejowych i neuronowych komórek progenitorowych<sup>(32)</sup>.

Dalsze badania w tej dziedzinie wykazały, iż da się pobudzić różnicowanie HAEC do komórek mogących syntetyzować i uwalniać acetylocholinę<sup>(33)</sup>, katecholaminy<sup>(34)</sup> i dopaminę<sup>(35)</sup>. Amnioblast jest przypisywany do owodniowej ektodermy, stąd tendencja HAEC do różnicowania w kierunku linii nerwowej (ektodermalnej). Komórki HAEC mają także potencjał różnicowania w kierunku endodermy. W 2000 roku Sakuragawa i wsp. zademonstrowali wytwarzanie albuminy (Alb) i  $\alpha$ -fetoproteiny (AFP) przez HAEC w modelu hodowlanym i potwierdzili ich potencjał wątrobowy<sup>(36)</sup>. HAEC mają też inne cechy komórek wątrobowych, np. możliwość magazynowania glikogenu, ekspresję wątrobowych czynników transkrypcji HNF3 $\gamma$  (*hepatocyte nuclear factor*), HNF4 $\alpha$ , CEBP $\alpha$  i  $\beta$  (CCAAT/enhancer-binding protein) oraz kilka genów metabolizujących leki (cytochrom P450)<sup>(37)</sup>. Wei i wsp. założyli hodowlę HAEC z obecnością nikotynamidu na 2–4 tygodnie w celu stymulacji różnicowania trzustkowego<sup>(38)</sup>. Udowodnili, iż HAEC mogą się różnicować do w pełni funkcjonalnych komórek

Furthermore, scientists have also transplanted HAECs into volunteer forearms. They did not observe any immune reaction; tumor growth was not observed in any case<sup>(26)</sup>. It is known that HAECs demonstrate the expression of monomorphic nonclassical HLA-G antigen (human leukocyte antigens)<sup>(27)</sup>, but they do not have polymorphic histocompatibility antigens HLA-A, HLA-B (class Ia) or HLA-DR (class II) on their surface<sup>(28)</sup>. There are several papers on the immunogenicity of HAECs. It has been demonstrated that supernatant HAECs produce factors that considerably inhibit the chemotactic activity of neutrophils and macrophages with respect to MIP-2 (macrophage inflammatory protein). Moreover, they reduce T and B lymphocyte proliferation following mitogenic stimulation and promote their apoptosis. By contrast with lymphocytes, macrophages and neutrophils are resistant to HAEC-induced apoptosis, but HAECs inhibit macrophage migration *in vitro*<sup>(29)</sup>. Moreover, immunosuppressive effects of two separate amniotic stem cell types have been compared. Despite different morphology and marker expression, amniotic epithelial and mesenchymal cells present a similar potential to modulate immune reactions *in vitro*<sup>(30)</sup>. The observations discussed above lead to a conclusion that HAECs are not recognized by the immune system and that allogenic grafts with HAECs can have an unspecified lifespan.

Based on immunohistochemical and genetic analyses, it has been concluded that HAEC can differentiate *in vitro* into cells of all three germ layers: endoderm (liver, pancreas), mesoderm (cardiomyocytes) and ectoderm (neurons)<sup>(31)</sup>. Sakuragawa *et al.* have demonstrated that cultured HAECs show marker expression of glial and neuronal progenitor cells<sup>(32)</sup>.

Other studies in this area have revealed that HAECs can be stimulated to differentiate into cells that can synthesize and release acetylcholine<sup>(33)</sup>, catecholamines<sup>(34)</sup> and dopamine<sup>(35)</sup>. An amnioblast is associated with the amniotic ectoderm and therefore HAECs tend to differentiate towards the nerve lineage (ectoderm). HAECs also have a potential to differentiate into the endoderm. In 2000, Sakuragawa *et al.* demonstrated the production of albumin (Alb) and  $\alpha$ -fetoprotein (AFP) by cultured HAECs and confirmed their hepatic potential<sup>(36)</sup>. HAECs also exhibit other features of hepatocytes, such as the ability to store glycogen as well as the expression of hepatic transcription factors: HNF3 $\gamma$  (hepatocyte nuclear factor), HNF4 $\alpha$ , CEBP $\alpha$  and  $\beta$  (CCAAT/enhancer-binding protein) and several drug metabolizing genes (cytochrome P450)<sup>(37)</sup>. Wei *et al.* established a culture of HAECs with nicotinamide for 2–4 weeks in order to stimulate pancreatic differentiation<sup>(38)</sup>. They have proven that HAECs can differentiate *in vitro* to fully functional insulin producing cells. The transplantation of HAECs demonstrating insulin expression to mice with streptozotocin-induced diabetes compensated for hyperglycemia and corrected body weight<sup>(38)</sup>. In an analogous experiment, HAMSCs (human

produkujących insulinę *in vitro*. Przeszczepienie HAEC wykazujących insulinową ekspresję myszom z cukrzycą indukowaną streptozotocyną wyrównało hiperglikemię i masę ciała<sup>(38)</sup>. W analogicznie przeprowadzonym doświadczeniu HAMSC (*human amniotic mesenchymal stromal cells*) były nieaktywne, co potwierdza multipotencjalność HAEC. Ponadto istnieje możliwość różnicowania HAEC w kierunku komórek pochodzenia mezodermalnego, np. do miocytów, osteocytów, adypocytów. Miki i wsp. po raz pierwszy zastosowali w hodowli HAEC takie same warunki jak podczas indukcji różnicowania HESC w kierunku kardiomyocytów<sup>(39)</sup>. Choć nie przeprowadzono funkcjonalnych analiz, kardiomyocyty wywodzące się z nabłonka owodni wykazywały ekspresję kardiospecyficznych genów i białka  $\alpha$ -aktyniny.

Bardzo ważną cechą HAEC jest ich łatwa biologiczna dostępność. To ważne źródło komórek macierzystych do celów transplantacyjnych, które nie wywołuje etycznych, religijnych ani politycznych kontrowersji. Łożyisko po porodzie jest traktowane jako produkt odpadowy, a przecież zgodnie z wyżej wymienionymi doniesieniami mogłoby stanowić niezwykle biologiczny materiał wtórny.

### KLINICZNE MOŻLIWOŚCI ZASTOSOWANIA HAEC

Perspektywy klinicznego wykorzystania HAEC wydają się ogromne. Naukowcy z Instytutu Biochemii w Szanghaju dokonali transfekcji HAEC z glejopochodnym czynnikiem neurotroficznym (*glial cell-line derived neurotrophic factor*, GDNF), jak również z genem zielonego białka fluoryzującego (*enhanced green fluorescent protein*, EGFP) za pomocą wektorów lentiwirusowych. Komórki te zostały następnie przeszczepione do mózgów szczurów z przejściowym zatorom tętnicy środkowej. HAEC migrowały do obszarów niedokrwionych oraz znacząco złagodziły zaburzenia czynności behawioralnych i zmniejszyły rozmiar niedokrwienia<sup>(40)</sup>. Ze względu na niektóre właściwości zbliżone do komórek nerwowych i glejowych HAEC były testowane pod kątem możliwości naprawy uszkodzeń rdzenia kręgowego u małp i szczurów. Znakowane komórki przeszczepiono do uszkodzonych miejsc w rdzeniu kręgowym. Efekty analizowano 15 i 60 dni po przeszczepieniu. Aksony biorcy przenikały przeszczepione komórki HAEC. W miejscach uszkodzonych nie wykształciła się blizna glejowa. Z tych pilotażowych badań wynika, że HAEC przeżywają w środowisku, do którego zostały przeszczepione. Poza tym wspierają wzrost aksonów biorcy oraz zapobiegają tworzeniu się blizny glejowej i śmierci komórek nerwowych<sup>(41)</sup>. Jak już wspomniano, HAEC mają potencjał różnicowania się do komórek syntetyzujących katecholaminy, m.in. dopaminę (DA). W ten sposób prowadzono badania nad możliwością wykorzystania HAEC jako donatora dopaminy w leczeniu choroby Parkinsona. Analizowano produkcję dopaminy przez HAEC *in vitro*, przeżywalność i funkcjonowanie przeszczepionych komórek nabłonkowych owodni

(amniotic mesenchymal stromal cells) were inactive, which confirms the multipotency of HAECs. Moreover, HAECs can also differentiate into mesodermal cells, e.g. myocytes, osteocytes and adipocytes. Miki *et al.* were the first to conduct an HAEC culture in conditions identical to those in inducing HESC differentiation into cardiomyocytes<sup>(39)</sup>. Although functional analyses have not been conducted, cardiomyocytes originating from the amniotic epithelium demonstrated the expression of cardio-specific genes and  $\alpha$ -actinin.

The fact that HAECs are easily available is their very important feature. This is an important source of stem cells for transplantation purposes that does not evoke ethical, religious or political controversy. The placenta following labor is treated as a waste product. However, the above-mentioned reports indicate that it could be an exceptional secondary biological material.

### CLINICAL APPLICATIONS OF HAECs

The possibilities of the clinical use of HAECs are great. The researchers from the Institute of Biochemistry in Shanghai have transfected HAECs with glial cell-line derived neurotrophic factor (GDNF) and with enhanced green fluorescent protein (EGFP) using lentiviral vectors. These cells were then transplanted into the brains of rats with transient middle cerebral artery occlusion. The HAECs migrated to the ischemic areas, and significantly ameliorated behavioral dysfunction and reduced the volume of ischemia<sup>(40)</sup>. Owing to some properties similar to neurons and glial cells, HAECs have been tested for their ability to repair spinal cord injuries in monkeys and rats. The labeled cells were transplanted into the damaged areas in the spinal cord. The effects were analyzed after 15 and 60 days post-transplantation. The HAEC graft was penetrated by the host axons. There was no glial scar at the damaged site. This pilot study indicates that HAECs survive in the environment to which they are transplanted. Moreover, they support the growth of host axons and prevent the formation of a glial scar and nerve cell death<sup>(41)</sup>. As has already been mentioned, HAECs have a potential to differentiate into cells that synthesize catecholamines, including dopamine (DA). It has been therefore investigated whether HAECs as dopamine donors can be used in the treatment of Parkinson's disease. *In vitro* dopamine production by HAECs as well as survival and functionality of amniotic epithelial cell grafts were tested on the rat model with Parkinson's disease. Amniotic epithelial cells transduced with *Escherichia coli lacZ* (beta-gal) gene were transplanted to the dopamine-free striatum of rats that had previously been subjected to immunosuppression. Two weeks later, HAECs were found to have survived with no signs of overgrowth, and beta-gal-positive cells were detected in the transplanted material. The results obtained evidently suggest that dopamine producing HAECs can survive in the brain and improve its function<sup>(41)</sup>.

szczurzym modelu choroby Parkinsona. Transdukowane ze znakowanym genem *Escherichia coli lacZ* (beta-gal) komórki nabłonkowe owodni przeszczepiono do opróżnionego z dopaminy prądkowia szczurów poddanych wcześniej immunosupresji. Dwa tygodnie później stwierdzono przetrwanie HAEC bez cech przerostu oraz wykazano obecność beta-gal-dodatnich komórek wewnątrz przeszczepionego materiału. Uzyskane wyniki wyraźnie wskazują, iż HAEC produkujące dopaminę mogą przeżyć w mózgu i poprawić jego funkcjonowanie<sup>(41)</sup>.

W badaniach klinicznych przeprowadzono próbę wykorzystania HAEC w odbudowie uszkodzonej powierzchni gałki ocznej. U pacjentów z długotrwałym uszkodzeniem nabłonka rogówki opornym na leczenie zastosowano kolagenowe osłonki na rogówkę zawierające HAEC, podtrzymywane przez miękkie soczewki kontaktowe. Po 72 godzinach kolagenowe osłonki uległy wchłonięciu, a soczewki kontaktowe usunięto. Takie postępowanie stosowano co tydzień, aż do uzyskania wygojenia. Grupę kontrolną stanowili ci sami pacjenci, którym tydzień wcześniej założono kolagenowe osłonki niezawierające HAEC. U chorych, których leczono osłonkami z HAEC, nastąpiło zagojenie rogówki, podczas gdy w grupie kontrolnej nie zaobserwowano poprawy<sup>(42)</sup>. Kolejną próbą klinicznego wykorzystania HAEC było ich przeszczepienie pacjentom z różnymi lizosomalnymi chorobami spichrzeniowymi. W przypadku choroby Gauchera zaobserwowano kliniczną poprawę wraz ze wzrostem beta-glukozydazy. U pacjentów z innymi chorobami spichrzeniowymi poprawa nie wystąpiła, co skłania do dalszych badań w tym kierunku<sup>(43)</sup>.

Komórki nabłonkowe owodni są już wykorzystywane w inżynierii tkankowej, przykładowo podczas tworzenia tzw. warstw komórkowych CS (*cell sheets*). Konfluentna warstwa komórek w hodowli tradycyjnej nie może być oddzielana od dna naczynia inaczej niż przez trawienie enzymem niszczącym jej spistość. W celu uzyskania warstwy nierozdzielonych komórek opracowano nową metodę pokrycia powierzchni hodowli z wykorzystaniem elastycznego białka na bazie polimeru. Poprzez obniżenie temperatury przy dodatkowej pomocy błony PVDF (*polyvinylidene difluoride*, polifluorek winylidenu) można zdjąć pierwszorzędowną warstwę komórkową z pokrytej powierzchni. Odzyskaną warstwę HAEC można przenosić, przylepiać i rozmnażać na kolejnych powierzchniach<sup>(44)</sup>, np. na kolagenowo-włóknikowej biomatrycy, zaprojektowanej w celu leczenia przedwczesnego pęknięcia błon płodowych<sup>(45)</sup>.

Dotychczas udało się wykazać, że HAEC w warunkach hodowli przyjmują część cech adypocytów, chondrocytów, osteocytów, miocytów, kardiomiocytów, neurocytów, komórek trzustki i hepatocytów, ale nie podjęto prób kierowania hodowlanych HAEC do keratynocytów. Udowodniono jednak, że mogą one różnicować się w tym kierunku *in vivo*<sup>(46)</sup>. Wykazano również, iż bliźniacze im komórki nabłonka sznura pępowinowego mogą wykazywać część cech komórek naskórka, m.in. po przeszczepieniu na mysz<sup>(47)</sup>. Zagadnienie to ma potencjalnie duże znaczenie kliniczne,

Furthermore, the role of HAECs in the restoration of the damaged eyeball has been evaluated in clinical trials. Patients with persistent and therapy-refractory corneal defects were treated with collagen shields containing HAECs supported by soft contact lenses. The collagen shields were absorbed by 72 hours, and the contact lenses were removed. This procedure was repeated every week until healing was observed. A control group consisted of the same patients who had collagen shields without HAECs placed a week before the actual treatment. The cornea of patients treated with the use of HAEC shields healed whereas no improvement was observed in the controls<sup>(42)</sup>. Another attempt of a clinical use of HAECs was their transplantation into patients with various lysosomal storage diseases. In Gaucher disease, the treatment resulted in a clinical improvement with an increase in beta-glucosidase. No improvement was observed in patients with other storage disorders, which prompts further studies in this area<sup>(43)</sup>.

Amniotic epithelial cells are already being used in tissue engineering, for instance for making so-called cell sheets (CS). The confluent cell layer in a conventional culture can be detached from the vascular bed only by digestion with an enzyme that damages its integrity. In order to obtain unseparated cells, a novel method for culture surface coating with elastic protein-based polymer has been developed. By reducing the temperature using a polyvinylidene difluoride (PVDF) membrane, the primary cell sheet can be detached from the coated surface. The recovered HAEC sheet can be transferred and can adhere and proliferate on subsequent surfaces<sup>(44)</sup>, e.g. on a collagen and fibrin biomatrix designed for the treatment of premature rupture of membranes<sup>(45)</sup>.

To date, it has been demonstrated that cultured HAECs adopt certain features of adipocytes, chondrocytes, osteocytes, myocytes, cardiomyocytes, neurocytes, pancreatic cells and hepatocytes, but there have been no attempts to direct their differentiation towards keratinocytes. However, it has been proven that such a differentiation is possible *in vivo*<sup>(46)</sup>. It has also been shown that their equivalent umbilical cord epithelial cells of rats can have certain epidermal features e.g. when transplanted into mice<sup>(47)</sup>. Potentially, this problem is of high clinical significance since HAECs exhibit immunomodulating properties and could become a valuable source of allogenic material for tissue engineering. Assuming that they can differentiate into epidermal cells, HAECs could function as the basic epithelial tissue used in skin substitutes.

It is common knowledge that numerous stem cells are capable of crossing beyond their own tissue barrier and even their germ layer. For example, stem cells of the dermis can, in appropriate conditions, restore the circulatory system and blood<sup>(48)</sup>. It is believed that the destiny of stem cells primarily depends on their surroundings and only secondarily on gene expression. Stem cells are stored in the neighborhood of the basement membranes of adjacent cells and extracellular matrix. Such an environment, called a niche,

ponieważ komórki HAEC wykazują właściwości immunomodulacyjne, stąd też mogłyby się stać wartościowym źródłem materiału allogenicznego do inżynierii tkankowej. Przy założeniu, że możliwe jest ich różnicowanie w kierunku naskórka, komórki HAEC pełniłyby funkcję podstawowej tkanki nabłonkowej wykorzystywanej w substytutach skóry.

Powszechnie wiadomo, iż wiele komórek macierzystych ma zdolność przekraczania bariery swojej tkanki, a nawet listka zarodkowego. Na przykład komórki macierzyste skóry właściwej w odpowiednich warunkach odbudowują układ krwiotwórczy i krew<sup>(48)</sup>. Uważa się, że los komórek macierzystych zależy przede wszystkim od ich otoczenia, a w mniejszym stopniu od ekspresji genowej. Komórki macierzyste są przechowywane w sąsiedztwie błon podstawnych komórek otaczających i substancji zewnątrzkomórkowej. Taka okolica, zwana niszą, podtrzymuje i umożliwia teoretycznie nieskończone podziały kilku somatycznych komórek macierzystych<sup>(49)</sup>. Nisze komórek macierzystych naskórka znajdują się w mieszczkach włosowych w okolicy określanej jako wyrzucie<sup>(50)</sup>. W ich sąsiedztwie znajdują się również komórki macierzyste skóry właściwej. Ostatnie badania naukowe dowodzą, iż genetycznie znakowane komórki macierzyste mieszczków włosowych mogą odtwarzać wszystkie kompartmenty skóry i jej przydatków<sup>(51,52)</sup>. Stąd też ogromne zainteresowanie komórkami HAEC jako potencjalnym źródłem komórek macierzystych oraz wskazywanie na ich kluczową rolę w morfogenezie skóry i jej przydatków<sup>(53)</sup>.

Komórki HAEC mogą wytwarzać wiele biologicznie aktywnych substancji. Produkują m.in. wcześniej wspomniane katecholaminy, acetylocholinę i czynnik neurotroficzny, jak również prostaglandyny<sup>(54)</sup>, transformujący czynnik wzrostu (TGF- $\alpha$ )<sup>(55)</sup>, czynnik martwicy nowotworów (*tumor necrosis factor*, TNF), interferony oraz interleukiny (IL-4, IL-8)<sup>(56)</sup>. Tsubota i wsp. oraz Tseng i wsp. dowiedli, iż przeszczepy komórek HAEC poprawiają gojenie powierzchni gałki ocznej poddanej chirurgii rekonstrukcyjnej. Mechanizm tego procesu nie został ostatecznie wyjaśniony. Część badaczy uznaje, iż komórki HAEC wykazują ekspresję mRNA dla różnych czynników wzrostu, w tym naskórkowego czynnika wzrostu (*epidermal growth factor*, EGF) i czynnika wzrostu keratynocytów (*keratinocyte growth factor*, KGF), które stymulują proliferację keratynocytów i wytwarzanie nabłonka<sup>(57,58)</sup>. Dlatego też hipoteza, iż komórki HAEC mogłyby odgrywać rolę podstawowej tkanki nabłonkowej wykorzystywanej w substytutach skóry, wydaje się coraz bardziej zasadna.

Komórkom HAEC poświęca się dużo uwagi również dlatego, iż mogą pełnić funkcję komórek odżywiających (*feeder layers*) oraz stanowić podłoże dla rozwoju różnych typów komórek macierzystych. Wytwarzają np. warstwę odżywiającą, która wspiera wzrastanie nabłonkowych, progenitorowych komórek rąbkowych *ex vivo*<sup>(59)</sup>. Komórki odżywiające HAEC wykazują także zdolność utrzymywania embrionalnych komórek macierzystych (*embryonic stem*, ES)

supports and enables theoretically infinite divisions of several somatic stem cells<sup>(49)</sup>. Epidermal stem cell niches are located in hair follicles in the area defined as a bulge<sup>(50)</sup>. They are surrounded by stem cells of the dermis. The latest research proves that genetically labelled stem cells of hair follicles can restore all skin compartments and appendages<sup>(51,52)</sup>. That is the reason for such a great interest in HAECs as a potential source of stem cells and for highlighting their crucial role in the morphogenesis of the skin and its appendages<sup>(53)</sup>.

HAECs can produce multiple biologically active substances. Among others, they produce already mentioned catecholamines, acetylcholine and neurotrophic factors as well as prostaglandins<sup>(54)</sup>, transforming growth factor (TGF- $\alpha$ )<sup>(55)</sup>, tumor necrosis factor (TNF), interferons and interleukins (IL-4, IL-8)<sup>(56)</sup>. Tsubota *et al.* and Tseng *et al.* have demonstrated that HAEC grafts facilitate ocular surface healing after repair surgeries. The mechanism of this process has not been fully elucidated. Some researchers believe that HAECs exhibit mRNA expression for various growth factors, including epidermal growth factor (EGF) and keratinocyte growth factor (KGF), which promote keratinocyte proliferation and epidermis formation<sup>(57,58)</sup>. That is why the hypothesis that HAECs could play a role of the basic epithelial tissue used in skin substitutes seems justified.

HAEC cells are given a lot of attention also because they can hold the function of feeder layers and be a medium for the growth of various types of stem cells. For instance, they produce a feeder layer that promotes the *ex vivo* expansion of limbal epithelial progenitor cells<sup>(59)</sup>. Moreover, feeder HAECs demonstrate the ability to maintain embryonic stem (ES) cells in an undifferentiated state<sup>(60)</sup>. Additionally, they have been proven to accelerate the differentiation into neurons and speed up axon growth. The latest reports suggest that HAECs can be treated as components of a neural stem cell (NSC) niche<sup>(61)</sup>.

There are few Polish reports from HAEC studies, which encourages investigations in this area. Szukiewicz *et al.* investigated  $\beta$ -defensin 3 (HBD-3) production by amniotic epithelial cells after activation of TLR4 (toll-like receptor) in chorioamnionitis. The latest reports suggest that the placental part of the amnion functions as an active barrier that reacts to pathogenic factors by the toll-like receptor. TLR4 identifies lipopolysaccharide (LPS), an endotoxin associated with Gram-negative bacteria. HAECs produce antibacterial  $\beta$ -defensin, particularly HBD-3. The study material was divided into two groups. Group 1 ( $n = 12$ ) consisted of fetal membranes obtained from pregnancies complicated with premature rupture of membranes, and group 2 ( $n = 12$ ) included fetal membranes obtained from term pregnancies terminated with a cesarean section. The concentration of HBD-3 considerably increased in group 1 compared with group 2, whereas the basic values of HBD-3 without LPS were similar in both groups. These results suggest that LPS induces TLR-4 in chorioamnionitis, and its activation causes increased HBD-3 production by amniotic epithelial cells<sup>(62)</sup>.



w niezróżnicowanym stanie<sup>(60)</sup>. Udowodniono poza tym, iż przyspieszają różnicowanie w kierunku neuronów i wzrost neurytów. Ostatnie doniesienia sugerują, że wolno potraktować HAEC jako komponent niszy nerwowych komórek macierzystych (*neural stem cells*, NSC)<sup>(61)</sup>.

Literatura polska dotycząca HAEC jest skąpa, co sprzyja zainteresowaniu pracami badawczymi dotyczącymi tej tematyki. Szukiewicz i wsp. badali wytwarzanie  $\beta$ -defensyny 3 (HBD-3) przez komórki nabłonkowe owodni po aktywacji TLR4 (*toll-like receptor*) w stanach zapalnych kosmówki i owodni. Ostatnie doniesienia sugerują, iż łożyskowa część owodni pełni funkcję aktywnej bariery, reagującej na czynniki chorobotwórcze przez *toll-like receptor*. TLR4 rozpoznaje zaś lipopolisacharyd (LPS), endotoksynę kojarzoną z bakteriami Gram-ujemnymi. HAEC produkują antybakteryjną  $\beta$ -defensynę, w szczególności HBD-3. Badany materiał podzielono na dwie grupy. Grupę I ( $n = 12$ ) stanowiły błony płodowe z cięż powikłanych zapaleniem z przedwczesnym pęknięciem błon płodowych, grupę II ( $n = 12$ ) – błony płodowe z cięż fizjologicznych, donoszonych, ukończonych cesarskim cięciem. Stężenie HBD-3 znacząco wzrosło w grupie I w porównaniu z grupą II, podczas gdy wartości podstawowe HBD-3 bez LPS były podobne w obu grupach. Wyniki te sygnalizują, iż LPS indukuje receptor TLR-4 w zapaleniu kosmówki i owodni, a jego aktywacja jest przyczyną wzrostu produkcji HBD-3 przez komórki nabłonkowe owodni<sup>(62)</sup>.

Do tej pory żadne komórki macierzyste nie wykazywały zdolności różnicowania się *in vitro* do terapeutycznie użytecznych typów komórek bądź też ich różnicowanie się nie było wystarczająco kontrolowane. Potrzebne są zatem dalsze badania w tym kierunku. Ze względu na unikalne cechy, takie jak łatwa biologiczna dostępność niebudząca etycznych kontrowersji, pluripotencjalność, niska immunogenność i brak nowotworzenia, komórki macierzyste pochodzące z nabłonka owodni wydają się obiecującym źródłem komórek w inżynierii tkankowej.

#### Konflikt interesów

*Autorzy nie zgłaszają finansowych ani osobistych powiązań z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby negatywnie wpłynąć na treść publikacji oraz rościć sobie prawo do tej publikacji.*

#### Piśmiennictwo/References

1. Grueterich M, Tseng SC: Human limbal progenitor cells expanded on intact amniotic membrane *ex vivo*. Arch Ophthalmol 2002; 120: 783–790.
2. Sato H, Shimazaki J, Shinozaki N *et al.*: Role of growth factors for ocular surface reconstruction after amniotic membrane transplantation. Invest Ophthalmol Vis Sci 1998; 39: S428.
3. Sangwan VS, Burman S, Tejwani S *et al.*: Amniotic membrane transplantation: a review of current indications in the management of ophthalmic disorders. Indian J Ophthalmol 2007; 55: 251–260.
4. Marangon FB, Alfonso EC, Miller D *et al.*: Incidence of microbial infection after amniotic membrane transplantation. Cornea 2004; 23: 264–269.

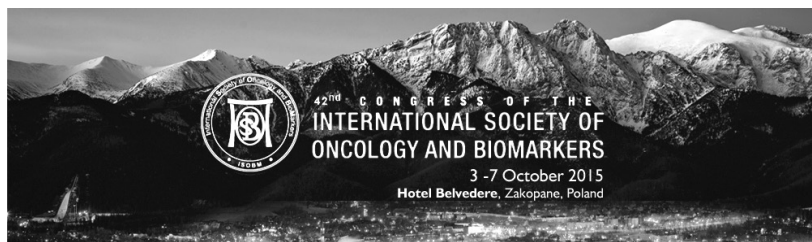
To date, no stem cells have demonstrated the capacity to differentiate *in vitro* into therapeutically applicable cell types or their differentiation was not controlled to a sufficient degree. Further research on this issue is therefore needed. Owing to unique features of these cells, such as biological availability that does not raise ethical controversy, pluripotency, low immunogenicity and no neoplastic capacity, stem cells that originate from the amniotic epithelium constitute a promising source of cells for tissue engineering.

#### Conflict of interest

*The authors do not report any financial or personal links with other persons or organizations, which might affect negatively the content of this publication or claim authorship rights to this publication.*

5. Davis JW: Skin transplantation with a review of 550 cases at the Johns Hopkins Hospital. Johns Hopkins Med J 1910; 15: 307–396.
6. Sabella N: Use of fetal membranes in skin grafting. Med Records NY 1913; 83: 478–480.
7. de Rötth A: Plastic repair of conjunctival defects with fetal membranes. Arch Ophthalmol 1940; 23: 522–525.
8. Schwab IR: Cultured corneal epithelia for ocular surface disease. Trans Am Ophthalmol Soc 1999; 97: 891–986.
9. Kruse FE, Cursiefen C: Surgery of the cornea: corneal, limbal stem cell and amniotic membrane transplantation. Dev Ophthalmol 2008; 41: 159–170.
10. Mohammad J, Shenaq J, Rabinovsky E *et al.*: Modulation of peripheral nerve regeneration: a tissue-engineering approach. The role of amnion tube nerve conduit across a 1-centimeter nerve gap. Plast Reconstr Surg 2000; 105: 660–666.
11. Miyamoto K, Hayashi K, Suzuki T *et al.*: Human placenta feeder layers support undifferentiated growth of primate embryonic stem cells. Stem Cells 2004; 22: 433–440.
12. Jin CZ, Park SR, Choi BH *et al.*: Human amniotic membrane as a delivery matrix for articular cartilage repair. Tissue Eng 2007; 13: 693–702.
13. Portmann-Lanz CB, Ochsenbein-Kölbl N, Marquardt K *et al.*: Manufacture of a cell-free amnion matrix scaffold that supports amnion cell outgrowth *in vitro*. Placenta 2007; 28: 6–13.
14. Niknejad H, Peirovi H, Jorjani M *et al.*: Properties of the amniotic membrane for potential use in tissue engineering. Eur Cell Mater 2008; 15: 88–99.
15. Tyszkiewicz JT, Uhrzynowska-Tyszkiewicz IA, Kaminski A *et al.*: Amnion allografts prepared in the Central Tissue Bank in Warsaw. Ann Transplant 1999; 4: 85–90.
16. Wilshaw SP, Kearney J, Fisher J *et al.*: Biocompatibility and potential of acellular human amniotic membrane to support the attachment and proliferation of allogeneic cells. Tissue Eng Part A 2008; 14: 463–472.
17. Parolini O, Alviano F, Bagnara GP *et al.*: Concise review: isolation and characterization of cells from human term placenta: outcome of the first international Workshop on Placenta Derived Stem Cells. Stem Cells 2008; 26: 300–311.
18. Bartel H: Embriologia. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 1999.
19. Miki T, Strom SC: Amnion-derived pluripotent/multipotent stem cells. Stem Cell Rev 2006; 2: 133–142.
20. Miki T, Marongiu F, Ellis E *et al.*: Isolation of amniotic epithelial stem cells. Curr Protoc Stem Cell Biol 2007; Chapter 1: Unit 1E.3.
21. Terada S, Matsuura K, Enosawa S *et al.*: Inducing proliferation of human amniotic epithelial (HAE) cells for cell therapy. Cell Transplant 2000; 9: 701–704.

22. Henderson JK, Draper JS, Baillie HS *et al.*: Preimplantation human embryos and embryonic stem cells show comparable expression of stage-specific embryonic antigens. *Stem Cells* 2002; 20: 329–337.
23. Pesce M, Schöler HR: Oct-4: gatekeeper in the beginnings of mammalian development. *Stem Cells* 2001; 19: 271–278.
24. Tamagawa T, Ishiwata I, Saito S: Establishment and characterization of a pluripotent stem cell line derived from human amniotic membranes and initiation of germ layers *in vitro*. *Hum Cell* 2004; 17: 125–130.
25. Mosquera A, Fernández JL, Campos A *et al.*: Simultaneous decrease of telomere length and telomerase activity with ageing of human amniotic fluid cells. *J Med Genet* 1999; 36: 494–496.
26. Akle CA, Adinolfi M, Welsh KI *et al.*: Immunogenicity of human amniotic epithelial cells after transplantation into volunteers. *Lancet* 1981; 2: 1003–1005.
27. Lefebvre S, Adrian F, Moreau P *et al.*: Modulation of HLA-G expression in human thymic and amniotic epithelial cells. *Hum Immunol* 2000; 61: 1095–1101.
28. Sakuragawa N, Tohyama J, Yamamoto H: Immunostaining of human amniotic epithelial cells: possible use as a transgene carrier in gene therapy for inborn errors of metabolism. *Cell Transplant* 1995; 4: 343–346.
29. Li H, Niederkorn JY, Neelam S *et al.*: Immunosuppressive factors secreted by human amniotic epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46: 900–907.
30. Wolbank S, Peterbauer A, Fahrner M *et al.*: Dose-dependent immunomodulatory effect of human stem cells from amniotic membrane: a comparison with human mesenchymal stem cells from adipose tissue. *Tissue Eng* 2007; 13: 1173–1183.
31. Miki T, Lehmann T, Cai H *et al.*: Stem cell characteristics of amniotic epithelial cells. *Stem Cells* 2005; 23: 1549–1559.
32. Sakuragawa N, Thangavel R, Mizoguchi M *et al.*: Expression of markers for both neuronal and glial cells in human amniotic epithelial cells. *Neurosci Lett* 1996; 209: 9–12.
33. Sakuragawa N, Misawa H, Ohsugi K *et al.*: Evidence for active acetylcholine metabolism in human amniotic epithelial cells: applicable to intracerebral allografting for neurologic disease. *Neurosci Lett* 1997; 232: 53–56.
34. Elwan MA, Sakuragawa N: Evidence for synthesis and release of catecholamines by human amniotic epithelial cells. *Neuroreport* 1997; 8: 3435–3438.
35. Kakishita K, Elwan MA, Nakao N *et al.*: Human amniotic epithelial cells produce dopamine and survive after implantation into the striatum of a rat model of Parkinson's disease: a potential source of donor for transplantation therapy. *Exp Neurol* 2000; 165: 27–34.
36. Sakuragawa N, Enosawa S, Ishii T *et al.*: Human amniotic epithelial cells are promising transgene carriers for allogeneic cell transplantation into liver. *J Hum Genet* 2000; 45: 171–176.
37. Wei JP, Zhang TS, Kawa S *et al.*: Human amnion-isolated cells normalize blood glucose in streptozotocin-induced diabetic mice. *Cell Transplant* 2003; 12: 545–552.
38. Hou Y, Huang Q, Liu T *et al.*: Human amnion epithelial cells can be induced to differentiate into functional insulin-producing cells. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2008; 40: 830–839.
39. Takahashi T, Lord B, Schulze PC *et al.*: Ascorbic acid enhances differentiation of embryonic stem cells into cardiac myocytes. *Circulation* 2003; 107: 1912–1916.
40. Liu T, Wu J, Huang Q *et al.*: Human amniotic epithelial cells ameliorate behavioral dysfunction and reduce infarct size in the rat middle cerebral artery occlusion model. *Shock* 2008; 29: 603–611.
41. Sankar V, Muthusamy R: Role of human amniotic epithelial cell transplantation in spinal cord injury repair research. *Neuroscience* 2003; 118: 11–17.
42. Parmar DN, Alizadeh H, Awwad ST *et al.*: Ocular surface restoration using non-surgical transplantation of tissue-cultured human amniotic epithelial cells. *Am J Ophthalmol* 2006; 141: 299–307.
43. Sakuragawa N, Yoshikawa H, Sasaki M: Amniotic tissue transplantation: clinical and biochemical evaluations for some lysosomal storage diseases. *Brain Dev* 1992; 14: 7–11.
44. Zhang H, Iwama M, Akaike T *et al.*: Human amniotic cell sheet harvest using a novel temperature-responsive culture surface coated with protein-based polymer. *Tissue Eng* 2006; 12: 391–401.
45. Bilic G, Hall H, Bittermann AG *et al.*: Human preterm amnion cells cultured in 3-dimensional collagen I and fibrin matrices for tissue engineering purposes. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 193: 1724–1732.
46. Fliniaux I, Viallet JP, Dhouailly D *et al.*: Transformation of amnion epithelium into skin and hair follicles. *Differentiation* 2004; 72: 558–565.
47. Sanmano B, Mizoguchi M, Suga Y *et al.*: Engraftment of umbilical cord epithelial cells in athymic mice: in an attempt to improve reconstructed skin equivalents used as epithelial composite. *J Dermatol Sci* 2005; 37: 29–39.
48. Lako M, Armstrong L, Cairns PM *et al.*: Hair follicle dermal cells repopulate the mouse haematopoietic system. *J Cell Sci* 2002; 115: 3967–3974.
49. Spradling A, Drummond-Barbosa D, Kai T: Stem cells find their niche. *Nature* 2001; 414: 98–104.
50. Tumber T, Guasch G, Greco V *et al.*: Defining the epithelial stem cell niche in skin. *Science* 2004; 303: 359–363.
51. Blanpain C, Lowry WE, Geoghegan A *et al.*: Self-renewal, multipotency, and the existence of two cell populations within an epithelial stem cell niche. *Cell* 2004; 118: 635–648.
52. Morris RJ, Liu Y, Marles L *et al.*: Capturing and profiling adult hair follicle stem cells. *Nat Biotechnol* 2004; 22: 411–417.
53. Botchkarev VA, Botchkareva NV, Roth W *et al.*: Noggin is a mesenchymally derived stimulator of hair-follicle induction. *Nat Cell Biol* 1999; 1: 158–164.
54. Blumenstein M, Hansen WR, Deval D *et al.*: Differential regulation in human amnion epithelial and fibroblast cells of prostaglandin E<sub>2</sub> production and prostaglandin H synthase-2 mRNA expression by dexamethasone but not tumour necrosis factor-alpha. *Placenta* 2000; 21: 210–217.
55. Tahara M, Tasaka K, Masumoto N *et al.*: Expression of messenger ribonucleic acid for epidermal growth factor (EGF), transforming growth factor-alpha (TGF alpha), and EGF receptor in human amnion cells: possible role of TGF alpha in prostaglandin E<sub>2</sub> synthesis and cell proliferation. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 138–146.
56. Denison FC, Kelly RW, Calder AA *et al.*: Cytokine secretion by human fetal membranes, decidua and placenta at term. *Hum Reprod* 1998; 13: 3560–3565.
57. Koizumi NJ, Inatomi TJ, Sotozono CJ *et al.*: Growth factor mRNA and protein in preserved human amniotic membrane. *Curr Eye Res* 2000; 20: 173–177.
58. Ito A, Takizawa Y, Masashige S *et al.*: Proliferation and stratification of keratinocyte on cultured amniotic epithelial cells for tissue engineering. *J Biosci Bioeng* 2003; 95: 589–593.
59. Chen YT, Li W, Hayashida Y *et al.*: Human amniotic epithelial cells as novel feeder layers for promoting *ex vivo* expansion of limbal epithelial progenitor cells. *Stem Cells* 2007; 25: 1995–2005.
60. Ito Y, Kawamorita M, Yamabe T *et al.*: Chemically fixed nurse cells for culturing murine or primate embryonic stem cells. *J Biosci Bioeng* 2007; 103: 113–121.
61. Meng XT, Chen D, Dong ZY *et al.*: Enhanced neural differentiation of neural stem cells and neurite growth by amniotic epithelial cell co-culture. *Cell Biol Int* 2007; 31: 691–698.
62. Szukiewicz D, Szweczyk G, Pyzlak M *et al.*: Increased production of beta-defensin 3 (hBD-3) by human amniotic epithelial cells (HAEC) after activation of toll-like receptor 4 in chorioamnionitis. *Inflamm Res* 2008; 57 Suppl 1: S67–S68.



Szanowni Państwo,

zapraszamy do udziału w 42. międzynarodowym Kongresie International Society of Oncology and BioMarkers (ISOBM), zatytułowanym „**Oncology in the Biomarker Era: Biology – Diagnostics – Therapy**”, który odbędzie się w dniach **3-7 października 2015 r.** w hotelu Belvedere w Zakopanem.

Kongres jest organizowany przez ISOBM we współpracy z EGTM (European Group on Tumor Markers), przy wsparciu Polskiego Towarzystwa Onkologii Klinicznej, Polskiego Towarzystwa Onkologicznego, Polskiego Towarzystwa Chirurgii Onkologicznej, Polskiego Towarzystwa Diagnostyki Laboratoryjnej oraz Polskiego Towarzystwa Biologii Komórki.

#### Tematyka sesji

- Classical Tumour Markers Present and Future
- From Tumour Biology to Biomarker-Based Decisions
- European Group for Tumour Markers Session
- Big Data for Biomarker Development
- Circulating Cancer Cells
- Molecular Therapeutics and Predictive Biomarkers
- Immunotherapy and Immunological Markers for the Management of Cancer Patients
- Biobanking/Horizon 2020
- Interdisciplinary Challenges
- Hormones in the Aetiopathogenesis of Cancer
- Liquid Biopsy
- Molecularly-driven Therapies
- Cancer Stem Cells
- Cancer Risk and Cancer Screening
- Epigenetic Profiling, Tumour-derived Nucleic Acids
- Towards Molecular Oncology – IncoNet EaP Session
- Anticancer drugs – New Developments, New Strategies
- Molecular Tracing of Metastatic/Residual Disease
- Targeting Tumour Microenvironment

**Ważne:** Wśród honorowych gości i wykładowców będą:

**prof. Aaron Ciechanover, laureat nagrody Nobla z 2004 r.**

**prof. Herbert Fritsche**

**prof. Phil Gold**

**prof. Ulf-Hakan Stenman**

W trakcie konferencji zostaną wręczone prestiżowa nagroda firmy Abbott za osiągnięcia naukowe w dziedzinie biomarkerów oraz 5 nagród Towarzystwa ISOBM dla młodych naukowców.

Kongres jest objęty Patronatem Prezydenta RP.

#### Informacje

Językiem obrad jest angielski.

Termin nadsyłania streszczeń: **10 sierpnia 2015 r.**

Wczesna rejestracja: **20 sierpnia 2015 r.**

Rejestracja i płatność: **27 sierpnia 2015 r.**

**Streszczenia** przyjętych prac publikowane będą w recenzowanym czasopiśmie „**Tumor Biology**”, które znajduje się na „liście filadelfijskiej” – wskaźnik *IF 2014 3.611*. Za udział w kongresie przewidujemy przyznawanie **międzynarodowych punktów edukacyjnych CME**. Diagnostom laboratoryjnym za udział w kongresie przyznanych będzie **31 punktów edukacyjnych Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych**.

Szczegółowe informacje, rejestracja oraz nadsyłanie streszczeń: [www.isobm-congress.pl](http://www.isobm-congress.pl)

Biuro kongresu: [bozena.chowaniec@trip.pl](mailto:bozena.chowaniec@trip.pl)

**UWAGA! Polscy uczestnicy, członkowie towarzystw naukowych, uprawnieni są do niżkowej opłaty rejestracyjnej w wysokości jak dla młodych naukowców.**

Gorąco zapraszam

*dr hab. n. med. Magdalena Chechlińska, prof. nadzw.*

*Przewodnicząca kongresu ISOBM 2015*

[isobm2015@coi.pl](mailto:isobm2015@coi.pl)

# REGULAMIN OGŁASZANIA PRAC

## INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

„**Current Gynecologic Oncology**” jest recenzowanym międzynarodowym czasopismem naukowym, publikującym prace oryginalne, poglądowe i kazuistyczne stanowiące istotny wkład w rozwój ginekologii, onkologii i endokrynologii.

„**Current Gynecologic Oncology**” publikuje też aktualne informacje o pracach towarzystw medycznych, w tym Polskiego Towarzystwa Ginekologii Onkologicznej (którego „**Current Gynecologic Oncology**” jest oficjalnym organem), Polskiego Towarzystwa Kolposkopii i Patofizjologii Szyjki Macicy oraz Polskiego Towarzystwa Hipertermii Onkologicznej, a także komentarze redakcyjne – dotyczące konkretnych artykułów, doniesienia i materiały z kongresów międzynarodowych, listy do redakcji, informacje o nowych produktach medycznych, streszczenia i omówienia artykułów publikowanych w innych czasopismach naukowych, przeglądy książek i innych publikacji.

Czasopismo jest kwartalnikiem wydawanym w języku polskim i angielskim.

Regulamin ogłaszania prac w „**Current Gynecologic Oncology**” znajduje się także na stronie internetowej czasopisma [www.ginekologia.com.pl](http://www.ginekologia.com.pl), w zakładce **Regulamin ogłaszania prac**.

### Przygotowanie prac oryginalnych, poglądowych i opisów przypadków

Prace przesyłane do „**Current Gynecologic Oncology**” należy przygotować w programie MS Word, stosując czcionkę 12 punktów (np. Arial, Times New Roman) i podwójny odstęp między wierszami. Objętość publikacji nie powinna przekraczać 20–25 stron maszynopisu.

Miary i miana należy stosować zgodnie z międzynarodowym systemem jednostek miar (SI).

Skróty należy wyjaśniać przy pierwszym ich użyciu w tekście. Nie można zamieszczać skrótów w streszczeniu.

Nie należy umieszczać rycin i tabel w tekście pracy, a jedynie zaznaczyć w artykule ich docelową lokalizację, dla przykładu: (ryc. 1), (tab. 1). Spis rycin należy przygotować na oddzielnej stronie (po spisie piśmiennictwa), a tabele umieścić na końcu pracy, za spisem rycin, każdą na oddzielnej stronie. Numer arabski tabeli i jej tytuł znajdują się powyżej tabeli. Pod tabelą, w stopce, należy zamieścić wyjaśnienie użytych skrótów. Akceptowane do druku będą jedynie wysokiej jakości ryciny, tj. w formacie \*.eps, \*.ai, \*.tif, \*.bmp lub \*.jpg, o rozdzielczości 300 dpi, szerokości 8 cm (kolumna) lub 16 cm (dwie kolumny). Zdjęcia kolorowe należy wykonać w CMYK, wykresy w programach Word, Power Point lub Excel. Nie należy stosować napisów na zdjęciach, a jedynie oznaczenia symboliczne, np. strzałki, krzyżyki, grot, które muszą być dostatecznie duże i czytelne. Ich wyjaśnienia należy zamieścić w podpisie ryciny.

W przypadku złożenia do redakcji rycin opublikowanych w innym czasopiśmie wymagana jest pisemna zgoda właściciela praw autorskich na ich ponowne wykorzystanie.

Autorzy są zobowiązani dołączyć do artykułu list przewodni, w którym pierwszy Autor w imieniu Współautorów oświadcza, iż praca nie została równocześnie złożona lub jej istotna część nie została opublikowana w innym czasopiśmie. Wzór dokumentu w wersji PDF znajduje się na stronie [www.ginekologia.com.pl](http://www.ginekologia.com.pl). Po podpisaniu należy go zeskanować i przesłać jako załącznik mailem.

### Oświadczenie o przestrzeganiu praw ludzi i zwierząt

Wszystkie badania eksperymentalne z udziałem osób lub na zwierzętach wymagają zgody komisji bioetycznej (w odniesieniu do badań medycznych z udziałem ludzi Autorów obowiązują zasady zawarte w Deklaracji Helsińskiej, a w odniesieniu do doświadczeń na zwierzętach – wytyczne *Interdisciplinary Principles and Guidelines for the Use of Animals in Research, Testing, and Education*, wydane przez New York Academy of Sciences – Ad Hoc Committee on Animal Research). Zdanie nt. uzyskania zgody komisji bioetycznej i jej numer należy zamieścić w podrozdziale Materiał i metoda.

„**Current Gynecologic Oncology**” is a peer-reviewed international medical journal that publishes original papers, reviews and case reports thus contributing to the development of gynecology, oncology and endocrinology.

„**Current Gynecologic Oncology**” also publishes updated information about the works of medical societies, including the Polish Gynecological Oncology Society (Polskie Towarzystwo Ginekologii Onkologicznej), of which “**Current Gynecologic Oncology**” is an official journal, the Polish Society of Colposcopy and Uterine Cervical Pathology (Polskie Towarzystwo Kolposkopii i Patofizjologii Szyjki Macicy) and the Polish Society for Hyperthermic Oncology (Polskie Towarzystwo Hipertermii Onkologicznej), as well as editorial commentaries concerning given articles, reports and materials from international congresses, letters to the editors, information about new medicinal products, abstracts and discussions of articles published in other scientific journals, book reviews and other publications.

The journal is a quarterly released in Polish and English versions.

The guidelines on submitting papers for publication in the “**Current Gynecologic Oncology**” are also available on the website of the journal at [www.ginekologia.com.pl](http://www.ginekologia.com.pl), by entering the tab **Instructions for Authors**.

### Preparation of original papers, reviews and case reports

The manuscripts submitted for publication in the “**Current Gynecologic Oncology**” should be prepared in the MS Word program using font 12 (e.g. Arial, Times New Roman) and double-spaced.

The volume of a paper should not exceed 20–25 standard typewritten pages.

Measures and denominations should conform to the international system of units (SI).

All abbreviations and acronyms should be explained at their first use in the text. No acronyms are allowed in abstracts.

Figures and tables should not be included in the text, but their ultimate location should be indicated, e.g. (Fig. 1), (Tab. 1). A figure legend should be presented on a separate page (beneath the references) and the tables should be placed at the end of the paper, after the figure legend, each table on a separate page. The number (using Arabic numerals) and title of the table should be placed above that table. All acronyms used should be explained under the table as footnotes. Only high-quality figures are accepted for printing, i.e. in the \*.eps, \*.ai, \*.tif, \*.bmp or \*.jpg formats with the resolution of 300 dpi and 8 or 16 cm wide (respectively for single or double columns). Color photos should be prepared in CMYK mode and graphs – in Word, Power Point or Excel programs. No inscriptions on the photos should be made; only symbolic markings are acceptable, such as arrows, crosses or arrowheads, which must be sufficiently large and legible. Their explanations should be included in the figure description.

In the case of submitting the figures already published in another journal, a written consent of the copyright owner is required for their repeated use. The authors are obliged to attach a Cover letter to their papers, where the first author on behalf of all co-authors declares that the manuscript has not been concurrently submitted for publication in a different periodical and that no significant part of it has ever been published in another journal. The PDF template of the document is available at [www.ginekologia.com.pl](http://www.ginekologia.com.pl). After signing, it should be scanned and sent as an attachment by e-mail.

### Statement of Human and Animal Rights

All experimental studies involving human subjects or animals require an approval of the local ethics committee (with respect to medical studies involving humans, authors shall conform to the principles included in the Declaration of Helsinki and with respect to experiments on animals – to the guidelines included in the *Interdisciplinary Principles and Guidelines for the Use of Animals in Research, Testing and Education*, issued by the New York Academy of Sciences – Ad Hoc Committee on Animal Research). A statement of the fact that the approval of the ethics committee has been obtained and its number should be included in the Material and Methods section.



**Świadoma zgoda na udział w badaniu**

W przypadku badań z udziałem osób konieczna jest ich pisemna świadoma zgoda na udział w badaniu. Zdanie stwierdzające, iż pacjenci wyrazili pisemną zgodę na udział w badaniu, należy zamieścić w podrozdziale Materiał i metoda, zgodnie z zasadami World Medical Association – Deklaracją Helsińską.

W tekście pracy i w materiale ilustracyjnym (ryciny, tabele) nie wolno używać nazwisk, inicjałów, numerów historii choroby ani żadnych danych, które umożliwiłyby identyfikację pacjenta.

**Deklaracja dotycząca konfliktu interesów**

W przypadku istnienia konfliktu interesów\* w Liście przewodnim należy także wyjaśnić źródło finansowania pracy (np. numer i tytuł grantu). Informacje o konflikcie interesów oraz podziękowania należy zamieścić na końcu artykułu, bezpośrednio przed spisem piśmiennictwa. W przypadku braku konfliktu interesów należy zawrzeć w pracy zdanie: *Autorzy nie zgłaszają żadnych finansowych ani osobistych powiązań z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby negatywnie wpłynąć na treść publikacji oraz rościć sobie prawo do tej publikacji* (przykład).

**Układ prac**

**Strona tytułowa** – pierwsza strona publikacji – zawiera tytuł pracy, pełne imiona i nazwiska Autorów, ich miejsca pracy, w tym nazwę ośrodka, miasto i kraj. Kolejne cyfry arabskie umieszczone po nazwisku jako przypis górny wskazują afiliację, np. Agata Kowalska<sup>1</sup>, Justyna Nowak<sup>2</sup>:

<sup>1</sup> Klinika Ginekologii Onkologicznej, Uniwersytet...

<sup>2</sup> Zakład Diagnostyki Obrazowej, Szpital...

Poniżej afiliacji należy zamieścić **Adres do korespondencji**, zawierający pełne dane osoby upoważnionej do korespondencji wraz z imieniem i nazwiskiem, adresem pocztowym, elektronicznym i numerem telefonu.

**Streszczenie** – druga strona publikacji – powinno zawierać: w pracy oryginalnej i poglądowej minimum 200, a maksimum 250 słów, w opisie przypadku minimum 100, a maksimum 150 słów. Układ streszczenia pracy oryginalnej: cel, materiał i metoda, wyniki, wnioski. W przypadku pozostałych rodzajów publikacji taki układ nie obowiązuje. W streszczeniu opisu przypadku oprócz celu i krótkiego opisu historii choroby należy zawrzeć konkluzję – informację o znaczeniu klinicznym prezentowanego przypadku. W streszczeniu nie stosuje się skrótów.

Poniżej streszczenia należy zamieścić 3–5 słów kluczowych, opierając się na katalogu Index Medicus – Medical Subject Headings ([www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html](http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html)).

**Wstęp** – opis dotychczasowej wiedzy na dany temat, który kończy przedstawienie celu pracy.

**Materiał i metoda** – opis badanej grupy pacjentów, aparatury, jakiej użyto do wykonania badania, oraz zastosowanej metody statystycznej. W tym podrozdziale należy zaznaczyć, iż uzyskano pisemną zgodę pacjentów na przeprowadzenie badania oraz – w przypadku badań eksperymentalnych – zgodę komisji bioetycznej.

**Wyniki** – przedstawione w sposób zwięzły, najlepiej w formie tabel lub diagramów.

**Omówienie** – interpretacja własnych wyników w konfrontacji z doniesieniami w literaturze.

**Wnioski** – sformułowane przejrzysto, w formie jednego lub kilku zdań.

**Informacja o konflikcie interesów** – zdanie dotyczące źródła finansowania lub informacja o braku konfliktu.

**Podziękowania** – dla osób, które przyczyniły się do powstania publikacji.

**Spis piśmiennictwa** – spis prac cytowanych w publikacji, uporządkowanych według kolejności cytowań. Jako odnośniki należy stosować cyfry arabskie, umieszczone w półkolistych nawiasach, bez spacji między przecinkiem a kolejnym numerem. W pracach oryginalnych i poglądowych można się powoływać maksymalnie na 30 pozycji piśmiennictwa, w opisach przypadków – na 15 pozycji. Skrótowe nazwy czasopism muszą być zgodne z Index Medicus. Jeżeli cytowana praca

**Statement of Informed Consent**

In the case of studies involving human subjects, their written, informed consent to the participation in the trial is necessary. A statement that such a consent has been obtained should be included in the Material and Methods section, according to the principles issued by the World Medical Association – the Declaration of Helsinki.

It is prohibited to use patients' names, initials, case history numbers or any other information that would enable the identification of the patient both in the actual text of the paper and in the illustrative material (figures, tables).

**Conflict of Interest Statement**

If there is a conflict of interest\*, the source of financing the study (e.g. number and title of a grant) should be disclosed in the Cover letter. At the end of the paper (i.e. directly before the References), the authors should include information concerning a possible conflict of interest and acknowledgements. If no conflict of interest exists, the authors should include the following statement: *The authors do not report any financial or personal connections with other persons or organizations, which might negatively affect the content of this publication and/or claim authorship rights to this publication* (an example).

**Layout of manuscripts**

**Title page** is the first page of a manuscript – it contains the title, full first and last names of all authors, their affiliations, i.e. full names of institutions, cities and countries. Consecutive Arabic numerals placed after last names as superscripts indicate the affiliated institution, e.g. Agata Kowalska<sup>1</sup>, Justyna Nowak<sup>2</sup>:

<sup>1</sup> Department of Gynecologic Oncology, University...

<sup>2</sup> Department of Imaging Diagnostics, Hospital...

The **address for correspondence** should be provided below affiliation data and should include complete details of a contact person, i.e. first and last names, postal address, electronic address and phone number.

**Abstract** – the second page of a manuscript. It should contain: for original papers and reviews between 200 and 250 words, for case reports between 100 and 150 words. The structure of the abstract of an original paper is as follows: Aim of the Study, Material and Methods, Results, Conclusions. Other types of papers do not require structured abstracts. In the abstract to a case report, apart from the aim and brief description of the disease history, conclusions should be mentioned as well – i.e. information concerning clinical relevance of the presented case. Acronyms and abbreviations are not allowed in abstracts.

Below the abstract, 3–5 key words should be provided based on the Index Medicus – Medical Subject Headings ([www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html](http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html)).

**Introduction** – description of the current knowledge concerning a particular subject which is concluded with the aim of the paper.

**Material and Methods** – description of a group of patients included in the study, equipment used and statistical methods implemented. In this section, a note should be added stating that the patients' written consent to participation in the study has been obtained and – in the case of experimental studies – the approval has been granted by the local ethics committee.

**Results** – should be presented in a clear and concise way, preferably in the form of tables or diagrams.

**Discussion** – interpretation of own results and their confrontation with literature reports.

**Conclusions** – presented clearly, in the form of one or a few sentences.

**Information about the conflict of interest** – a statement concerning the source of financing or information about the lack of such a conflict.

**Acknowledgements** – thanks to persons who contributed to the creation of the paper.

**References** – list of publications quoted in the paper, presented in the order of appearance. Arabic numerals placed in semicircular parentheses, without spaces between the comma and the following number should be used as reference marks. In original and review papers, at most 30 other publications may be referred to; in case reports – up to 15 papers. Abbreviations of the names of other journals must conform

\* Konflikt interesów występuje w sytuacji, gdy przynajmniej jeden z Autorów artykułu ma powiązania, np. finansowe, z instytucjami (poprzez inwestycje, zatrudnienie, doradztwo, honoraria itp.), które mogą mieć wpływ na jego niezależność i obiektywizm. W przypadku opracowań zawierających ocenę produktów częściowo lub całkowicie sponsorowanych przez firmy komercyjne Autorzy są zobowiązani ujawnić ten fakt w Liście przewodnim.

\* Conflict of interest exists when at least one of authors is connected, e.g. financially (by investments, employment, counseling, royalties etc.) with the institutions which might have an influence on his/her independence and objectivity. If a paper assesses particular products that are partially or entirely sponsored by commercial companies, the authors are obliged to disclose this fact in the Cover letter.

ma nie więcej niż trzech Autorów, należy wyszczególnić wszystkich. W przypadku większej liczby Autorów wystarczy podać nazwiska pierwszych trzech i dopisek *et al.* Prosimy o przestrzeganie znaków interpunkcji, tj. kropkę, dwukropków, spacji itp.

Przykłady cytowań:

- artykuł:
  1. Pereira J, Phan T: Management of bleeding in patients with advanced cancer. *Oncologist* 2004; 9: 561–570.
  2. Nyholt DR, Low SK, Anderson CA *et al.*: Genome-wide association meta-analysis identifies new endometriosis risk loci. *Nat Genet* 2012; 44: 1355–1359.
- prace opublikowane jedynie z numerem DOI:
 

Ingersoll SB, Ahmad S, McGann HC *et al.*: Cellular therapy in combination with cytokines improves survival in a xenograft mouse model of ovarian cancer. *Mol Cell Biochem* 2015. DOI: 10.1007/s11010-015-2475-2.
- książka:
 

Eskander RN, Bristow RE (eds.): *Gynecologic Oncology: A Pocketbook*. Springer, New York 2015.
- rozdział w książce:
 

Cárdenes HR, Schilder JM, Roth LM: Vagina. In: Barakat RR, Markman M, Randall ME (eds.): *Principles and Practice of Gynecologic Oncology*. 5<sup>th</sup> ed., Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2009: 591–622.

**Spis rycin** – zamieszczony za spisem piśmiennictwa, na kolejnej stronie, z użyciem numeracji arabskiej.

**Tabele** – każda na oddzielnej stronie, w nagłówku numer tabeli i jej tytuł, pod tabelą w formie przypisów wyjaśnienia skrótów zastosowanych w tabeli.

#### Przesyłanie prac do Redakcji

Prace są publikowane w „**Current Gynecologic Oncology**” w języku polskim i angielskim. Do Redakcji należy przesłać pracę w jednym z tych języków lub w obu, pod warunkiem że praca została przetłumaczona profesjonalnie. Pracę wraz z załącznikami należy przesyłać pocztą elektroniczną na adres: [redakcja@ginekologia.com.pl](mailto:redakcja@ginekologia.com.pl), załączając następujące załączniki:

1. Strona tytułowa (z danymi Autorów oraz adresem do korespondencji).
2. Artykuł (streszczenie, słowa kluczowe, tekst pracy, spis rycin i tabel).
3. Ryciny – każdą oddzielnie, zapisane w oddzielnych plikach, np. Ryc.1.tif.
4. List przewodni, do pobrania na stronie [www.ginekologia.com.pl](http://www.ginekologia.com.pl).

#### Procedura recenzowania

Procedura recenzowania artykułów w czasopiśmie opiera się na zaleceniach Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego opublikowanych w dokumencie *Dobre praktyki w procedurach recenzyjnych w nauce*.

Prace zgłaszane do publikacji w „**Current Gynecologic Oncology**” są oceniane pod względem formalnym i merytorycznym. Zakłada się, że wszyscy Współautorzy zgadzają się na publikację zgłoszonej pracy i że podpis Autora odpowiedzialnego za korespondencję potwierdza zgodę pozostałych Współautorów.

Prace zgłoszone do publikacji są najpierw oceniane pod względem formalnym przez Redaktora Prowadzącego. Prace niepełne albo niespełniające wymogów są odsyłane do Autorów z prośbą o ich poprawienie. Prace spełniające wymogi formalne podlegają dalszej ocenie. Każda praca jest rejestrowana pod konkretnym numerem, a następnie przesyłana do oceny dwóm niezależnym Recenzentom – uznanym specjalistom w dziedzinie, której dotyczy artykuł, spoza jednostki, w której afiliowani są Autorzy artykułu, niepozostającym z nimi w konflikcie interesów (podległość zawodowa, pokrewieństwo, bezpośrednia współpraca naukowa w ciągu ostatnich dwóch lat poprzedzających przygotowanie recenzji). Redakcja „**Current Gynecologic Oncology**” stosuje model recenzji typu *double-blind review*, tzn. Autorom nie są ujawniane nazwiska Recenzentów i odwrotnie – Recenzenci nie znają tożsamości Autorów i pozostałych Recenzentów. Niemniej w trosce o jawność i transparentność procedury redakcja w ostatnim numerze w danym roku kalendarzowym, a także na stronie internetowej czasopisma publikuje listę wszystkich Recenzentów oceniających prace w minionym roku kalendarzowym. Proces recenzowania trwa 2 tygodnie. Recenzenci przedstawiają merytoryczne uzasadnienie oceny pracy i wyrażają

do the Index Medicus. If the quoted paper has no more than three co-authors, they should all be listed. If there are more co-authors, the first three should be listed, followed by *et al.* Please observe punctuation marks, i.e. full stops, colons, spaces, etc.

Example references:

- articles:
  1. Pereira J, Phan T: Management of bleeding in patients with advanced cancer. *Oncologist* 2004; 9: 561–570.
  2. Nyholt DR, Low SK, Anderson CA *et al.*: Genome-wide association meta-analysis identifies new endometriosis risk loci. *Nat Genet* 2012; 44: 1355–1359.
- papers published with a DOI number only:
 

Ingersoll SB, Ahmad S, McGann HC *et al.*: Cellular therapy in combination with cytokines improves survival in a xenograft mouse model of ovarian cancer. *Mol Cell Biochem* 2015. DOI: 10.1007/s11010-015-2475-2.
- books:
 

Eskander RN, Bristow RE (eds.): *Gynecologic Oncology: A Pocketbook*. Springer, New York 2015.
- chapters in books:
 

Cárdenes HR, Schilder JM, Roth LM: Vagina. In: Barakat RR, Markman M, Randall ME (eds.): *Principles and Practice of Gynecologic Oncology*. 5<sup>th</sup> ed., Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2009: 591–622.

**List of Figures** should be placed on a separate page beneath the references using Arabic numerals.

**Tables** – each on a separate page. The heading should contain the number and title of the table. The abbreviations and acronyms used should be explained below the table as footnotes.

#### Delivering the manuscripts

The papers in “**Current Gynecologic Oncology**” are published in Polish and English versions. Manuscripts may be sent to the Editorial Office in one or both languages, on the condition that the translation is a professional one. The manuscripts with all their attachments should be sent via e-mail to the address: [redakcja@ginekologia.com.pl](mailto:redakcja@ginekologia.com.pl). The following should be enclosed:

1. Title page (with details concerning co-authors and address for correspondence).
2. Manuscript (abstract, key words, main text, list of figures and tables).
3. Figures – each as a separate file, e.g. Fig.1.tif.
4. Cover letter to be downloaded from [www.ginekologia.com.pl](http://www.ginekologia.com.pl).

#### Peer-review procedure

The review procedure conforms to the recommendations of the Ministry of Science and Higher Education published in the document *Good practice in peer-review procedures in science*.

The manuscripts submitted for publication in the “**Current Gynecologic Oncology**” are evaluated in terms of their content and formal requirements. It is assumed that all co-authors agree for the publication of the submitted paper and that the signature of the author responsible for correspondence confirms the consent of all others.

The manuscripts submitted for publication are first assessed with respect to their formal requirements by the Managing Editor. Incomplete papers or those that do not fulfill the above-listed requirements are sent back to their authors for correction. The papers that fulfill all formal requirements undergo further evaluation. Each manuscript is registered under a specific number and sent for review to two independent reviewers – recognized experts in the field the paper relates to who are not affiliated with the authors’ institutions and have no conflict of interest with the authors (kinship, professional dependency or direct scientific cooperation over the period of two years preceding the peer-review). The Editorial Board of “**Current Gynecologic Oncology**” uses the “double-blind review” model, i.e. the identity of the reviewers is not revealed to the authors and vice versa – the reviewers do not know the identity of the authors and the remaining reviewers. Nevertheless, for the sake of transparency and clearness of the procedure, in the first issue of the quarterly in a given year and on its web site, the Editorial Board publishes a list of all reviewers that evaluated the manuscripts in the previous year. The peer-review procedure lasts 2 weeks. The reviewers are obliged to provide a content-related justification for their evaluation of the submitted paper

jednoznaczną opinię na jej temat, wybierając jedną z poniższych możliwości:

- praca nadaje się do druku bez dokonywania poprawek;
- praca nadaje się do druku po dokonaniu niewielkich poprawek według wskazówek Recenzenta, bez konieczności ponownej recenzji;
- praca nadaje się do druku po jej przeredagowaniu zgodnie z uwagami Recenzenta i po ponownej recenzji pracy;
- praca nie nadaje się do druku.

Po uzyskaniu pozytywnej opinii Recenzentów artykuł zostaje skierowany do druku. W przypadku rozbieżności w ocenie Redaktor Naczelny prosi o opinię trzeciego Recenzenta. Cały cykl redakcyjny nie przekracza 3 miesięcy.

#### Rzetelność naukowa

Redakcja „**Current Gynecologic Oncology**” zwraca uwagę, że dowodem etycznej postawy pracownika naukowego oraz najwyższych standardów redakcyjnych jest jawność informacji o podmiotach przyczyniających się do powstania publikacji (wkład merytoryczny, rzeczowy, finansowy etc.), co jest przejawem nie tylko dobrych obyczajów, ale także społecznej odpowiedzialności. Przypominamy, że Autorzy publikacji są zobowiązani prezentować rezultaty swojej pracy w sposób przejrzysty, rzetelny i uczciwy. Szczególnymi przejawami nierzetelności są tzw. *ghostwriting* oraz *guest authorship*:

- ze zjawiskiem *ghostwritingu* mamy do czynienia wówczas, gdy Autorzy pracy nie ujawnili osoby, która wniosła istotny wkład w powstanie publikacji – nie została ona wymieniona jako jeden z Autorów lub w podziękowaniach zamieszczonych w publikacji;
- nieetyczna postawa *guest authorship* dotyczy sytuacji, gdy udział Autora jest znikomy lub w ogóle nie miał miejsca, a mimo to jest on Współautorem publikacji.

Redakcja oświadcza, że Autorzy publikacji ponoszą za nią pełną odpowiedzialność, a wszelkie wykryte przypadki nierzetelności będą ujawniane. W dokumencie List przewodni dołączanym do pracy Autorzy są proszeni o ujawnienie wkładu w powstanie publikacji, przy czym główną odpowiedzialność ponosi Autor zgłaszający manuskrypt.

#### Prawa autorskie

„**Current Gynecologic Oncology**” jest czasopismem otwartym (*open journal*), dostępnym w postaci elektronicznej – m.in. na stronie czasopisma [www.ginekologia.com.pl](http://www.ginekologia.com.pl) – bez opłat i innych barier na licencji Creative Commons Uznanie autorstwa – Użycie niekomercyjne – Bez utworów zależnych (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>) – CC BY-NC-ND (pewne prawa zastrzeżone na rzecz wydawcy i autorów). Licencja ta zezwala na rozpowszechnianie, przedstawianie i wykonywanie utworu jedynie w celach niekomercyjnych oraz pod warunkiem zachowania go w oryginalnej postaci (niestworzenia utworów zależnych). Decydując się na publikację artykułu w „**Current Gynecologic Oncology**”, autor wyraża zgodę na udostępnienie na powyższych zasadach oraz gwarantuje, że artykuł nie narusza praw osób trzecich.

and express unambiguous opinion by selecting one of the following options:

- the paper is ready for publication without any corrections;
- the paper can be published after minor corrections have been introduced in accordance with the reviewer's recommendations, without the need for a repeated review;
- the paper can be published after its correction in accordance with the reviewer's comments and after a repeated review;
- the paper should not be published.

Upon obtaining a positive opinion of both reviewers, the manuscript is accepted for printing. In the case of divergent opinions, the Editor-in-Chief requests the opinion of the third reviewer. The entire editorial process does not exceed 3 months.

#### Scientific reliability

The Editorial Board of the “**Current Gynecologic Oncology**” draws attention to the fact that the transparency and availability of information on the persons that have contributed to the creation of a paper (content-related, material, financial contribution etc.) constitutes the evidence of the researcher's ethical attitude and of the highest editorial standards. Not only does it reflect good practice, but also is a manifestation of social responsibility. We remind that the authors of publications are obliged to present the results of their studies in a transparent, reliable and honest way. Particular forms of scientific dishonesty are ghostwriting and guest authorship:

- the phenomenon of ghostwriting occurs, when the authors of a paper do not reveal the name of the person who significantly contributed to the creation of that paper – the name is not mentioned either as a co-author or in the Acknowledgements section;
- the unethical instance of guest authorship is a situation, when the contribution of one of the authors is negligible or none, but they are still listed as the co-authors of the publication.

The Editorial Board declares that the authors of the published papers assume full responsibility for their publications and all detected cases of dishonesty will be disclosed. In the Cover letter attached to the manuscript, the authors are asked to reveal their actual contribution to the submitted article, whereby the author who submits the manuscript assumes the major responsibility.

#### Copyright

“**Current Gynecologic Oncology**” is an open journal, available online on, among others, [www.ginekologia.com.pl](http://www.ginekologia.com.pl). It can be accessed free of charge and with no other barriers on the basis of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>) – CC-BY-NC-ND (certain rights reserved for the publisher and authors). The license allows for redistribution, presentation and preparation of the material for non-commercial purposes only, as long as it remains in its original form (without creating derivative works). When deciding to publish an article in “**Current Gynecologic Oncology**”, the author consents to its redistribution on the aforementioned terms and guarantees that the article does not infringe the rights of the third party.