

Zastosowanie oceny stref organizatorów jąderkowych (AgNORs) w onkologii ginekologicznej

The assessment of argyrophylic nucleolar organizer regions (AgNORs) in gynecological oncology

Leszek Gottwald¹, Marian Danilewicz², Jerzy Korczyński¹, Andrzej Bieńkiewicz¹

Metoda AgNORs (argyrophylic nucleolar organizer regions), czyli jednostopniowe srebrzenie koloidowe regionów organizatorów jąderkowych jest jedną z najczęściej stosowanych metod w celu oceny ploidii i proliferacji komórkowej. W pracy dokonano przeglądu piśmiennictwa dotyczącego zastosowania tej metody w onkologii. Szczególną uwagę poświęcono możliwym korzyściom płynącym z zastosowania tej prostej, mało kosztownej, a jednocześnie bardzo użytecznej metody oceny agresywności nowotworu w ginekologii onkologicznej.

Słowa kluczowe: proliferacja komórkowa, strefy organizatorów jąderkowych, nowotwory złośliwe

(Przegląd Menopauzalny 2005; 1: 28–32)

Ciągle niezadowolające wyniki leczenia chorych z nowotworami narządów płciowych powodują konieczność kontynuacji badań nad biologią tych nowotworów, w celu opracowania optymalnych schematów diagnostycznych i leczniczych. Z wielu względów w codziennej praktyce klinicznej u pacjentów z chorobą nowotworową duże znaczenie mają proste i niezbyt kosztowne metody oceny agresywności nowotworu. Do takich badań należy ocena stref organizatorów jąderkowych komórek nowotworowych (AgNORs, *argyrophylic nucleolar organizer regions*), czyli jednostopniowe srebrzenie koloidowe regionów organizatorów jąderkowych. Metoda opiera się na

fakcie, że podstawową cechą procesu transformacji nowotworowej jest wzrost syntezy białek jako konsekwencja zwiększenia syntezy rybosomalnego RNA [1, 2].

Strefy organizatorów jąderkowych są to segmenty metafazowych chromosomów, wokół których podczas telofazy podziału komórkowego tworzą się jąderka. NORs zlokalizowane są w okolicach przewężeń wtórnych chromosomów akrocentrycznych, czyli chromosomów 13., 14., 15., 21. i 22. pary. W ich skład wchodzi DNA kodujące rybosomalny RNA związane z niehistonowymi białkami. Białka związa-

¹Klinika Ginekologii Onkologicznej Katedry Onkologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi; kierownik Kliniki: prof. nadzw. dr hab. med. Andrzej Bieńkiewicz

²Zakład Neuropatologii Katedry Patomorfologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi; kierownik Zakładu: prof. dr hab. med. Małgorzata Wągrowa-Danilewicz



ne z NORs podczas mitozy to duża podjednostka polimerazy pierwszej RNA i czynnik transkrypcyjny UBF. Odpowiadają one liczbie i wielkości stref organizatorów jąderkowych i mogą być uwidocznione za pomocą srebrzenia. W mikroskopie świetlnym są one wtedy widoczne jako czarne lub ciemnobrązowe ziarnistości w obrębie jądra komórkowego. Uważa się, że metafazowe ziarnistości AgNORs są znacznikami aktywnych stref organizatorów jąderkowych, a więc odpowiadają tym genom rybosomalnym, które ulegają ekspresji w interfazie [1, 3, 4–7]. Podczas interfazy AgNORs białka zlokalizowane są w centrach fibrylarnych i w gęstym składniku fibrylarnym jąderka. Wykazano, że białka C 23 (nukleolina) i B 23 (numatrina; NO 38) są głównymi AgNORs proteinami podczas interfazy [4, 8]. Zadaniem nukleoliny są interakcje z chromatyną i prerybosomami. Numatrina może natomiast odgrywać istotną rolę w procesie łączenia białek rybosomalnych w rybosomy [4, 7, 8].

Potwierdzono, że zwiększenie ilości białek C 23 i B 23 *in vivo* w komórkach wątroby szczurów, jak również w hodowlach *in vitro*, jest związane z fazą cyklu komórkowego, ale niekoniecznie z transkrypcją genu dla rRNA. Podczas przejścia komórek z fazy G₁ do fazy S poziom nukleoliny gwałtownie rośnie. Ilość numatriny również wykazuje stały wzrost od fazy G₁ i uzyskuje maksymalne wartości, gdy większość komórek osiąga fazę G₂. Zwiększone poziomy białek AgNORs wskazują więc, że większość komórek jest w fazie S-G₂, a tylko niewielka ich część znajduje się w fazie G₁ [4, 8]. Jest to cecha charakterystyczna dla komórek szybko dzielących się. Do takich komórek należą komórki nowotworowe [2, 8]. W licznych badaniach ustalono, że w komórkach tkanek prawidłowych na 1 jądro komórkowe przypada 1–2 ziarnistości AgNOR. Większa od 2 liczba AgNORs wskazuje na zwiększoną liczbę chromosomów akrocentrycznych, co z kolei odpowiada podwyższonej zawartości DNA lub aneuploidii [5, 9]. Zawartość powyżej 3 ziarnistości w jądrze komórki ma być charakterystyczna dla nowotworów złośliwych [2, 10–19]. Wielokrotnie już potwierdzono, że im nowotwór złośliwy jest mniej zróżnicowany (wyższy *grading*), a co za tym idzie – im bardziej agresywny, tym liczniej w jego komórkach występują ziarnistości AgNORs [11, 15, 19, 20–31]. Są jednak nieliczne prace, których autorzy nie potwierdzili tej ostatniej zależności [10, 32].

Obecnie w wyspecjalizowanych pracowniach histopatologicznych, po specjalnym przygotowaniu preparatów, ocenę srebrzonych stref organizatorów jąderkowych w komórkach nowotworów przeprowadza się, wykorzystując komputerowe systemy do analizy

obrazu, współpracujące z kamerą telewizyjną, sprzężoną z mikroskopem badawczym, pracujące pod kontrolą systemu pomiarowego. W praktyce stosuje się 2 metody analizy AgNORs, a ziarnistości zlicza się wykorzystując półautomatyczne funkcje systemu [4, 12, 19]. Należy jednak podkreślić, że możliwe, jednak znacznie bardziej pracochłonne jest dokonanie analizy AgNORs z użyciem samego tylko mikroskopu świetlnego w powiększeniu 400 razy [1, 3, 5, 6]. Pierwsza z metod polega na ocenie średniej liczby stref organizatorów jąderkowych w komórkach nowotworu (mAgNOR), a w drugiej oblicza się odsetek komórek nowotworu zawierających 5 lub więcej NORs (pAgNOR). Uważa się, że mAgNOR odpowiada ocenie ploiddii nowotworu, natomiast pAgNOR odzwierciedla aktywność proliferacyjną guza [3, 5, 27, 33]. Opisano także trzecią metodę – ocenę liczby ziarnistości przypadających na jednostkę powierzchni jądra komórkowego [19, 33].

Pierwsze doniesienia, dotyczące zastosowania oceny AgNORs w diagnostyce nowotworów pochodzą z lat 80. XX w. [34, 35]. Od tego czasu obserwuje się stały wzrost zainteresowania tą tanią i prostą, a jednocześnie użyteczną metodą. Piśmiennictwo dotyczące jej zastosowania w nowotworach sutka, żołądka, jelita grubego, górnych dróg oddechowych, płuc, pęcherza moczowego, gruczołu krokowego, jąder, ośrodkowego układu nerwowego oraz w białaczkach i chłoniakach jest już bogate [2, 7, 11, 20, 21, 27, 29, 36–39]. W piśmiennictwie dostępne są także prace, oceniające potencjalną wartość metody AgNORs w różnicowaniu komórek z płynu otrzewnowego. Uzyskane wyniki porównywano z rutynowym badaniem cytologicznym. Otrzymywano sprzeczne wyniki. Sujathan i wsp. ocenili 100 preparatów pogrupowanych cytologicznie jako: niepodjęzane o obecność komórek raka; z niejednoznacznym obrazem cytologicznym i ze stwierdzonymi komórkami nowotworu. Stwierdzili szczególnie dużą przydatność metody w przypadkach ocenianych cytologicznie jako niejednoznaczne [40]. Z kolei Carillo i wsp. na podstawie badania 38 preparatów podzielonych na 3 grupy, jak w powyżej opisanym badaniu, nie potwierdził przydatności oceny AgNORs do różnicowania charakteru płynu otrzewnowego [41]. Jak dotąd kwestia przydatności metody AgNORs w diagnostyce płynu z jamy otrzewnej pozostaje nierozwiązana.

Ocena AgNORs znalazła już także zastosowanie w onkologii ginekologicznej w przypadkach raka szyjki i trzonu macicy oraz nowotworów jajnika. Postuluje się także jej użyteczność w odniesieniu do choroby trofoblastycznej oraz raka sromu [10, 42].



Rak szyjki macicy

Wzbogacenie diagnostyki mikroskopowej zmian z szyjki macicy o srebrzenie skrawków metodą AgNOR wg niektórych autorów posiada wartość w ocenie transformacji nowotworowej zmian przedrakowych i w prognozowaniu klinicznego przebiegu choroby nowotworowej [13, 14, 19, 30, 43]. Według Cardillo ocena AgNORs może być pomocna w różnicowaniu trudnych przypadków cytologii szyjki macicy [44]. W tkance nabłonka szyjki macicy średnia liczba AgNORs przypadająca na 1 jądro komórkowe dla normotypowego nabłonka płaskiego nie przekracza 2 ziarnistości i wartości te zwiększają się w CIN I, CIN II, aż do około 4–5,5 w CIN III/CIS i 4–14 w nowotworach inwazyjnych [13, 14, 19, 30]. Różniczości pomiędzy powyższymi wartościami u różnych autorów mogą wynikać oprócz samej biologii tych zmian także ze sposobu utrwalania materiału, grubości ocenianych skrawków, jak i z procedury samego liczenia. W komórkach nowotworowych ziarnistości przyjmują bowiem często postać agregatów [19]. Ewentualne istnienie zależności pomiędzy większą liczbą AgNORs, a lepszą odpowiedzią raka szyjki macicy na radioterapię pierwszego rzutu, choć wstępnie już zostało potwierdzone, to jednak wymaga wielu dalszych badań [6, 45].

Rak trzonu macicy

W odniesieniu do zmian przedrakowych i gruczolakoraka trzonu macicy również postuluje się potencjalną przydatność metody AgNORs. W przeprowadzonych badaniach stwierdzano w jądrach komórkowych prawidłowego nabłonka 0–2 ziarnistości, następnie odnotowywano stopniowe zwiększanie się liczby AgNORs do 5 w zmianach o charakterze od rozrostu prostego bez atypii do złożonego z atypią. W gruczolakorakach endometrium uzyskiwano wartości mAgNOR powyżej 4 i stwierdzano zwiększanie się liczby ziarnistości w nowotworach mniej zróżnicowanych [15, 18, 22, 25, 35, 46]. Podobnie jak w raku szyjki macicy, postuluje się ocenę AgNORs w ustalaniu przynależności chorych na ten nowotwór do grup wysokiego i niskiego ryzyka [15, 35, 46].

Nowotwory jajnika

W nowotworach jajnika również potwierdzono, że liczba zgrupowań ziarnistości, pojedynczych AgNORs oraz łączna liczba tych ziarnistości wykazują istotny wzrost od zmian łagodnych przez guzy graniczne do nowotworów złośliwych i zależności te są silniej wyrażone w podgrupie nowotworów nabłonkowych

podtypu surowiczego niż śluzowego [9, 12, 16, 17, 23, 26, 32, 33, 47]. Potwierdzono już, że podobnie jak w przypadkach innych nowotworów, liczba AgNORs rośnie wraz ze wzrostem zaawansowania klinicznego raków jajnika, natomiast w przeciwieństwie do wyników Kumar i wsp. dotyczących raka sutka [27], nie stwierdzono tu dodatniej korelacji pomiędzy wielkością guza pierwotnego, a AgNORs komórek nowotworu, co może świadczyć o dużej agresywności raka jajnika [24]. Szczególnie ciekawą perspektywą jest możliwość stosowania metody AgNORs w nowotworach jajnika o granicznej złośliwości [12, 23, 26].

W pojedynczych pracach badano też zależność pomiędzy liczbą AgNORs w komórkach raków jajnika, a odpowiedzią tych nowotworów na chemioterapię oraz wpływ chemioterapii na AgNORs komórek nowotworowych [10, 33, 34, 47, 48]. H. Muso [48] zbadał w tym celu parametry ziarnistości w preparatach pooperacyjnych 58 raków jajnika przed chemioterapią. Stwierdził w 37 przypadkach, w których nie uzyskano remisji liczbę AgNORs istotnie wyższą, niż w komórkach raków, które odpowiedziały na chemioterapię. Zaobserwował, że spośród 5 raków, w stosunku do których nie uzyskano remisji, a w których wykonano powtórny operację, w 4 przypadkach liczba ziarnistości AgNORs uległa zwiększeniu. Z powyższych wyników autor wyciągnął wniosek, że liczba NORs jest parametrem użytecznym do prognozowania reakcji raka jajnika na kursy chemioterapii [48]. W materiale Gottwalda i wsp., większej liczbie ziarnistości AgNORs w preparatach z pierwszej operacji raka jajnika towarzyszyła lepsza odpowiedź na chemioterapię pierwszego rzutu taksanami i karboplatiną. Odległe efekty leczenia były jednak u tych chorych gorsze [12]. Autorzy ci stwierdzili także zmniejszenie liczby AgNORs po chemioterapii, co można wytłumaczyć obniżeniem odsetka komórek proliferujących wśród wszystkich komórek nowotworu [49]. Liczba AgNORs w ich badaniu lepiej korelowała z efektem chemioterapii niż zróżnicowanie histologiczne ocenianych surowicznych raków jajnika [34].

Wobec ciągłego poszukiwania skutecznych metod wczesnego i trafnego diagnozowania, różnicowania i właściwego leczenia nowotworów złośliwych, zwrócenie uwagi na znaną, tanią, choć dość rzadko wykorzystywaną metodę wydaje się uzasadnione. Większość doniesień z piśmiennictwa wskazuje bowiem na potencjalnie dużą wartość tej metody. Być może uzupełnienie rutynowych badań histologicznych, przynajmniej u części osób z chorobą nowotworową, o ocenę AgNORs, w celu oceny faktycznej agresywności guza, mogłoby wnieść przydatne informacje do zindywidualizowania procesu terapeutycznego u tych chorych.



Summary

In the literature the assessment of proliferative activity of the malignant tumour has been found as the potential independent prognostic factor. The number of nucleolar organizer regions (NORs) per nucleus has been found as a good marker of the proliferative activity of various cancers. In the paper we discussed the usefulness of the AgNOR method in oncology, especially in gynecological oncology.

Key words: cell proliferation, nucleolar organizer regions, malignant neoplasms

Piśmiennictwo

1. Howell WM, Black DA. *Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method*. *Experientia* 1980; 36: 1014-5.
2. Ofner D, Schmid KW. *Standardized AgNOR analysis: its usefulness in surgical oncology*. *Histochem Cell Biol* 1996; 106 (2): 193-6.
3. Crocker J, Boldy D, Egan M. *How should we count AgNORs? Proposals for a standardized approach*. *J Pathol* 1989; 158: 185-8.
4. Heliot L, Mongelard F, Klein C, et al. *Nonrandom distribution of metaphase AgNOR staining patterns on Human acrocentric chromosomes*. *J Histochem Cytochem* 2000; 48 (1): 13-20.
5. Lindner LE. *Improvements in the silver-staining technique for nucleolar organizer regions (AgNOR)*. *J Histochem Cytochem* 1993; 41 (3): 439-45.
6. Ploton D, Menager M, Jeannesson P, et al. *Improvement in the staining and in the visualization of the argyrophilic proteins of the Nucleolar Organizer Regions at the optical level*. *Histochem J* 1986; 18: 5-14.
7. Torres-Montanera A, Bolívar J, Astolad A, et al. *Immunohistochemical detection of ribosomal transcription factor UBF and AgNOR staining identify apoptotic events in neoplastic cells of Hodgkin's disease and in other lymphoid cells*. *J Histochem Cytochem* 2000; 48: 1521-30.
8. Sirri V, Roussel P, Hernandez-Verdun D. *The AgNOR proteins: qualitative and quantitative changes during the cell cycle*. *Micron* 2000; 31 (2): 121-6.
9. Ghazizadeh M, Sasaki Y, Araki T, et al. *Prognostic value of proliferative activity of ovarian carcinoma as revealed by PCNA and AgNOR analyses*. *Am J Clin Pathol* 1997; 107 (4): 451-8.
10. Brustmann H, Naude S. *Expression of topoisomerase II alpha, Ki-67, proliferating cell nuclear antigen, p53, and argyrophilic nucleolar organizer regions in vulvar squamous lesions*. *Gynecol Oncol* 2002; 86 (2): 192-9.
11. Ceccarelli C, Trere D, Santini D, et al. *AgNORs in breast tumours*. *Micron* 2000; 31 (2): 143-149.
12. Gottwald L, Danilewicz M, Suzin J, et al. *Ilościowa ocena stref organizatorów jąderkowych (AgNORs) w surowiczych nowotworach nabłonkowych jajnika*. *Prz Menopauz* 2003; 2: 38-41.
13. Gottwald L, Danilewicz M, Suzin J i wsp. *Ilościowa ocena stref organizatorów jąderkowych (AgNORs) w surowiczych nowotworach nabłonkowych jajnika*. *Prz Menopauz* 2003; 2: 38-41.
14. Terlikowski S, Dziecioł J, Mazurek A, et al. *A morphometric study of nucleolar organizer regions in cervical intraepithelial neoplasia*. *Folia Morphol (Warsz)* 2004; 63 (2): 209-12.
15. Terlikowski S, Lenczewski A, Famulski W, et al. *Proliferative activity in endometrial hyperplasia and adenocarcinoma*. *Folia Histochem Cytobiol* 2001; 39 (2): 163-4.
16. Terlikowski S, Lenczewski A, Famulski W, et al. *Expression of nucleolar organizer regions (NORs) in ovarian epithelial tumors*. *Folia Histochem Cytobiol* 2001; 39 (2): 161-2.
17. Terlikowski S, Lenczewski A, Sulkowska M, et al. *Heterogenność nowotworów nabłonkowych jajnika w analizie ekspresji białek regionów organizatorów jąderkowych*. *Gin Pol* 2000; 71 (9): 1194-7.
18. Terlikowski S, Lenczewski A, Sulkowski S, et al. *Nucleolar organizer regions in differentiated preneoplastic and neoplastic endometrial lesions*. *Gynecol Obstet Invest* 1999; 47 (3): 205-9.
19. Wierchniewska A. *Przydatność ilościowej oceny stref organizatorów jąderkowych (AgNORs) oraz niektórych parametrów morfometrycznych jądra komórkowego w diagnostyce różnicowej wybranych zmian patologicznych szyjki macicy*. Praca doktorska. AM Łódź 1997.
20. Carvalhol PE, Antonangelo L, Bernardi F, et al. *Useful Prognostic Panel Markers to Express the Biological Tumor Status in resected Lung Adenocarcinomas*. *Jpn J Clin Oncol* 2000; 30 (11): 478-86.
21. Chiusa L, Galliano D, Formiconi A, et al. *High and low risk prostate carcinoma determined by histologic grade and proliferative activity*. *Cancer* 1997; 79 (10): 1956-63.
22. Giuffre G, Fulcheri E, Gualco M, et al. *Standardized AgNOR analysis as a prognostic parameter in endometrial carcinoma, endometrioid type*. *Anal Quant Cytol Histol* 2001; 23 (1): 31-9.
23. Gottwald L, Danilewicz M, Suzin J, et al. *The assessment of the relationship between AgNOR counts in serous ovarian cancer and its histologic grading and clinical staging*. *Pol J Gynaecol Invest* 2003; 5 (4): 405-8.
24. Gottwald L, Danilewicz M, Suzin J, et al. *Ocena zależności pomiędzy zróżnicowaniem histologicznym i wybranymi parametrami klinicznymi surowiczego raka jajnika a liczbą streforganizatorów jąderkowych (AgNORs) w komórkach nowotworu*. *Gin Pol* 2004; 75 (10): 770-5.
25. Kaushik R, Sharma S, Mahajan V, et al. *AgNORs in endometrial lesions*. *Indian J Pathol Microbiol* 1999; 42 (4): 451-4.
26. Khattech A, Spatz A, Prade M, et al. *Nucleolar organizer regions in ovarian tumors: discrimination between carcinoma and borderline tumor*. *Int J Pathol* 1992; 11 (1): 11-4.
27. Kumar A, Kushwaha AK, Kumar M, et al. *Argyrophilic nucleolar organizer regions: their value and correlation with clinical prognostic factors in breast carcinoma*. *J Surg Oncol* 1997; 65 (3): 201-4.
28. Mauri FA, Scampini S, Aldovini D, et al. *AgNOR distribution in serous tumours of the ovary*. *Pathologica* 1990; 82 (1081): 487-92.
29. Nakae S, Nakamura T, Ikegawa R, et al. *Evaluation of argyrophilic nucleolar organizer region and proliferating cell nuclear antigen in colorectal cancer*. *J Surg Oncol* 1998; 69 (1): 28-35.
30. Pahuja S, Choudhury M, Gupta U. *Proliferative activity in squamous intraepithelial and invasive lesions of cervix: analysis by AgNOR staining*. *Indian J Pathol Microbiol* 2003; 46 (4): 573-5.
31. Zengeroglu S, Aksakal O, Demirturk F, et al. *Prognostic importance of the nucleolar organizer region score in ovarian epithelial tumors*. *Gynecol Obstet Invest* 2001; 51 (1): 60-3.
32. Terlikowski S, Sulkowski S, Lenczewski A, et al. *Study of borderline and invasive mucinous ovarian tumors using Ki-67 (MIB 1) antibodies and nucleolar organizer region (NOR) staining*. *Arch Gynecol Obstet* 1999; 263 (1-2): 29-33.
33. Criscuolo M, Martinelli AM, Migaldi M, et al. *Prognostic significance of nucleolar organizer regions in ovarian epithelial tumors*. *Int J Gynecol Pathol* 1993; 12 (3): 259-63.
34. Gottwald L, Danilewicz M, Suzin J, et al. *AgNORs count correlates better than grading with the effect of chemotherapy in serous ovarian cancer*. *Pol J Pathol* 2003; 54 (4): 239-42.
35. Miller B, Umpierre S, Tornos C, et al. *Histologic characterization of uterine papillary serous adenocarcinoma*. *Gynecol Oncol* 1995; 56 (3): 425-9.
36. Kakeji Y, Korenaga D, Tsujitani S, et al. *Predictive value of Ki-67 and argyrophilic nucleolar organizer region staining for lymph node metastasis in gastric cancer*. *Cancer Res* 1991; 51 (13): 3503-6.
37. Mourad WA, Connelly JH, Sembera DL, et al. *The correlation of two argyrophilic nucleolar organizer region counting methods with*



- bromodeoxyuridine-labeling index: A study of metastatic tumors of the brain.* Human Pathol 1993; 24 (2): 206-10.
38. Mourad WA, Setrakian S, Hales ML, et al. *The argyrophilic nucleolar organizer regions in ductal carcinoma in situ of the breast.* Cancer 1994; 74 (6): 1739-45.
39. Skopelitou A, Korkolopoulou P, Papanicolaou A, et al. *Comparative assessment of proliferating cell nuclear antigen immunostaining and of nucleolar organizer region staining in transitional cell carcinomas of the urinary bladder. Correlation with other conventional prognostic pathologic parameters.* Eur Urol 1992; 22 (3): 235-40.
40. Sujathan K, Kannan S, Raveendran-Pillai K, et al. *Significance of AgNOR count in differentiating malignant cells from reactive mesothelial cells in serous effusions.* Acta Cytologica 1996; 40 (4): 724-28.
41. Carillo R, Sneige N, El-Naggar AK. *Interphase nucleolar organizer regions in evaluation of serosal cavity effusions.* Acta Cytologica 1994; 38 (3): 367-72.
42. Watanabe M, Ghazizadeh M, Konishi H, et al. *Interphase cytogenetic and AgNOR analyses of hydatidiform moles.* J Clin Pathol 1998; 51: 438-43.
43. Miller B, Flax S, Dockter M, et al. *Nucleolar organizer regions in adenocarcinoma of the uterine cervix.* Cancer 1994, 15; 74 (12): 3142-5.
44. Cardillo M. *AgNOR counts are useful in cervical smears.* Diagn Cytopathol 1992; 8 (3): 208-10.
45. Heber E, Schwint AE, Sartor B, et al. *AgNORs as an early marker of sensitivity to radiotherapy in gynecologic cancer.* Acta Cytol 2002; 46 (2): 311-6.
46. Miller B, Morris M, Silva E. *Nucleolar organizer regions: a potential prognostic factor in adenocarcinoma of the endometrium.* Gynecol Oncol 1994; 54 (2): 137-41.
47. Sah SP, Dawar R, Kumar L, et al. *Nucleolar Organizer Regions as a Prognostic Indicator in Epithelial Cancers of the Ovary.* Int J Gynecol Pathol 2004; 23 (4): 347-53.
48. Muso H. *Long-term prognostic factors for chemotherapy of ovarian cancer.* Osaka City Med. J 1998; 44 (2): 155-71.
49. Bieńkiewicz A, Gottwald L, Danilewicz M, et al. *Ocena wpływu chemioterapii na parametry oceny ilościowej stref organizatorów jąderkowych (AgNORs) w komórkach raka jajnika.* Gin Pol 2003; 74 (9): 677-82.

Adres do korespondencji

prof. nadzw. dr hab. med. **Andrzej Bieńkiewicz**
 Klinika Ginekologii Onkologicznej
 Katedra Onkologii
 Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
 ul. Paderewskiego 4
 93-509 Łódź
 e-mail: abienkiewicz@wp.pl

