

بررسی ارزش مارکرهای ایمنوهیستوشیمی در تشخیص تومورهای عضله صاف رحم

دکتر سید حمید مدنی^۱، دکتر عترت جوادی راد^۲، صدیقه خزاعی^۳

نویسنده مسئول: کرمانشاه، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، مرکز آموزشی و درمانی امام رضا (ع)، مرکز تحقیقات مولکولار پاتولوژی pathologist84@yahoo.com

دریافت: ۸۷/۶/۳۱ پذیرش: ۸۸/۵/۱۱

چکیده

زمینه و هدف: تومورهای عضله صاف رحم یکی از شایع‌ترین نئوپلاسم‌ها در انسان است. تقسیم‌بندی بالینی این تومورها بالینی به صورت خوش‌خیم و بدخیم می‌باشد ولی گروه دیگری از ضایعات تحت عنوان *STUMP* وجود دارند که قرار دادن آن‌ها در یکی از این دو دسته مشکل است و افتراق این تومورها از یکدیگر، به اتکای رنگ‌آمیزی *H&E* مشکل است. هدف این مطالعه یافتن بیومارکرهای عینی برای افتراق و بررسی مقایسه‌ای مارکرهای ایمنوهیستوشیمی در سه گروه تومورهای مذکور می‌باشد.

روش بررسی: در هر گروه از تومورهای فوق، تعداد ۲۱ نمونه به صورت تصادفی (۶۳ مورد) از آزمایشگاه‌های پاتولوژی شهر کرمانشاه و شهر شیراز انتخاب و با استفاده از تکنیک *IHC* از نظر بروز مارکرهای *ER, PR, C-kit, Bcl-2, P16, P53* بررسی شدند.

یافته‌ها: میزان بروز مارکرها در لیوموسارکوم عبارت از *ER ۵/۲۶*، *PR ۱۵/۵۲*، *P53 ۲۶/۳۱*، *Bcl-2 ۱۵/۷۸*، *C-kit ۱۵/۵۲* و *P16 ۱۵/۴۲* درصد بود. در موارد *PR: STUMP ۲۳/۸۰*، *Bcl-2 ۴/۷۶* و *P16 ۹/۵۲* درصد و *ER* و *C-kit* و *P53* بروز نداشتند. در گروه لیومیوم تنها *Bcl-2* بروز یافت (۱۴/۲۸ درصد) و سایر مارکرها بروز نیافتند. تفاوت‌های بروز *P16, P53* در بین دو گروه لیومیوم و *LMS* و همچنین *STUMP* و لیومیوسارکوم معنادار بودند ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: *P16* و *P53* مارکرهای معتبری جهت افتراق ضایعات *STUMP* از لیومیوسارکوم و نیز لیومیوم از لیومیوسارکوم محسوب شده، ویژگی تشخیصی بالایی دارند. تشخیص *STUMP* برای مشخص کردن مواردی بکار می‌رود که الگوی کلینیکوپاتولوژیک جهت تعیین قطعی تشخیص خوش‌خیم یا بدخیم کافی نمی‌باشد در این تحقیق شباهت زیاد الگوی ایمنوهیستوشیمی گروه *STUMP* به موارد خوش‌خیم تومورهای فوق مشاهده شد.

واژگان کلیدی: تومور عضله صاف رحم، *STUMP* ایمنوهیستوشیمی، لیومیوسارکوم

مقدمه

می‌باشد. ولی گروه دیگری از ضایعات وجود دارند که قرار دادن آن‌ها در یکی از این دو دسته بسیار مشکل و حتی غیر ممکن می‌باشد که تحت عنوان تومورهای عضله صاف

تومورهای عضله صاف رحم (Uterine smooth muscle tumors) یکی از شایع‌ترین تومورها در انسان است. تقسیم‌بندی این تومورها از لحاظ بالینی به صورت خوش‌خیم و بدخیم

۱- متخصص پاتولوژی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، مرکز آموزشی و درمانی امام رضا(ع)، مرکز تحقیقات مولکولار پاتولوژی

۲- دستیار پاتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، مرکز آموزشی و درمانی امام رضا(ع)، مرکز تحقیقات مولکولار پاتولوژی

۳- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، مرکز آموزشی و درمانی امام رضا(ع)، مرکز تحقیقات مولکولار پاتولوژی

روش بررسی

در این مطالعه پس از مراجعه به دفاتر بایگانی آزمایشگاه‌های عمده‌ی پاتولوژی دولتی و خصوصی شهر کرمانشاه و شیراز، از بلوک‌های پارافینی نمونه‌ی بافتی بیماران دارای تشخیص پاتولوژی هریک از سه گروه تومورهای عضله صاف رحم طی ۷ سال (۸۷-۱۳۸۰)، تعداد ۲۱ نمونه در هر گروه از تومورهای فوق (جمعاً ۶۳ مورد) به صورت تصادفی براساس فرمول محاسبه شده، انتخاب گردید. جهت تایید تشخیص، از هر نمونه برش‌هایی تهیه و به روش هماتوکسیلین-ئوزین (H&E) رنگ‌آمیزی شد و به صورت جداگانه در اختیار دو پاتولوژیست قرار گرفت. مواردی که مورد تایید هر دو پاتولوژیست بود، از نظر تشخیصی تایید شده محسوب گردیدند و تحت رنگ‌آمیزی IHC قرار گرفتند. جهت رنگ‌آمیزی IHC از روش Peroxidase Antiperoxidase استفاده شد (۸) و بروز مارکرهای (ER(N1575, DAKO)، PR(N1630, DAKO)، C_kit(M7140, DAKO)، Bcl-2(N1587, DAKO) و P53 (NP010, DAKO) مورد بررسی قرار گرفت. مرحله‌ی Antigen Retrieval PH=9 به روش حرارتی و در PH قلیایی (بافر تریس PH=9) و سایر مارکرها در PH اسیدی (بافر سترات PH=6) انجام شد. نتایج رنگ‌آمیزی به صورت مثبت و منفی ثبت گردید. جهت کنترل نتایج رنگ‌آمیزی هر یک از مارکرها از بافت‌های شاهد پیشنهاد شده در راهنمای مصرف آنتی‌بادی‌ها به عنوان کنترل مثبت و منفی استفاده شد. روش بررسی آماری کای دو و آزمون دقیق فیشر بود.

دو عدد از بلوک‌های پارافینی نمونه‌های تومور بدخیم عضله‌ی صاف رحم که از نظر کفایت processing بافتی مشکل داشتند و قابل قضاوت نبودند، از مطالعه خارج گردیدند. از محدودیت‌های دیگر مطالعه، حجم کم نمونه و نیز شیوع بسیار کم تومورهای بدخیم عضله‌ی صاف رحم بود.

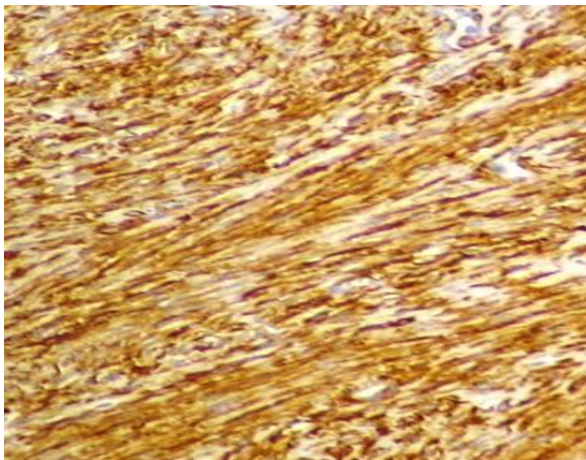
رحمی با پتانسیل بدخیمی نامشخص (STUMP) خوانده می‌شود. نوع خوش خیم تومورهای عضله‌ی صاف رحم، شایع‌ترین تومور سیستم ژنیتال زنان بوده و در ۷۵ درصد زنان سنین باروری مشاهده می‌شود (۱). نوع بدخیم آن نئوپلاسم نادری است و معمولاً زنان بعد از یائسگی را مبتلا می‌کند (۲و۳).

گروه سومی که بین این دو دسته قرار می‌گیرد (STUMP) و مشکلات تشخیصی زیادی ایجاد می‌کند، شامل تعداد کمی از تومورها می‌باشد، ولی امکان عود موضعی و گسترش به ارگان‌های دور دست، در آن‌ها وجود دارد. برخورد بالینی با این گروه مشابه تومورهای خوش‌خیم عضله‌ی صاف رحم است، اما به دلیل امکان عود موضعی و ایجاد متاستاز، پیگیری بیماران ضروری است. این حقیقت، اهمیت تشخیص دقیق و افتراق این ضایعات را از یکدیگر روشن می‌سازد (۱).

در حال حاضر، تشخیص تومورهای عضله‌ی صاف رحم توسط میکروسکوپ نوری و بر اساس معیارهای مورفولوژیک و صرفاً بر اساس مقاطع رنگ‌آمیزی شده با هماتوکسیلین-ئوزین (H&E) صورت می‌گیرد. ولی در برخی موارد تمایز بین این سه گروه تومور و پیش‌بینی رفتار بالینی آن‌ها، تنها با اتکا به ارزیابی مورفولوژیک مقاطع رنگ‌آمیزی شده با H&E مشکل و حتی غیر ممکن می‌باشد (۴-۷). در این موارد که رفتار بیولوژیک تومور، مبهم و نامشخص است، باید روش‌های تکمیلی همانند ایمنو هیستوشیمی و مولکولار بیولوژی به کار برده شود (۸و۴-۷).

از این رو در تحقیقات بسیاری روش‌های ancillary مختلفی از جمله مارکرهای ایمنو هیستوشیمی و رنگ‌آمیزی‌های هیستوشیمی به منظور افتراق تومورهای عضله‌ی صاف رحم که نمای بافت شناسی مبهم دارند، مورد مطالعه قرار گرفته‌اند (۴-۷). مطالعه‌ی حاضر جهت شناخت بهتر خصوصیات ایمنو هیستوشیمی این ضایعات و بررسی ارزش این مارکرها در تشخیص و افتراق تومورهای عضله‌ی صاف رحم است.

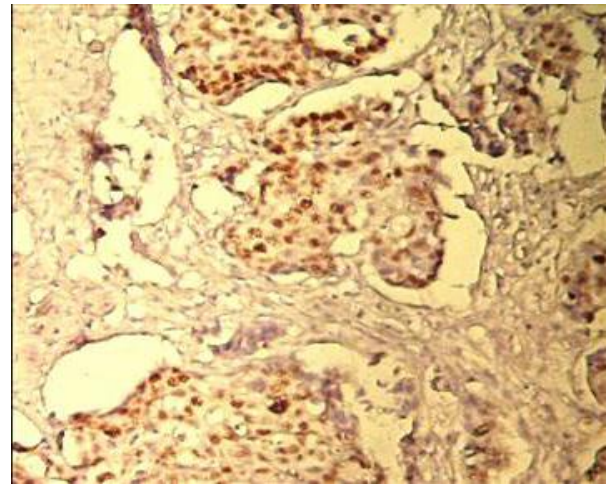
لیومیوم و STUMP معنی دار نبود ($P > 0/05$). مارکر C_kit هم تنها در ۱۰/۵۲ درصد موارد لیومیوسارکوم به صورت شدید بروز یافت (شکل ۲) و در موارد لیومیوم و STUMP هیچ گونه بروزی نداشت. البته این تفاوت بروز C_kit در بین لیومیوسارکوم و دو گروه دیگر تومورها معنادار نبود ($P > 0/05$).



شکل ۲: رنگ آمیزی C_kit در لیومیوسارکوم رحم (x 100)

از لحاظ مارکر Bcl-2 میزان بروز به ترتیب ۱۵/۷۸، ۴/۷۶ و ۱۴/۲۸ درصد در گروه لیومیوسارکوم (به صورت متوسط تا شدید)، STUMP و لیومیوم (در دو گروه اخیر به صورت شدید) بود. اگرچه این تفاوت میزان بروز Bcl-2 در بین هیچ یک از گروه ها از لحاظ آماری معنی دار نبود ($P > 0/05$). بروز مارکر P16 به ترتیب در لیومیوسارکوم ۴۲/۱ درصد و در STUMP، ۹/۵۲ درصد بود، اما در گروه لیومیوم بروز نیافت. تفاوت کاملاً معنی داری از لحاظ میزان بروز P16 بین لیومیوم و لیومیوسارکوم ($P < 0/0001$) و همچنین بین STUMP و لیومیوسارکوم ($P < 0/05$) وجود داشت. اما تفاوت بین لیومیوم و STUMP معنی دار نبود. خلاصه‌ی نتایج رنگ آمیزی مارکرهای ایمونوهیستوشیمی استفاده شده در مطالعه، در جدول شماره ۱

جهت کنترل نتیجه‌ی ارزیابی بروز مارکر P53 از بافت تومورال کانسر high grade پستان به عنوان کنترل مثبت استفاده شد (شکل ۱).



شکل ۱: رنگ آمیزی P53 با PH=6 (x100)

یافته‌ها

میزان بروز ER, PR در تومورهای بدخیم عضله‌ی صاف رحم (لیومیوسارکوم) به ترتیب ۵/۲۶ و ۱۰/۵۲ درصد که این میزان در موارد STUMP برای PR، ۲۳/۸۰ درصد بود و مارکر ER در STUMP و موارد تومورهای خوش خیم عضله‌ی صاف رحم (لیومیوم) بروز نیافت. تفاوت میزان بروز مارکر PR در بین دو گروه STUMP و لیومیوم معنادار بود ($P < 0/05$). اما هیچ گونه تفاوت معناداری در بین موارد لیومیوسارکوم و لیومیوم و نیز لیومیوسارکوم و STUMP از لحاظ بروز مارکرهای ER و PR مشاهده نشد.

مارکر P53 فقط در گروه لیومیوسارکوم به میزان ۲۶/۳۱ درصد بروز یافت (به صورت شدید) و دو گروه دیگر (لیومیوم و STUMP) P53 را بروز ندادند. تفاوت معنی دار آماری از لحاظ میزان بروز P53 در بین گروه لیومیوسارکوم و لیومیوم ($P < 0/05$) و همین طور بین لیومیوسارکوم و STUMP ($P < 0/05$) مشاهده شد، اما این تفاوت بین گروه

ارائه شده است. جدول شماره ۲، حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی را در بین دو گروه لیومیوم و لیومیوسارکوم بر حسب مارکرها نشان می‌دهد.

جدول ۱: میزان بروز مارکرهای IHC انجام شده در مطالعه در هر گروه از تومورها

C-kit	Bcl-2	P ₁₆	P ₅₃	PR	ER	
۲	۳	۸	۵	۲	۱	تعداد موارد مثبت
(/۱۰/۵۲)	(/۱۵/۷۸)	(/۴۲/۱۰)	(/۲۶/۳۱)	(/۱۰/۵۲)	(/۵/۲۶)	لیومیوسارکوم
۱۷	۱۶	۱۱	۱۴	۱۷	۱۸	تعداد موارد منفی
(/۸۹/۴۷)	(/۸۴/۲۱)	(/۵۷/۸۹)	(/۷۳/۶۸)	(/۸۹/۴۷)	(/۹۴/۷۳)	
۰	۱	۲	۰	۵	۰	تعداد موارد مثبت
(/۰)	(/۴/۷۶)	(/۹/۵۲)	(/۰)	(/۲۳/۸۰)	(/۰)	STUMP
۲۱	۲۰	۱۹	۲۱	۱۶	۲۱	تعداد موارد منفی
(/۱۰۰)	(/۹۵/۲۳)	(/۹۰/۴۷)	(/۱۰۰)	(/۷۶/۱۹)	(/۱۰۰)	
۰	۳	۰	۰	۰	۰	تعداد موارد مثبت
(/۰)	(/۱۴/۲۸)	(/۰)	(/۰)	(/۰)	(/۰)	لیومیوم
۲۱	۱۸	۲۱	۲۱	۲۱	۲۱	تعداد موارد منفی
(/۱۰۰)	(/۸۵/۷۱)	(/۱۰۰)	(/۱۰۰)	(/۱۰۰)	(/۱۰۰)	

جدول ۲: حساسیت و ویژگی و ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی در بین دو گروه لیومیوم و لیومیوسارکوم بر حسب مارکرها

نام مارکر	حساسیت	ویژگی	ارزش اخباری مثبت	ارزش اخباری منفی
P53	٪۲۶/۳۰	٪۱۰۰	٪۱۰۰	٪۶۰
P16	٪۴۲/۱۰	٪۶۵/۶۰	٪۴۲	٪۶۵/۶۲
ER	٪۵/۲۰	٪۱۰۰	٪۱۰۰	٪۵۳/۸۰
PR	٪۱۰/۵۰	٪۱۰۰	٪۱۰۰	٪۵۵/۲۶
Bcl-2	٪۱۵/۷۰	٪۸۵/۷۰	٪۵۰	٪۵۳
C_kit	٪۱۰/۵۰	٪۱۰۰	٪۱۰۰	٪۵۵/۲۶

بحث

ارزیابی مورفولوژیک صرفاً براساس مقاطع رنگ آمیزی شده با H&E، قادر نیست پیشگویی درست و کاملی از رفتار نئوپلاسم‌های عضله صاف رحم داشته باشد. در موارد اندکی که رفتار بیولوژیک تومور، مبهم و نامشخص است،

روش‌های تکمیلی همانند ایمنو هیستوشیمی و مولکولار بیولوژی باید به کار برده شود (۸ و ۴). در این مطالعه ما از گروهی رنگ‌های ایمنو هیستوشیمی که می‌تواند تمایز واضحی بین گروه تومورهای بدخیم عضله صاف رحم و گروه‌های خوش خیم و STUMP نشان دهد، استفاده کردیم.

نقش مهمی در رشد تومورها ایفاد می‌کند (۱۴)، برخلاف مطالعه‌ی بُدنی و همکاران که افزایش بروز آنرا در لیومیوم در مقایسه با لیومیوسارکوم و STUMP نشان داده بودند (۸)، در مطالعه حاضر، بروز Bcl-2 در هیچ یک از سه گروه تومورهای مذکور تفاوت آماری معنی‌داری نداشت. مشاهده‌ی بروز پروتوانکوژن C_kit در لیومیوسارکوم رحم مطرح کننده‌ی این است که مهارکننده‌های تیروزین کیناز می‌تواند یک انتخاب مناسب درمانی برای این تومورهای بدخیم باشد (۱۵-۱۸). اگر چه مطالعه ما بروز C_kit را در لیومیوسارکوم‌های رحم و عدم بروز آنرا در موارد STUMP و لیومیوم نشان داد، اما این تفاوت بروز، معنادار نبود ($P < 0/05$). پروتئین P16 که پروتئینی سرکوب کننده تومور است و به عنوان تنظیم کننده‌ی منفی سیکل سلولی عمل می‌کند، دارای بیان غیر طبیعی در لیومیوسارکوم‌ها می‌باشد (۱۹ و ۲۰). همانند مطالعات قبلی یافته‌های ما به صورت معناداری میزان پائین تر بروز P16 را در لیومیوم‌ها و STUMP در مقایسه با لیومیوسارکوم نشان داد (۲۱ و ۲۲). این تفاوت در بین گروه لیومیوسارکوم و لیومیوم ($P < 0/0001$) و نیز در بین گروه لیومیوسارکوم و STUMP ($P < 0/05$) کاملاً معنادار بود. از نتایج بدست آمده در مطالعه‌ی حاضر و تعدادی از تحقیق‌های قبلی، می‌توان این گونه فرض کرد که تابلوی ایمونوهیستوشیمی STUMP به لیومیوم بسیار نزدیکتر از لیومیوسارکوم است. این حقیقت در موازات پروگنوز مطلوب گزارش شده در بیماران STUMP می‌باشد (۲۴ و ۲۳، ۲۱، ۴). از آنجائی که تشخیص بافت شناسی STUMP برای مشخص کردن مواردی بکار می‌رود که الگوی کلینیکوپاتولوژیک جهت تعیین قطعی تشخیص نهایی خوش خیم و بدخیم کفایت نمی‌کند، بسیاری از محققین معتقدند این گروه از تومورها باید در طیف دسته‌بندی تشخیصی وجود داشته باشند (۲۶ و ۲۵، ۲۱). از آنجائی که تشخیص افتراقی بین لیومیوسارکوم و STUMP در برخی

با در نظر گرفتن نمونه‌های موردبررسی در سه گروه، یعنی تومورهای خوش خیم عضلات صاف رحم (لیومیوم)، تومورهای عضلات صاف رحم با پتانسیل بدخیمی نامشخص (STUMP) و تومورهای بدخیم عضلات صاف رحم (لیومیوسارکوم)، به ترتیب درگروه لیومیوم Bcl-2 با ۱۴/۲۸ درصد بروز، درگروه STUMP مارکر PR با ۲۳/۸ درصد بروز و درگروه لیومیوسارکوم P16 با ۴۲/۱ درصد بروز، شایع‌ترین مارکرها بیان شده در این ضایعات محسوب می‌گردند. برخلاف مطالعات قبلی که کاهش بروز گیرنده‌های استروئیدی استروژن و پروسترون (ER,PR) را در موارد لیومیوسارکوم نسبت به موارد لیومیوم و STUMP نشان داده‌اند و حتی مارکر PR را مارکر اختصاصی مفیدی برای افتراق لیومیوسارکوم‌ها از موارد STUMP که نمای بافت شناسی مبهم دارد، مطرح کرده‌اند (۸)، در تحقیق حاضر، نه تنها تفاوت معنی‌داری بین دو گروه لیومیوسارکوم و لیومیوم و نیز لیومیوسارکوم و STUMP مشاهده نشد، بلکه حتی درگروه لیومیوم هیچ یک از دو مارکر ER و PR بروز نیافتند و فقط تفاوت بروز PR در بین گروه STUMP و لیومیوم، معنی‌دار بود ($P < 0/05$). موتاسیون‌های ژن P53 و تجمع پروتئین P53 در طیف وسیعی از بدخیمی‌های انسان یافت شده است. اکثر گزارش‌ها نشان می‌دهد که وجود مقادیر افزایش یافته‌ی محصول پروتئین P53 قابل شناسایی با IHC از تشخیص لیومیوسارکوم حمایت می‌کند (۷-۹). نتایج ما، همانند مطالعات قبلی، افزایش بارز بیان P53 را در لیومیوسارکوم‌های رحمی نشان داد (۱۰-۱۳). این تفاوت بروز در بین لیومیوسارکوم و STUMP و نیز بین لیومیوم و لیومیوسارکوم کاملاً معنادار بود ($P < 0/05$). در نتیجه، رنگ‌آمیزی IHC جهت مارکر P53 در افتراق و تمایز لیومیوسارکوم‌ها از موارد STUMP و حتی لیومیوم با ویژگی ۱۰۰ درصد و نیز ارزش اخباری مثبت ۱۰۰ درصد مفید می‌باشد. در مورد پروتئین Bcl-2 که محصول ژنی مهارکننده‌ی آپوپتوز است و

نتیجه‌گیری

تحقیق حاضر با توجه به آنچه گذشت، برای تشخیص تومورهای عضله‌ی صاف رحم، مارکرهای ایمنوهیستوشیمی P53 و P16 را پیشنهاد می‌نماید.

موارد مشکل ساز است، بنابراین یافتن بیومارکرهایی عینی (objective) که بطور واضح تعیین کننده‌ی تشخیص ضایعه باشند و ویژگی تشخیصی بالایی داشته باشند، بسیار مفید خواهد بود (۴۸،۲۷ و ۲۸).

References

- 1- Nafussi A. Uterine smooth muscle tumors: Practical approach to diagnosis. *Curr diag pathol.* 2004; 10: 140- 56.
- 2- Rosai J. Surgical pathology. New york: Michael Houston; 2004.
- 3- Cotran R, Kumar V, Collins T. Pathologic basis of disease. Harcourt Brace: Philadelphia; 2005.
- 4- Mittal Kh, Lovine R. MIB-1 (Ki-67), p53, estrogen receptor and progesterone receptor expression in uterine smooth muscle tumors. *Hum pathol.* 2001; 9: 984-7.
- 5- Wolfson L, Rosenblot Y, Halpern M. A new scoring system using multiple immunohistochemical markers for diagnosis of uterine smooth muscle tumors. *Cell Mol Med.* 2006; 1: 197-205.
- 6- Paryson RA, Hart WR. Pathologic consideration of uterine smooth muscle tumors. *Obstet Gynecol clin North AM.* 1995;4: 637-57.
- 7- Dabbs DJ. Diagnostic Immunohistochemistry. Churchill livingstone: Philadelphia; 2004.
- 8- Bodner K, Bodner AB. Bcl-2 receptor expression in patients with uterine smooth muscle tumors: An immunohistochemical analysis comparing leiomyoma, uterine smooth muscle tumors of uncertain malignant potential, and leiomyosarcoma. *Reprod Sci.* 2004; 3: 187-91.
- 9- Coffin CM, Hampshire PA, Dehne LP. Extrapulmonary inflammatory myofibroblastic tumor: a clinical and pathological survey. *Seminars in diagnostic pathology.* 1998; 15: 85-132.
- 10- Zhai Y, Kobayashi Y. Expression of steroid receptors, Ki-67, and P53 in uterine leiomyosarcoma. *Int J Gynecol Pathol.* 1999; 18: 20-8.
- 11- Amada S, Nakano H, Tsuneyoshi M. Leiomyosarcoma versus bizarre and cellular leiomyomas of the uterus: A Comparative study based on the MIB-1 and proliferating cell nuclear antigen indices, P53 expression, DNA flow cytometry, and muscle specific actins. *Int J Gynecol Pathol.* 1995;14: 134-42.
- 12- Zhai YI, Toki T, Nikaido T, Schiozowa A, Orili A, Fujii S. Prognostic significance of bcl-2 expression in leiomyosarcoma of the uterus. *Br J Cancer.* 1999; 80: 1658-64.
- 13- Hall KI, Teneriello MC, Taylor RR. Analysis of Ki-ras, P53, and MDM2 genes in uterine leiomyomas and leiomyosarcomas. *Gynecol Oncol.* 1997; 65: 330-5.

- 14- Wang L, Felix J, Lee J. The proto- oncogen c-kit is expressed in leiomyosarcomas of the uterus. *Gynecol oncol.* 2003; 2: 402-6.
- 15- Mc Culloch EA, Minden ND. The cell surface receptor encoded by the proto –oncogene KIT and its ligand. *Cancer Treat Res.* 1993; 64: 45-77.
- 16- Joensuu H, Roberts PJ. Effect of the tyrosine kinase inhibitor ST1571 in a patient with a metastatic gastrointestinal stromal tumor. *N Engl J Med.* 2001; 344: 1052-6.
- 17- Van Oosterom AT, Judson I .Safety and efficacy of imatinib in metastatic gastrointestinal stromal tumors: a phase I study. *Lancet.* 2001; 358: 1421-3.
- 18- Tuveson DA, Willis NA. ST1571 inactivation of the gastrointestinal stromal tumor C-kit oncoprotein: biological and clinical implications. *Oncogene.* 2001; 20: 5054-8.
- 19- Kamb A, Gruis NA .A cell cycle regulator potentially involved in genesis of many tumor types. *Science.* 1994; 264: 436-40.
- 20- Cohen JA, Geradts J. Loss of RB and P₁₆ expression in human sarcomas. *Hum Pathol.* 1997; 28: 893-8.
- 21- Bodner AB, Bodner K. Expression of p 16 protein in patients with uterine smooth muscle tumors: an immunohistochemical analysis. *Gynecol oncol.* 2005; 1: 62-6.
- 22- Van de Putte G, Holm R, Lie AK, Tropecc, Kristensen GB. Expression of P₂₇,P₂₁ and P₁₆ protein in early squamous cervical cancer and its relation to prognosis. *Gynecol Oncol.* 2003; 89: 140-7.
- 23- Zaloudek CJ, Hendrickson CJ. Mesenchymal tumors of the uterus. Blaustein's pathology of the female genital tract. New york: Springer verlag; 2002.
- 24- Mittal K, Demopoulos RI. Ki -67, P₅₃, estrogen receptor, and progesterone receptor expression in uterine smooth muscle tumors. *Hum Pathol.* 2001; 32: 984-7.
- 25- Klaes R, Benner A, Friedrich T. P₁₆ immunohistochemistry improves interobserver agreement in the diagnosis of Cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol.* 2002; 26: 1389.
- 26- Bodner AB, Bodner K, Kimberger O. Expression of matrix metalloproteases in patient with uterine smooth muscle tumors:an immunohistochemical analysis of MMP-1 and MMP-2 protein expression in leiomyoma,uterine smooth muscle tumor of uncertain malignant potential,and leiomyosarcoma. *Gynecol Invest.* 2006; 11: 182-6.
- 27- Honrick J, Fletcher CH. Immunohistochemical staining for KIT(CD117) in soft tissue sarcoma is very limited in distribution. *Am J Clin Pathol.* 2008; 117: 188-93.
- 28- Bodner AB, Nather A, Bodner K, Czerwenka K, Kimberger O.Expression of thrombospondin (TSP 1) in patient with uterine smooth muscle tumors:An immunohistochemical study. *Gynecol Oncol.* 2006; 103: 186-9.