

Prognostička vrijednost angiogeneze i sadržaja DNA tumorskih stanica u bolesnika sa seroznim rakom jajnika

Vujić, Goran

Doctoral thesis / Disertacija

2007

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:864362>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-21**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)





Središnja medicinska knjižnica

Vujić, Goran (2007) *Prognostička vrijednost angiogeneze i sadržaja DNA tumorskih stanica u bolesnika sa seroznim rakom jajnika*. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu.

<http://medlib.mef.hr/361>

University of Zagreb Medical School Repository

<http://medlib.mef.hr/>

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Goran Vujić

PROGNOSTIČKA VRIJEDNOST ANGIOGENEZE I
SADRŽAJA DNA TUMORSKIH STANICA U BOLESNICA
SA SEROZNIM RAKOM JAJNIKA

Doktorska disertacija

Zagreb, 2007.

Rad je izrađen u Klinici za ženske bolesti i porode Kliničkog bolničkog centra Zagreb, Zavodu za ginekološku onkologiju i Zavodu za ginekološku i perinatalnu patologiju, Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Voditelj rada: doc. dr. sc. Ante Ćorušić

Redni broj rada:

Zahvala

Zahvaljujem svom mentoru doc. dr. sc. Anti Ćorušiću na podršci pri odabiru i obrani teme i pomoći tijekom izrade disertacije.

Zahvaljujem članovima povjerenstva

Prof. dr. sc. Slavko Orešković

Prof. dr. sc. Damir Babić

Prof. dr. sc. Vlastimir Kukura

Prof. dr. sc. Snježana Škrablin

na korisnim sugestijama i stručnim savjetima vezanim uz istraživanja u ovoj disertaciji.

Zahvaljujem na svesrdnoj pomoći ostalih kolega i suradnika

Doc. dr. sc. Dubravko Barišić

Doc. dr. sc. Davor Ježek

Posebna zahvala mojoj supruzi Jani na nesebičnoj pomoći pri pisanju, uređivanju i izradi disertacije.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Epitelno-stromalne novotvorine pokrovnog epitela jajnika	1
1.1.1. Anatomija i embriologija	1
1.1.2. Epidemiologija	3
1.1.3. Patohistološka klasifikacija epitelno stromalnih novotvorina jajnika	10
1.1.4. FIGO klasifikacija	13
1.1.5. Etiopatogeneza i čimbenici rizika	17
1.1.6. Dijagnostika karcinoma jajnika	21
1.1.7. Liječenje	24
1.1.7.1. Kirurško liječenje karcinoma jajnika	24
1.1.7.2. Kemoterapija u liječenju karcinoma jajnika	28
1.1.7.3. Radioterapija u liječenju karcinoma jajnika	30
1.1.8. Prognostički čimbenici	31
1.1.8.1. Kirurško-patološki stadij bolesti	31
1.1.8.2. Veličina ostatnog tumora	32
1.1.8.3. Histološki tip tumora	33
1.1.8.4. Stupanj zrelosti tumora	33
1.1.8.5. Kirurški prognostički čimbenici	33
1.1.8.6. Ploidnost tumora	34
1.1.8.7. Genetski i biološki prognostički čimbenici	34
1.1.8.8. Razina tumorskog markera CA-125 u serumu	34
1.2. Angiogeneza	35
1.2.1. Tumorska angiogeneza	37
1.2.2. Histološka kvantifikacija tumorske angiogeneze	42
1.2.2.1. Metode brojanja krvnih žila	43
1.2.2.2. Vaskularizacija tumora	43
1.2.2.3. Specifična protutijela	44
1.2.2.4. Iskustvo istraživača	46
1.2.2.5. Selekcija reprezentativnih blokova, broj vrućih točaka i korištenje povećanja	46
1.2.3. Gustoća tumorske mikrocirkulacije (MVD)	46
1.2.3.1. Mjesta najintenzivnije vaskularizacije (VS-Vascular Hot Spot ili vruće točke)	47

2. CILJ	48
2.1. Hipoteza	49
3. ISPITANICE I METODE	50
3.1. Klinički pokazatelji	51
3.2. Patohistološki pokazatelji	51
3.2.1. Stupanj zrelosti tumora	51
3.2.2. Histološki tip tumora	51
3.2.3. Citometrijska analiza sadržaja DNA	51
3.2.4. Obrada i bojenje materijala za imunohistokemijsku analizu	52
3.2.5. Kvantitativno mjerenje prožiljenosti	53
3.3. Terapijski pokazatelji	53
3.4. Statističke metode	53
4. REZULTATI	55
5. RASPRAVA	79
6. ZAKLJUČCI	90
7. SAŽETAK	91
8. SUMMARY	93
9. LITERATURA	95
10. ŽIVOTOPIS	113
11. POPIS PRILOGA	115
11.1. Popis grafikona	115
11.2. Popis tablica	117
11.3. Popis slika	119

POPIS KRATICA

NCI	Nacionalni institut za rak (engl. <i>National Cancer Institute</i>)
SEER	Epidemiološki institut (engl. <i>Surveillance Epidemiology and Result Institute</i>)
WHO	Svjetska zdravstvena organizacija (engl. <i>World Health Organisation</i>)
FIGO	Internacionalna udruga ginekologa i opstetričara (fra. <i>Federation Internationale de Gynecologie et d'Obstetrique</i>)
HBOC	nasljedni dojka-ovarij karcinom (engl. <i>Hereditary breast-ovarian cancer</i>)
IUGP	Internacionalno udruženje ginekoloških patologa (engl. <i>International union of gynecology pathologists</i>)
MR	magnetska rezonancija
RTG	rentgen
PET	pozitronska emisijska tomografija (engl. <i>positron emission thomography</i>)
CEA	karcinoembrijski antigen
HCG	humani korionski gonadotropin

LDH	laktat dehidrogenaza
AFP	alfa fetoprotein
CT	kompjutorizirana tomografija (engl. <i>computerised tomography</i>)
EPCs	endotelne prekursorske stanice (engl. <i>endothelial progenitor cells</i>)
VEGF	vaskularni endotelijalni čimbenik rasta (engl. <i>vascular endothelial growth factor</i>)
PDGF	trombocitni čimbenik rasta (engl. <i>platelet derived growth factor</i>)
PAS	plazminogen aktivator (engl. <i>plasminogen activator</i>)
Ang I i II	angiopoetin 1 i 2
TGF- β	beta transformirajući čimbenik rasta (engl. <i>beta transforming growth factor</i>)
MVD	gustoća tumorske mikrocirkulacije (engl. <i>microvessel density</i>)
OP	operacija
ZR	zračenje
ACS	Američka udruga za rak (engl. <i>American Cancer Society</i>)

BRCA	antigen raka dojke (engl. <i>breast cancer antigen</i>)
EOC	rani ovarijski karcinom (engl. <i>early ovarian cancer</i>)
AOC	uznapredovali ovarijski karcinom (engl. <i>advanced ovarian cancer</i>)
EPC	prekursori endotelnih stanica (engl. <i>endothelial precursor cells</i>)
LIG	ligament (engl. <i>ligamentum</i>)
RR	relativni rizik (engl. <i>relative risk</i>)
TGF	transformirajući faktor rasta (engl. <i>transforming growth factor</i>)
ACOG	Američko udruženje opstetričara i ginekologa (engl. <i>American College of Obstetrics and Gynecology</i>)
CIAS	kompjutorizirani analizator slike (engl. <i>computerised image analysis system</i>)
TDF	faktor determinacije testisa (engl. <i>testis determining factor</i>)
DFI	razdoblje bez bolesti (engl. <i>disease free interval</i>)
VS	vruće točke (engl. <i>vascular hot spots</i>)

1. UVOD

1.1. Epitelno-stromalne novotvorine pokrovnog epitela jajnika

1.1.1. Anatomija i embriologija

Jajnik je parna ženska spolna žlijezda bademastog oblika. Kod mladih žena površina jajnika je bjelkasta i glatka. S godinama površina jajnika postaje izbrazdana zbog ožiljaka koji ostaju nakon ovulacija. Jajnici variraju u veličini tijekom života, kako jedan u odnosu na drugi tako i između žena. Veličina jajnika se osjetno smanjuje u menopauzi. Smještaj jajnika također varira, ali najčešće su smješteni između vanjskih i unutarnjih ilijačnih krvnih žila unutar udubine na lateralnom zidu zdjelice (fossa ovarica). Jajnici su svojim svezama pričvršćeni za okolne strukture. Za široki ligament (plica lata uteri) jajnik je učvršćen naborom peritoneuma koji se zove mesovarium. Unutar mezovarija se nalaze krvne i limfne žile koje ulaze u jajnik (hilus ovarii). Od distalnog dijela jajnika polazi ligamentum ovarii proprium koji se veže na lateralnu stranu maternice, ispod polazišta jajovoda. Pokriven je peritoneumom i građen od glatkog mišićnog i vezivnog tkiva. Lig. infundibulopelvicum ili lig. suspensorium ovarii povezuje proksimalni dio jajnika s lateralnim zidom zdjelice. Prekriven je peritoneumom i građen od glatkog mišićnog i vezivnog tkiva, a kroz njega prolaze arteria ovarica, koja je ogranak aorte i vena ovarica koja desno ulazi u donju šuplju venu, a lijevo u bubrežnu venu. Osim tih krvnih žila, kroz lig. infundibulopelvicum prolaze i limfne žile i živci neurovegetativnog sustava. Jajnik je građen od kore jajnika i srži. Kora jajnika je vanjski sloj koji varira u debljini, a s godinama postaje sve tanji. Građena je od vezivnog tkiva u kojem se nalaze raštrkani primordijalni i preovulacijski (Graafovi) folikuli u različitim stadijima razvoja. S godinama broj folikula opada. Vanjski bjelkasti sloj kore jajnika (tunica albuginea) građen je od gustog vezivnog tkiva koji je prekriven jednoslojnim kubičnim epitelom, mezotelom (Waldereyev zametni epitel).

Srž ili stroma jajnika je središnji dio jajnika koja se nalazi ispod kore jajnika, a građena je od rahlog vezivnog tkiva, glatkog mišićja, krvnih žila i živaca.¹

Ključ spolnog dimorfizma je Y kromosom koji u svom području determinacije spola sadrži gen čimbenik determinacije testisa (TDF – Testis Determining Factor). Njegova prisutnost ili odsutnost izravno djeluje na diferencijaciju spola. Kad je TDF prisutan razvija se muški spol, a kad ga nema nastaje ženski spol. Spolne žlijezde počinju dobivati muške ili ženske spolne značajke tek u 7. tjednu gestacije. Prva osnova spolnih žlijezda je par uzdužnih spolnih nabora (plicae genitales), koji nastaju umnažanjem epitela celoma i rastom mezenhima ispod njega, a nalaze se medijalno od mezonefrosa (prabubrega). Spolne prastanice nastaju u stijenci žumanjčane vreće, odakle ameboidnim gibanjem putuju duž dorzalnog mezenterija crijeva. U 5. tjednu gestacije dolaze do spolnih nabora te se tijekom 6. tjedna nastane u njihov epitel. Ukoliko spolne stanice ne stignu do spolnih nabora ne dolazi do razvoja spolnih žlijezda. Ako dođe do zastoja u putovanju dijela spolnih prastanica, može doći do razvoja ektopičnog jajnika (supernumerary ovary). Neposredno prije dolaska spolnih prastanica epitel spolnog nabora prolifirira i urasta u mezenhim u obliku primitivnih (medularnih) spolnih tračaka. U ženskih embrija u 7. tjednu gestacije zbog odsutnosti TDF-a, dolazi do propadanja primitivnih (medularnih) spolnih tračaka, a zamijeni ih stroma koja čini srž jajnika. Za razliku od muške spolne žlijezde, epitel na površini ženske spolne žlijezde i dalje prolifirira te nastaje druga generacija spolnih tračaka koji se zovu kortikalni tračci. Oni urastaju u mezenhim koji predstavlja buduću koru jajnika, ali ostaju blizu površine. U 4. mjesecu embriogeneze kortikalni tračci se dijele u odvojene skupine stanica od kojih svaka okružuje jednu ili više primitivnih spolnih stanica. Primitivne spolne stanice se kasnije razvijaju u ogonije, a epitelne stanice koje ih okružuju, nastale uraštanjem epitela s površine (kortikalni tračci), razvijaju se u folikularne stanice. Potkraj 2. mjeseca embriogeneze započinje spuštanje jajnika u zdjelicu.²⁻⁴

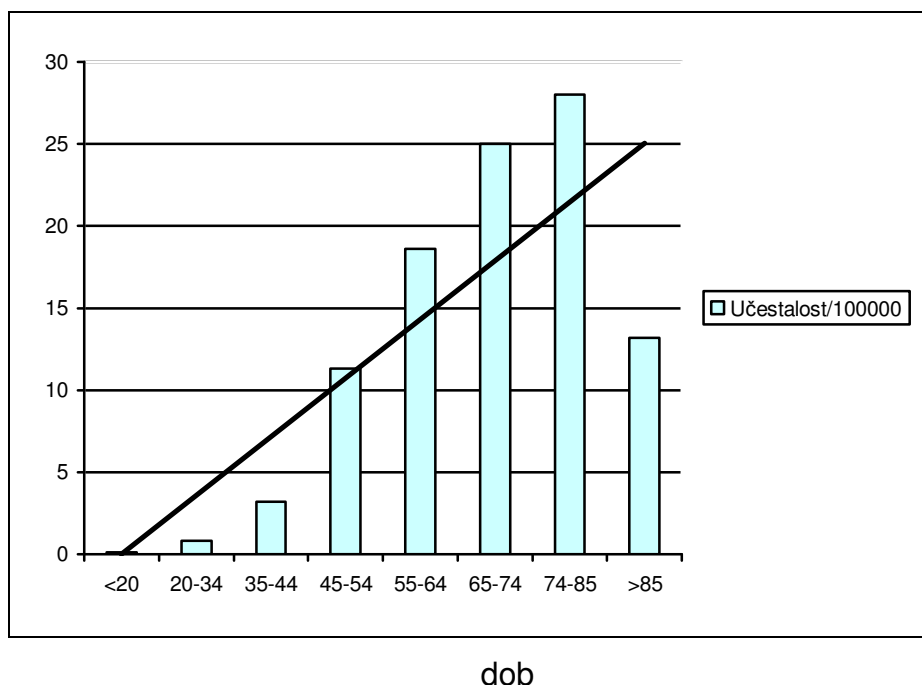
1.1.2. Epidemiologija

Karcinom jajnika čini 5% svih karcinoma u žena. Iako na karcinom jajnika otpada 23% ginekoloških karcinoma, 47% svih smrti od genitalnog karcinoma uzrokovano je karcinomom jajnika.⁵

Američka udruga za karcinom (ACS - The American Cancer Society) objavila je da je u 2006. godini u Sjevernim Američkim Državama (SAD) dijagnosticirano 20 180 novooboljelih, dok je njih 15 310 umrlo od karcinoma jajnika.⁶

Epitelni karcinom jajnika javlja se najčešće u žena između 60-65 godina starosti.⁶ Manje od 10% oboljelih od karcinoma jajnika mlađe su od 40 godina. Pojavnost karcinoma jajnika raste naglo iznad četrdesete godine života. Između 40-44. godine života pobolijeva oko 15/100 000 žena, a od 70-74. 57/100 000.⁷ Na grafikonu 1 prikazana je učestalost karcinoma jajnika prema dobi na 100 000 žena u općoj populaciji prema izvješću NCI (National Cancer Institute) iz 2004. godine.⁸

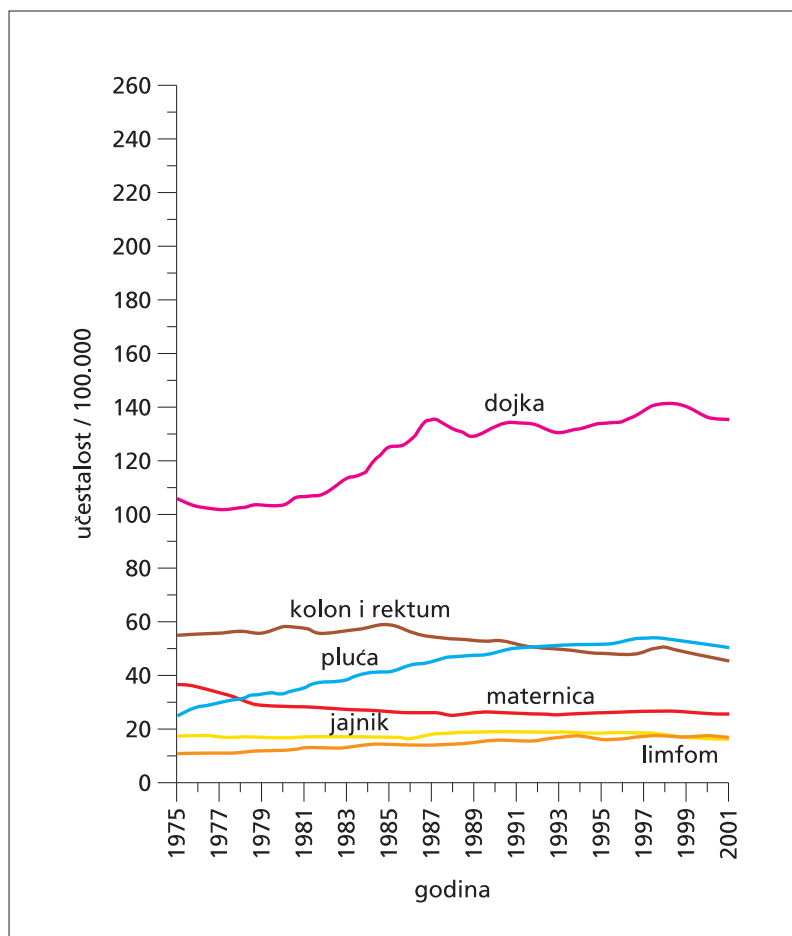
Grafikon 1. Učestalost karcinoma jajnika prema dobi ⁸



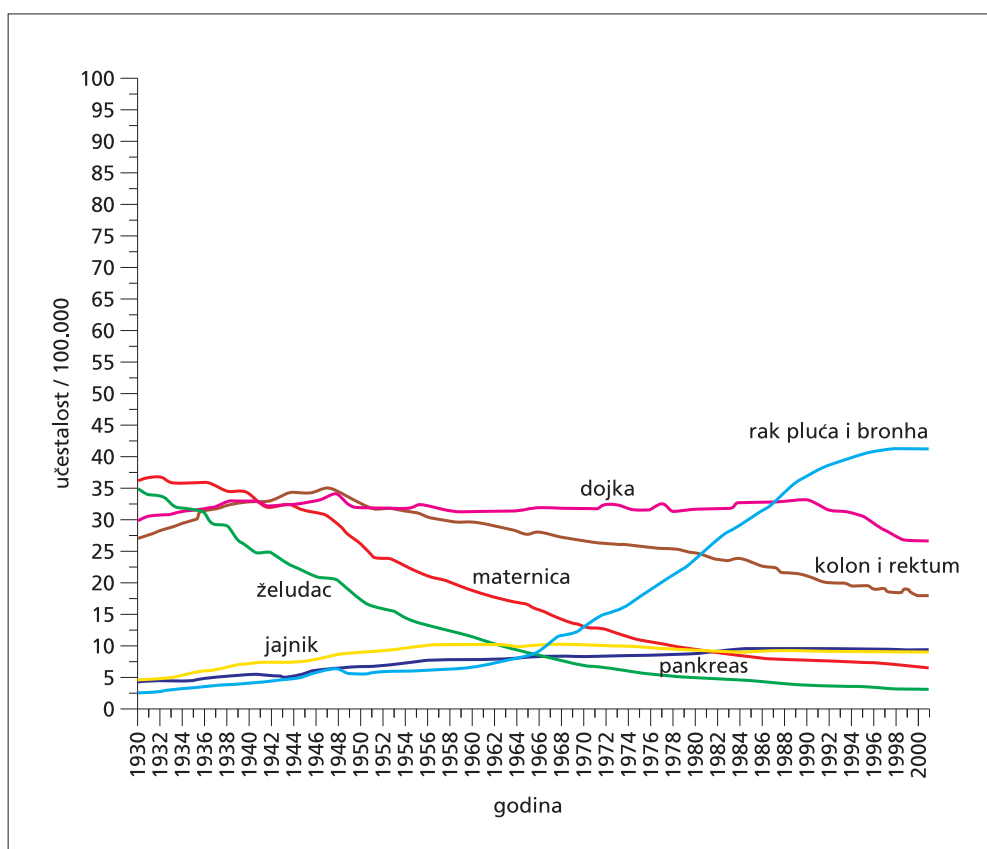
Učestalost karcinoma jajnika u SAD-u prema podacima za razdoblje od 2000. do 2004. godine iznosi 13,5/100 000. U bjelkinja je nešto viša u odnosu na ostale rase i to 14,3/100 000. Od toga je 9,2/100 000 umrlo od karcinoma jajnika. Više od 50% umrlih u dobi je između 55-74 godine. Srednja dob umrlih je 71 godina.

Učestalost karcinoma jajnika nije se značajno promijenila u posljednjih 30-ak godina osim nešto povišene učestalosti u starijih žena (grafikon 2). Ukupno petogodišnje preživljenje u razdoblju od 1995. do 2004. u SAD-u je 44,9%, što je za 10% više u odnosu na 70-e godine zahvaljujući uvođenju preparata platine i paklitaksela u liječenje karcinoma jajnika, te pridržavanju strogih smjernica u intraoperacijskom određivanju stadija proširenosti bolesti.

Grafikon 2. Učestalost karcinoma jajnika u SAD-u od 1975-2001.⁷



Grafikon 3. Preživljenje oboljelih od karcinoma jajnika u SAD-u, 1980-2000.⁷



U 68% oboljelih dijagnoza je postavljena nakon nastanka udaljenih presadnica. Samo je 29,6% oboljelih s uznapredovalom bolesti u stadiju III i IV preživjelo 5 godina.

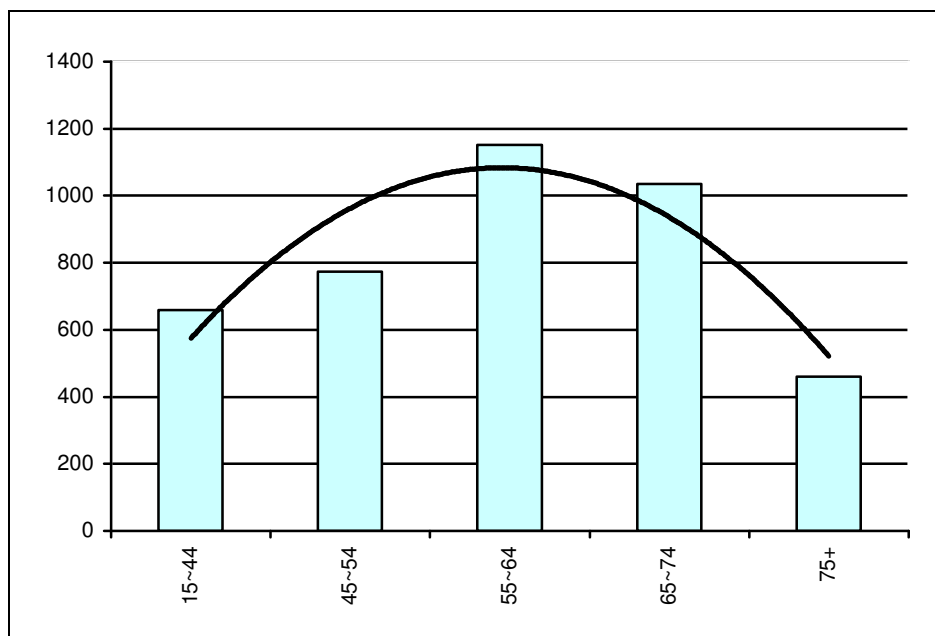
Životni rizik za nastanak karcinoma jajnika, a na osnovi pojavnosti karcinoma jajnika u razdoblju 2001-2003. iznosi 1,42 (1,34-1,44).⁷

U razdoblju od 1988. do 1993. u Republici Hrvatskoj bilo je 2239 novooboljelih žena od karcinoma jajnika (prosječna godišnja stopa 18,5/100 000), a 1994-1998. 2087 novooboljelih (prosječna godišnja stopa 21,6/100 000). Dobna skupina novooboljelih nije se značajno razlikovala između dva razdoblja, s najvećim udjelom novooboljelih u dobnoj skupini od 55 do 74 godine (grafikon 5). Petogodišnje preživljenje za bolesnice kojima je bolest

dijagnosticirana u razdoblju 1994-1998. bilo je 46% i povećalo se u odnosu na prethodno razdoblje 1988-1993. godine (grafikon 6).

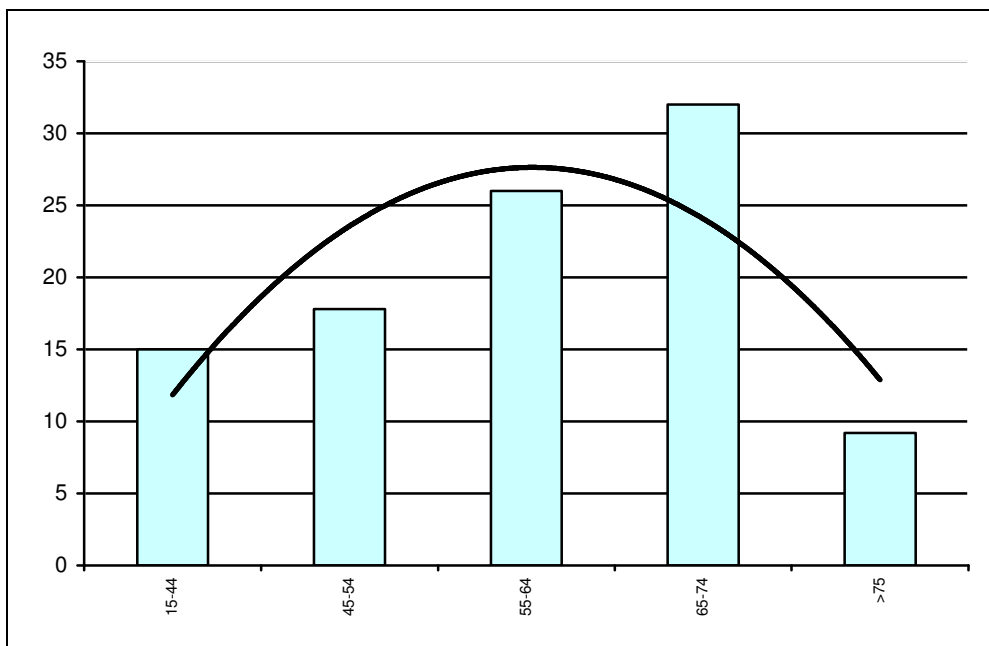
Na grafikonu 4 prikazana je raspodjela prema dobi u razdoblju 1988-1998. u RH.⁹

Grafikon 4. Raspodjela oboljelih od karcinoma jajnika prema dobi u RH, od 1988-1998.⁹



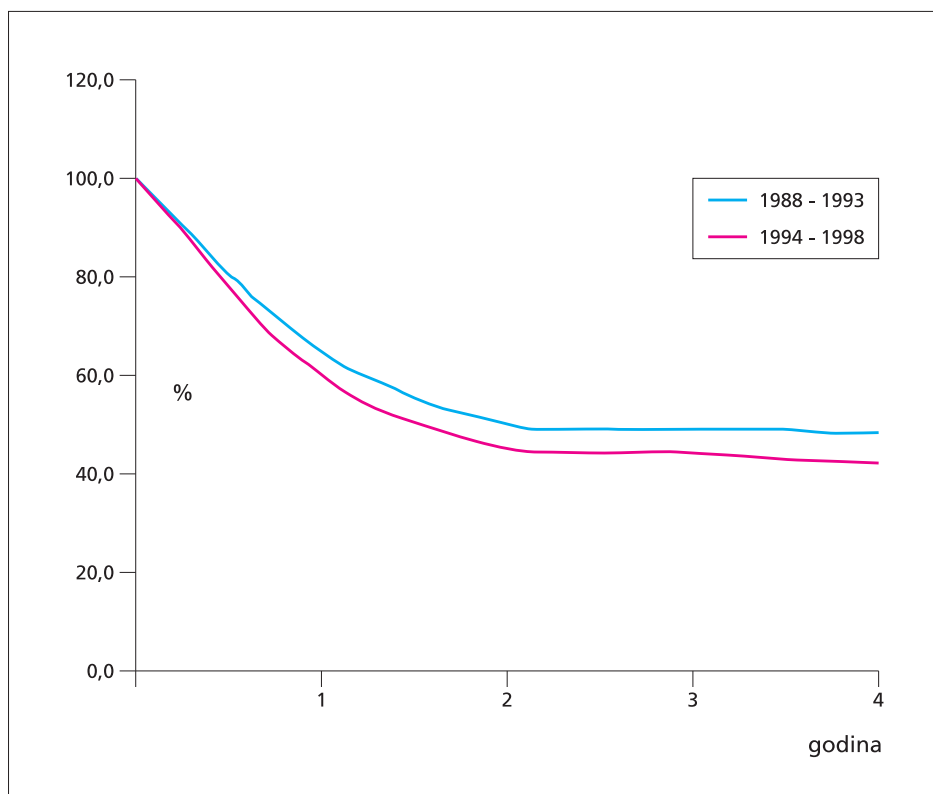
dob

Grafikon 5. Učestalost karcinoma jajnika na 100 000 žena prema dobnim skupinama u RH 2004. godine.⁹

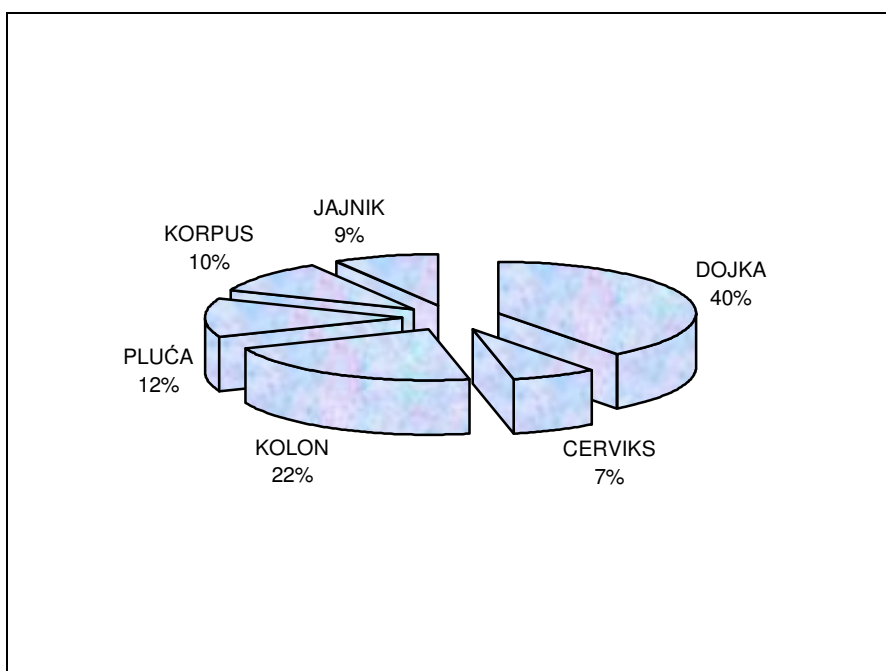


dob

Grafikon 6. Relativno preživljenje od karcinoma jajnika u RH u razdobljima 1988-1993. i 1994-1998.⁹



Grafikon 7. Učestalost karcinoma u žena u RH. ⁹



Karcinom jajnika je na petom mjestu po učestalosti u odnosu na sve ostale karcinome u Republici Hrvatskoj prema podacima na 8822 oboljele od karcinoma tijekom 2004. godine (grafikon 7).⁹

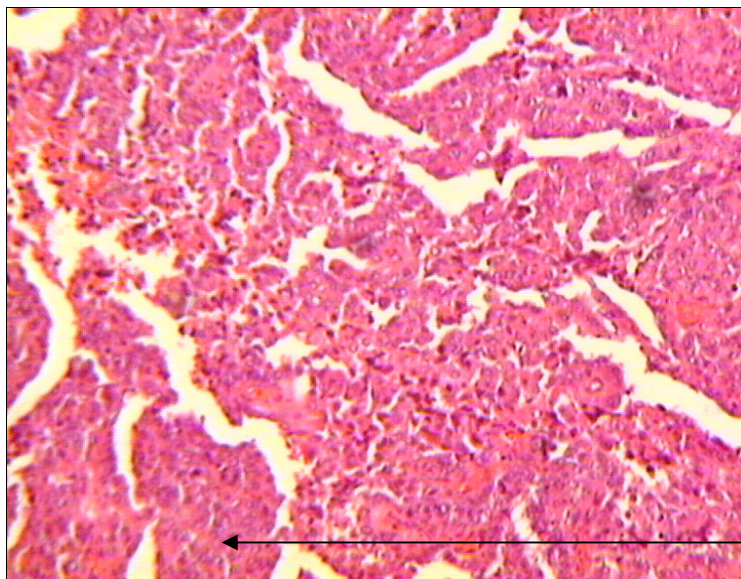
1.1.3. Patohistološka klasifikacija epitelno-stromalnih novotvorina jajnika

Patohistološka klasifikacija novotvorina jajnika vrlo je složena. Novotvorine jajnika se mogu klasificirati na temelju raznih karakteristika kao što su: stanično podrijetlo, količina veziva, makroskopski oblik, vrsta rasta, biološko ponašanje, hormonska aktivnost i dr. Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (SZO) i Međunarodnoj federaciji ginekologa i opstetričara (FIGO - Federation Internationale de Gynecologie et d'Obstetrique) epitelno-stromalne novotvorine

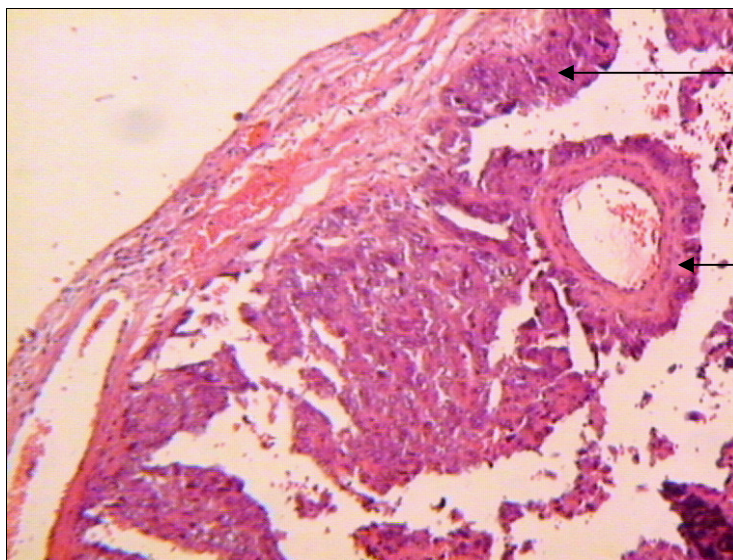
jajnika može se klasificirati u tri kategorije: dobroćudne, tumore niskog zloćudnog potencijala (tumori granične malignosti) i zloćudne tumore.^{10,11}

Zloćudni tumori jajnika su prema SZO podijeljeni u jedanaest skupina. Prema FIGO-u iz 1988. godine patohistološka klasifikacija epitelnih tumora jajnika dijeli epitelne tumore jajnika na serozne, mucinozne, endometrioidne, paramezonefroidne (tumori svijetlih stanica), nediferencirane i neklasificirane tumore.^{12,13}

Slika 1. Histološki izgled seroznog karcinoma jajnika



1



2

3

- 1 - Solidni dio tumora
- 2 - Papile
- 3 - Krvna žila

Tablica 1. Epitelno-stromalne novotvorine pokrovnog epitela jajnika

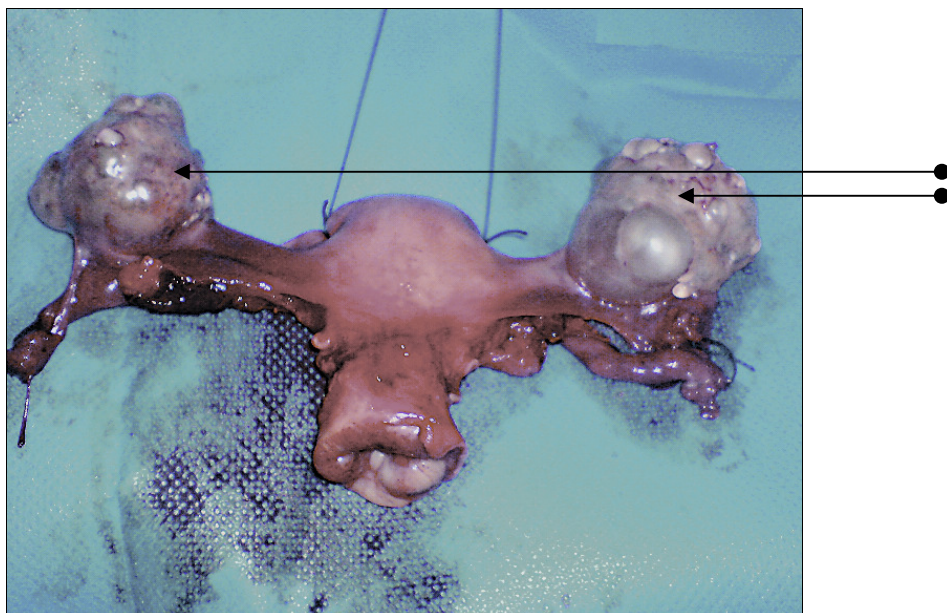
1. Serozni tumori
<ul style="list-style-type: none"> a. Dobročudni serozni cistadenomi b. Atipično proliferirajući serozni tumor (niski zloćudni potencijal) c. Serozni cistadenokarcinom
2. Mucinozni tumori
<ul style="list-style-type: none"> a. Benigni mucinozni cistadenom b. Atipično proliferirajući mucinozni cistadenom (niski zloćudni potencijal) c. Mucinozni cistadenokarcinom
3. Endometrioidni tumori
<ul style="list-style-type: none"> a. Benigni endometrioidni cistadenom b. Atipično proliferirajući c. Endometrioidni adenokarcinom d. Epitelno-stromalni tumori
4. Paramezonefoidni tumori
<ul style="list-style-type: none"> a. Cistadenom b. Atipično proliferirajući c. Adenokarcinom, adenokarcinofibrom i cistadenokarcinofibrom
5. Nediferencirani karcinom
6. Tumori prijelaznih stanica
<ul style="list-style-type: none"> a. Brennerov tumor b. Brennerov tumor granične zloćudnosti c. Zloćudni Brennerov tumor; Karcinom prijelaznog epitela (ne-Brennerov tumor)
7. Miješani epitelni tumori
8. Ekstraovarijski peritonealni karcinom
9. Metastatski tumori jajnika

Epitelne novotvorine pokrovnog epitela čine 65-70% svih tumora jajnika. Od toga 50% spada u skupinu seroznih tumora epitelnog porijekla. U skupini seroznih tumora 50% je benigno, oko 20% su tumori niskog zloćudnog potencijala, a jedna trećina je malignih. Karcinom jajnika porijekla seroznog epitela najčešće se javlja oko 60-te godine života. U 75% slučajeva je obostran u uznapređevaloj fazi bolesti.^{10,11}

1.1.4. FIGO klasifikacija

Analize na velikom broju oboljelih od karcinoma jajnika potvrdile su anatomsku proširenost bolesti ili stadij, kao najznačajnijeg i neovisnog prognostičkog čimbenika. Stoga je Međunarodna federacija ginekologa i opstetričara zloćudne tumore jajnika podijelila u četiri stadija (tablica 2).¹³

Slika 2. Obostrani serozni karcinom jajnika IB2 kliničko-patološkog stadija bolesti



* Obostrani karcinom jajnika s prodorom kroz kapsulu

Tablica 2. Klasifikacija epitelnih tumora jajnika prema Međunarodnoj organizaciji ginekologa i opstetričara (FIGO)¹³

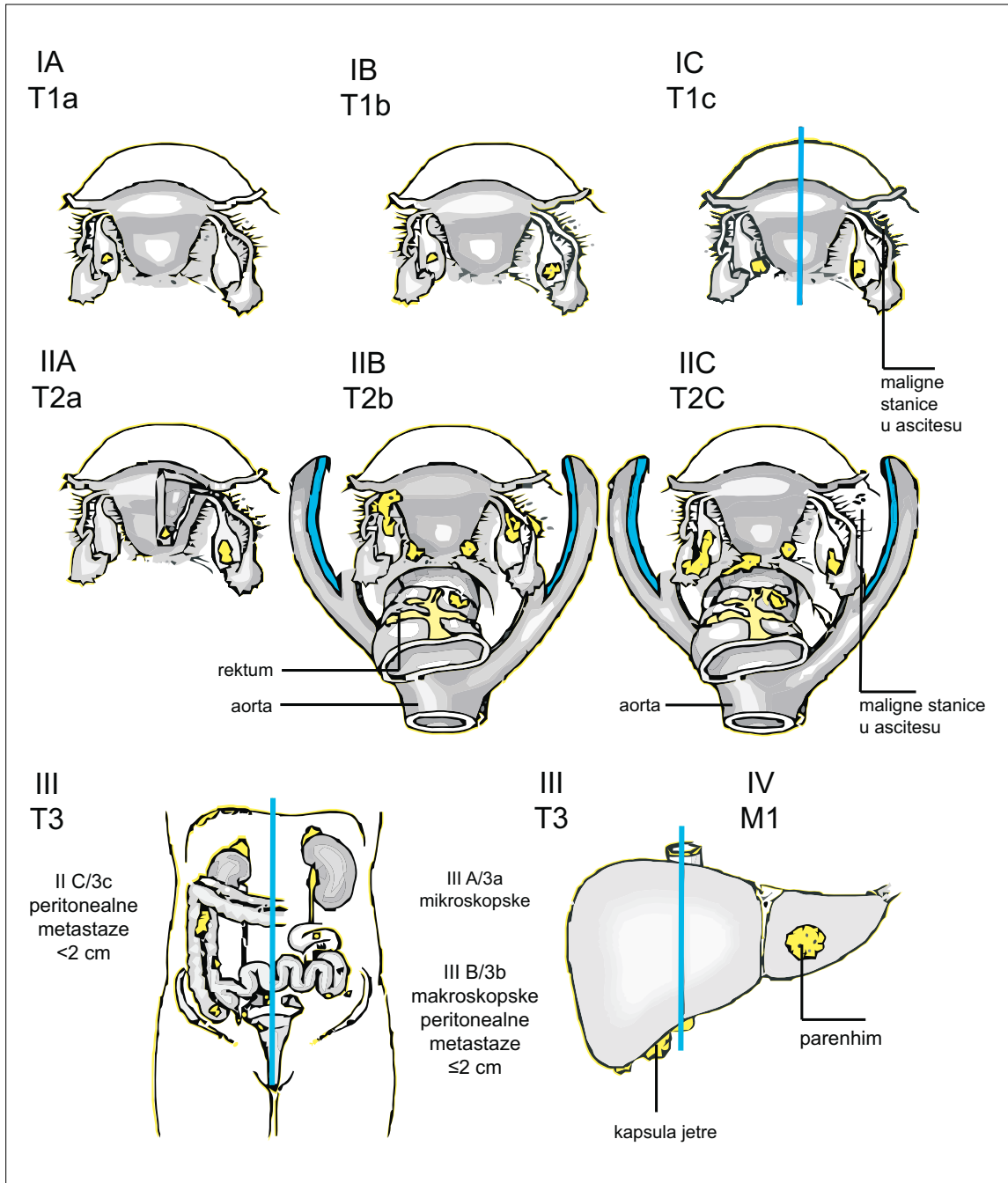
Stadij I	Tumorski rast ograničen na jajnike
Stadij IA	Tumorski rast ograničen na jedan jajnik; bez ascitesa 1. Intaktna kapsula tumora 2. Tumor nazočan na vanjskoj stijenci kapsule
Stadij IB	Tumorski rast nazočan na oba jajnika; bez ascitesa 1. Intaktna kapsula tumora 2. Tumor nazočan na vanjskoj stijenci kapsule
Stadij IC	Stadij IA ili IB s tumorom na površini jajnika ili rupturom kapsule ili ascitesom ili ispiirkom pozitivnim na maligne stanice
Stadij II	Tumorski rast zahvaća jedan ili oba jajnika sa širenjem u malu zdjelicu
Stadij IIA	Širenje tumora i/ili metastaze u maternicu i/ili jajovode
Stadij IIB	Širenje tumora na druga tkiva male zdjelice
Stadij IIC	Stadiji IIA ili IIB, ali s ascitesom ili pozitivnim peritonealnim ispiirkom
Stadij III	Tumor zahvaća jedan ili oba jajnika s histološki dokazanim peritonealnim implantatima izvan zdjelice i/ili pozitivnim retroperitonealnim ili ingvinalnim limfnim čvorovima. Tumor je ograničen na malu zdjelicu, ali s histološkom potvrdom širenja na tanko crijevo ili omentum
Stadij IIIA	Tumor invadira mikroskopski tanko crijevo, mezenterij ili peritoneum gornjeg abdomena uz negativne limfne čvorove
Stadij IIIB	Tumor zahvaća peritoneum gornjeg abdomena presadnicama ne većim od 2 cm
Stadij IIIC	Peritonealne presadnice veće od 2 cm i/ili pozitivni retroperitonealni i/ili ingvinalni limfni čvorovi
Stadij IV	Tumor zahvaća jedan ili oba jajnika s udaljenim metastazama. Ako je prisutan pleuralni izljev, mora biti citološki pozitivan ili su dokazane parenhimske metastaze u jetri.
<p><i>*U cilju prognoze, a obzirom na kriterije za IC i II C klinički stadij, od velikog je značenja precizirati da li je došlo do spontane rupture kapsule, ili je uzrokovana manipulacijom operatera, ili su maligne stanice pronađene u ascitesu odnosno ispiirku iz abdomena.</i></p>	

Slika 3. Uznapredovali serozni karcinom jajnika s obilnim ascitesom
neposredno prije operacijskog zahvata



**Masivni ascites dijagnosticiran je klinički, ultrazvučno i kompjutoriziranom tomografijom (CT). Abdomen je napete stijenke, visoko iznad razine prsnog koša.*

Slika 4. Klasifikacija zloćudnih tumora jajnika prema FIGO
(slikovno - anatomske prikaz)



1.1.5. Etiopatogeneza i čimbenici rizika

Molekularna događanja koja dovode do nastanka epitelno-stromalnog karcinoma jajnika nisu poznata u potpunosti. Više epidemioloških studija navodi određeni broj endokrinih i genetskih čimbenika, te razne čimbenike okoliša koji bih mogli sudjelovati u patogenezi nastanka karcinoma jajnika. Prihvaćeni čimbenici rizika za nastanak karcinoma jajnika danas su reprodukcijski, nasljedni čimbenici, rana menarha, kasna menopauza, rasa, starija dob i život u Sjevernoj Americi i Zapadnoj Europi.^{14,15}

Hipotezu neprestanih ovulacija osmislio je Fathalla sa suradnicima. Prema njegovoj hipotezi karcinom jajnika nastaje zbog ponavljanih procesa oštećenja i izgradnje pokrovnog epitela jajnika za vrijeme ovulacije tijekom reprodukcijskog razdoblja žene.^{16,17}

Potvrdu ovoj hipotezi predstavlja dokazani zaštitni učinak od nastanka karcinoma jajnika kod žena koje su rađale, koristile oralnu kontracepciju i dojile.¹⁷

Žene koje su koristile oralnu kontracepciju imaju 30-60% manji rizik za nastanak karcinoma jajnika. Prema istraživanju WHO, relativni rizik (RR) za nastanak karcinoma jajnika u korisnica oralne kontracepcije iznosi 0.75. Dužina uzimanja oralnih kontraceptiva dodatno smanjuje rizik za nastanak karcinoma jajnika. Nerotkinje koje koriste oralnu kontracepciju imaju značajno snižen relativni rizik, (RR=0,16), u odnosu na višerotkinje (RR=0,85).¹⁸

Žene koje su bile trudne imaju također 30-60% manji rizik za nastanak karcinoma jajnika. Relativni rizik nakon dva poroda je 0,49-0,97. Žene koje su rodile tri puta i više, u odnosu na nerotkinje imaju smanjen relativni rizik od 0,35-0,76.¹⁷ Potpuna supresija ovulacije ili redukcija broja ovulacijskih ciklusa ide u prilog ovoj hipotezi.

Nasuprot supresiji ovulacije, stimulatori ovulacije u postupcima pomognute oplodnje prema nekim spoznajama povisuju učestalost karcinoma jajnika, poglavito onih graničnog zloćudnog potencijala.¹⁹⁻²¹

Prema gonadotropinskoj hipotezi povišene razine folikulostimulirajućeg hormona (FSH) i/ili luteinizirajućeg hormona (LH) imaju određeno značenje u onkogenezi karcinoma jajnika. Povišene razine gonadotropina uz posljedičnu stalnu estrogensku stimulaciju dovode do stvaranja inkluzijskih cista, proliferacije i maligne alteracije pokrovnog epitela jajnika.²²

Endometrioza i zdjelična upalna bolest prema nekim autorima povisuju rizik za nastanak karcinoma jajnika. Ova hipoteza se temelji na pretpostavci da bilo koji upalni čimbenik povisuje rizik nastanka karcinoma jajnika. Epidemiološki podaci o smanjenom broju karcinoma jajnika u žena koje koriste acetilsalicilnu kiselinu ili nesteroidne antireumatike potvrđuju važnost ove hipoteze.²³

Teorija zdjelične kontaminacije temelji se na pretpostavci da neke tvari iz okoliša mogu uzrokovati nastanak karcinoma jajnika. Prolaz kancerogena kroz spolni sustav žene mogao bi inducirati nastanak karcinoma. Toj hipotezi idu u prilog istraživanja o utjecaju talka na pojavnost karcinoma jajnika, kao i smanjena učestalost karcinoma jajnika kod žena koje su histerektomirane ili sterilizirane na način da su im obostrano podvezani jajovodi.^{24,25}

U prilog teoriji o poremećaju hormonskog miljea u žena s karcinomom jajnika govore i epidemiološki podaci gdje žene oboljele od karcinoma dojke imaju 2-4 puta povišen rizik za nastanak karcinoma jajnika.²⁵

Hormonsko nadomjesno liječenje prema većini istraživanja blago povisuje pojavnost karcinoma jajnika (RR=1,18).²⁶ Najnovija istraživanja nisu jasno dokazala neupitnu povezanost nastanka karcinoma jajnika kod žena koje su uzimale hormonsko nadomjesno liječenje (HNL).²⁷ Daljnji problem je razlika u estrogenskim, ali i gestagenskim sastojcima nadomjesnih preparata u Europi i SAD-u. Potrebna su daljnja istraživanja kako bi se razjasnio stvaran utjecaj hormonskog nadomjesnog liječenja na pojavnost karcinoma jajnika.

Prema nekim autorima kancerogeneza u jajniku povezana je i s povišenom razinom androgena u menopauzi.²⁸

Razvidno je da je nastanak i rast karcinoma jajnika složen proces u epitelu jajnika koji uključuje brojne čimbenike koji mogu stimulirati zloćudnu preobrazbu. U proces su uključeni spolni hormoni, stromalna proizvodnja steroidnih hormona, upalne stanice, čimbenici okoliša i dr.

Životni rizik za nastanak karcinoma jajnika je 1,46. Rizik se povećava u žena s jednom oboljelom u rodnom srodstvu za 4-5%.²⁹ Ukoliko se dva člana obitelji razbole od karcinoma jajnika rizik raste na 7%. Žene koje imaju nasljedni sindrom karcinoma jajnika su one koje u obitelji imaju dvije oboljele u prvom rodnom srodstvu. Vjerojatnost da te žene obole od karcinoma jajnika je 25-45%.¹⁵

Samo 7% oboljelih od karcinoma jajnika ima u prvom rodnom srodstvu oboljelu od karcinoma jajnika.³⁰ Vjerojatno oko 10% karcinoma jajnika epitelnog porijekla imaju nasljednu predispoziciju (tablica 3). Poznata su dva nasljedna sindroma, engl. Hereditary breast-ovarian cancer (HBOC). Najčešći oblik karcinoma jajnika pojavljuje se u sklopu ovog sindroma.³¹ U nasljedne sindrome za nastanak karcinoma jajnika uključeni su uglavnom BRCA 1 i BRCA 2 tumor supresor geni. Životni rizik za nastanak karcinoma jajnika u žena s BRCA 1 mutacijom iznosi 28-44%, te 27% kod nosilaca mutacije BRCA 2.³² Nosioci BRCA 1 mutacije oboljevaju od karcinoma jajnika prije 50. godine života i to najčešće od seroznog karcinoma jajnika.³³ U odnosu na ostale oboljele, nosioci BRCA 1 mutacije imaju značajno bolju prognozu.³⁴ Preporuka je da se kod žena s nasljednim sindromom za karcinom jajnika napravi profilaktička ooforektomija u 35. godini života ili odmah nakon završetka reprodukcije funkcije. Uporaba oralnih kontraceptiva u ovoj skupini žena smanjuje rizik od nastanka karcinoma jajnika za 60%.³⁵

Osim standardnih prognostičkih pokazatelja u predviđanju biološkog ponašanja seroznih tumora određuju se i dodatni prognostički čimbenici, a to su:

- određivanje ploidnosti tumorskih stanica
- određivanje proliferacijskog biljega Ki 67
- određivanje ekspresije p53
- određivanje ekspresije MDM2 (regulator p53 aktivnosti)
- određivanje ekspresije GLUT 1 i 2 (povećana izražajnost jasno slijedi invazivne implantate)
- Cox-2 (povećana ekspresija inhibira apoptozu, povećava metastatski potencijal tumora).

Tablica 3. Geni povezani s nasljednim karcinomom jajnika

Gen	Sindrom	Lokacija	Mutacija	%
BRCA 1	Rak dojke i jajnika	17q21	23/565	4,1
BRCA 2	Rak dojke i jajnika	13q12	6/180	3,3
hMSH2 hMLSH1 pPMS2	Nasljedni nepolipozni rak debelog crijeva	2p16 3p21 7p22	3/104	2,9
				Ukupno 10,34%

(Preuzeto iz Boyd J. Molecular genetics of hereditary ovarian cancer. Oncology 1998;12:399, and Lynch HT, Kimberling W, Albano WA, et al. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer. (Lynch syndrome I and II). I. Clinical description of resource. Cancer 1985;56:934.)

1.1.6. Dijagnostika karcinoma jajnika

Karcinom jajnika se u 30-35% oboljelih otkrije u ranim stadijima bolesti (I i II). U 60-65% oboljelih karcinom jajnika se otkrije u uznapredovalim stadijima bolesti (III i IV). Razlog tome je izostanak ranih simptoma bolesti.³⁶

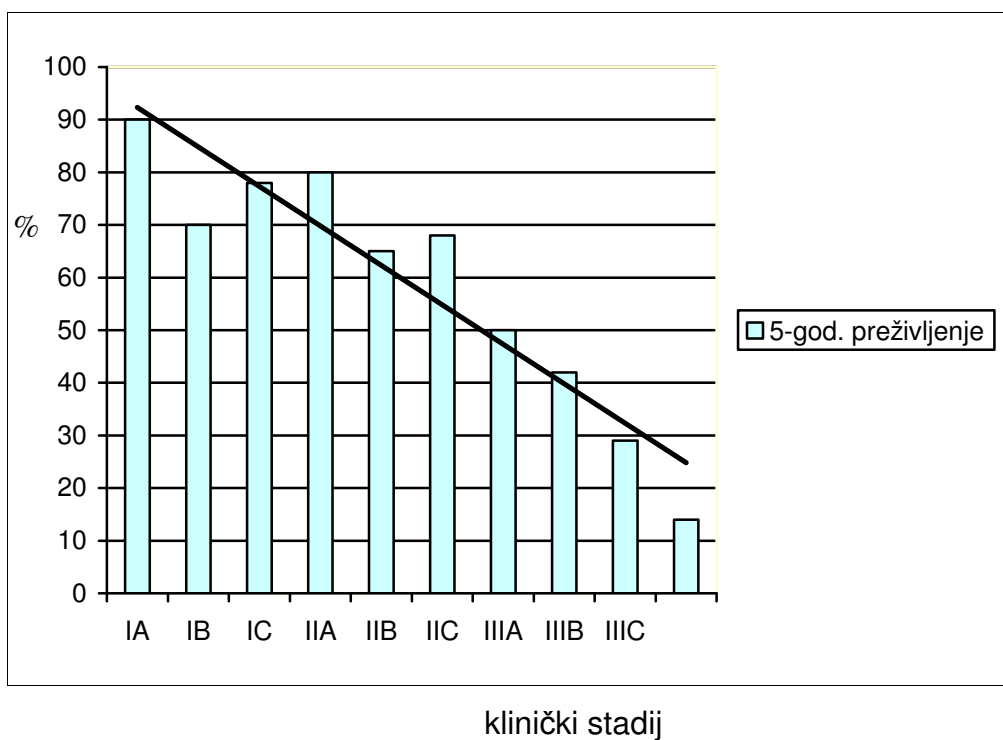
Postavljanje dijagnoze i proširenost bolesti utvrđuje se na temelju:

- detaljne anamneze s posebnim osvrtom na obiteljsku anamnezu (karcinom jajnika i dojke u obitelji) i čimbenike rizika (reprodukcija, indukcija ovulacije, oralna kontracepcija)
- kliničkog pregleda trbuha, palpacije ingvinuma i supraklavikularnih jama
bimanualnog i digitorektalnog pregleda zdjelice
- transvaginalnog 3D/4D-ultrazvuka
- serumskih vrijednosti tumorskih biljega CA-125, CA-19-9, CA 15-3, CEA i dr.
- rentgen snimke pluća
- mamografije
- kolonoskopije i/ili pasaže crijeva
- infuzijske urografije
- abdominalnog ultrazvuka
- kompjutorizirane tomografije ili magnetske rezonancije
- pozitronske emisijske tomografije.

Konačna dijagnoza postavlja se isključivo na temelju patohistološkog nalaza. Serozni karcinom jajnika čini 51,2% svih karcinoma jajnika, te 67,3% malignih novotvorina jajnika III i IV kliničkog stadija prema FIGO izvješću za razdoblje 1998-1999. na 4879 ispitanica (slika 4,5).⁷

Ukupno preživljenje za sve oboljele od karcinoma jajnika obzirom na stadij bolesti iznosilo je 46,4% (grafikon 8).

Grafikon 8. Preživljenje bolesnica prema kliničko-patološkim stadijima bolesti⁷

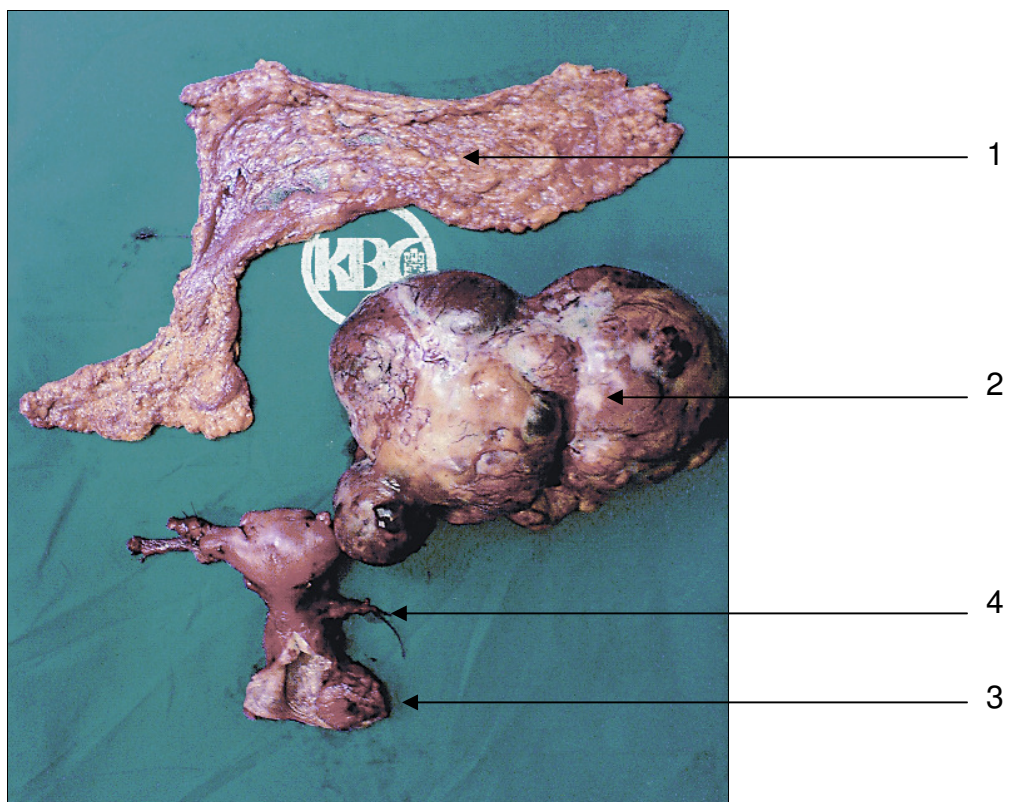


Slika 5. Uznapredovali serozni karcinom jajnika kliničko-patološkog stadija bolesti IIIC



**Serozni karcinom desnog jajnika odstranjuje se u cjelosti*

Slika 6. Serozni karcinom lijevog jajnika s metastazom u srednjoj trećini rodnice



1. omentum
2. serozni karcinom lijevog jajnika
3. metastaza u rodnici
4. lijevi parametrij

1.1.7. Liječenje

1.1.7.1. Kirurško liječenje karcinoma jajnika

Unatoč naporima da se unaprijede metode ranog otkrivanja karcinoma jajnika u većini se slučajeva bolest otkriva u uznapredovalom stadiju proširenosti izvan zdjelice (slika 5,6). To se posebno odnosi na serozni karcinom jajnika.

Liječenje seroznog karcinoma jajnika provodi se primarno kirurškim putem uz dodatnu terapiju najčešće kemoterapeutičima. Američki ginekolog T. C. Griffiths prvi je utvrdio da prognoza bolesnice ovisi o veličini ostatnog tumora nakon operacijskog zahvata.³⁷ Teorijsku bazu svojih tvrdnji temeljio je na postavkama da operacijska redukcija tumorske mase:

- poboljšava opće stanje bolesnice
- omogućava metabolički oporavak
- reducira katabolički učinak tumora
- poboljšava prokrvljenost ostatne tumorske mase
- smanjuje veliku proporciju tm. u G0 fazi staničnog ciklusa
- stimulira imunološki odgovor bolesnice
- smanjuje broj kemorezistentnih klonova

Griffiths je prvi kvantitativno obradio i prikazao rezultate preživljenja 102 pacijentice koje su bolovale od II i III stadija karcinoma jajnika. Kao graničnu veličinu ostatnog tumora odredio je 1,45 cm. Optimalna citoredukcija produžila je preživljenje na 39 mjeseci u odnosu na ostale, s prosječnim preživljenjem od samo 12 mjeseci.

Danas je citoredukcija tumora jedini prognostički čimbenik na kojeg se može utjecati u cilju produženja života oboljelih od karcinoma jajnika.³⁷

Uspješnost citoredukcijske kirurgije određena je veličinom ostatnog tumora. Nije usaglašen stav o optimalnoj veličini ostatnog tumora. U više od 2/3

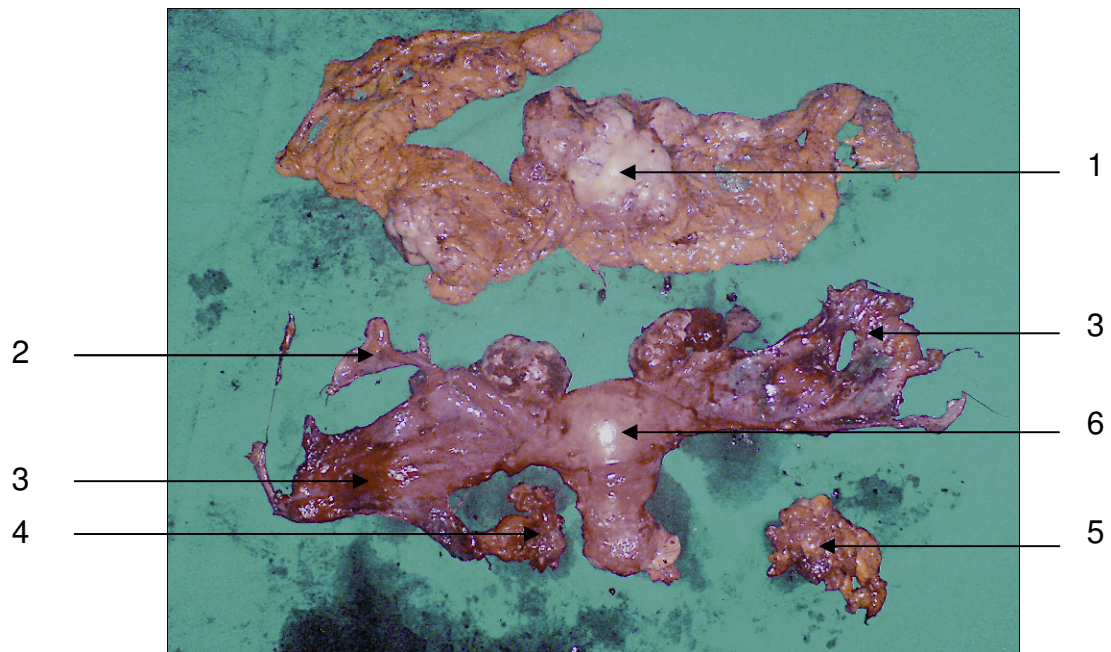
studija navodi se optimalna citoredukcija do veličine ostatnog tumora od 2 cm, dok najnovija studija Gynecology Oncology Group (GOG) optimalnu citoredukciju definira kao ostatni tumor manji od 1 cm.³⁸ Prognostičko značenje citoredukcijske kirurgije prikazano je na grafikonu 9.⁵ Uspješnost kirurga u liječenju karcinoma jajnika radikalnim kirurškim pristupom je 51,6% na 2362 operiranih žena od invazivnog karcinoma jajnika III i IV kliničko-patološkog stadija bolesti.⁵ U spomenutoj meta-analizi preživljenje bolesnica s optimalnom redukcijom iznosi 39 mjeseci u odnosu na suboptimalnu redukciju gdje je preživljenje 17 mjeseci. Opsežnost operacijskog zahvata određuju proširenost tumora i uvježbanost kirurškog tima.³⁶

Za pravilno kirurško-patološko određivanje stadija bolesti kod oboljelih od karcinoma jajnika potrebno se pridržavati smjernica u kirurškom protokolu:

- uzimanje ispiraka iz trbušne šupljine uz intraoperacijsku citološku analizu s tipičnih mjesta (mala zdjelica, parakolični prostor lijevo i desno, te subdijafragmalno)
- pažljiva eksploracija čitave trbušne šupljine
- uzimanje uzoraka peritoneuma sa suspektnih mjesta ili nasumično, (najmanje 15-20 uzoraka) i/ili ljuštenje peritoneuma
- potpuna (suprakolična) resekcija trbušne maramice
- apendektomija
- odstranjenje priraslica
- zdjelična i paraaortalna limfadenektomija
- histerektomija i adneksektomija s ljuštenjem zdjeličnog peritoneuma.³⁶

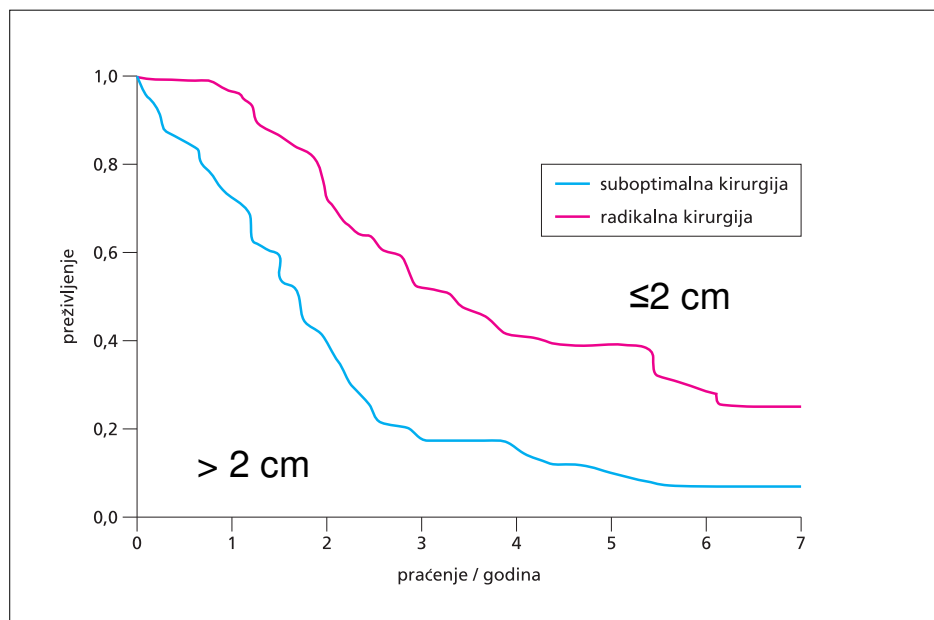
Uz standardan kirurški pristup u nekim situacijama indicirano je provesti radikalni kirurški postupak (potpuno ljuštenje zdjeličnog peritoneuma uz resekciju rektovaginalnog septuma) (slika 7) i supraradikalni pristup koji uključuje resekciju crijeva, splenektomiju, ljuštenje peritoneuma trbušne stijenke, striping dijafragme i dr (slika 7,8).³⁶

Slika 7. Radikalna operacija uznapredovalog seroznog karcinoma jajnika IV kirurško-patološkog stadija



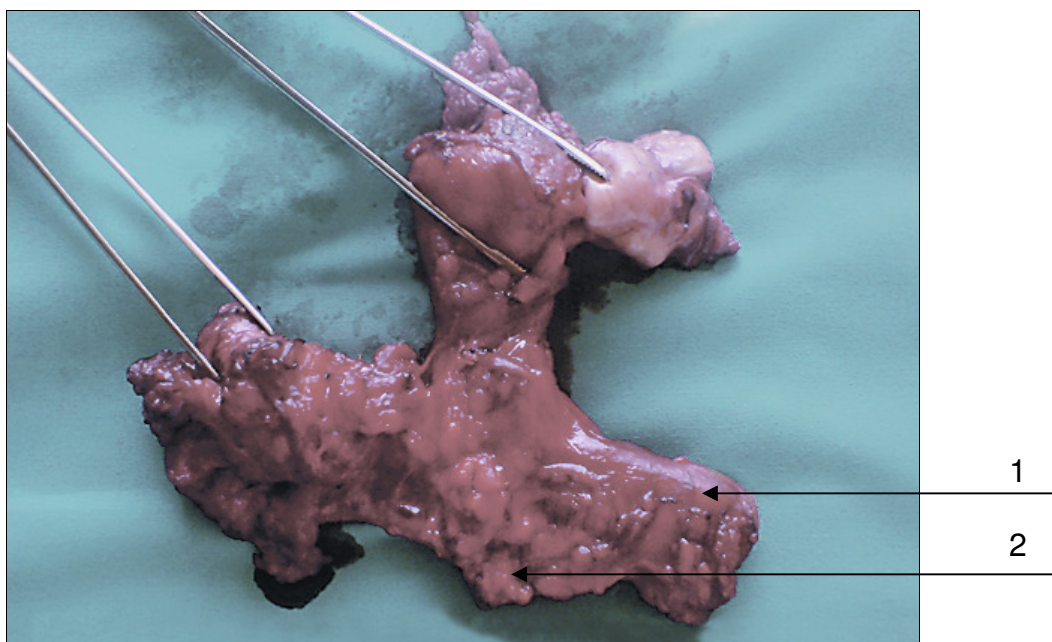
1. *omentum sa metastazama*
2. *apendiks sa metastazom*
3. *peritoneum zdjelice sa karcinomatozom*
4. *resecirani infiltrirani dio mokraćnog mjehura*
5. *zdjelični limfni čvorovi*

Grafikon 9. Preživljenje u odnosu na veličinu ostatnog tumora oboljelih od seroznog karcinoma jajnika IIIc kliničkog stadija bolesti



(Preuzeto iz Aletti. *Surgery and Advanced ovarian cancer. Obstet Gynecol 2005.*)

Slika 8. Supraradikalni pristup u kirurškom liječenju karcinoma jajnika



1 - Resecirani rektum

2 - Serozni karcinom jajnika koji infiltrira mišićni sloj rektuma

1.1.7.2. Kemoterapija u liječenju karcinoma jajnika

Epitelni karcinom jajnika koji obuhvaća više od 90% svih karcinoma jajnika je kemosenzitivni tumor s odgovorom od 80% na primjenjenu kemoterapiju nakon citoredukcijske kirurgije. Unatoč tom visokom postotku odgovora na inicijalnu kemoterapiju, veliki broj bolesnica s uznapredovalom bolešću (stadija III-IV), koje čine 2/3 svih bolesnica, ima loše preživljenje. Razlog tome je vjerojatno u brzom povratu bolesti i rezistenciji na citostatike.

Sredinom prošlog stoljeća započelo je liječenje karcinoma jajnika alkilirajućim agensima, međutim uvođenjem cisplatine i njenog derivata karboplatine početkom sedamdesetih godina prošlog stoljeća, ostvareni su znatno bolji rezultati. Otkrićem taksana, posebice paklitaksela i njihovim uvođenjem u kemoterapijske protokole došlo je do produženja preživljenja bolesnica s uznapredovalim karcinomom jajnika.³⁹

Rezultati brojnih studija pokazali su veću učinkovitost kombinacije cisplatina-paklitaksel nad protokolom cisplatina-ciklofosamid kod uznapređovalog karcinoma jajnika. Novija su istraživanja ipak pokazala gotovo jednaku učinkovitost monokemoterapije cisplatina/karboplatina nasuprot polikemoterapiji.⁴⁰⁻⁴²

Nakon 25 godina istraživanja cisplatina i dalje ostaje najvažniji citostatik u liječenju karcinoma jajnika. Njezin derivat karboplatina pokazala je istu učinkovitost uz manju nefrotoksičnost pa se stoga više koristi u kemoterapijskim protokolima.

Od novijih citostatika taksani, prvenstveno paklitaksel, su svakako najznačajniji.⁴³ Danas je «zlatni standard» u kemoterapijskom liječenju karcinoma jajnika kombinacija karboplatine (AUC 6-7) i paklitaksela (175 mg/m²) svaka 3 tjedna kroz 4-6 ciklusa. Uspješnost intraperitonejske kemoterapije je i nakon 50-ak godina istraživanja dvojbena. Neka istraživanja intraperitonejske kemoterapije s cisplatinom pokazala su bolje preživljenje bolesnica u odnosu na standardne protokole, no uz znatno veći broj komplikacija i povećanu toksičnost. Stoga se ovaj oblik liječenja i dalje provodi samo u okvirima strogo kontroliranih kliničkih studija.

Kratkotrajno produženje slobodnog intervala (DFI - Disease Free Interval) bez produženja preživljenja nije dovoljan razlog koji bi opravdao znatno veću toksičnost takvog oblika liječenja.⁴⁴

Najveći problem u liječenju karcinoma jajnika je svakako liječenje povrata bolesti. Iako se dosta citostatika pokazalo djelotvornim u liječenju povrata bolesti, ni s jednim se nažalost ne postiže dugotrajna remisija. Tu se ubrajaju: topotekan, gemcitabin, liposomalni doksorubicin, vepesid. Najbolje ih je kombinirati s cisplatinom ukoliko ne postoji rezistentna bolest.⁴⁵

Novija ispitivanja u liječenju karcinoma jajnika uz konvencionalne protokole sve više koriste i nove lijekove kao što su inhibitori angiogeneze, monoklonska protutijela i hormoni.

1.1.7.3. Radioterapija u liječenju karcinoma jajnika

Zračenje kao nastavak liječenja karcinoma jajnika nakon primarnog kirurškog zahvata indicirano je u male skupine bolesnica. Može se primijeniti u svih bolesnica stadija Ic, II i III uz pretpostavku da nema ostatnog tumora i/ili su prisutni znakovi mikroskopske bolesti (pozitivan ispirak).

Kod uznapredovalih karcinoma jajnika kada je nakon kemoterapije negativan nalaz, na ponovljenoj laparotomiji treba razmotriti nastavak liječenja zračenjem ako je prisutan visoki rizik za povrat bolesti (bolesnice starije od 50 godina sa slabo diferenciranim tumorima – III stupnja zrelosti, te velikim ostatnim masama nakon inicijalne operacije).

Histološki tip tumora i stupanj diferencijacije, te stadij bolesti važni su čimbenici u određivanju načina liječenja. Tumori svijetlih stanica i slabo diferencirani tumori trebaju prvenstveno biti liječeni kemoterapijom, dok je za ostale vrste tumora i zračenje prihvatljiv način liječenja.

Unatoč brojnim studijama objavljenim u posljednjih dvadeset godina uloga zračenja u liječenju karcinoma jajnika nije potpuno razjašnjena. Zračenje karcinoma jajnika može biti vanjsko (perkutano) ili intraperitonejsko (radioaktivni izotopi).⁴⁶ Vanjsko zračenje provodi se s visokoenergetskim X-zrakama. Sklonost karcinoma jajnika da dugo ostane lokaliziran u trbušnoj šupljini dovela je do uporabe vanjskog zračenja kao adjuvantne terapije nakon primarnog kirurškog zahvata. Zrači se cijeli abdomen a ne samo područje zdjelice zbog visokog postotka recidiva u gornjem abdomenu.^{47,48} Ispitivanja koja su uspoređivala zračenje zdjelice sa zračenjem cijelog abdomena pokazala su da je zračenje abdomena sa zdjelicom bolje od zračenja same zdjelice, te da je doza od 2250 - 3000 cGy možda dovoljna za izlječenje i trajnu kontrolu mikroskopskih tumorskih depozita karcinoma jajnika.⁴⁷⁻⁵⁰

Prednosti vanjskog zračenja u odnosu na intraperitonejsko su bolja raspoređenost doze zračenja, mogućnost boljeg zračenja zdjelčnih i paraaortalnih limfnih čvorova, te mogućnost liječenja cijele peritonejske površine bez ograničenja koje mogu izazvati priraslice. Za intraperitonejsko

zračenje koriste se koloidi radioaktivnog zlata (Au168) i fosfora (P-32). U novije vrijeme P-32 se koristi u bolesnica stadija III koje su primile polikemoterapiju s cisplatinom i koje na "second look" laparotomiji imaju minimalnu ili mikroskopsku bolest (pozitivan ispirak).⁴⁶

1.1.8. Prognostički čimbenici

Kirurškim zahvatom se definitivno određuje stadij bolesti i niz kliničko-patoloških karakteristika značajnih za odabir dodatnog liječenja nakon operacijskog zahvata. Od velikog broja prognostičkih čimbenika najznačajniji su kliničko-patološki stadij bolesti i veličina ostatnog tumora.

1.1.8.1. Kirurško-patološki stadij bolesti

Stadij bolesti u izravnoj je svezi s preživljenjem bolesnice. Danas predmnijevane smjernice za kirurško-patološko određivanje stadija karcinoma jajnika promijenile su i rezultate preživljenja u odnosu na stadij bolesti. Tako je nekad preživljenje bolesnica u I stadiju bolesti sa 60-80% uz adekvatan kirurško-patološki „staging“ poraslo na oko 90%.⁵¹ Kliničko-patološki stadij bolesti nezavisan je prognostički čimbenik u svim istraživanjima o preživljenju oboljelih od karcinoma jajnika.^{6,15,24,25} Na tablici 4 prikazana je distribucija bolesnica prema stadiju bolesti na velikom broju ispitanica.

Tablica 4. Raspodjela bolesnica prema stadiju bolesti²⁵

Stadij	Broj pacijentica	%
I	2549	23
II	1409	13
III	5170	47
IV	1784	16
Ukupno	10912	100

1.1.8.2. Veličina ostatnog tumora

Značenje veličine ostatnog tumora opisano je u kirurškom liječenju karcinoma jajnika. Važno je naglasiti da je veličina ostatnog tumora prema svim raspoloživim istraživanjima direktno povezana s preživljenjem bolesnica.^{37,38} Ne samo veličina, nego i broj ostatnih tumora važan je za prognozu bolesti.⁵²

Prema nekim istraživanjima multivarijatnom analizom je utvrđeno da ostatni tumor manji od 2 cm ima značajno bolju prognostičku vrijednost u odnosu na veće ostatne tumore.⁵ Uspješnost citoredukcije u studiji Roswel Parka u stadiju bolesti III i IV iznosila je čak 87% uz ostatni tumor manji od 2 cm. Unatoč tako dobrom kirurškom rezultatu postotak preživljenja nije se značajnije promijenio.⁵³ Vjerojatno i niz drugih čimbenika osim veličine ostatnog tumora utječe na konačan tijek bolesti. Tu se prvenstveno misli na agresivnost pojedinih novotvorina (histološki tip tumora, stupanj zrelosti tumora, molekularni prognostički čimbenici i dr).

1.1.8.3. Histološki tip tumora

Histološki tip tumora ukupno promatrajući, ima manji značaj kao prognostički čimbenik nego stadij bolesti, veličina ostatnog tumora i stupanj zrelosti tumora.⁵

1.1.8.4. Stupanj zrelosti tumora

Stupanj zrelosti tumora značajan je prognostički čimbenik u ranim stadijima karcinoma jajnika. Dobro diferencirani tumori prvog kliničkog stadija samo uz adekvatno operacijsko liječenje imaju petogodišnje preživljenje u 90% slučajeva.⁵¹ Bolesnice s istim stadijem bolesti i nezrelim tumorom imaju značajno lošiju prognozu, te je kod njih indicirano provesti dodatno liječenje.⁵⁴ U uznapredovalim stadijima bolesti uz adjuvantnu terapiju na bazi preparata platine većina studija nije dokazala važnost stupnja zrelosti tumora u preživljenju oboljelih od karcinoma jajnika.⁵⁵ U obzir treba uzeti i razlike u interpretaciji nalaza zbog nesuglasnosti u standardizaciji određivanja stupnja zrelosti tumora.⁵⁶ Danas je razvidno da stupanj zrelosti tumora ima važno prognostičko značenje u I stadiju karcinoma jajnika.⁵

1.1.8.5. Kirurški prognostički čimbenici

Značenje kirurških prognostičkih čimbenika neupitno je kod uznapredovalih stadija karcinoma jajnika. Njihova značajnost daleko je izraženija u ranijim stadijima bolesti gdje uvijek postoje dileme o potrebi za dodatnim liječenjem. Veličina primarnog tumora, obostrana zahvaćenost, ascites koji je citološki negativan na maligne stanice, te ruptura tumora nemaju prognostičko značenje, pogotovo u ranim stadijima karcinoma jajnika.⁵⁷ Prisutnost malignih stanica u ispirku ili ascitesu u I stadiju bolesti također je od dvojbenog značenja. Priraslice, rahle ili čvrste teško je diferencirati u ranijim stadijima u svezi tumorske invazije u najvećem broju slučajeva. Takve bolesnice je potrebno svrstati u II stadij bolesti.

1.1.8.6. Ploidnost tumora

Ploidnost tumorskih stanica uz već navedene prognostičke čimbenike u najvećem broju istraživanja predstavlja nezavisan prognostički faktor.

Aneuploidni tumori najčešći su u III i IV stadiju bolesti (50-80%) dok se u I i II stadiju javljaju u 10-60%. U većini istraživanja ploidnost tumora u svezi je sa stupnjem zrelosti tumora.⁵⁸

Može li ploidnost tumorskih stanica predmnijevati agresivnost u ranim stadijima karcinoma jajnika? Prema istraživanju Gajewskog i Trope desetogodišnje preživljenje kod diploidnih tumora iznosilo je 100%, a kod aneuploidnih 58%.⁵⁹ Ploidnost tumorskih stanica pokazala se značajnom i u uznapredovalim stadijima bolesti gdje je samo 20% aneuploidnih i 45% diploidnih preživjelo 5 godina.

1.1.8.7. Genetski i biološki prognostički čimbenici

Oko 10% epitelnih karcinoma jajnika ima genetsku podlogu. Molekularni markeri kao prognostički čimbenici određivani su u velikom broju istraživanja. Najčešće se koriste produkti supresor gena (p53, p16, pRB), onkogeni produkti (HER-2/neu, p20), markeri proliferacije (DNA indeks, S-faza frakcije, KI-67 indeks, PCNA), citokini (CSF-1, interleukin 6), te čimbenici povezani s tumorskom invazijom i metastazama.⁶⁰

1.1.8.8. Vrijednosti tumorskog biljega CA 125 u serumu

CA-125 je serumski glikoprotein. Normalna razina CA-125 je < 35 U/mL. Kod 80% žena s karcinomom jajnika epitelnog porijekla povišena je razina CA-125 iznad 65 U/mL. Osjetljivost razine CA-125 u serumu za I stadij bolesti niža je od 50%, a za II i više stadije osjetljivost raste iznad 90%.⁶¹

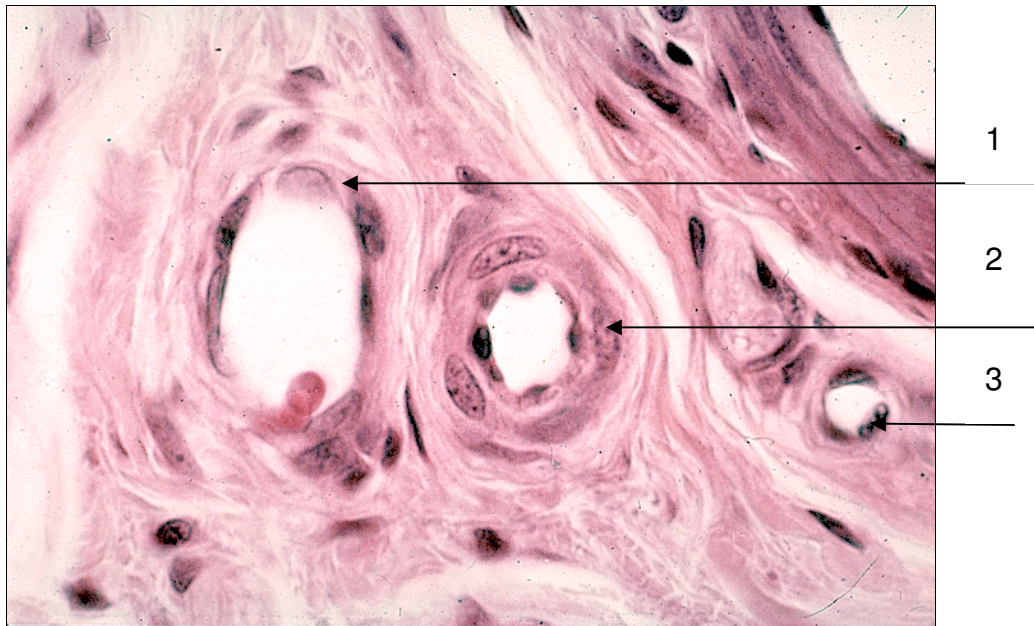
Prevalencija povišenih vrijednosti serumskog CA-125 najviša je kod seroznog karcinoma jajnika, a najniža kod mucinoznog karcinoma jajnika. Osim kod žena s karcinomom jajnika vrijednosti CA-125 su povišene i kod žena s

uznapredovalim karcinomom tijela i vrata maternice, gušterače, te kod svih upalnih stanja u abdomenu kao i benignih tumora, endometrioze i dr. CA-125 je povišen u 1% zdravih žena. Serumski CA-125 nema dijagnostičku vrijednost u otkrivanju karcinoma jajnika kod žena u reproduktivskom razdoblju. Prema preporuci ACOG-a (American College of Obstetrics and Gynecology) vrijednosti iznad 200 U/mL imaju značenje kod žena u reproduktivskom razdoblju. Pozitivna prediktivna vrijednost za žene u menopauzi iznosi 97%. Visoke prijeoperacijske vrijednosti CA-125 koreliraju s kliničkim stadijem bolesti, gradusom, seroznim histološkim tipom tumora i prisustvom ascitesa. Serumski CA-125 nema prediktivno značenje u predviđanju uspješnosti citoredukcijske kirurgije.⁵

1.2. Angiogeneza

Krvožilni sustav jedan je od najvažnijih u organizmu. Ima površinu oko 900 m². Krvne žile se sastoje od jednog reda endotelnih stanica, subendotelnog pericitnog sloja, stanica mišića glatke muskulature, fibroblasta, bazalne membrane i izvanstaničnog matriksa. Ovisno o lokalizaciji krvožilnog sustava u organizmu, bazalna membrana, izvanstanični matriks i stanična konstitucija razlikuju se prema fenotipu, funkciji i kompoziciji. Endotelne stanice aktivno su uključene u više regulacijskih procesa kao što su metabolička aktivnost, selektivna permeabilnost i koagulacija.⁶² Na slici broj 9 prikazan je histološki presjek kroz arteriolu, venu i kapilaru.

Slika 9. Histološki prikaz arteriole, venule i kapilare



- 1- Venula
- 2- Arteriola
- 3- Kapilara

Formiranje novih krvnih žila iz preteča endotelnih stanica (angioblasta) naziva se vaskulogeneza.⁶³

Termin angiogeneza znači nastajanje novih krvnih žila iz već postojećih kapilara. Predstavlja dio zbivanja koja su od ključne važnosti u mnogim fiziološkim i patološkim procesima u organizmu.^{64,65} Proces angiogeneze reguliran je brojnim parakrinim čimbenicima rasta koji se dijele na stimulatore i inhibitore, a nalaze se u stalnoj ravnoteži. Angiogeneza je sastavni dio fizioloških procesa kao što su cijeljenje rane, formiranje žutog tijela, rast fetusa i dr.^{64,65}

Abnormalna angiogeneza je posljedica gubitka ravnoteže između čimbenika koji stimuliraju i inhibiraju angiogenezu. Zbog toga dolazi do prekomjernog rasta krvnih žila tijekom patoloških procesa kao što su nastanak solidnih i krvnih tumora, kardiovaskularnih bolesti (ateroskleroza), kroničnih

upalnih bolesti (reumatoidni artritis, Chronova bolest), dijabetesa (dijabetička retinopatija), psorijaze, endometrioze i pretilosti.^{63,66} Nedostatan rast krvnih žila

sastavni je dio patoloških zbivanja kao što su ishemijska bolest srca, cerebrovaskularni inzult, sklerodermija i infertilitet.^{63,66}

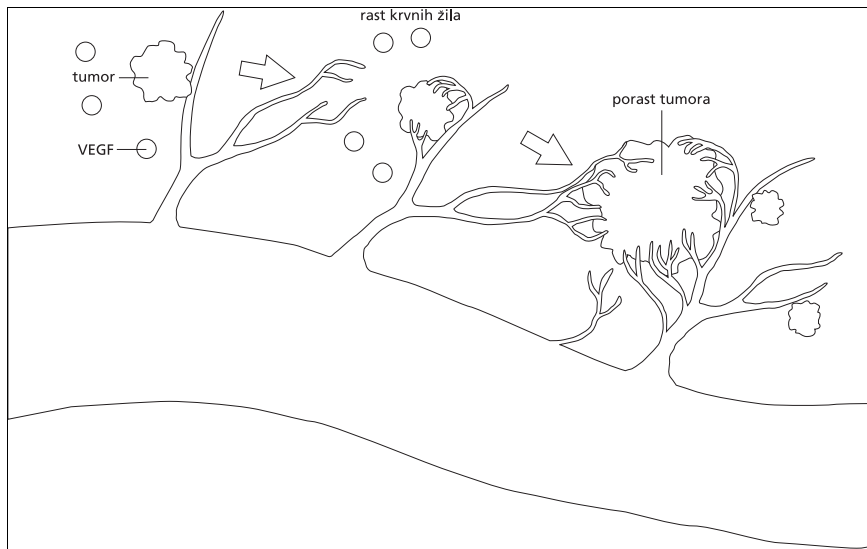
1.2.1. Tumorska angiogeneza

Tridesetih godina prošlog stoljeća znalo se da su tumori obilnije prokrvljeni nego zdrava tkiva. Pojam «tumorska angiogeneza» prvi je upotrijebio Scubik, 1968. godine. Judah Folkman je 1971. godine postavio hipotezu da je rast tumora ovisan o tumorskoj angiogenezi.⁶³⁻⁶⁵ Folkmanova zapažanja su se temeljila na slijedećim činjenicama i pretpostavkama:

- rast tumora je u avaskularnoj fazi linearan
- veliči na avaskularnog tumora koji se opskrbljuje difuzijom može doseći samo 1-2 mm
- tumor eksponencijalno raste nakon uspostavljanja vaskularizacije
- angiogenezu najvjerojatnije započinje TAF (Tumor Activated Factor)
- klinička upotreba inhibitora TAF hipotetski može blokirati rast tumora

Folkmanove pretpostavke su kasnije potvrđene otkrićem parakrinih faktora koji stimuliraju angiogenezu, kao i brojnim kliničkim istraživanjima o djelotvornosti novootkrivenih inhibitora angiogeneze (slika 10).⁶⁵⁻⁶⁹ Prema Folkmanu angiogeneza započinje izrastanjem novih kapilara iz venula mišićnog sloja. U prisustvu stimulatora angiogeneze dolazi do migracije endotelnih stanica uz razgradnju bazalne membrane. Slijedi proliferacija endotelnih stanica sa stvaranjem petlji i anastomoza uz uspostavu novog krvotoka.

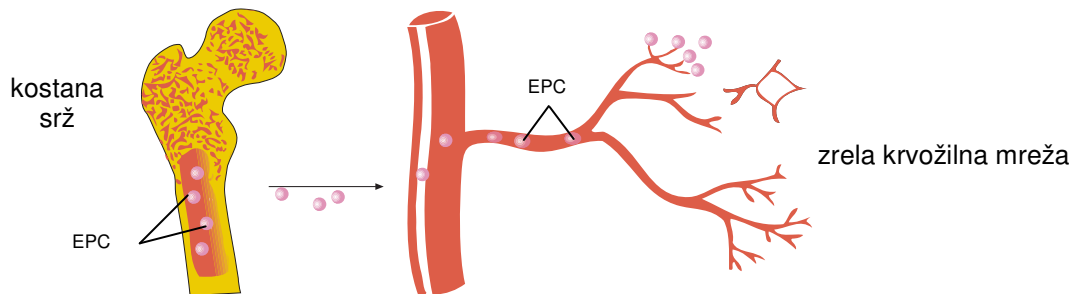
Slika 10. Tumorska angiogeneza stimulirana parakrinim faktorima



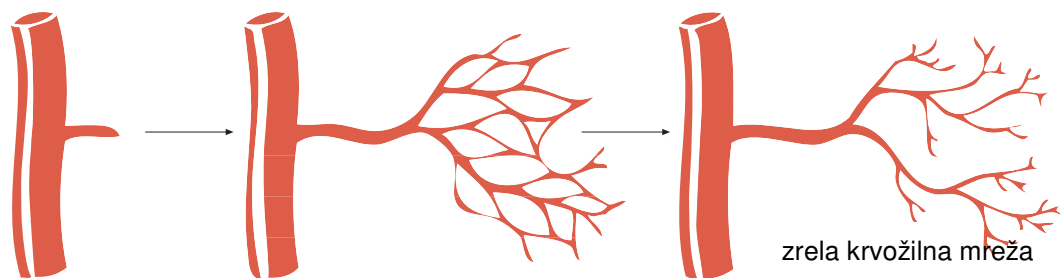
U novije vrijeme otkrivene su angioblastima slične stanice u koštanoj srži odraslih ljudi koje zovemo prekursorima endotelnih stanica (endothelial precursor cells – EPCs). One u određenom trenutku ulaze u krvožilni sustav, migriraju do oštećenog ili tumorski promijenjenog tkiva gdje potiču stvaranje kapilarne mreže (slika 11).

Slika 11. Novootkriveni mehanizam tumorske angiogeneze iz prekursora endotelnih stanica (EPC)

Angiogeneza iz prekursorskih endotelnih stanica (EPC)



Angiogeneza iz već postojećih krvnih žila



(Preuzeto iz Kumar V, Fausto N, Abbas A: *Pathologic Basis of Disease*, 7th Edition, W.B. Saunders Company, 2004.)

Na tablici 5 prikazani su aktivatori i inhibitori angiogeneze čije je djelovanje proučavano na ginekološkim tumorima.

Tablica 5. Aktivatori i inhibitori angiogeneze istraživani na ginekološkim Tumorima

Aktivatori angiogeneze	Inhibitori angiogeneze
Angiogenin	Angiostatin
Angiopoetin-1	CD59 fragment komplementa
Faktor rasta fibroblasta	Endostatin
Folistatin	Fragment fibronektina
Stimulirajući faktor granulocita	Heparinaza
Faktor rasta hepatocita	Humani korionski gonadotropin
Interleukin 8	Interferon alfa
Midkin	Interferon beta
Placentarni faktor rasta	Interferon gama
Trombocitni faktor rasta	Interleukin 12
Trombocitni faktor rasta-BB	Inhibitor metalproteinaze
Pleitrofin	Inhibitor plazminogen aktivatora
Transformirajući faktor rasta-alfa	Trombocitni faktor 4
Transformirajući faktor rasta-beta	Retinoid
Tumorski faktor nekroze-alfa	Trombospondin IV
Vaskularni endotelijalni faktor rasta (VEGF)	Transformirajući faktor rasta-beta

Važnu ulogu u nastanku i rastu epitelnog karcinoma jajnika ima više čimbenika angiogeneze. Istraživanja su provedena na:

- tumorskom tkivu - ekspresija VEGF je povezana sa stvaranjem ascitesa, a rast tumora proporcionalan vrijednosti MVD-a. Ekspresija VEGF-a direktno korelira s vrijednostima MVD-a.⁷⁰ Ekspresija angiopoetina-1 niža je u epitelnim karcinomima jajnika.^{71,72}

- serumu - izražene su povišene vrijednosti IL-8 (90%), IL-6 (53%), angiogenina, GM-CSF, IL-2, IL-7, IL-10, TNF, aktivina A i folistatina kod epitelnih karcinoma jajnika.

- inhibitori angiogeneze - ekspresija angiostatina i odsustvo ekspresije VEGF-a pokazali su se kao dobar prognostički čimbenik.⁷³ Visoka ekspresija endostatina korelira sa stadijem bolesti i veličinom ostatnog tumora, te negativno utječe na prognozu bolesti.⁷⁴ Fibronektin korelira s tumorskim stadijem.⁷⁵ Još je veliki broj inhibitora angiogeneze proučavan u cilju otkrivanja novih terapijskih mogućnosti.

Na tablici 6 prikazani su aktivatori i inhibitori angiogeneze koji su proučavani u istraživanju patogeneze i liječenja epitelnog karcinoma jajnika.

Tablica 6. Aktivatori i inhibitori angiogeneze u istraživanju karcinoma jajnika

Aktivatori	Inhibitori
VEGF-A,B,C	Angiostatin
Angiopoetin-1	VEGF
Midkin	Endostatin
HGF	Fibronektin
PD-ECGF	MMP-9
PDGF alfa	TIMP-1
PTN	PAI-1
PIGF	PF4
Angiogenin	Trombospondin
FGF	
Folistatin, IL-6, IL-8, GM-CSF	

Osim rasta tumora i metastatski potencijal tumora ovisan je o neovaskularizaciji.^{76,77} Mehanizam tumorske angiogeneze je kompleksan sustav i kako je gore navedeno ovisi o velikom broju čimbenika.⁶⁴⁻⁶⁸

Tumorska angiogeneza ima svoju važnost kao prognostički čimbenik za veliki broj karcinoma kod žena. Prvo kvantitativno mjerenje angiogeneze objavljeno je 1986. godine za melanom.⁷⁸ Mjerenje broja novonastalih krvnih žila komplicirano je činjenicom da je angiogeneza dinamičan proces.⁷⁹ Danas je poznato da stupanj angiogeneze ima značajnu prognostičku vrijednost za karcinom dojke, karcinom prostate, karcinom debelog crijeva, melanom, karcinome genitalnog trakta i dr.⁷⁸⁻⁸⁰

1.2.2. Histološka kvantifikacija tumorske angiogeneze

Tumorska vaskularizacija se može kvantificirati brojem imunohistokemijski obojenih krvnih žila u području „vrućih točaka“. Postoji nekoliko ograničavajućih čimbenika koji onemogućavaju uniformnost postupaka brojanja novostvorenih krvnih žila. To su prema Fox-u i suradnicima:

- metode brojanja
- vaskularizacija tumora
- vrsta protutijela za imunohistokemijska bojanja
- iskustvo istraživača
- različita selekcija reprezentativnih blokova, broj vrućih točaka i korištenje povećanja.

Iz gore navedenih razloga Udruga američkih patologa objavila je da vaskularizacija tumora za sada nema sigurno prognostičko značenje dok se ne usaglase metode i načini mjerenja.⁸⁰

1.2.2.1. Metode brojanja krvnih žila

- metoda brojanja prema Chalkeyu
- CIAS (Computerised Image Analysis Systems) - računalni sistem analize
- vaskularno gradiranje
- mjerenje gustoće intratumorske mikrocirkulacije je najčešće korištena metoda u istraživanjima.⁸¹

1.2.2.2. Vaskularizacija tumora

Vaskularizacija tumora ne ovisi samo o angiogenezi već i o velikom broju drugih čimbenika. Postoji više čimbenika koji ograničavaju objektivnost metoda kvantifikacije novostvorenih krvnih žila. Osim klasičnog nastanka tumorske neoangiogeneze uz pomoć velikog broja proizvoda tumorskih stanica i okolnog tkiva postoji i nekoliko netipičnih načina vaskularizacije određenih vrsta tumora, koje sigurno stvaraju teškoće u kvantitativnom mjerenju vaskularizacije tumora:

- ne-angiogeni mehanizam rasta tumora dokazan je za primarni karcinom pluća i sekundarni karcinom dojke, na plućima, gdje se tumor inkorporira u okolno tkivo i koristi postojeću vaskularizaciju za vlastiti rast. Broj krvnih žila u navedenim vrstama karcinoma i okolnom tkivu nema statistički značajnu razliku.^{82,83}

- sličan ko-opcijski model rasta imaju i neke vrste karcinoma mozga koji se inkorporiraju u postojeći krvotok bez neoangiogenetske aktivnosti.

- treći mehanizam je uočen kod upalnog karcinoma dojke gdje dolazi do migracije prekursora endotelnih stanica iz koštane srži koje se u tumoru diferenciraju u endotelne stanice i imitiraju stvarnu tumorsku neovaskularizaciju.⁸⁴

- postoje i određene naznake vezanja tumora u stijenku i lumen krvnih žila i udvajanja vaskularnih lumena što je moguće i jedan način pregradnje vaskularizacije u tumora.^{85,86}

- vaskularna mimikrija označava stvaranje kapilarne neovaskularizacije ne od endotelnih, već tumorskih stanica i karakteristična je za melanom šarenice i neke karcinome jajnika.^{87,88}

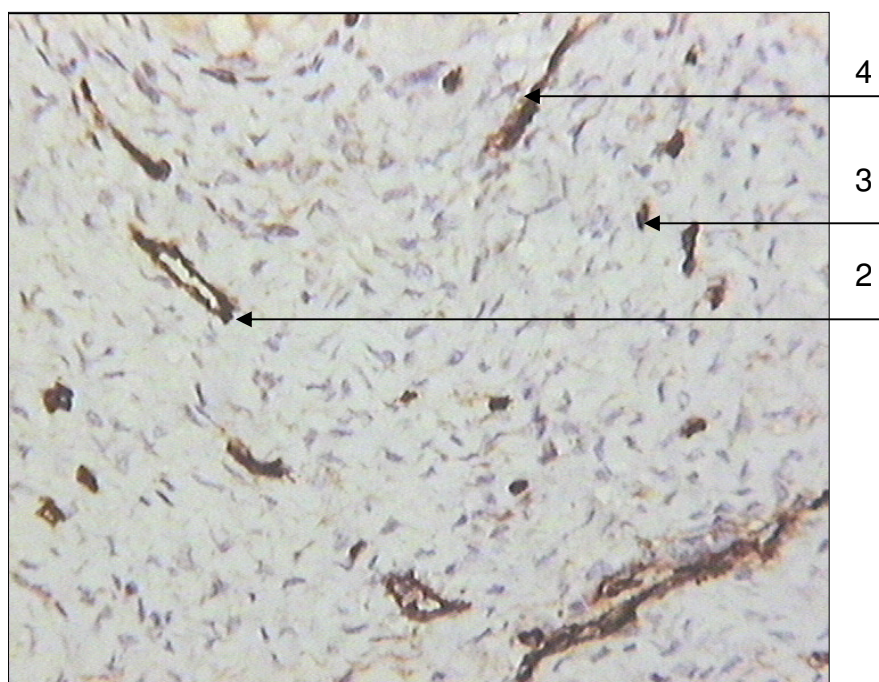
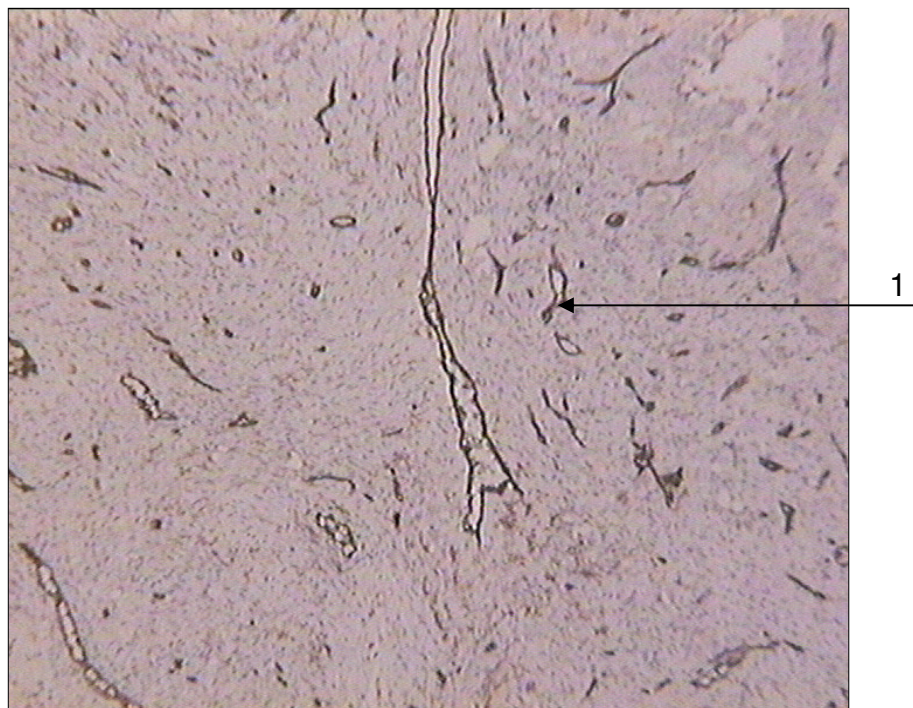
1.2.2.3. Specifična protutijela

Specifična protutijela koja se standardno koriste u imunohistokemijskom bojanju krvnih žila imaju različitu osjetljivost, afinitete vezanja i specifičnost, što također utječe na konačne rezultate istraživanja.

Tablica 7. Specifična protutijela za endotelne stanice

Antitijelo	Specifičnost	Smrznuti	Parafin
Anti-CD 31	Male i velike krvne žile (zdravo i tm. tkivo)	Da	Da
Anti-CD 34	Male i velike krvne žile (zdravo i tm. tkivo)	Da	Da
Anti-FVIII	Velike krvne žile	Da	Da
Anti-CD 105	Novoformirane krvne žile	Da	Da

Slika 12. Krvne žile označene anti-CD-105 na preparatu pod povećanjem (65x i 250x)



1,2 - Lumen krvne žile
3 - Endotelna stanica
4 - Tračak endotelnih stanica

Anti CD-31, CD-34 i F-VIII su panendotelijalni biljezi. Temeljni im je nedostatak što obilježavaju endotelne stanice malih i velikih krvnih žila kao i novostvorene krvne žile. Osim činjenice da nisu selektivni za novostvorene krvne žile nastale procesom neovaskularizacije, vežu se i na stanice upale (anti CD-31), stanice limfnih žila i stanice strome (anti CD-34 i anti F-VIII) (tablica 7).⁷⁹ Novootkriveni biljeg anti-CD105 specifičan je samo za endotelne stanice krvnih žila koje su nastale procesom neoangiogeneze.^{78,79,89}

1.2.2.4. Iskustvo istraživača

Dokazano je da samo iskusan istraživač može jasno definirati vruće točke, pa rezultati takvih brojanja značajno odudaraju od onih koje provode neiskusni istraživači. Razlike u brojanju dva i višeiskusnih istraživača uglavnom su unutar 10-15%.⁸¹

1.2.2.5. Selekcija reprezentativnih blokova, broj vrućih točaka i korištenje povećanja

Većina istraživača prilikom odabira preparata koristi samo jedan parafinski blok, što ne znači da je u drugim dijelovima tumora isti intenzitet neovaskularizacije. Broj promatranih vrućih točaka iznosi ovisno o istraživanju od 1 do 5. Kao i različita povećanja mikroskopa pod kojim se broje novonastale krvne žile, gore navedene činjenice govore o nekonzistentnosti metode i najčešće nemogućnosti usporedbe rezultata i kod istih vrsta tumora.⁸¹

1.2.3. Gustoća tumorske mikrocirkulacije (MVD)

Gustoća tumorske mikrocirkulacije (MVD, engl. „Microvessel Density“ reprezentativna je u procjeni stupnja prokrvljenosti tumora. Direktna povezanost MVD-a i ekspresije angiogenih citokina (VEGF, bFGF i dr), rasta tumora i udaljenih metastaza dokazana je u mnogim studijama što je bilo od presudne važnosti za promociju ove metode.⁷⁸ Metoda mjerenja MVD-a ima svoje prednosti i nedostatke koji su navedeni.^{79,89,90,91}

1.2.3.1. Mjesta najintenzivnije vaskularizacije (VS-Vascular Hot Spot ili vruće točke)

Mjesta najintenzivnije vaskularizacije određuju se u polju malog povećanja mikroskopa (10x). Vruće točke nastaju od angiogenih klonova tumorskih stanica koje imaju najveću sposobnost za širenje i metastaziranje.^{79,89} Nakon pronalaženja mjesta najintenzivnije vaskularizacije slijedi brojanje novonastalih krvnih žila pod velikim povećanjem mikroskopa (400x).

Mjerenje najvećeg MVD-a provodi se definiranjem tri mjesta najintenzivnije vaskularizacije (VS) u vidnom polju malog povećanja mikroskopom (10x). Nakon brojanja novonastalih krvnih žila pod velikim povećanjem mikroskopa (400x) u obzir se uzima mjesto s najvećim brojem krvnih žila.

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Napori u pronalaženju novih metoda u liječenju i prognozi karcinoma jajnika nisu urodili plodom sve do uvođenja taksana u liječenje karcinoma jajnika posljednje desetljeće. Angiogeneza je novo područje od velikog značenja kako u liječenju tako i u prognozi velikog broja karcinoma. Registriran je i prvi blokator angiogeneze (Avastin) u SAD-u, za liječenje karcinoma debelog crijeva. Potrebna su daljnja istraživanja u cilju primjene inhibitora angiogeneze u liječenju, te monoklonskih protutijela angiogeneze u određivanju prognoze karcinoma jajnika i ostalih vrsta karcinoma u žena.

U svrhu doprinosa dosadašnjim saznanjima cilj ovog istraživanja je bio:

1. Odrediti stupanj neoangiogeneze za svaki pojedini serozni karcinom jajnika uz pomoć monoklonskog protutijela anti-CD-105.
2. Odrediti sadržaj DNA tumorskih stanica metodom protočne citometrije.
3. Usporediti gustoću intratumorske mikrocirkulacije po jedinici površine s ostalim kliničkim i patohistološkim prognostičkim čimbenicima.
4. Usporediti sadržaj DNA tumorskih stanica s ostalim kliničkim i patohistološkim prognostičkim čimbenicima.

2.1. Hipoteza

Od svih poznatih prognostičkih čimbenika samo su se klinički stadij bolesti i veličina ostatnog tumora pokazali kao nezavisni prognostički čimbenici.

Angiogeneza predstavlja jedan od najvažnijih procesa neophodnih za rast tumora i formiranje metastaza. Kvantitativna mjerenja angiogeneze panendotelijalnim markerima nisu pokazala zadovoljavajuće prognostičko značenje za karcinom jajnika. Procjena stupnja angiogeneze visokospecifičnim monoklonskim protutijelom CD105 pokazala se kao odličan prognostički čimbenik za karcinom dojke, debelog crijeva, bronha i dr. Istraživanja u svrhu određivanja stupnja angiogeneze uz pomoć anti-CD105 nisu provedena za karcinom jajnika u vrijeme prijave teme ove doktorske disertacije.

Aneuploidija se pokazala kao negativan prognostički čimbenik kod većine tumora jajnika.

Na početku istraživanja pretpostavilo se da će dobiveni rezultati pokazati prognostičku važnost jednog ili oba ispitivana čimbenika (gustoće intraumorske mikrocirkulacije i ploidnosti tumorskih stanica) u predviđanju ishoda bolesti.

3. ISPITANICE I METODE

U istraživanje su uključene bolesnice koje su liječene od 1993-1998. godine zbog seroznog karcinoma jajnika u Klinici za ženske bolesti i porode KBC-a Zagreb, Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. U istraživanje je uključeno 116 ispitanica. Epidemiološko-klinički podaci korišteni su iz arhiva Zavoda za ginekološku onkologiju Klinike. Sve su bolesnice primarno liječene kirurški. Ovisno o kliničkom stadiju kod nekih je liječenje bolesti nastavljeno kemoterapijom i/ili radioterapijom. Ispitanice su vremenski praćene do smrti od osnovne bolesti (nepovoljan događaj) ili do prestanka istraživanja (povoljan događaj, tzv. cenzus ispitanika). Preživljenje bolesnica je praćeno u vremenu od 60 mjeseci.

U svih ispitanica prikazani su kliničko-patološki prognostički čimbenici, te način liječenja (tablica 8).

Tablica 8. Klinički, terapijski i patohistološki pokazatelji

Klinički pokazatelji	Terapijski pokazatelji	Patohistološki pokazatelji
Dob	Kirurški zahvat	Histološki tip tumora
Klinički stadij bolesti	Optimalan kirurški zahvat	Stupanj zrelosti tumora-gradus
Prisutnost ascitesa	Suboptimalan kirurški zahvat	Sadržaj DNA tumorskih stanica
Veličina ostatnog tumora		Veličina tumora
Menopauzalni status		Obostranost tumora Gustoća intratumorske mikrocirkulacije

3.1. Klinički pokazatelji

Klinički stadij bolesti, veličina ostatnog tumora i prisutnost ascitesa izdvojeni su iz podataka u operacijskim protokolima koji se nalaze u povijestima bolesti odabranih ispitanica. Kirurško-patološki stadij bolesti određeni su prema reviziji FIGO klasifikacije iz 1988. godine.¹³ Dob i menopauzalni status određeni su iz anamnestičkih podataka.

3.2. Patohistološki pokazatelji

Analiziran je arhivski patohistološki materijal Zavoda za ginekološku i perinatalnu patologiju Klinike. Određeni su patohistološki prognostički čimbenici navedeni u tablici 7. Tkivo uzeto za histološku analizu fiksirano je 24 sata u 10% formalinu. Nakon fiksacije i obrade uklapano je u parafin. Parafinski blokovi rezani su u rezove debljine 3-5 mikrona, a nakon toga bojani standardnom metodom hemalaun-eozin, a prema potrebi i dodatnim metodama (PAS, PAS dijastaza, Mallory, Gomory). Kao biološki standard korišteno je tkivo zdravog jajnika. Zbog objektivnosti nalaza histološke preparate su pregledala uvijek najmanje i dva specijalista patologa. Neslaganja su rješavana konsenzusom.

3.2.1. Stupanj zrelosti tumora

Zrelost tumora je stupnjevana prema standardnim GOG kriterijima iz 1993. godine (G1-G3).⁹²

3.2.2. Histološki tip tumora

Histološka klasifikacija provođena je prema uputama Svjetske zdravstvene organizacije (SZO) modificirana prema R. E. Scully.⁹³

3.2.3. Citometrijska analiza sadržaja DNA

Kod analize sadržaja DNA korišteno je tumorsko tkivo koje je standardnim tehnikama fiksirano i uklopljeno u parafin. Za vađenje jezgara iz tumorskih stanica korišten je Hedleyev postupak.⁹⁴ Vindelov je postupak korišten za bojanje izvađenih jezgara propidijevim jodidom.⁹⁵

Za analizu sadržaja DNA pojedinog tumora koristila su se tri odsječka debljine 40 mikrometara. Nakon odvajanja jezgara i njihove enzimatske pripreme pepsinom i tripsinom uz centrifugiranje na 800 G stvoren je talog jezgara koji je obrađen ribonukleazom S i potom obojen propidojevim jodidom. Sadržaj DNA mjereno je u FACSCALIBUR protočnom citometru (Becton-Dickinson, San Jose, CA, USA) pri valnoj duljini od 488 nm uz crveni filter i snagu lasera od 15 mW. Kroz stroj je propuštan 20 000 jezgara po uzorku, uz uporabu programa "Celquest". Dobiveni histogrami intenziteta fluorescencije analizirani su programom "Modfit LT." Dobiveni histogrami prikazuju udio stanica u pojedinim fazama staničnog ciklusa tj. G0/G1, S i G2/M faze. Histogram se tumačio kao diploidni uz postojanje jednog G0/G1 vrška ili aneuploidni ukoliko ih je bilo više.

3.2.4. Obrada i bojenje materijala za imunohistokemijsku analizu

Od istih parafinskih blokova učinjen je još jedan rez debljine 4 μ m za imunohistokemijsku analizu. Oni su sušeni na 60 °C 1 sat, a nakon toga deparafinizirani. Da se zaustavi endogeno djelovanje peroksidaze preparati su se 30 minuta tretirali na sobnoj temperaturi s 3% vodikovim peroksidom. Nakon toga inkubirani su kroz 15 minuta u mikrovalnoj pećnici snage 1000 W s EDTA (ϵ -aminokapronska kiselina), pH 8,0.

Kao primarno protutijelo koristilo se mišje monoklonsko protutijelo CD-105 (endoglin) u razrjeđenju 1:50. Svi preparati su bili inkubirani 30 minuta na sobnoj temperaturi. Mjesto vezanja primarnog protutijela vizualizirano je komercijalnim pripravcima DAKO LSAB (DAKO CORPORATION, Danska).

3.2.5. Kvantitativno mjerenje prožiljenosti

Kvantitativno mjerenje prožiljenosti tumora provedeno je određivanjem prosječne gustoće prožiljenosti tumora (MVD) u područjima najintenzivnije prokrvljenosti (VS). Mjerenja su se izvodila na reprezentativnom uzorku nakon što su pregledani svi parafinski blokovi za svaku ispitanicu prema Weidnerovim preporukama o veličini vidnog polja i načinu brojenja:

- mjesta najveće gustoće krvnih žila («hot spots») tražena su na najmanjem povećanju (10x)
- brojenje pojedinačnih krvnih žila provedeno je na povećanju (400x) uz veličinu vidnog polja od 0,12 do 1 mm²
- u rezultate su ubrajane ne samo kompletne krvne žile već i tračci endotelnih stanice i pojedinačne endotelne stanice (slika 12)
- lumen krvnih žila nije potreban kao ni prisustvo eritrocita
- brojanje su provela dva ispitivača, no ukoliko je razlika u rezultatu bila veća od 10% uveden je i treći ispitivač.⁷⁷

3.3. Terapijski pokazatelji

Vrsta operacijskog zahvata naznačena je nakon pažljivog proučavanja operacijskih protokola.

3.4. Statističke metode

Značenje ispitivanih čimbenika (pojedinačno i u kombinaciji) prikazano je statističkom obradom dobivenih podataka kod 116 ispitanica.

Analiza vjerojatnosti preživljenja temeljila se na podacima o praćenju bolesnica od dana postavljanja dijagnoze do smrti od osnovne bolesti (nepovoljan događaj) ili do prestanka istraživanja (povoljan događaj, tzv. cenzus ispitanika).

Kod univarijatne analize za neparametrijske čimbenike korišten je χ^2 test, a za parametrijske ANOVA statistička metoda s post-hoc testom.

Koeficijent korelacije izračunat je uz pomoć Pearsonovog testa.

Vjerojatnost preživljenja izračunata je metodom životnih tablica i prikazana grafički Kaplan-Meierovim krivuljama, s tim da su se statistički pokazatelji analize preživljenja temeljili na log-normalnoj raspodjeli podataka.

Coxovim regresijskim testom, metodom multivarijatne regresije analiziran je istodobni utjecaj svih pokazatelja na prognozu preživljenja.

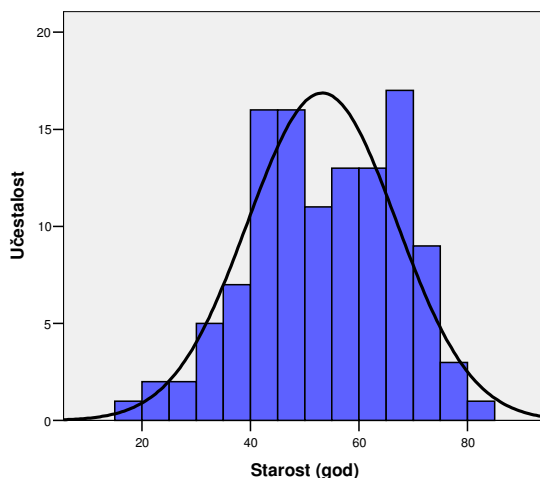
Zaključivanje o statističkim hipotezama u ovom radu provedeno je uz razinu sigurnosti $p < 0.05$ kod svih primjenjenih testova.

4. REZULTATI

U istraživanje je uključeno 116 bolesnica koje su liječene u Zavodu za ginekološku onkologiju Klinike u razdoblju od 1993-1998. godine zbog seroznog karcinoma jajnika. Iz istraživanja su isključene bolesnice koje nisu zadovoljile sve uvjete opisane u poglavlju o ispitanicama i metodama. Kod četiri bolesnice revizijom patohistoloških preparata postavljena je dijagnoza tumora granične malignosti te su isključene iz istraživanja. Ispitanice su praćene u vremenskom razdoblju od postavljanja dijagnoze do smrti od osnovne bolesti (nepovoljan događaj) ili do prestanka istraživanja, a to je 60 mjeseci od postavljanja dijagnoze (povoljan događaj). U vremenskom razdoblju do 60 mjeseci od postavljanja dijagnoze umrlo je 80 bolesnica (68,9%) zbog seroznog karcinoma jajnika.

Prosječna životna dob u ispitivanoj skupini bila je 53,2 godina (SD=13,71; SE=1,2). Starijih od 53,2 godina bilo je 50% oboljelih. Najmlađa bolesnica imala je 19, a najstarija 84 godine, u rasponu od 65 godina. Prema 95% intervalu pouzdanosti najveći broj bolesnica bio je u dobi od 50,6 do 55,7 godina. Relativno uzak interval pouzdanosti (5,1) i prihvatljiva standardna devijacija (SD=13,7) govore u prilog činjenici da je populacija bolesnica homogena u odnosu na dobnu raspodjelu (tablica 9) (grafikon 10).

Grafikon 10. Raspodjela spitanica prema dobi



Srednja vrijednost veličine tumora bila je 15,3 cm (SD=7,5; SE=0,7).
Raspon veličine tumora iznosio je od 3 do 36 cm.

Srednja vrijednost MVD-a za ispitanice bila je 27,3 (SD=11,9; SE=1,11).
Raspon vrijednosti gustoće intratumorske mikrocirkulacije bio je 6 do 63 u području vrućih točaka (tablica 9).

Tablica 9. Prognostički čimbenici

PROGNOSTIČKI ČIMBENICI	SREDNJA VRIJEDNOST	MIN.	MAX.	SD	SE
DOB	53,2	19	84	13,7	1,2
VELIČINA TUMORA	15,3	3	36	7,5	0,7
*MVD	27,3	6	63	11,9	1,1

**gustoća tumorske mikrocirkulacije*

Učestalost i raspodjela ispitanica u odnosu na kliničko-patološke čimbenike (klinički stadij bolesti i stupanj zrelosti tumora) prikazana je u tablici 10. U I kliničkom stadiju bolesti bile su 32 bolesnice (27,6%), II kliničkom stadiju bolesti 4 bolesnice (3,4%), u III kliničkom stadiju 60 bolesnica (51,7%), te IV stadiju 20 bolesnica (17,3%). Iz tablice je razvidno da je 80 bolesnica 69% bilo u uznapredovalom III i IV kliničko-patološkom stadiju bolesti, a samo 36 ispitanica (31%) u početnom I i II kliničko-patološkom stadiju bolesti.

Prvi stupanj zrelosti tumora imalo je 21,6%, drugi 33,6% i treći stupanj zrelosti 44,8% bolesnica. U 91 bolesnice (78,4%), tumor je bio slabo diferenciran (gradus II i III) (tablica 10).

Tablica 10. Raspodjela bolesnica sa seroznim karcinomom jajnika prema kliničko-patološkim prognostičkim čimbenicima

PROGNOSTIČKI ČIMBENICI		N=116	%
KLINIČKI STADIJ	I	32	27,6%
	II	4	3,4%
	III	60	51,7%
	IV	20	17,3%
STUPANJ ZRELOSTI TUMORA	I	25	21,6%
	II	39	33,6%
	III	52	44,8%

Tumori su bili jednostrani u 38 bolesnica (32,8%), a obostrani u 78 bolesnica (67,2%). U 58 bolesnica (50%) ostatni tumor nakon operacije bio je veći od 2 cm.

Aneuploidnih tumora bilo je 51 (44%), a diploidnih 65 (56%). Omentum je bio zahvaćen u 73 (62,9%) bolesnice, dok je maternica bila infiltrirana karcinomom u 41 (35,3%) bolesnice (tablica 11).

Prosječan broj poroda bio je 1,7 u rasponu od 0 do 11 (SD=1,8; SE=0,17), a pobačaja 0,86 u rasponu od 0 do 5 (SD=1,19; SE=0,11). U trenutku postavljanja dijagnoze 37 ispitanica (31,9%) bilo je u menopauzi.

Tablica 11. Raspodjela bolesnica sa seroznim karcinomom jajnika prema ostalim epidemiološkim podacima

PROGNOSTIČKI ČIMBENICI		BROJ	%
ASCITES	DA NE	98 18	84,5% 15,5%
OSTATNI TUMOR	>2 CM ≤ 2 CM	58 58	50% 50%
PLOIDNOST SADRŽAJA DNA	ANEUPLOIDAN DIPLOIDAN	51 65	44% 56%
OBOSTRANI TM.	DA NE	78 38	67,2% 32,8%

Optimalno je operirano 88 bolesnica (75,9%). Kod tih bolesnica je odstranjena maternica s adneksima i omentumom. Ostale bolesnice su suboptimalno operirane. Histerektomija s adneksektomijom je učinjena u 10 bolesnica (8,8%), dok je samo adneksektomija učinjena u 6 bolesnica (5,1%). Kod 12 bolesnica (10,3%) učinjena je samo dijagnostička, eksplorativna laparotomija budući da zbog uznapređovalosti bolesti nije bila moguća opsežnija operacija (tablica 12).

Tablica 12. Raspodjela bolesnica s karcinomom jajnika u odnosu na vrstu operacijskog zahvata

ČIMBENICI	N=116	%
HISTEREKTOMIJA + OBOSTRANA ADNEKSEKTOMIJA + OMENTEKTOMIJA	88	75,8%
HISTEREKTOMIJA + ADNEKSEKTOMIJA	10	8,8%
ADNEKSEKTOMIJA	6	5,1%
EKSPLOLATIVNA LAPAROTOMIJA	12	10,3%
UKUPNO	116	100%

Što je veća vrijednost MVD-a duljina preživljenja je manja. Ipak, bolesnice s manjom vrijednosti MVD-a uvijek prežive dulje od bolesnica s većom vrijednosti MVD-a, bez obzira na to koja je vrijednost MVD-a kriterij za grupiranje. Vrijednost p je najmanja, a razlika među skupinama najveća, za vrijednost 30 ($p=0,0002$). U smislu preživljenja najveća razlika među bolesnica postoji ako ih grupiramo u skupine s vrijednosti MVD-a manjom ili jednakom od 30 i većom od 30.

U cilju utvrđivanja prognostičkog značenja pojedinih čimbenika u odnosu na preživljenje provedena je univarijatna analiza (Kaplan-Meier). Pokazalo se da klinički stadij, stupanj zrelosti tumora, ostatni tumor, MVD, opsežnost operacijskog zahvata i ploidnost tumora imaju prognostičku važnost u preživljenju bolesnica oboljelih od karcinoma jajnika (tablica 13) (grafikoni 11-20).

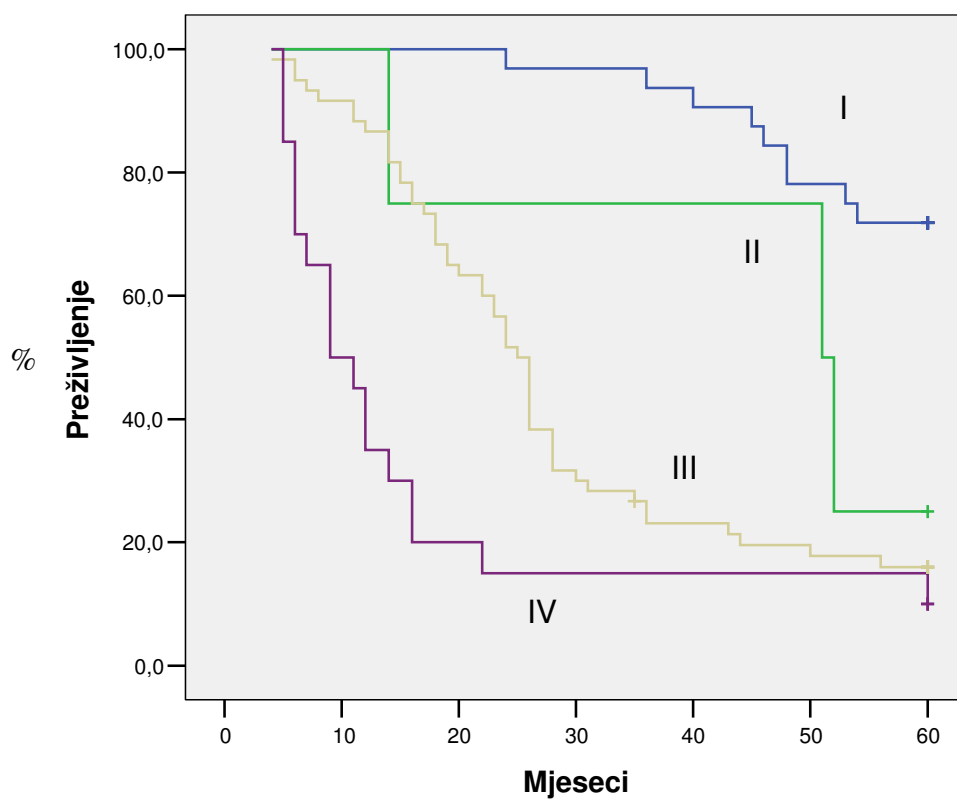
Tablica 13. Utjecaj prognostičkih čimbenika na preživljenje bolesnica s karcinomom jajnika –univarijatna analiza

PROGNOSTIČKI ČIMBENIK		UNIVARIJATNA ANALIZA	
		Log rank	(p)
KLINIČKI STADIJ	I/II/III/IV	51,6	<0,001
KLINIČKI STADIJ	I/II vs. III/IV	37,6	<0,001
OSTATNI TUMOR	(≤/ > 2 cm)	47,2	<0,001
STUPANJ ZRELOSTI TUMORA	(GRADUS I, II, III)	35,9	<0,001
*MVD	(≤/ > 30)	31,5	<0,001
OPTIMALNA VS. SUBOPTIMALNA KIRURGIJA		30,4	<0,001
PLOIDNOST TUMORA		24,4	<0,001
OBOSTRANOST		0,71	0,39

*gustoća tumorske mikrocirkulacije

Na grafikonu 11 prikazana je raspodjela preživljenja oboljelih od seroznog karcinoma jajnika u odnosu na kliničko-patološke stadije bolesti.

Grafikon 11. Raspodjela preživljenja bolesnica prema kirurško-patološkim stadijima bolesti

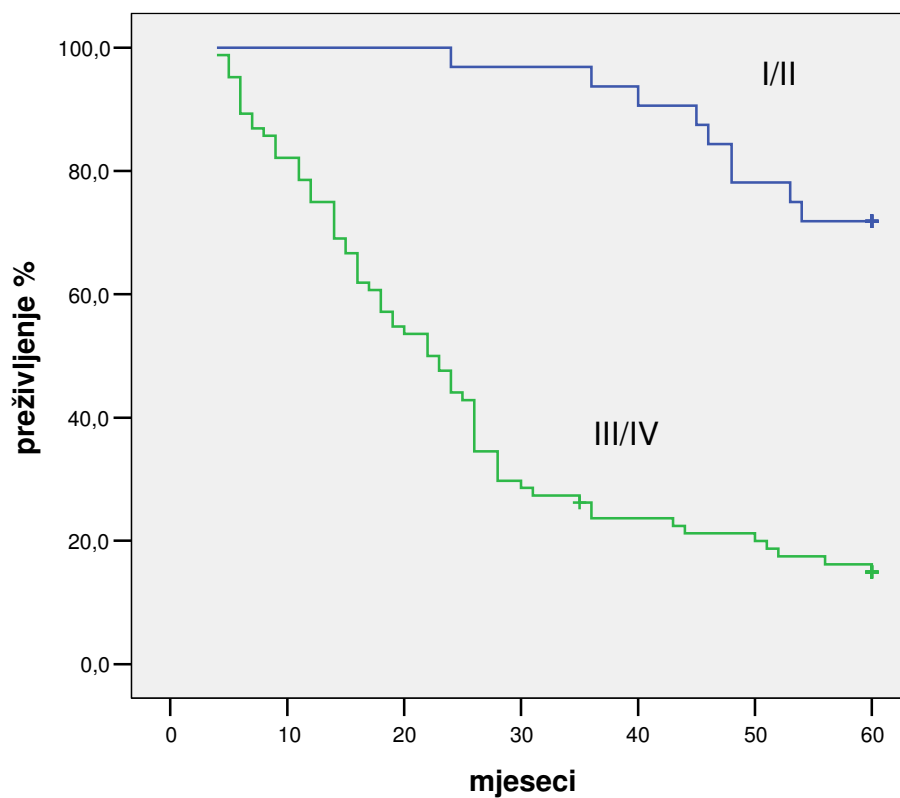


**p<0,001*

**Log rank=51,6*

Rani karcinom jajnika (I i II klinički stadij) u odnosu na uznapredovali karcinom jajnika (III i IV klinički stadij), pokazali su se statistički značajnima za preživljenje bolesnica: ($p < 0,001$) s visokim stupnjem korelacije ($r = -0,66$) (grafikon 12).

Grafikon 12. Raspodjela preživljenja bolesnica s ranim stadijem karcinoma jajnika u odnosu na bolesnice s uznapredovalim karcinomom jajnika

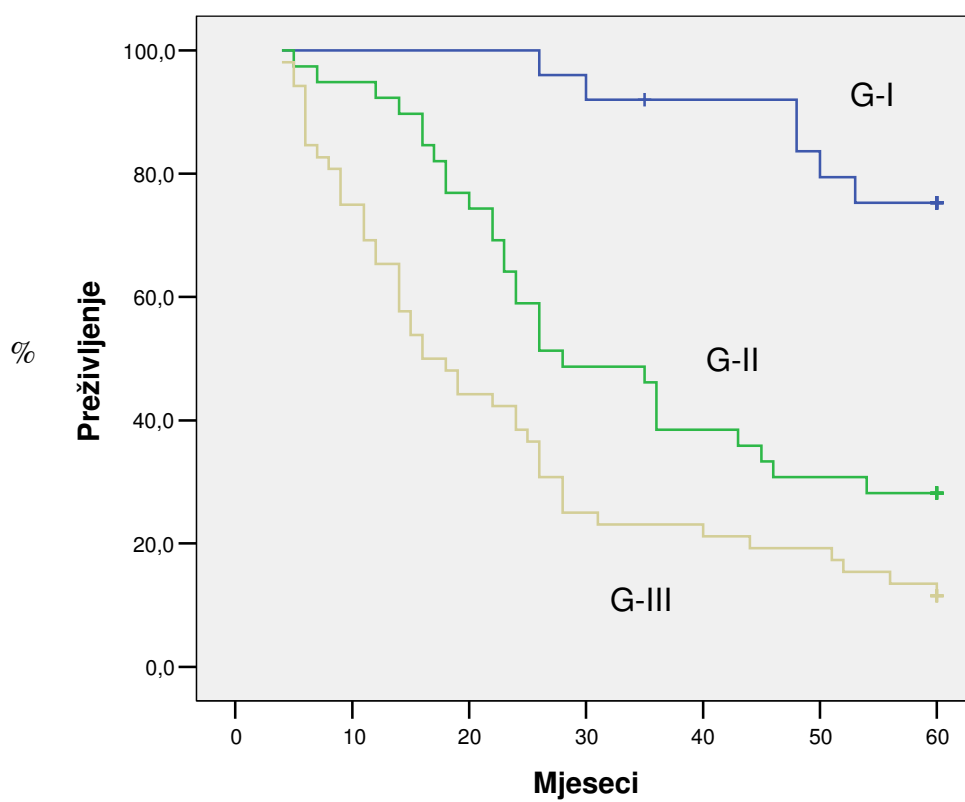


**P < 0,001*

**Log rank = 37,6*

Stupanj zrelosti tumora negativno korelira s preživljenjem statističkom značajnosti od $p < 0,001$ (grafikon 13).

Grafikon 13. Raspodjela preživljenja bolesnica prema stupnju zrelosti tumora (gradusu)

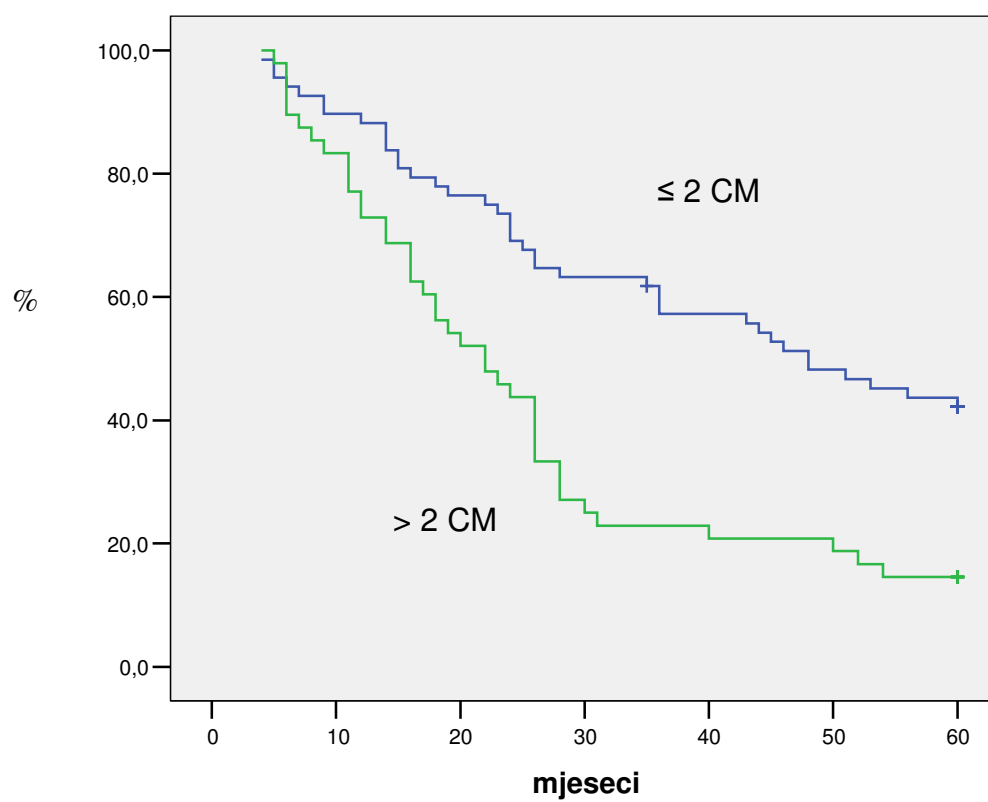


* $P=0,001$

*Log rank=35

Što je veći ostatni tumor preživljenje je kraće uz statističku značajnost $p < 0,001$ (grafikon 14).

Grafikon 14. Raspodjela preživljenja bolesnica obzirom na veličinu ostatnog tumora (≤ 2 i $>$ od 2 cm)

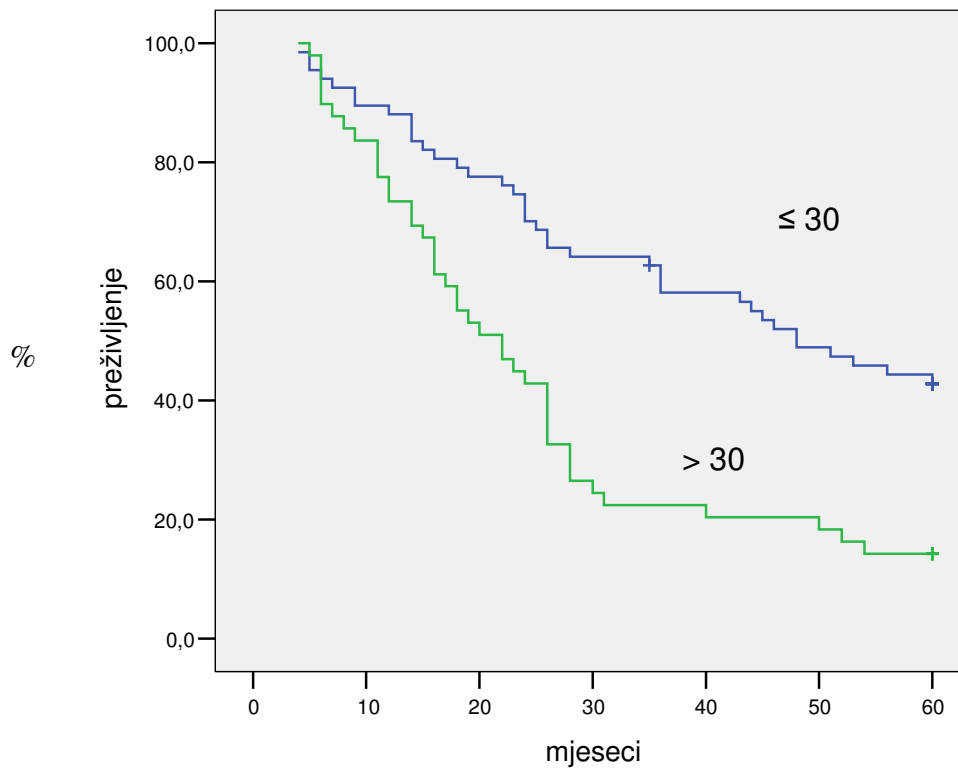


* $P=0,0001$

*Log rank=47,2

Bolesnice s vrijednostima intratumorske gustoće krvnih žila ≤ 30 imale su značajno bolje preživljenje u odnosu na one iznad 30 sa statistički značajnom razlikom (grafikon 15).

Grafikon 15. Raspodjela preživljenja bolesnica u odnosu na prijelomnu vrijednost MVD-a

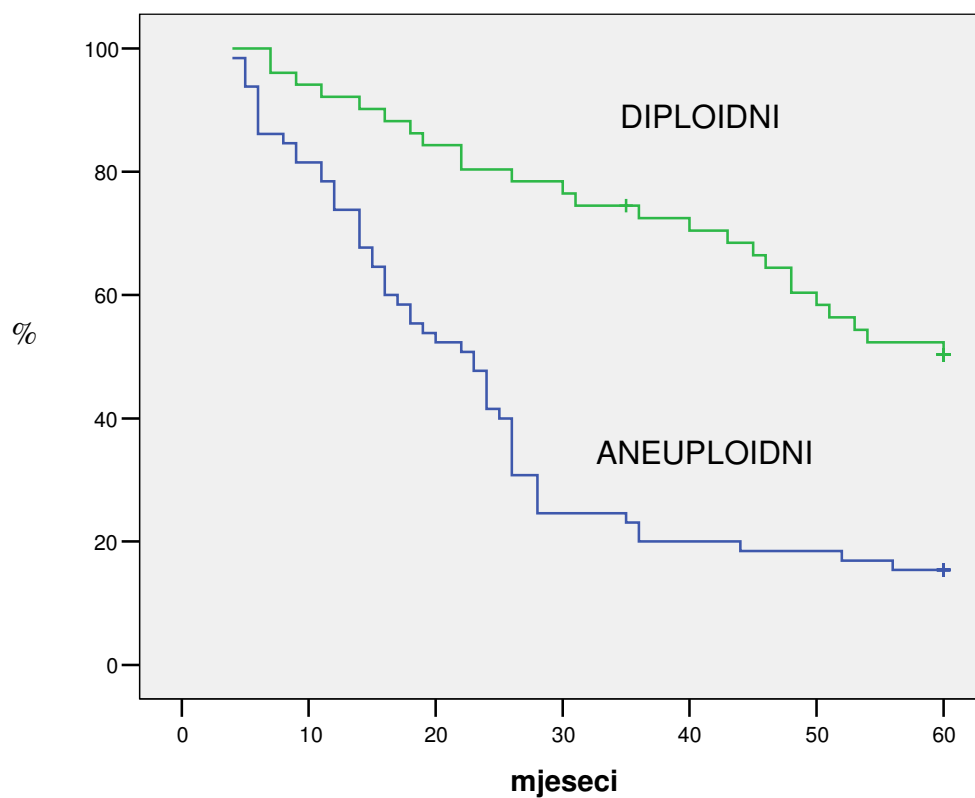


**P=0,0001*

**Log rank =31,5*

Značajno bolje preživljenje ostvarile su bolesnice koje su imale diploidni tumor uz statističku značajnost u odnosu na aneuploidne tumore ($p < 0,001$) (grafikon 16).

Grafikon 16. Raspodjela preživljenja bolesnica u odnosu na ploidnost tumora

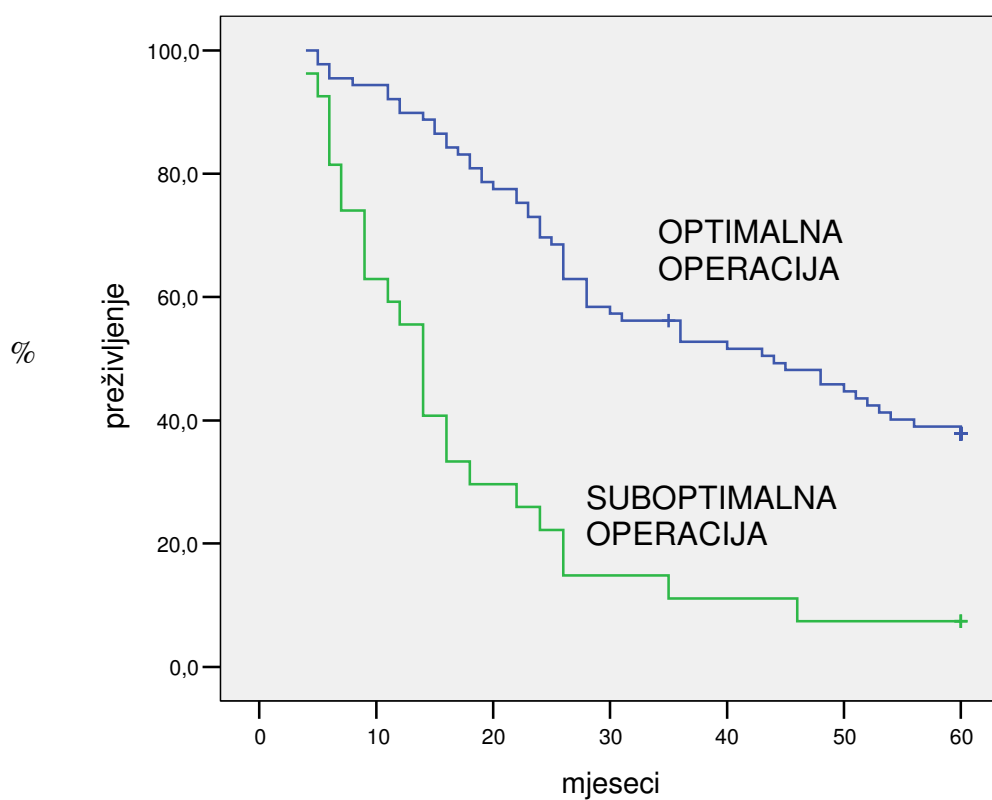


**P=0,0001*

**Log rank=24,4*

Bolesnice koje su optimalno operirane značajno su duže živjele od suboptimalno operiranih ($p < 0,001$) (grafikon 17).

Grafikon 17. Raspodjela preživljenja bolesnica u ovisnosti o uspješnosti operacijskog zahvata

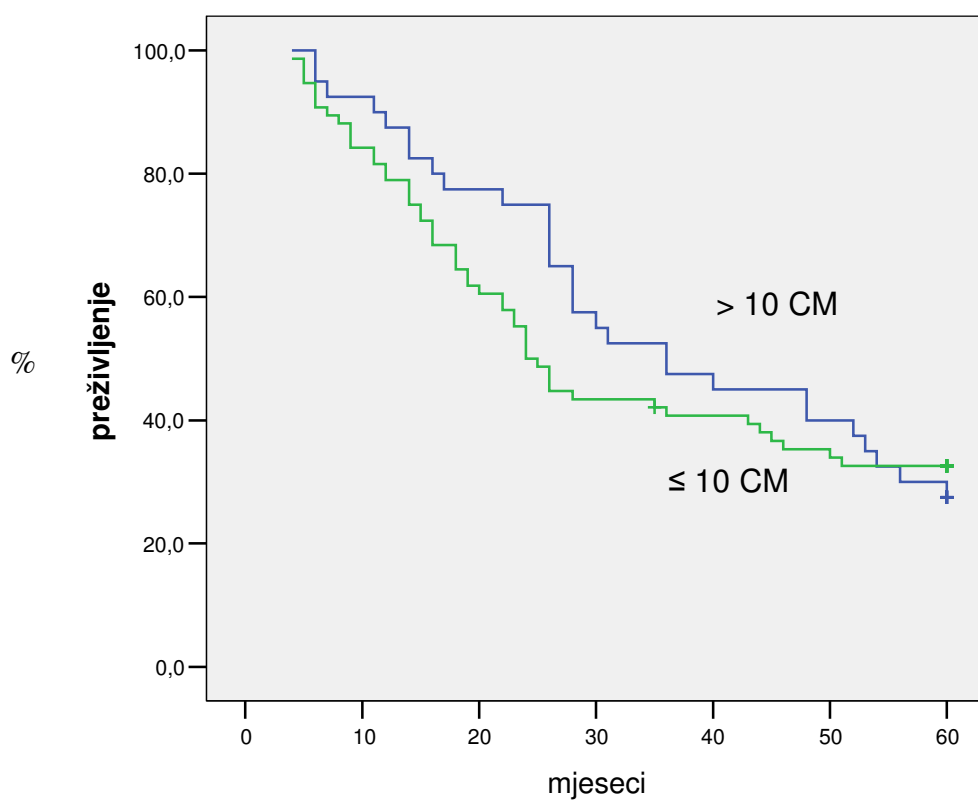


**P=0,001*

**Log rank=30,4*

Veličina tumora nema statističko značenje za preživljenje oboljelih od seroznog karcinoma jajnika (grafikon 18).

Grafikon 18. Raspodjela preživljenja bolesnica u odnosu na veličinu tumora

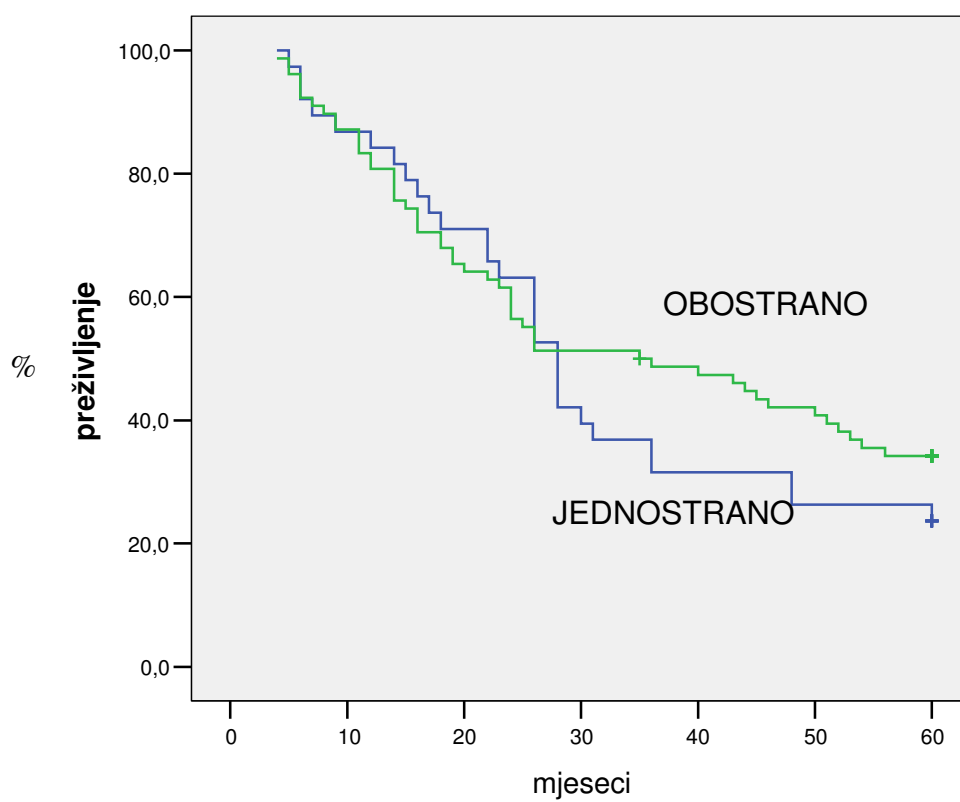


* $P=0,10$ (NS)

*Log rank=0,22

Obostranost tumora nema statističko značenje u odnosu na dužinu preživljenja ($p=0,39$) (grafikon 19).

Grafikon 19. Raspodjela preživljenja bolesnica prema obostranosti karcinoma jajnika (NS)

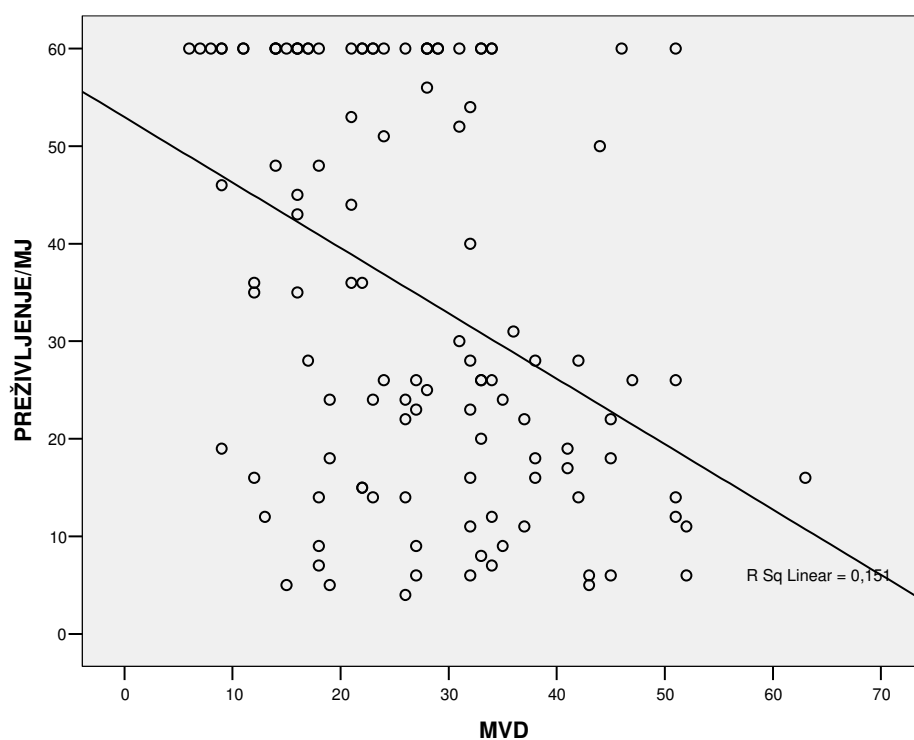


* $P=0,39$ (NS)

*Log rank=0,71

Vrijednost MVD-a negativno korelira s preživljenjem. Što je MVD veći, preživljenje je kraće. Koeficijent korelacije je -0,39, a vrijednost p manja od 0,001 pa je ta tendencija statistički značajna (grafikon 20).

Grafikon 20. Preživljenje bolesnica u ovisnosti o vrijednosti MVD-a



Konačni ishod liječenja (preživljenje) oboljelih od seroznog karcinoma jajnika u odnosu na prognostičke čimbenike prikazano je u tablici 14.

Tablica 14. Konačni ishod liječenja u odnosu na prognostičke čimbenike

PROGNOSTIČKI ČIMBENICI		ŽIVE	UMRLE	p
KLINIČKI STADIJ BOLESTI	I	23 (19,8%)	9 (7,7%)	<0,001
	II	1 (0,8%)	3 (2,5%)	
	III	10 (8,6%)	50 (43,1%)	
	IV	2 (1,7%)	18 (15,7%)	
MVD	>30	7 (6,0%)	41 (35,3%)	<0,001
	≤ 30	29 (25,0%)	39 (33,6%)	
OSTATNI TUMOR	≤2 CM	31 (26,7%)	27 (23,5%)	<0,001
	>2 CM	5 (4,3%)	53 (45,5%)	
STUPANJ ZRELOSTI TUMORA	I/II	30 (25,8)	34 (29,3%)	<0,001
	III	6 (5,1)	46 (39,8%)	
DNA PLOIDNOST	DIPLOIDNI ANEUPLOIDNI	26 (22,4%) 10 (8,6%)	25 (21,5%) 55 (47,4%)	<0,001

U tablici 15 prikazano je preživljenje u mjesecima u odnosu na najznačajnije čimbenike rizika.

Tablica 15. Preživljenje bolesnica u mjesecima ovisno o čimbenicima rizika

PROGNOSTIČKI ČIMBENICI		PREŽIVLJENJE (MJ)	SD	SE	p
KLINIČKI STADIJ	I	55,4	8,7	1,5	<0,001
	II	44,2	20,5	10,2	
	III	28,5	16,7	2,1	
	IV	17,5	18,8	4,2	
MVD	≤ 30	40,7	20,4	2,4	<0,001
	> 30	20,9	18,0	2,6	
DNA PLOIDNOST	ANEUPLOIDNI	25,7	18,0	2,2	<0,001
	DIPLOIDNI	45,9	18,2	2,8	
OSTATNI TUMOR	≤ 2 CM	47,2	16,8	2,2	<0,001
	> 2 CM	22,0	15,9	2,8	
STUPANJ ZRELOSTI TUMORA	I	54,8	10,0	2,0	<0,001
	II	42,9	18,6	2,9	
	III	24,3	18,0	2,5	

U tablici 16 prikazan je odnos vrijednosti MVD-a u odnosu na ostale prognostičke čimbenike. Statistički značajne razlike u vrijednostima MVD-a prikazane su za klinički stadij bolesti, ploidnost tumora, ostatni tumor i stupanj zrelosti tumora.

Tablica 16. Srednja vrijednost MVD-a u odnosu na ostale čimbenike

PROGNOSTIČKI ČIMBENICI		BROJ BOLESNICA	MVD (SREDNJA VRIJEDNOST)	p
KLINIČKI STADIJ	I	32	18 (6-32)	<0,001
	II	4	24,2 (16-31)	
	III	60	29,5 (9-52)	
	IV	20	36,5 (15-63)	
GRADUS	1	25	21,6 (6-44)	<0,009
	2	39	27 (7-63)	
	3	52	30,4 (9-52)	
OSTATNI TUMOR	≤ 2 CM	58	24 (6-52)	<0,002
	>2 CM	58	30,7 (9-63)	
PLOIDNOST	ANEUPLOIDNI	65	30,3 (9-63)	<0,002
	DIPLOIDNI	51	23,6 (6-46)	

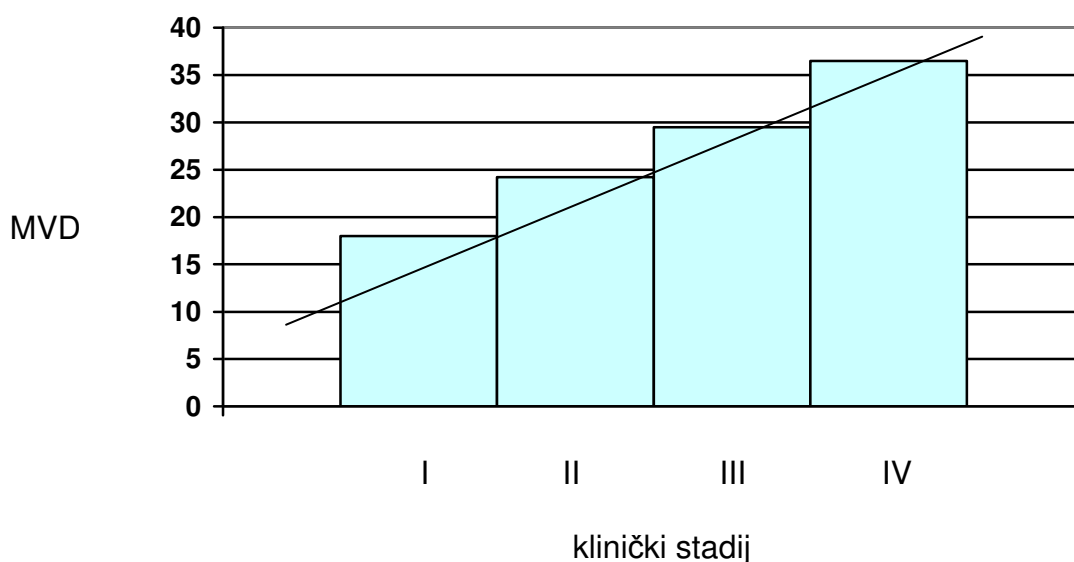
Srednje vrijednosti MVD-a značajno su korelirale s kliničkim stadijima bolesti ($p < 0,001$). Vrijednosti u tablici 17 predstavljaju p-vrijednosti korelacije pojedinih vrijednosti MVD-a u odnosu na klinički stadij bolesti. Tako bolesnice u stadiju I imaju statistički značajno manju gustoću od onih u kliničkim stadijima III i IV, ali ne i od bolesnica u stadiju II. Bolesnice u stadiju IV imaju statistički značajno veću gustoću od bolesnica u svim ostalim stadijima. Bolesnice u stadiju II nemaju značajnu razliku u vrijednosti MVD-a u usporedbi s bolesnicama u stadiju I i III. Obzirom na mali broj bolesnica u stadiju II ove rezultate treba uzeti s rezervom.

Tablica 17. Vrijednosti MVD u odnosu na klinički stadij bolesti (LSD test)

	1	2	3	4
1		0,251556	0,000001	0,000000
2	0,251556		0,317679	0,030804
3	0,000001	0,317679		0,009675
4	0,000000	0,030804	0,009675	

Numeričke vrijednosti MVD za pojedini klinički stadij bolesti prikazane su na grafikonu 21.

Grafikon 21. Srednje vrijednosti MVD u odnosu na klinički stadij bolesti



Gradusi 1 i 3 međusobno se statistički značajno razlikuju u gustoći mikrovaskulature, što ne vrijedi i za gradus 2. Obzirom na adekvatan broj bolesnika sa svakim gradusom, ovi se rezultati mogu smatrati vjerodostojnima. Ipak, vrijednosti post-hoc testa za gradus 2 vrlo su blizu granici od 0,05 pa se

može zaključiti da bi s većim brojem ispitanika i ta vrijednost postala signifikantna (tablica 18).

Tablica 18. Vrijednosti MVD-a u odnosu na gradus

	1	2	3
1		0,070409	0,002247
2	0,070409		0,169287
3	0,002247	0,169287	

Na tablici 19 prikazan je odnos ploidnosti tumora prema ostalim prognostičkim čimbenicima.

Tablica 19. Odnos ploidnosti tumora prema ostalim prognostičkim čimbenicima

PROGNOSTIČKI ČIMBENICI		ANEUPLOIDNI	DIPLOIDNI	p
KLINIČKI STADIJ	I/II III/IV	10(8,5%) 65(47,4%)	26 (22,3%) 25 (21,5%)	<0,001
STUPANJ ZRELOSTI TUMORA	I II III	4 (3,4%) 23 (19,8%) 38 (32,7%)	21(18,1%) 16(13,7%) 14(12%)	<0,001
OSTATNI TUMOR	≤ 2 cm > 2 cm	22 (18,9%) 43 (37%)	36(31%) 15(12,9%)	<0,001
MVD	≤30 >30	33(28,0%) 32(27,0%)	35(30,0%) 16(13,7%)	<0,001

Na tablici 20 i 21 prikazan je odnos ploidnosti tumora prema stupnjevima zrelosti tumora i kliničkim stadijima.

Vrijednosti u tablici 21 predstavljaju p-vrijednosti korelacije ploidnosti tumora u odnosu na stupanj zrelosti tumora. Tako bolesnice u skupini 1 imaju statistički značajnu razliku od onih u skupini 2 i 3. Bolesnice u skupini 2 imaju statistički značajnu razliku u odnosu na bolesnice s trećim stupnjem zrelosti. Ploidnost tumora korelira s kliničkim stadijem bolesti osim u drugom stadiju što se može objasniti malim uzorkom ispitanica, njih samo 4 (tablica 22).

Tablica 20. Ploidnost tumora u odnosu na stupanj zrelosti tumora

	1	2	3
1		0,001	0,001
2	0,001		0,30
3	0,001	0,30	

Tablica 21. Ploidnost tumora u odnosu na klinički stadij bolesti

	1	2	3	4
1		0,1	0,001	0,001
2	0,1		0,1	1,00
3	0,001	0,98		0,9
4	0,001	1,0	0,9	

Coxovom regresijom analizirani su čimbenici koji su se univarijatnom analizom pokazali statistički značajnima, te je na osnovu toga formiran model za preživljenje bolesnica sa seroznim karcinomom jajnika visoke predikcije ($X^2 = 91,902$, $dF=6$, $p < 0,0001$) (tablica 10).

Pokazano je da su statistički nezavisni faktori: MVD > 30 ($p=0,001$), zatim FIGO klinički stadij bolesti ($p=0,002$), ostatni tumor veći od 2 cm ($p=0,02$) i optimalan operacijski zahvat ($p=0,001$). Stupanj zrelosti tumora i ploidnost tumorskih stanica u multivarijatnoj analizi nisu čimbenici koji su pokazali statističku značajnost za preživljenje bolesnica sa seroznim karcinomom jajnika (tablica 22).

Tablica 22. Prikaz prediktivnih čimbenika i njihove neovisne značajnosti za preživljenje bolesnica sa seroznim karcinomom jajnika (multivarijatna analiza)

PROGNOSTIČKI ČIMBENICI	OČEKIVANI B	ZNAČAJNOST	EXP(B)
MVD	0,835	0,001	2,305
OPERACIJSKI ZAHVAT	0,860	0,001	2,364
KLINIČKI STADIJ	1,116	0,002	3,051
OSTATNI TUMOR	0,664	0,02	1,94
STUPANJ ZRELOSTI (GRADUS)	0,301	0,230	1,351
PLOIDNOST DNA	-0,323	0,242	0,724
χ^2	df	p	
91,902	6	<0001	

5. RASPRAVA

Karcinom jajnika ima posebno značenje u ginekološkoj onkologiji. Relativno niska učestalost i visok postotak smrtnosti desetljećima predstavljaju veliki izazov ginekolozima koji se bave ginekološkom onkologijom. Do danas nije otkrivena dijagnostička metoda za rano otkrivanje početnog karcinoma jajnika u općoj populaciji koja je dovoljno osjetljiva i specifična da bi se koristila kao „screening“ metoda. Redovito praćenje visokorizičnih skupina s opterećenom obiteljskom anamnezom ili verificiranim BRCA 1 ili BRCA 2 genom, obuhvaća oko 10% oboljelih od karcinoma jajnika. Za razliku od malignih novotvorina vrata i trupa maternice danas nije poznata prekanceroza karcinoma jajnika, niti se on može u zadovoljavajućem broju dijagnosticirati u ranom stadiju kad je i preživljenje značajno veće. Kod većine se bolesnica karcinom jajnika otkrije u kasnijim stadijima bolesti (III i IV). Stoga su sva nastojanja i kliničara i pretkliničara usmjerena na istraživanja metoda ranog otkrivanja karcinoma jajnika i novih oblika liječenja. Isto tako je značajno proniknuti u važnost kako novih terapijskih metoda tako i prognostičkih čimbenika uz pomoć kojih možemo modificirati ili primarno provesti optimalan način liječenja.

Novije spoznaje o angiogenezi u nastanku, te poglavito rastu karcinoma različitih organa, kao i mehanizmima koji time upravljaju daju nadu u pronalazak lijeka koji će usporiti ili prekinuti rast tumora. Složenost angiogeneze u indukciji rasta tumora otežava odabir odgovarajućeg inhibitora rasta tumora. Prvi blokator rasta krvnih žila, bevacizumab, registriran je u SAD-u za liječenje karcinoma debelog crijeva.^{96,97} Endoglin se pokazao kao novi čimbenik i iskorak u novija istraživanja o liječenju i prognozi karcinoma jajnika.

Anti CD-105 protutijelo (endoglin) specifičan je marker koji se veže poglavito na endotelne stanice čiji su nastanak, umnažanje i migracija inducirane poglavito tumorskim faktorima neoangiogeneze i drugim molekularnim mehanizmima. U komparativnoj studiji Wanga i suradnika intenzitet bojanja krvnih žila unutar tumora i uz sam tumor značajno je viši s anti

CD-105 u odnosu na anti CD-31.^{98,99} Samo 20% endotelnih stanica u normalnom tkivu obojeno je s anti CD-105 u odnosu na anti CD-31 što govori o visokoj specifičnosti anti CD-105 za novostvorene krvne žile u procesu neoangiogeneze tumora. Ekspresiju endoglina na stanicama korteksa jajnika prvi je prikazao Jindal.¹⁰⁰

Do datuma prijave teme za ovaj doktorat nije bilo objavljenih studija na temu angiogeneze kao prognostičkog čimbenika za epitelni karcinom jajnika, mjerene uz pomoć visokospecifičnog biljega CD-105.

Prognostička vrijednost angiogeneze prikazana je u istraživanjima na velikom broju različitih zloćudnih novotvorina. Prognostička vrijednost anti CD-105 u ginekološkoj onkologiji je istraživana za karcinom vrata maternice i karcinom tijela maternice. Rezultati su pokazali da mjerenje angiogeneze uz pomoć anti CD-105 ima statističku značajnost za prognozu bolesti samostalno i u odnosu na panendotelijalne markere kako u istraživanjima karcinoma vrata tako i tijela maternice.¹⁰¹⁻¹⁰⁵

Mjerenja angiogeneze za zloćudne tumore gastrointestinalnog trakta poglavito karcinoma debelog crijeva i želuca potvrdila su značajnu prognostičku vrijednost visokospecifičnog anti CD-105.¹⁰⁶⁻¹⁰⁹ Istraživanja na velikom broju ostalih zloćudnih tumora potvrdila su da visokospecifični marker anti CD-105 ima svoje značenje u prognozi bolesti i to u svim navedenim istraživanjima za razliku od panendotelijalnih markera.¹¹⁰⁻¹²¹

Pokazali su da vrijednosti MVD-a izmjerene uz pomoć biljega anti CD-105 predstavljaju nezavisan čimbenik preživljenja i vremenskog razdoblja bez bolesti, kako univarijatnom, tako i multivarijatnom analizom. Vrijednosti MVD-a određene biljegom anti CD-34 i anti CD-31 nisu se pokazale statistički značajnima kako u prognozi tako i vremenskom razdoblju bez bolesti. Stupanj neoangiogeneze preinvazivnih oblika karcinoma debelog crijeva mjeren uz pomoć anti-CD-105 povezan je sa stupnjem displazije, za razliku od anti CD-31 koji nije pokazao statistički značajnu razliku.

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi vrijednosti MVD-a uz pomoć anti-CD 105 i ploidnosti tumorskih stanica za bolesnice sa seroznim karcinomom jajnika.

Istraživanje je provedeno u svrhu znanstvenog doprinosa jedne nove metode u prognozi najčešćeg invazivnog histološkog oblika karcinoma jajnika.

Do danas je objavljeno više znanstvenih radova u kojima je kvantitativno određen stupanj angiogeneze, te je izvršena statistička analiza o utjecaju vrijednosti MVD-a na prognozu oboljelih od karcinoma jajnika.¹²²⁻¹³⁹

U svim istraživanjima koristili su se panendotelijalni biljezi anti CD-31, anti CD-34 i anti F-VIII određeni iz tumorskog tkiva uklopljenog u parafin. Sva mjerenja izvedena su uz povećanje mikroskopa od 200-400x. Vrijednosti srednjeg broja krvnih žila (16-77) i prijelomne vrijednosti broja krvnih žila (16-45) u procjeni utjecaja MVD-a na preživljenje značajno se razlikuju od istraživanja do istraživanja.¹²²⁻¹³⁹

Metode i tehnike bojanja i brojanja krvnih žila, te interpretacija u odnosu na preživljenje se razlikuju. Iz tog razloga vrlo je teško ispitati korelaciju između navedenih istraživanja.

U navedenim istraživanjima broj ispitanica je relativno malen i kreće se od 15-112, u prosjeku 50,4. U samo četiri istraživanja izdvojene su skupine ispitanica prema kliničkom stadiju III-IV,^{122,126,131,134} dok su u ostalim studijama zastupljeni svi klinički stadiji bolesti. Statistički značajna povezanost MVD-a s kliničkim i patološkim prognostičkim čimbenicima (dob, klinički stadij bolesti, gradus, veličina tumora, veličina ostatnog tumora) ostvarena je u samo četiri istraživanja.^{121,123,133,134}

Stupanj neovaskularizacije nigdje se nije pokazao kao značajan prognostički čimbenik. Niti u jednom istraživanju vrijednost MVD-a nije se pokazala statistički značajna u predviđanju preživljenja multivarijantnom analizom.¹²²⁻¹³⁹ U manjem broju provedenih istraživanja MVD se samo u univarijantnoj analizi pokazao značajnim prognostičkim čimbenikom za preživljenje bolesnica.^{123,125,127,127,134,136,139}

Ulogu angiogeneze u prognozi karcinoma jajnika prvi je prikazao Hollingsworth. U retrospektivnoj studiji obradio je 43 bolesnice s uznapređovanim karcinomom jajnika (klinički stadij III-IV), te došao do rezultata da je stupanj angiogeneze značajno povezan s preživljenjem i vremenskim razdobljem bez bolesti.¹²²

Utjecaj MVD-a na interval bez bolesti (Disease Free Interval - DFI) prikazao je samo Hollingsworth u svom istraživanju.¹²²

Gasparini je prikazao značajnu povezanost vrijednosti MVD-a i preživljenja bolesnica s mucinoznim karcinomom jajnika, dok je Ogawa dobio značajnost MVD-a kao prognostičkog čimbenika za karcinom svijetlih stanica.^{127,136}

Niske vrijednosti MVD-a značajno su povezane s boljim odgovorom na kemoterapiju.¹²³ U ostalim istraživanjima ova tvrdnja nije potvrđena.

Stupanj neoangiogeneze omentalnih presadnica značajno je povezan s preživljenjem prema istraživanju Abulafie.¹²⁹ Goodheart je prvi dokazao značajnu statističku povezanost između vrijednosti MVD-a i p53.¹³⁹

Stupanj angiogeneze značajno je niži u benignih nego malignih tumora jajnika.^{137,138} Vrijednosti MVD-a za karcinom jajnika značajno su više nego za tumore jajnika niskog zloćudnog potencijala.¹³² MVD omentalnih presadnica značajno je viši nego u primarnom tumoru.¹³⁹

Poznato je da su razlike između dva istraživača u vrijednosti MVD-a 10-15%.⁸⁹ U navedenim studijama koristili su se različiti tipovi protutijela za antigene koji nisu specifični samo za novonastale krvne žile. Varijabilnost MVD-a kod karcinoma jajnika značajno je viša nego za ostale karcinome genitalnog trakta.¹²⁴ Prokrvljenost karcinoma jajnika prema vrijednostima MVD-a značajno je manja od većine ostalih tumora pogotovo karcinoma dojke.¹²³ Relativno mali broj ispitanica može biti dodatnim razlogom zbog čega vrijednosti MVD-a nisu pokazale jasan prognostički značaj.

Tablica broj 23. Istraživanja angiogeneze tumora panendotelijalnim markerima

Autor/god	Broj Ispitanica	Marker	Korelacija KI-pat.	DFS	Preživljenje (p)
Hollingsworth,95	43/43	CD-34	NZ	<0,01	<0,01
VanDiest,96	49/44	F-VIII	NZ	NZ	NZ
Gasparini,96	112/60	CD_31	DA	NZ	<0,03
Brustman,97	32/18	F-VIII	NZ	NZ	<0,0001
Schoell,97	28	CD-31,34 F-VIII	NZ	NZ	NZ
Abulafia,97	42/30	F-VIII	NZ	NZ	NZ
Emoto,97	20/9	CD-34	NZ	NZ	NZ
Heimburg,97	30/30	CD-34	NZ	NZ	NZ
Orre,98	48	CD-31,34 F-VIII	DA	NZ	NZ
Obermair,99	64/38	CD-34	DA	NZ	<0,04
Heimburg,99	38/31	CD-34	DA	NZ	<0,02
Alvarez,99	88/51	CD-31 F-VIII	NZ	NZ	<0,05
Abulafia,00	15	F-VIII	NZ	NZ	NZ
Nakayama,01	42/26	CD-34	NZ	NZ	NZ
Ogawa,02	105/60	CD-34	NZ	NZ	NZ
Goodheart,02	77/52	CD-31	DA	NZ	<0,009

*NZ (nema značajnosti)

Tijekom ovog istraživanja retrospektivno je obrađeno 120 oboljelih od seroznog karcinoma jajnika. Kriterije koji su zadani prije početka studije zadovoljilo je 116 bolesnica. Praćeni su svi značajni epidemiološki, dijagnostički, kliničko-patološki i terapijski pokazatelji za serozni karcinom jajnika (tablica 8). Serozni karcinom jajnika odabran je jer predstavlja najčešći histološki tip i u najvećem dijelu je odgovoran za visoku smrtnost od karcinoma jajnika.

Pretpostavljalo se da će vrijednosti MVD-a i ploidnosti tumorskih stanica korelirati s preživljenjem oboljelih od seroznog karcinoma jajnika kao i s ostalim poznatim prognostičkim čimbenicima. Prikupljeni podaci obrađeni su već navedenim statističkim metodama koje su objašnjene u ispitanicama i metodama.

Iz rezultata je razvidno da su vrijednosti MVD-a značajno korelirale s preživljenjem oboljelih od seroznog karcinoma jajnika. Prosječna vrijednost MVD-a u ovom istraživanju za sve ispitanice bila je 27,3 +/- 11,9. Za umrle ispitanice prosječna vrijednost MVD-a bila je 30,08 +/- 11,65 (9-63), a žive 21,3 +/- 10,5 (6-51) što predstavlja značajnu statističku razliku ($p < 0,0001$) (tablica 14).

Vrijednost MVD-a koja najbolje razgraničava preživljenje je 30. Univarijatnom analizom (Kaplan-Meier) gustoća tumorske mikrocirkulacije pokazala se kao značajan prognostički čimbenik kod oboljelih od seroznog karcinoma jajnika (Log rank-31,5; $p < 0,001$).

Vrijednosti MVD-a u ovom istraživanju korelirale su s kliničkim stadijem bolesti ($p = 0,0001$), stupnjem zrelosti tumora ($p = 0,009$), ostatnim tumorom ($p = 0,002$) i ploidnosti tumorskih stanica ($p = 0,002$). MVD nije korelirao s dobi. Bolesnice s MVD-om < 30 živjele su značajno duže (40,7 mjeseci) od onih s MVD-om > 30 (20,9 mjeseci) ($p = 0,0001$) (tablica 14). Coxovom regresijskom krivuljom pokazalo se da je MVD > 30 nezavisan prognostički čimbenik za preživljenje oboljelih od seroznog karcinoma jajnika uz klinički stadij bolesti ($p = 0,002$), ostatni tumor > 2 cm ($p = 0,02$), te optimalan operacijski zahvat ($p = 0,001$).

Nakon prijave teme doktorata, početkom 2006. godine objavljen je prvi znanstveni članak koji je obradio prognostičko značenje vrijednosti MVD-a mjenjenih anti CD-105 za novotvorine jajnika epitelnog porijekla.¹³⁹ Prosječna dob oboljelih od 55 godina korelira s onom u ovom istraživanju (53,2+/-13). Taskaran je u svom radu imao čak 72% oboljelih u III stadiju bolesti za razliku od 51,7% u ovom istraživanju. Nasuprot tome značajno je manji broj oboljelih u IV stadiju bolesti i to 2% u odnosu na 17,2% u ovom istraživanju. U istraživanje su bili uključeni svi histološki tipovi novotvorina epitelnog porijekla. Preko 60% epitelnih tumora bilo je seroznog tipa. Optimalnu citoredukciju proveli su u većem broju slučajeva nego u našoj Klinici i to 78% u odnosu na 50%. Srednja vrijednost MVD-a je skoro identična s onom u našem istraživanju 28,78+/-22 prema 27,3+/-11,9. Vrijednosti MVD-a u Taskaranovom istraživanju korelirale su, kao i u ovom istraživanju, s kliničkim stadijem bolesti, veličinom ostatnog tumora, kao i histološkom zrelosti tumora. Multivarijatnom analizom uspješnost citoredukcijske kirurgije i MVD pokazali su statističku značajnost što se slaže s našim rezultatima.¹⁴⁰

Nakon identifikacije prognostičkih čimbenika i uloge angiogeneze, postavlja se pitanje gdje je značenje anti-angiogenog liječenja karcinoma jajnika. Jedini odobreni blokator angiogeneze od strane FDA (Food and Drug Organisation) je Avastin (bevacizumab) za liječenje oboljelih od karcinoma debelog crijeva.⁹⁶ Vrijednost anti-endoglinjskih protutijela za sada je istražena na životinjskom modelu u liječenju karcinoma kože.¹⁴¹

Ovo istraživanje je provedeno u svrhu znanstvenog doprinosa jedne nove metode u prognozi najčešćeg invazivnog histološkog oblika karcinoma jajnika.

Uloga ploidnosti tumorskih stanica u ponašanju seroznog karcinoma jajnika i dalje ostaje kontroverzna. Rezultati se značajno razlikuju od studije do studije. Aneuploidni tumori su značajno češći u uznapredovalim stadijima bolesti (III i IV) i to u 50-80% ispitanica.⁵⁸ Ploidnost tumorskih stanica općenito ne korelira s histološkim tipom tumora.¹¹² U mnogim studijama ploidnost tumorskih stanica korelira sa stupnjem diferenciranosti tumora.¹⁴²⁻¹⁴⁶

U više od polovice tumora sa stupnjem zrelosti II i III, njih 61 (52,5%) imali su aneuploidnu sliku u odnosu na samo 30 (25,7%) s diploidnom slikom. Ipak se većina autora slaže da ploidnost tumorskih stanica značajno korelira s prognozom bolesti u uznapredovalim stadijima bolesti, te na taj način predmnijeva agresivno ponašanje tumora.¹⁴⁴

U ovom radu 65 (56%) bolesnica je imalo aneuploidni tip tumora i to u III i IV kliničkom stadiju bolesti. Samo je njih 10 (8,6%) I i II stadija bolesti bilo aneuploidno, dok je 25 (21,5%) oboljelih u ranijim stadijima bolesti imalo diploidni tip tumora. Ovi podaci se u potpunosti slažu s rezultatima Buta i Goriškega koji su proveli istraživanje ploidnosti za serozni karcinom jajnika kod 63 pacijentice.¹⁴⁶ Aneuploidni tip tumora značajno je češći u bolesnica s ostatnim tumorom većim od 2 cm. U ovom istraživanju 43 bolesnice s ostatnim tumorom većim od 2 cm imale su aneuploidan sadržaj DNA (37%), dok je većina diploidnih 36 (31%) imala ostatni tumor manji od 2 cm (tablica 17). Ovaj odnos sadržaja DNA i veličine ostatnog tumora u korelaciji je s rezultatima iz literature.¹⁴⁷ Bolesnice s diploidnim sadržajem DNA imale su značajno duže preživljenje (45,9 mjeseci) u odnosu na aneuploidne (25,7 mjeseci) (tablica 18). Preživljenje aneuploidnih u odnosu na diploidne značajno se razlikuje što je prikazano na grafikonu 14, sa statističkom značajnosti $p=0,0001$. Ovi se rezultati slažu s ostalim analizama prognostičkog značenja sadržaja DNA na preživljenje oboljelih od seroznog karcinoma jajnika, u odnosu prema drugim prediktivnim čimbenicima.¹⁴³⁻¹⁴⁷ Činjenica da sadržaj DNA u multivarijatnom Coxovom modelu nema značenje slaže se s određenim brojem autora.¹⁴³⁻¹⁴⁷

U nastavku je prikazan odnos ostalih prognostičkih čimbenika s onima iz literature.

Svi istraživači se slažu da je ostatni tumor kao rezultat citoredukcijske kirurgije najznačajniji, ako ne i jedini prognostički čimbenik koji utječe na ishod u liječenju karcinoma jajnika pogotovo seroznog histološkog tipa. Maksimalno moguća redukcija tumorskog tkiva glavno je načelo citoredukcijske kirurgije. Optimalna veličina reduciranog tumora nije definirana te se razlikuje od autora do autora. Bristow je metaanalizom 81 studije došao do spoznaje da je u oko

80% operiranih veličina ostatnog tumora ≤ 2 cm.¹⁴⁸ Prema novijim GOG studijama ta je veličina 1 cm.¹⁴⁸ U ovoj studiji je kao optimalna veličina ostatnog tumora određeno minimalno 2 cm u odnosu na rezultate studije Bristowa i činjenice da su bolesnice liječene u razdoblju od 1993-1998. godine. Zaostatak ostatnog tumora većeg od 2 cm smatra se suboptimalnom redukcijom. Postoje velike razlike u uspješnosti citoredukcijske kirurgije kako od studije do studije tako i u ovisnosti o uvježbanosti tima, prisutnosti subspecijaliste ginekologa onkologa i drugih čimbenika. Prema većini istraživanja optimalnu citoredukciju moguće je izvršiti u 30-60% operacijskih zahvata, dok se u visokospecijaliziranim ustanovama za ginekološku onkologiju taj broj može povisiti i do 85%.¹⁴⁹ Tako je prema prospektivnoj studiji na 163 bolesnice u njih 85,3% učinjena kompletna resekcija tumora, a u daljnjih 13,5% ostatni tumor bio je manji od 1 cm.¹⁵⁰ Uspješnost citoredukcijske kirurgije se ipak u većini istraživanja kreće od 25-70%.¹⁵¹⁻¹⁵⁵ U ovom istraživanju ostatni tumor manji od 2 cm ostvaren je u 58 (50%) bolesnica što se podudara s prosjekom u navedenoj literaturi (tablica 9).¹⁴⁹⁻¹⁵⁵ Uspješna citoredukcijska kirurgija s ostatnim tumorom manjim od 2 cm jasno pokazuje značajno duže očekivano preživljenje (47,2 mjeseci) u odnosu na suboptimalno operirane bolesnice (22,0 mjeseca) sa statističkom značajnosti ($p < 0,001$). Univarijatnom analizom ostatni tumor ima značajan utjecaj na preživljenje oboljelih od seroznog karcinoma jajnika (tablica 12, grafikon 12). Veličina ostatnog tumora značajno korelira s drugim prognostičkim čimbenicima kao što su MVD i DNA ploidnost (tablice 13,17). U multivarijatnoj analizi veličina ostatnog tumora > 2 cm pokazala je jasnu statističku značajnost ($p=0,02$) za preživljenje od seroznog karcinoma jajnika s ostalim prediktivnim čimbenicima (MVD, optimalan operacijski zahvat i klinički stadij bolesti) (tablica 21). Prema gore navedenim činjenicama veličina ostatnog tumora > 2 cm ima jasno prognostičko značenje samostalno u univarijatnoj analizi, u odnosu na druge prognostičke čimbenike i u multivarijatnoj analizi modela za preživljenje oboljelih od seroznog karcinoma jajnika.

Više od 75% (88) bolesnica operirano je na klasičan način tako da je učinjena histerektomija, s obostranom adneksektomijom i resekcijom omentuma. Bez obzira na veličinu ostatnog tumora, operacijski zahvat je u multivarijantnoj analizi zauzeo statistički značajno mjesto u prognozi bolesti ($p=0,001$). Ovaj rezultat je očekivan činjenicom da su preostalih 28 (24,1%) bolesnica suboptimalno operirane ili je učinjena samo eksploracijska laparotomija.

U ovom istraživanju od 116 bolesnica dijagnoza je kod njih 60 (51,7%) postavljena u III stadiju bolesti. Značajno manje, njih 20 (17,2%) bilo je u uznapređovalom IV stadiju bolesti, a 36 (31%) u ranom I i II stadiju bolesti. Raspodjela prema stadijima bolesti u velikoj mjeri korelira s raspodjelama na velikom broju bolesnica prema višegodišnjim istraživanjima kako FIGO Annual Reporta tako i drugim.¹⁵⁶⁻¹⁵⁸ Prema navedenim istraživanjima 46-47% oboljelih je u III stadiju bolesti, 12-16% u IV stadiju dok je 23-33% u I stadiju bolesti. U ovoj studiji je relativno nizak broj oboljelih u II stadiju bolesti (3,4%) prema očekivanih 9-13% u odnosu na velike serije, što ovisi najvjerojatnije o pažljivom kirurško-patološkom određivanju stadija.

U poslijemenopauzi je bilo 69 oboljelih (59,5%), dok je 47 (40,5%) žena oboljelo prije početka menopauze. Broj žena oboljelih od karcinoma jajnika u menopauzi prema ostalim autorima se kreće od 55-70%.¹⁵⁹ Kako je paritet jedan od značajnijih epidemioloških čimbenika čak 25 (21,6%) istraživanih bolesnica bile su nerotkinje što je iznad prosjeka, te govori u prilog rađanju kao zaštitnom čimbeniku od karcinoma jajnika.

Najveći broj tumora pripadao je skupini loše diferenciranih, 52 (44,8%), dok je 39 (33,6%) bilo srednje i 25 (21,6%) dobro diferenciranih. Ovi podaci se slažu s raspodjelom prema stupnju diferenciranosti u ostalim istraživanjima.^{5,38}

Serozni karcinom jajnika je prema Hoskinsu obostran u jednoj trećini slučajeva u početnom I kliničkom stadiju bolesti. U više od dvije trećine serozni karcinom jajnika je obostran u uznapređovalim stadijima II-III.⁵ Jukić navodi da je obostrana pojavnost seroznog karcinoma jajnika prisutna u 25-65% oboljelih.¹⁰ Rezultati ovog istraživanja se slažu s navedenim iz literature.

Sveukupno je 78 (67,2%) oboljelih imalo obostrane tumore. Oni su se uglavnom odnosili na bolesnice u III i IV kliničkom stadiju bolesti.

Prosječna dob oboljelih od seroznog karcinoma jajnika u istraživanju iznosi 53 godine. To je nešto manje od prosječne dobi oboljelih od epitelnog karcinoma jajnika prema SEER-NCI koja iznosi 63 godine.⁵ Od toga je 5 (4,3%) bolesnica mlađe od 30 godina. Starijih od 45 godina je bilo 67 (58,2%) godina, dok su 43 (37,4%) bolesnica iznad 60 godina starosti. Ova dobna struktura istraživanih bolesnica se podudara s dobnom strukturom oboljelih od karcinoma jajnika prema FIGO Annual Report 1996-98 gdje je 41,2% bolesnica starijih od 60 godina, a samo 3,6% mlađe od 30 godina. Podaci FIGO istraživanja se odnose na 5694 ispitanica i potvrđuju pravilnu dobnu raspodjelu i u našem istraživanju.⁶ Omura je istraživajući prognostičke čimbenike u sklopu GOG studije od 726 žena imao 38,5% starijih od 60 godina.¹⁶⁰

Prema podacima iz registra za karcinom za Republiku Hrvatsku od 1988-1999. godine na 3077 oboljelih 36% žena je bilo u starijoj dobnoj skupini iznad 65 godina starosti.⁹⁸ Prema SEER-NCI još je više (48%) bolesnica iznad 65 godine starosti.⁷ Ova raspodjela po dobnim skupinama potvrđuje da je karcinom jajnika bolest žena u peri i postmenopauzi prema rezultatima ovog i ostalih značajnijih istraživanja.^{6,7,161,162}

6. ZAKLJUČCI

1. Vrijednosti MVD-a mjerene uz pomoć monoklonskog protutijela CD-105 predstavljaju nezavisan prognostički čimbenik za serozni karcinom jajnika. Statistički je značajna lošija prognoza kod skupine bolesnica s više od 30 krvnih žila po jedinici povećanja.
2. Prognostički čimbenici koji su se pokazali značajnima u univarijantnoj analizi su klinički stadij, stupanj zrelosti tumora, MVD, ostatni tumor i ploidnost tumora.
3. Multivarijantnom analizom u koju su uključeni svi značajni prognostički čimbenici iz univarijantne analize pokazano je da statističku značajnost imaju MVD, kliničko-patološki stadij bolesti, vrsta operacijskog zahvata i ostatni tumor > 2 cm.
4. Vrijednosti MVD-a koreliraju s kliničko-patološkim stadijima bolesti, stupnjem zrelosti tumora, ploidnosti tumorskih stanica i veličinom ostatnog tumora.
5. Ploidnost tumorskih stanica korelira s kliničkim stadijem bolesti, stupnjem zrelosti tumora, veličinom ostatnog tumora i MVD.

7. SAŽETAK

Karcinom jajnika čini 5% svih karcinoma u žena. Iako na karcinom jajnika otpada 23% ginekoloških karcinoma, skoro 50% svih smrti od genitalnog karcinoma uzrokovano je karcinomom jajnika. Životni rizik za nastanak karcinoma jajnika iznosi 1,44% svih novorođenih (1/69). Petogodišnje preživljenje žena oboljelih od karcinoma jajnika danas se kreće do 45%. Nema značajnih razlika u učestalosti i preživljenju oboljelih od karcinoma jajnika unatrag 10-ak godina.

Materijali i metode. U studiju je uključeno 116 bolesnica koje su liječene u Zavodu za ginekološku onkologiju Klinike za ženske bolesti i porode, KBC-a Zagreb u razdoblju od 1993-1998. zbog seroznog karcinoma jajnika. U svih ispitanica prikazani su kliničko-patološki prognostički čimbenici i kirurški uspjeh liječenja.

Cilj. Odrediti stupanj neoangiogeneze za svaki pojedini serozni karcinom jajnika uz pomoć monoklonskog protutijela CD-105. Usporediti gustoću krvnih žila po jedinici površine s ostalim kliničkim i patohistološkim prognostičkim čimbenicima. Odrediti sadržaj DNA tumorskih stanica metodom protočne citometrije. Usporediti povezanost sadržaja DNA tumorskih stanica s ostalim kliničkim i patohistološkim prognostičkim čimbenicima.

Rezultati. Univarijatnom analizom statistički značajnima u odnosu na preživljenje pokazali su se klinički stadiji bolesti ($p < 0,001$), rani karcinom jajnika u odnosu na uznapredovali karcinom jajnika ($p < 0,001$), stupanj zrelosti tumora ili gradus ($p < 0,001$), veličina ostatnog tumora > 2 cm ($p < 0,001$), vrijednosti MVD-a > 30 ($p < 0,001$), te ploidnost tumora ($p < 0,001$). Coxovom regresijom analizirani su čimbenici koji su se univarijatnom analizom pokazali statistički značajnima, te je na temelju toga formiran model za preživljenje bolesnica sa seroznim karcinomom jajnika visoke predikcije ($X^2 = 91,902$, $dF=6$, $p < 0,001$).

Pokazano je kako je statistički nezavisan faktor MVD > 30 ($p=0,001$), klinički stadij bolesti ($p=0,002$), ostatni tumor veći od 2 cm ($p=0,02$) i optimalan operacijski zahvat ($p=0,001$).

Zaključak. Klinički stadij bolesti kao i ostatni tumor > 2 cm pokazali su se kao značajni prognostički čimbenici za preživljenje od seroznog karcinoma jajnika. MVD > 30 je izrazito važan statistički čimbenik za lošiji ishod u bolesnica sa seroznim karcinomom jajnika. Uvođenje mjerenja MVD-a u bolesnica sa seroznim karcinomom jajnika dalo bi smjernice u predmnijevanju agresivnog ponašanja tumora.

8. SUMMARY

Ovarian cancer amounts to 5% of all types of cancer in women. Although ovarian cancer accounts for 23% of all female reproductive types of cancer. Almost 50% of all fatalities caused by genital carcinoma are due to ovarian cancer. The lifetime risk for developing ovarian carcinoma is 1.44% of all newborns, or (1/69).

Today, the survival rate for women who have developed ovarian cancer is up to 45%. There have been no significant differences in the frequency of development and the survival rate for the ovarian cancer in the past 10 years.

Materials and methods. The study included 116 patients treated for serous ovarian cancer between 1993 and 1998 at the Institute for female reproductive oncology, Hospital for female reproductive medicine, the Zagreb Clinical Medical Center. Clinical and pathological prognostic factors and treatment methods for all 116 patients are presented.

Aims. To determine the degree of neo-angiogenesis for each individual case of serous ovarian cancer using monoclonal antibody CD-105; to compare the density of blood vessels per area unit to other clinical and pathohistological prognostic factors; to determine the content of DNA (DNA ploidy) using flow cytometry; to compare the link of tumor cells DNA ploidy to other clinical and pathohistological prognostic factors.

Results. Using the univariate analysis method, the following was found statistically relevant to the survival ratio: clinical stage ($p < 0.001$), early ovarian cancer compared to the advanced ovarian cancer ($p < 0.001$), tumor maturity degree or gradient ($p < 0.001$), size of the residual tumor > 2 cm ($p < 0.001$), MVD value > 30 ($p < 0.001$) and DNA ploidy ($p < 0.001$). Using the Cox regression method, factors proved statistically relevant through the univariate analysis were analysed to create a survival rate model for serous ovarian cancer patients with high predisposition ($\chi^2 = 91.902$, $dF = 6$, $p < 0.001$).

The study shows that the statistically independent factor MVD > 30 ($P < 0.001$), clinical stage ($p = 0.002$), residual tumor > 2 cm ($p = 0.02$) and optimized surgery ($p = 0.001$).

Conclusion. Clinical stage, as well as the residual tumor > 2 cm have proved significant prognostic factors for surviving serous ovarian cancer. MVD > 30 is an extremely important statistical factor in determining adverse outcome for the patients with serous ovarian cancer. Introducing MVD screening for the patients with serous ovarian cancer would provide guidance in anticipating tumor's aggressive progress.

9. LITERATURA

1. Krmpotić-Nemanić J. Anatomija čovjeka, 4. izdanje. Zagreb: Jugoslavenska medicinska naklada, 1990.
2. Witschi E. Embriology of the ovary. In Grady HG, Smidt DE, eds. The ovary. Baltimore: Williams & Wilkins, 1962;1-10.
3. Sadler TW. Langmanova medicinska embriologija. Zagreb: Školska knjiga, 1996.
4. Larsen WJ. Human Embryology, 3rd ed. New York: Churchill Livingstone, 2001.
5. Hoskins WJ, Perez CA, Young RC. Principles and practice of gynecologic oncology 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2000;981-1059.
6. Ries LAG, Harkins D, Krapcho M, Mariotto A, Miller BA, Feuer EJ, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2003. Bethesda, MD: National Cancer Institute, November 2006.
7. Heintz APM, Odicino F, et al. Volume 25 of the FIGO Annual Report on the results of treatment in Gynecological Cancer. Int J Gynecol Obstet 2003;83 Suppl. 1.
8. Ries L, Eisner M, Kosary C, et al. SEER Cancer Statistic Review, 1973-1999, Bethesda, MD: National Cancer Institute, 2002.
9. Novi godišnjak Hrvatskog zavoda za statistiku - Bilten broj 29. Zagreb, 2006.
10. Jukić S. i suradnici. Patologija ženskog spolnog sustava, 3. izdanje. Zagreb: AGM, 1999;str.170-195.

11. Robboy SJ, Anderson MC, Russel P. Pathology of female reproductive tract. London: Churchill Livingstone, 2002.
12. Serof SF, Scully RE, Sobin LH. International classification of tumors, vol 9: Histological typing of ovarian tumors. Geneva: World Health Organisation, 1973.
13. Creasman WT. Announcement, FIGO stages:1988 revisions. Gynecology Oncology 1989;35:125-130.
14. Schneider AP. Risk for ovarian cancer. N Engl J Med 1987;317:708-712.
15. Daly M, Orams GI. Epidemiology and risk assesment for ovarian cancer. Semin Oncol 1998;25:255-264.
16. Casagrande JT, Louie EW, Pike MC, et al. «Incensant ovulation» and ovarian cancer. Lancet 1979;2:170-173.
17. Fathalla MF. Insensant ovulation a factor in ovarian neoplasia? Lancet 1971; 2:163-170.
18. Cramer DW, Hutchinson GB, Welch WR, et al. Factor affecting the associations of oral contraceptives and ovarian cancer. N Engl J Med 1982; 307:1047-1951.
19. Rossing MA, Daling JR, Weiss NS, et al. Ovarian tumors in a cohort of infertile women. N Engl j Med 1994;331:771-776.
20. Whittemore AS. The risk of ovarian cancer after treatment of infertility. N Engl J Med 1994;331 805-806.
21. Whittemore AS, Harris R, Itnyre J. Characteristics realting to ovarian cancer risk: Collaborative analysis of 12 US case control studies.IV. The pathogenesis of epithelial ovarian cancer. Am J Epidem 1992;136:1208-1214.

22. Cramer DW, Welch WR. Determinants of ovarian cancer risk.II.Inferencens regarding pathogenesis. J Natl Canc Inst 1983;71:717-721.
23. Ness RB, Cottreau C. Possible role of epithelial inflammation in ovarian cancer. J Natl Canac Inst 1999;91:1459-1467.
24. Harlap S. The epidemiology of ovarian cancer. In: Marman M, Hoskins WJ, eds. Cancer of ovary. New York: Raven Press Ltd, 1993;60-81.
25. Heintz APM, Hacker NF, Lagase LD. Epidemiology and etiology of ovarian cancer. Obstet Gynecol 1985;66:125-132.
26. Garg PP, Kerlikowske K, Subak L, et al. Hormone replacement therapy and the risk of epithelial ovarian cancer: a meta analysis. Obstet Gynecol 1998; 92:472-479.
27. US preventive task force. Postmenopausal hormone replacement therapy for primary prevention of chronic conditions: recommendations and rationale. Ann Intern Med 2002;137:843-839.
28. Rich HA. Hormonal ethiology of epithelial ovarian cancer with a hypothesis concerning the role of androgens and progesteron. J Natl Canc Inst 1998;90:1774-1786.
29. Schildkraut JM, Thompson WD. Familiar ovarian cancer: a population based case-control study. Am J Epidemiology 1988;128:456-466.
30. Whittemore AS. Characteristics relating to ovarian cancer risk: implications for prevention and detection. Gynecol Oncol 1994;55:15-19.
31. Boyd J. Molecular genesis of hereditary ovarian cancer. Oncology 1998; 12:399-406.
32. Frank TS. Testing for hereditary risk of ovarian cancer. Cancer Control 1999; 6:327-334.

33. Rubin SC, Benjamin I, Behbakht K, et al. Clinical et pathological features of ovarian cancer in women with germ-line mutations of BRCA-1. *N Engl J Med* 1996;335:1413-1416.
34. Boyd J, Rubin Sc. Hereditary ovarian cancer: molecular genetics and clinical implications. *Gynecol Oncol* 1997;64:196-206.
35. Narod SA, Risch H, Moslehi R. Oral contraceptives and the risk of hereditary ovarian cancer. Hereditary Ovarian Cancer Clinical Study Group. *N Engl J Med* 1998;339:424-428.
36. Ćorušić A, Babić D, Šamija M, Šobat H. Ginekološka onkologija. Zagreb: Medicinska naklada, 2005;329-353.
37. Griffiths CT. Surgical resection of tumor bulk in the primary treatment of ovarian carcinoma. *Natl Cancr Inst Monogr* 1975;42:101-104.
38. Bristow RE, Tomacruz RS, Armstrong DK, Trimble ER, Montz FJ. Survival effect of maximal cytoreductive surgery for advanced ovarian carcinoma during platinum era: a meta-analysis. *J Clin Oncol* 2002; 20:1248-1259.
39. McGuire WP, Hoskins WJ, Brady MF, et al. Cyclophosphamide and cisplatin compared with paclitaxel and cisplatin in patients with stage III and stage IV ovarian cancer. *N Engl J Med* 1996;334:1-6.
40. Ozols RF, Bundy BN, Greer BE, et al. Phase III trial of carboplatin and paclitaxel compared with cisplatin and paclitaxel in patients with optimally resected stage III ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group Study. *J Clin Oncol* 2003;21:3194-3200.
41. The International Collaborative Ovarian Neoplasm (ICON) Group. Paclitaxel plus carboplatin versus standard chemotherapy with either single-agent carboplatin or cyclophosphamide, doxorubicin and cisplatin in women with ovarian cancer: ICON3 randomised trial. *Lancet* 2002;360:505-515.

42. Vasey PA, Jayson GC, Gordon A, et al. Phase III randomized trial of docetaxel-carboplatin versus paclitaxel-carboplatin as first line chemotherapy for ovarian carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2004;96:1682-1691
43. Bookman MA: Development chemotherapy and management of recurrent ovarian cancer. *J Clin Oncol* 2003;21:149-167.
44. The ICON and AGO Collaborators: Paclitaxel plus platinum-based chemotherapy versus conventional platinum-based chemotherapy in women with relapsed ovarian cancer: the ICON4/AGO-OVAR-2.2 trial. *Lancet* 2003;361:2099-2106.
45. Gordon AN, Fleagle JT, Guthrie D, et al. Recurrent Epithelial Ovarian Carcinoma: A Randomized Phase III Study of Pegylated Liposomal Doxorubicin Versus Topotecan. *J Clin Oncol* 2001;19:3312-33122.
46. Dembo AJ: Abdominopelvic Radiotherapy in Ovarian Cancer. A 10-Year Experience. *Cancer* 1985;55:2285–2290.
47. Reddy S, Lee MS, Yordan E, et al. Salvage Whole Abdomen Radiation Therapy: Its Role in Ovarian Cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1993;27:879-884.
48. Macbeth FR, Macdonald H, Williams CJ. Total abdominal and pelvic radiotherapy in the management of early stage ovarian carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1988;15:353-358.
49. Hruby G, Bull CA, Langlands AO, Gebiski V. WART revisited: the treatment of epithelial ovarian cancer by whole abdominal radiotherapy. *Australas Radiol* 1997;41(3):276–280.
50. Fyles AW, Dembo AJ, Bush RS, et al. Analysis of complications in patients treated with abdomino-pelvic radiation therapy for ovarian carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1992; 22:847-851.

51. Young RH, Walton LA, Ellenberg SS. Adjuvant therapy in Stage I and II epithelial ovarian cancer. Results of two prospective randomised trials. *N Engl J Med* 1990;332:1021.
52. Heintz APM, van Oosterom AT, Baptist J. The treatment of advanced ovarian carcinoma: Clinical variables associated with prognosis. *Gynecol Oncol* 1988;30:347-351.
53. Piver MS, Lele SB, Marchetti DL, Baker TR, Tsukada Y, Emrich LJ. The impact of aggressive debulking surgery and cisplatin-based chemotherapy on progression free survival in stage III-IV ovarian carcinoma. *J Clin Oncol* 1988;6:989-996.
54. Rubin SC, Lewis JJ. Second-look surgery in ovarian carcinoma. *Crit Rev Oncol Hematol* 1988; 8:75-79.
55. Friedlander ML. Prognostic factors in ovarian cancer. *Semin Onco* 1998;25:305-309.
56. Baak JP, Langle FA, Talerman A, Delemarre JF. The prognostic variability of ovarian tumour grading by different pathologists. *Gynecol Oncol* 1987;27:166-172.
57. Dembo AJ, Davy S, Stenwig AE, Berle EJ, Bush RS, Kjorstad K. Prognostic factors in patients with stage I ovarian cancer *Obstet Gynecol* 1990;75:263-269.
58. Kaern J, Trope CG, Kristensen GB, Tveit KM, Petterson EO. Evaluation of deoxyribonucleic acid ploidy and S-phase fraction as prognostic parameters in advanced epithelial ovarian carcinoma: a prospective study. *Am J Obstet Gynecol* 1994;170:479-484.
59. Trope C, Kaern J. DNA ploidy in epithelial ovarian cancer: a new independent prognostic factor? *Gynecol Oncol* 1994;53:1.

60. Bookman MA. Editorial factoring outcomes in ovarian cancer. *J Clin Oncol* 1996;14:325-341.
61. Disaia PJ, William T, Creasman. *Clinical gynecologic Oncology* 5th ed. St Louis: Mosby,1997:981-1057.
62. Griffioen AW, Molema G. Angiogenesis: Potential for pharmacologic intervention in the treatment of cancer, cardiovascular diseases, and chronic inflammation. *Pharmacological reviews* 2000;52:238-262.
63. Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nature medicine* 1995;1:27-31.
64. Folkman J. Tumor angiogenesis: Therapeutic implications. *N Engl J Med* 1971;285:1182-1186.
65. Folkman J. Clinical applications of research on angiogenesis. *N Engl J Med* 1995;333:1757-1763.
66. Folkman J. What is evidence that tumors are angiogenesis dependent. *J Natl Canc Inst* 1990;82:4-7.
67. Kerbel RS. Tumor angiogenesis: past, present and future. *Carcinogenesis* 2000;21:505-515.
68. Weidner N. Tumor angiogenesis: Review of current applications in tumor prognostication. *Seminars in Diagnostic Pathology* 1993;10:302-313.
69. Ellis LM, Fidler IJ. Angiogenesis and metastasis. *Eur J Cancer* 1996;32A:2451-2460.
70. Yoneda J, Kuniyasu H, Crispens M, Price J, Bucana C, Fidler I. Expression of angiogenesis-related genes and progression of human ovarian carcinoma in nude mice. *J Natl Canc Inst*, 1998;0:447-454.

71. Nakanishi Y, Kodama J, Yoshinouchi M. The expression of vascular endothelial growth factor and transforming growth factor beta associates with angiogenesis in epithelial ovarian cancer. *Int J Gynecol Pathol* 1997;16:256-262.
72. Fujimoto J, Ichigo S, Sakaguchi H, Hirose R, Tamaya T. Expression of platelet derived endothelial cell growth factor (PD-ECGF) and its mRNA in ovarian cancers. *Cancer Lett* 1998;126:83-88.
73. Yabushita H, Noguchi M, Obayashi Y. Angiostatin expression in ovarian cancer, *Oncol Report* 2003;10:1225-1230.
74. Hata K, Fujiwaki R, Nakayama K, Miyazaki K. Expression of endostatin gene in epithelial ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2001;7:2405-2409.
75. Franke FE, Von Georgi R, Zygmunt M, Munstedt K. Association between fibronectin expression and prognosis in ovarian carcinoma. *Anticancer Res* 2003;23:4261-4267.
76. Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, Dvorak AM. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor. Microvascular hyperpermeability and angiogenesis. *Am J Pathol* 1995;146:1029-1038.
77. Weidner N. Intratumor microvessel density as a prognostic factor in cancer. *Am J Pathol* 1995;147:9-19.
78. Hasan J, Byers R, Jayson GC. Intra-tumoral microvessel density in human solid tumors. *Br J Cancer* 2002;86:1566-1577.
79. Vermeulen PB, Gasparini G, Fox SB, Toi I, Martin L, McCulloch P, et al. Quantification of angiogenesis in solid human tumours: an international consensus on the methodology and criteria evaluation. *Eur J Cancer* 1996;32A:2474-2484.

80. Fitzibbons PL, Page DL, Weaver D, Thor AD, Allred DC, Clark GM, et al. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologist Consensus Statement 1999. Arch Pathol Lab Med 2000;124:966-978.
81. Fox SB, Harris AL. Histological quantification of tumour angiogenesis, 2004, APMIS 112:413-430.
82. Pezzella F, Pastorino U, Tagliabue E, Andreaola S, Sozzi G, Gasparini G. Non-small lung carcinoma tumour growth without morphological evidence of neoangiogenesis. Am J Pathol 1996;151:1417-1423.
83. Pezzella F. Evidence for novel non-angiogenic pathway in breast cancer metastasis. Breast Cancer Progression Work Party. Lancet 2000;355:1787-1788.
84. Asahara T, Masuda H, Takahashi T, Kalka C, Pastore C, Silver M. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularisation. Circ Res 1999;85:221-228.
85. Fox SB, Gatter K, Bicknell R, Going J, Stanton P, Cooke T, Harris A. Relationship of endothelial cell proliferation to tumour vascularity in human breast cancer. Cancer Res 1993;53:9161-9163.
86. Kakolyris S, Fox SB, Koukourakis M, Giatromanolaki A, Brown N, Leek RD, et al. Relationship of vascular maturation in breast cancer blood vessels to vascular density and metastasis, assessed by expression of novel basement membrane component, LH39. Br J Cancer 2000;82:844-851.
87. Sood AK, Seftor EA, Fletcher MS, Gardner LM, Heidger PM, Buller RE, Seftor RE, Hendrix MJ. Molecular determinant of ovarian cancer plasticity. Am J Pathol 2001;158:1279-1288.

88. Folberg R, Hendrix MJ, Maniotis AJ. Vasculogenic mimicry and tumor angiogenesis. *Am J Pathol* 2000;156:361-381.
89. Ingeholm P. Quantification of microvessel density of breast carcinoma: An assessment of the inter-and intraobserver variation. *The Breast* 1999;8:251-256.
90. Eberhardt E. Heterogeneity of angiogenesis and blood vessel maturation in human tumors: Implication for antiangiogenic tumor therapies. *Cancer Res* 2001;60:1388-1393.
91. Rasila KK, Burger RA, Smith H, Lee FC, Verschraegen C. Angiogenesis in gynecological oncology - mechanism of tumor progression and therapeutics targets. *Int Gynecol Cancer* 2005;15:710-726.
92. Benda AJ, Zaino R. Histologic classification of tumors of the ovary. *Pathology Manual: Gynecologic Oncology* 1999.
93. Serov SF, Scully RE, Sobin LH. International histological classification of tumours No9. Hystological typing of ovarian tumors. Geneva: World Health Organisation 1973;17-54.
94. Hedley DW, Friedlander ML, Taylor IW, Rugg CA, Musgrove EA. Method for analysis of cellular DNA content of parafin embedded pathological material using flow-citometry. *J Histochem Cytochem* 1983;31:1333-1335.
95. Vindelov LL, Christensen IJ, Nissen NI. A detergent trypsin method for the preparation of nuclei for flow-cytometric DNA analysis. *Cytometry*: 1983;3:323-327.
96. Hochster HS. Bevacizumab in combination with chemotherapy: first-line treatment of patients with metastatic colorectal cancer. *Semin Oncol* 2006;33(5 Suppl10):S8-14.

97. Arsene D, Galais MP, Bouhier-Leporrier K, Reimund JM. Recent developments in colorectal cancer treatment by monoclonal antibodies. *Expert Opin Biol Ther* 2006;6(11):1175-1192.
98. Wang JM, Kumar S, Pye D, Haboubi N, Al-Nakib L. Breast carcinoma: comparative study of tumor vasculature using two endothelial-cell markers. *J Natl Canc Inst* 1994;86:386-388.
99. Wang JM, Kumar S, Pye D, van Agthoven AJ, Krupinski J, Hunter RD. A monoclonal antibody detects heterogeneity in vascular endothelium of tumors and normal tissues. *Int J Cancer* 1993;54:363-370.
100. Jindal SK, Ishii E, Letarte M, Vera S, Teerds KJ, Dorrington JH. Regulation of transforming growth factor alpha gene expression in an ovarian surface epithelial cell line derived from a human carcinoma. *Biol Reprod* 1995;52(5):1027-1037.
101. Saad RS, Jasnosz KM, Tung MY, Silverman JF. Endoglin (CD105) expression in endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Pathol* 2003 Jul;22(3):248-253.
102. Ozalp S, Yalcin OT, Acikalin M, Tanir HM, Oner U, Akkoyunlu A. Microvessel density (MVD) as a prognosticator in endometria carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol* 2003;24(3-4):305-8.
103. Erdem O, Taskiran C, Onan MA, Erdem M, Guner H, Ataoglu O. CD105 expression is an independent predictor of survival in patients with endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 2006 Dec;103(3):1007-1011.
104. Salvesen HB, Gulluoglu MG, Stefansson I, Akslen LA. Significance of CD 105 expression for tumour angiogenesis and prognosis in endometrial carcinomas. *APMIS*. 2003 Nov;111(11):1011-1018.
105. Lešin J. Doktorska disertacija. Značenje angiogeneze i tipa HPV-a za terapiju i prognozu invazivnog karcinoma vrata maternice. Medicinski fakultet, Zagreb, 2006.

106. Akaji K, Ikeda Y, Sumijoski Y, Kimura Y, Kiroshita J, Miyazaki M, Abe T. Estimation of angiogenesis with anti CD-105 immunostaining in the process of colorectal cancer development. *Surgery* 2002;131:S109-113.
107. Romani AA, Borghetti AF, Del Rio P, Sianesi M, Soliani P. The risk of developing metastatic disease in colorectal cancer is related to CD105-positive vessel count. *J Surg Oncol*. 2006 May 1;93(6):435-436.
108. Minhajat R, Mori D, Yamasaki F, Sugita Y, Satoh T, Tokunaga O. Endoglin (CD105) expression in angiogenesis of colon cancer: analysis using tissue microarrays and comparison with other endothelial markers. *Virchows Arch* 2006 Feb;448(2):127-134.
109. Ding S, Li C, Lin S, Yang Y, Liu D, Han Y, Zhang Y, Li L, Zhou L, Kumar S. Comparative evaluation of microvessel density determined by CD34 or CD105 in benign and malignant gastric lesions. *Hum Pathol* 2006 Jul;37(7):861-866.
110. Martone T, Rosso P, Albera R, Migliaretti G, Fraire F, Pignataro L, Pruneri G, Bellone G, Cortesina G. Prognostic relevance of CD105+ microvessel density in HNSCC patient outcome. *Oral Oncol* 2005 Feb;41(2):147-155.
111. Yao Y, Pan Y, Chen J, Sun X, Qiu Y, Ding Y. Endoglin (CD105) expression in angiogenesis of primary hepatocellular carcinomas: analysis using tissue microarrays and comparisons with CD34 and VEGF. *Ann Clin Lab Sci* 2007 Winter;37(1):39-48.
112. Marioni G, Ottaviano G, Giacomelli L, Staffieri C, Casarotti-Todeschini S, Bonandini E, Staffieri A, Blandamura S. CD105-assessed microvessel density is associated with malignancy recurrence in laryngeal squamous cell carcinoma. *Eur J Surg Oncol* 2006 Dec;32(10):1149-1153.

113. Sandlund J, Hedberg Y, Bergh A, Grankvist K, Ljungberg B, Rasmuson T. Endoglin (CD105) expression in human renal cell carcinoma. *BJU Int* 2006 Apr;97(4):706-710.
114. Yao Y, Kubota T, Takeuchi H, Sato K. Prognostic significance of microvessel density determined by an anti-CD105/endoglin monoclonal antibody in astrocytic tumors: comparison with an anti-CD31 monoclonal antibody. *Neuropathology*. 2005 Sep;25(3):201-206.
115. Behrem S, Zarkovic K, Eskinja N, Jonjic N. Endoglin is a better marker than CD31 in evaluation of angiogenesis in glioblastoma. *Croat Med J* 2005 Jun;46(3):417-422.
116. Hayrabyan S, Kyurkchiev S, Kehayov I. Endoglin (cd105) and S100A13 as markers of active angiogenesis in endometriosis. *Reprod Biol* 2005 Mar;5(1):51-67.
117. Mineo TC, Ambrogi V, Baldi A, Rabitti C, Bollero P, Vincenzi B, Tonini G. Prognostic impact of VEGF, CD31, CD34, and CD105 expression and tumour vessel invasion after radical surgery for IB-IIA non-small cell lung cancer. *J Clin Pathol* 2004 Jun;57(6):591-597.
118. Dales JP, Garcia S, Andrac L, Carpentier S, Ramuz O, Lavaut MN, Allasia C, Bonnier P, Charpin C. Prognostic significance of angiogenesis evaluated by CD105 expression compared to CD31 in 905 breast carcinomas: correlation with long-term patient outcome. *Int J Oncol* 2004 May;24(5):1197-204.
119. Wikström P, Lissbrant IF, Stattin P, Egevad L, Bergh A. Endoglin (CD105) is expressed on immature blood vessels and is a marker for survival in prostate cancer. *Prostate*. 2002 Jun 1;51(4):268-75.
120. Tanaka F, Otake Y, Yanagihara K, Kawano Y, Miyahara R, Li M, et al. Evaluation of angiogenesis in non-small cell lung cancer: Comparison

between anti CD34 antibody and anti-CD105 antibody. Clin Cancer Res 2001;7:3410-3415.

121. Kumar S, Ghellal A, Li C, Byrne G, Haboubi N, Wang JM, Bundred N. Breast carcinoma: vascular density determined using CD105 antibody correlates with tumor prognosis. Cancer Res 1999;59(4):856-861.
122. Hollingsworth HC, Kohn EC, Steinberg SM, Rothenberg ML, Merino MJ. Tumor angiogenesis in advanced stage ovarian carcinoma. Am J Pathol 1995;147,1:33-41.
123. Nakayama K, Kanzaki A, Takebayashi Y, Toi M, Bando H, Nabei T, Miyazaki K, Fukumoto M. Different features of angiogenesis between ovarian and breast carcinoma. Cancer Lett 2001;170:161-167.
124. Abulafia O, Triest EW, Scherer DM. Angiogenesis in malignancies of female genital tract. Gynecol Oncol 1999;72:220-231.
125. Heimbarg S, Oehler MK, Kristen P, Papadopoulos T, Caffier H. The endothelial marker CD 34 in assesment of tumour vascularisation in ovarian cancer. Anticancer Res 1997;17:3149-3152.
126. Van Diest PJ, Zevering JP, Zevering LC, Baak JPA. Prognostic value of microvessel quantification in cisplatin treated Figo 3 and 4 ovarian cancer patients. Pathol Res Pract 1995;191:25-30.
127. Gasparini G, Bonoldi E, Viale G, Verderio P, Boracchi P, Panizzoni GA, Radaqelli U, DiBacco A, Guglielmi RB, Bevilacqua P. Prognostic and predictive value of tumour angiogenesis in ovarian carcinomas. Int J Cancer 1996;69:205-211.
128. Kohn EC. Angiogenesis in ovarian cancer. Cancer 1997;80:2219-2221.

129. Abulafia O, Triest WE, Sherer DM. Angiogenesis in primary and metastatic epithelial ovarian carcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 1997;177:541-547.
130. Emoto M, Iwasaki H, Mimura K, Kawarabayashi T, Kikuchi M. Differences in the angiogenesis of benign ovarian tumors, demonstrated by analyses of color doppler ultrasound, immunohistochemistry and microvessel density. *Cancer* 1997;80:899-907.
131. Schoell WMJ, Pieber D, Reich O, Lahousen M, Janicek M, Guecer F, Winter R. Tumor angiogenesis as a prognostic factor in ovarian carcinoma. *Cancer* 1997;5:587-591.
132. Abulafia O, Ruiz Je, Holcomb K, Dimaio TM, Lee YC, Sherer DM. Angiogenesis in early-invasive and low malignant potential epithelial ovarian carcinoma. *Obstet Gynecol* 2000;95:548-552.
133. Alvarez AA, Krigman HR, Whitaker RS, Dodge RK, Rodriguez GC. The prognostic significance of angiogenesis in epithelial ovarian carcinoma. *Clin Cancer Res* 1999;5:587-591.
134. Obermair A, Wasicky R, Kaider A, Preyer O, Losch A, Leodolter S, Kolbl H. Prognostic significance of tumor angiogenesis in epithelial ovarian cancer. *Cancer Lett* 1999;138:175-182.
135. Tewari KS, Kyshtoobayeva AS, Mehta RS, Burger RA, DiSaia PJ, Fruehauf JP. Biomarker conservation in primary and metastatic epithelial ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol* 2000;78:130-136.
136. Ogawa S, Kaku T, Kobayashi H, Hirakawa T, Ohishi Y, Kinukawa N, Nakano H. Prognostic significance of microvessel density, vascular cuffing and vascular endothelial growth factor expression in ovarian carcinoma: a special review for clear cell adenocarcinoma. *Cancer Lett* 2002;176:111-118.

137. Brustman H. The relevance of angiogenesis in benign and malignant epithelial tumors of the ovary: A quantitative histologic study. *Gynecol Oncol* 1997;67:20-26.
138. Orre M, Lotfi-Miri M, Mamers P, Rogers PA. Increased microvessel density in mucinous compared with malignant serous and benign tumours of the ovary. *Brit J Cancer* 1998;77(12):2204-2209.
139. Goodheart MJ, Vasef MA, Sood AK, Davis CS, Buller RE. Ovarian cancer p53 mutation is associated with tumor microvessel density. *Gynecol Oncol* 2002;1:85-90.
140. Taskiran C, Erdem O, Onan A, Arysoy O, Acar A, Vural C, Erdem M, Ataoglu O, Guner H. The prognostic value of endoglin (CD 105) expression in ovarian carcinoma. *Int J Gynecol Cancer* 2006;16:1789-1793.
141. Takahashi N, Haba A, Matsuno F, Seon BK. Antiangiogenic therapy of established tumours in human skin/severe combined immunodeficiency mouse chimeras by anti-endoglin (CD-105) monoclonal antibodies, and synergy between anti-endoglin antibody and cyclophosphamide. *Cancer Res* 2001;61:7846-7854.
142. Kaern J, Trope CG, Kristensen GB, Tveit KM, Petterson EO. Evaluation of deoxyribonucleic acid ploidy and S-phase fraction as prognostic parameters in advanced epithelial ovarian carcinoma: a prospective study. *Am J Obstet Gynecol* 1994;170:479.
143. Pekka J, Heikki J, Juhani M, Pentti K. Influence of cellular DNA content on survival in ovarian carcinoma. *Obst Gynecol* 1989;74:2;200-206.
144. Ozalp S, Yalcin OT, Gulbas Z, Tanir HM, Minsin T. Effect of cellular DNA content on the prognosis of epithelial ovarian cancers. *Gynecol Obstet Invest* 2001;52:93-97.

145. Gajewski WH, Fuller AF, Pastel-Ley C, Flotte TJ, Bell DA. Prognostic significance of DNA content in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 1994;53:5.
146. But I, Gorišek B. DNA-ploidy as an independent prognostic factor in patients with serous ovarian carcinoma. *Int J Gynaecol Obstet* 2000;71(3):259-262.
147. Ozalp S, Hamaguchi IC, Nishimuro S, Miyoshi T. Flow cytometric analysis of DNA cellular content in ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 1990;37:219-223.
148. Bristow RE, Tomacruz RS, Armstrong DK, Trimble EL, Montz FJ. Survival effect of maximal cytoreductive surgery for advanced ovarian carcinoma during platinum era: a meta-analysis. *J Clin Oncol* 2002;20:1248-1259.
149. Calhoun EA, Welshman EE, Chang CH, Lurain JR, Fishman DA, Hunt TL, Cella D. Psychometric evaluation of the Functional Assessment of Cancer Therapy/GOG group. *Int J Gynecol Cancer* 2003;13:741-748.
150. Van der Burg ME. Advanced ovarian cancer. *Curr Treat Options Oncol* 2001;2:109-118.
151. Eisenkop SM, Friedman RL, Wang HJ. Complete cytoreductive surgery is feasible and maximizes survival in patients with advanced epithelial ovarian cancer: a prospective study. *Gynecol Oncol* 1998;69(2):103-108.
152. Akahira JI, Yoshikawa H, Shimizu Y, Tsunematsu R, Hirakawa T. Prognostic factors of stage IV epithelial ovarian cancer: a multicenter retrospective study. *Gynecol Oncol* 2001;81:398-403.
153. Vergote I. Role of surgery in ovarian cancer: an update. *Acta Chir Belg* 2004;104:246-256.

154. Massi D, Susisni T, Savino L, Boddi V, Amunni G, Colafranceschi M. Epithelial ovarian tumors in the reproductive age group: age is not an independent prognostic factor. *Cancer* 1996;15;77:1131-1136.
155. Alleti GD, Dowdy SC, Gostout BS, Jones MB, Stanhope CR, Wilson TO, Podratz KC. Aggressive surgical effort and improved survival in advanced stage ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 2006;107:77-85.
156. Hoskins WJ, McGuire WP, Brady MF, Homesley HD, Creasman WT, Berman M, Ball H. The effect of diameter of largest residual disease on survival after primary cytoreductive surgery in patients with suboptimal residual epithelial ovarian carcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 170:974-979; discussion 979-980.
157. International Federation of Gynecology and Obstetrics Report, 1991.p.248.
158. Heintz A, Odicino F, Maisonneuve P. Carcinoma of ovary. *J Epidem Biostat* 2001;6:107.
159. Warwick S, Earl H, Luessley D, Redman C, Chan KK. Long-term follow-up of patients with advanced ovarian cancer treated in randomised clinical trials. *Br J Cancer* 1995;72:1513-1517.
160. Omura GA, Brady MF, Homesley HD, Yordan E, Major F, Buchsbaum HJ, Park RC. Long-term follow-up and prognostic factor analysis in advanced ovarian carcinoma: The Gynecologic Oncology Group Experience. *J Clin Oncol* 1991; 9:1138-1150.
161. Strnad M, Znaor A. Preživljenje oboljelih od raka u Hrvatskoj od 1988-1998. *Registar za rak Hrvatske Zavoda za javno Zdravstvo, Zagreb* 2006;62-63.
162. Yancik R, Ries LG, Yates YW. Ovarian cancer in elderly: An analysis of surveillance. *Am J Obstet Gynecol* 1986;154:639.

10. ŽIVOTOPIS

Rođen sam 20. siječnja, 1965. godine u Zadru. Osnovnu i srednju pedagošku školu pohađao sam u Benkovcu.

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisao sam 1984. godine, a diplomirao 1990. godine. Obavezan pripravnički liječnički staž proveo sam u Domu zdravlja «Trnje» u Zagrebu od 1990. do 1991. godine. Državni ispit položio sam 1992. godine.

U razdoblju od 1991. do 1994. godine sudjelovao sam u Domovinskom ratu u sastavu Oružanih snaga RH kao djelatni bojnik medicinske struke Hrvatske vojske.

Specijalizaciju iz ginekologije i opstetricije započeo sam 1994. godine u Klinici za ženske bolesti i porode, Kliničkog bolničkog centra Zagreb. Specijalistički ispit položio sam 1998. godine. nakon čega sam godinu dana radio u Zavodu za ginekološku kirurgiju, Klinike za ženske bolesti i porode, Kliničkog bolničkog centra Zagreb. Od kraja 1999. godine do početka 2002. godine bio sam zaposlen u "Poliklinici IVF" gdje sam se prvenstveno bavio područjem humane reprodukcije i ginekološke endokrinologije. Od siječnja, 2002. godine zaposlen sam u Klinici za ženske bolesti i porode u Zavodu za ginekološku onkologiju gdje se bavim radikalnom kirurgijom ginekoloških karcinoma pod vodstvom doc. dr. sc. Ante Ćorušića.

Sudjelovao sam, aktivno i pasivno, na velikom broju domaćih i međunarodnih kongresa.

Završio sam tečajeve iz trajne edukacije:

- *Poslijediplomski tečaj I kategorije iz humane reprodukcije i ginekološke endokrinologije*, 2001. godine u Zagrebu
- *9th International basic and advanced course on gynecological endoscopic surgery*, 2002 godine u Ljubljani

- *The second European-American intensive course in clinical and forensic genetics, 2001 godine u Dubrovniku*
- *ASCHRE course in reproductive endocrinology, 2001 godine u Ateni*
- *Poslijediplomski tečaj I kategorije iz ginekološke onkologije, 2004. i 2006. godine. u Zagrebu*

Uspješno sam završio program edukacije uže specijalizacije iz Ginekološke onkologije te položio subspecijalistički ispit u studenom, 2007. godine.

Tajnik sam Hrvatskog društva za ginekološku endokrinologiju i humanu reprodukciju. Voditelj sam Udruge za borbu protiv ginekološkog raka Zagrebačke županije.

Unatrag petnaest godina bavim se humanitarnim radom kao član Uprave Katoličke medicinske fondacije (Catholic Medical Foundation - CMF) čije je sjedište u SAD-u. Osim pomoći u medicinskoj opremi i lijekovima fondacija pomaže u liječenju oboljelih čija skrb nije moguća u RH te edukaciji srednjeg i visokog medicinskog kadra kako u zemlji uz pomoć stranih eksperata tako i u inozemstvu.

Do sada sam objavio više znanstvenih i stručnih publikacija od kojih se 3 citiraju u Current Contentsu, a sadržajem su usko vezani uz ginekološku onkologiju kao i tema doktorske disertacije.

Aktivno sam sudjelovao na 15 domaćih i 7 međunarodnih kongresa.

Koautor sam poglavlja u udžbeniku Ginekološka onkologija A. Ćorušića i suradnika, te poglavlja u knjizi Kontracepcija i reprodukcijsko zdravlje V. Šimunića.

Aktivno vladam engleskim jezikom.

11. POPIS PRILOGA

11.1. Popis grafikona

- Grafikon 1. Učestalost karcinoma jajnika prema dobi
- Grafikon 2. Učestalost karcinoma jajnika u SAD (1975-2001.)
- Grafikon 3. Preživljenje oboljelih od karcinoma jajnika u SAD (1980-2000.)
- Grafikon 4. Raspodjela oboljelih od karcinoma jajnika prema dobi u RH (1988- 1998)
- Grafikon 5. Učestalost karcinoma jajnika na 100000 žena prema dobnim skupinama u RH 2004. godine
- Grafikon 6. Relativno preživljenje od karcinoma jajnika u RH u razdobljima od 1988-1993. i 1994-1998. godine
- Grafikon 7. Učestalost karcinoma u žena u RH
- Grafikon 8. Preživljenje bolesnica prema kliničko-patološkim stadijima bolesti
- Grafikon 9. Preživljenje u odnosu na veličinu ostatnog tumora
- Grafikon 10. Raspodjela ispitanica prema dobi
- Grafikon 11. Raspodjela preživljenja bolesnica u odnosu na kliničko patološke stadije bolesti
- Grafikon 12. Raspodjela preživljenja bolesnica s ranim stadijem karcinoma jajnika u odnosu na bolesnice s uznapredovalim karcinomom jajnika
- Grafikon 13. Raspodjela preživljenja bolesnica u odnosu na stupnju zrelosti tumora
- Grafikon 14. Raspodjela preživljenja bolesnica obzirom na veličinu ostatnog tumora
- Grafikon 15. Raspodjela preživljenja bolesnica u odnosu na prijelomnu vrijednost MVD-a
- Grafikon 16. Raspodjela preživljenja bolesnica u odnosu na ploidnost tumora

Grafikon 17. Raspodjela preživljenja bolesnica u ovisnosti o uspješnosti operacijskog zahvata

Grafikon 18. Raspodjela preživljenja bolesnica u odnosu na veličinu tumora

Grafikon 19. Raspodjela preživljenja bolesnica prema obostranosti karcinoma jajnika

Grafikon 20. Preživljenje bolesnica u ovisnosti na vrijednosti MVD-a

Grafikon 21. Srednje vrijednosti MVD-a u odnosu na klinički stadij bolesti

11.2. Popis tablica

- Tablica 1. Epitelno-stromalne novotvorine pokrovnog epitela jajnika
- Tablica 2. Klasifikacija epitelnih tumora jajnika prema Međunarodnoj organizaciji ginekologa i opstetričara (FIGO)
- Tablica 3. Geni povezani s nasljednim karcinomom jajnika
- Tablica 4. Raspodjela bolesnica prema stadiju bolesti
- Tablica 5. Istraživani aktivatori i inhibitori angiogeneze na ginekološkim tumorima
- Tablica 6. Aktivatori i inhibitori angiogeneze u istraživanju karcinoma jajnika
- Tablica 7. Specifična protutijela za endotelne stanice
- Tablica 8. Klinički, terapijski i patohistološki pokazatelji
- Tablica 9. Prognostički čimbenici
- Tablica 10. Raspodjela bolesnica sa seroznim karcinomom jajnika prema kliničko-patološkim prognostičkim čimbenicima
- Tablica 11. Raspodjela bolesnica sa seroznim karcinomom jajnika prema ostalim epidemiološkim podacima
- Tablica 12. Raspodjela bolesnica s karcinomom jajnika u odnosu na vrstu operacijskog zahvata
- Tablica 13. Utjecaj prognostičkih čimbenika na preživljenje bolesnica s karcinomom jajnika - univarijatna analiza
- Tablica 14. Konačni ishod liječenja u odnosu na prognostičke čimbenike
- Tablica 15. Preživljenje bolesnica u mjesecima ovisno o čimbenicima rizika
- Tablica 16. Srednja vrijednost MVD-a u odnosu na ostale čimbenike
- Tablica 17. Vrijednosti MVD-a u odnosu na klinički stadij bolesti (LSD test)
- Tablica 18. Vrijednosti MVD-a u odnosu na gradus

- Tablica 19. Odnos ploidnosti tumora prema ostalim prognostičkim čimbenicima
- Tablica 20. Ploidnost tumora u odnosu na stupanj zrelosti tumora
- Tablica 21. Ploidnost tumora u odnosu na klinički stadij bolesti
- Tablica 22. Prikaz prediktivnih čimbenika i njihove neovisne značajnosti za preživljenje bolesnica sa seroznim karcinomom jajnika (multivarijatna analiza)
- Tablica 23. Istraživanja angiogeneze tumora panendotelijalnim markerima

11.3. Popis slika

- Slika 1. Histološki izgled seroznog karcinoma jajnika
- Slika 2. Obostrani serozni karcinom jajnika IB2 kliničko-patološkog stadija bolesti
- Slika 3. Uznapredovali serozni karcinom jajnika s obilnim ascitesom neposredno prije operacijskog zahvata
- Slika 4. Klasifikacija zloćudnih tumora jajnika prema FIGO - slikovni prikaz
- Slika 5. Uznapredovali serozni karcinom jajnika kliničko-patološkog stadija IIIc
- Slika 6. Serozni karcinom lijevog jajnika s metastazom u srednjoj trećini rodnice
- Slika 7. Radikalna operacija uznapredovalog seroznog karcinoma jajnika IV kirurško-patološkog stadija
- Slika 8. Supraradikalni pristup u kirurškom liječenju karcinoma jajnika s resekcijom rektuma
- Slika 9. Histološki prikaz arteriole, venule i kapilare
- Slika 10. Tumorska angiogeneza stimulirana parakrinim faktorima
- Slika 11. Novi mehanizam tumorske angiogeneze iz prekursora endotelnih stanica (EOC)
- Slika 12. Krvne žile označene s anti CD-105 na preparatu pod povećanjima 65 x i 250 x

**Intraoperacijske fotografije (Slika 2-9) su originalne fotografije bolesnica oboljelih od seroznog karcinoma jajnika, liječenih u Zavodu za ginekološku onkologiju Klinike za ženske bolesti i porode.*