

**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
MEDICINSKI FAKULTET**

Nataša Lisica-Šikić

**POVEZANOST IZRAŽENOSTI ANTIGENA RAKA I TESTISA  
(CTA) I UČINKOVITOSTI PRVOLINIJSKE KEMOTERAPIJE  
TEMELJENE NA PLATINI KOD UZNAPREDOVALOG  
SEROZNOG KARCINOMA JAJNIKA**

**Doktorska disertacija**

**Split, 2024.**

Rad je izrađen na Odjelu za patologiju i citologiju Opće bolnice Zadar, Zavodu za patologiju, sudsku medicinu i citologiju te Klinici za onkologiju i radioterapiju Kliničkog bolničkog centra Split

Mentorica: izv. prof. dr. sc. prim. Branka Petrić Miše, dr.med.

## ZAHVALA

Najveću zahvalnost dugujem mojoj mentorici prof. dr. sc. Branki Petrić Miše na ukazanom povjerenju, nesebičnoj pomoći, strpljenju i razumijevanju tijekom izrade doktorskog rada.

Zahvalu želim uputiti prof. dr. sc. Snježani Tomić na stručnom i znanstvenom usmjeravanju u odabiru teme doktorskog rada.

Mojoj dragoj obitelji i prijateljima zahvaljujem na ljubavi, bezuvjetnoj podršci i neizmjernej vjeri u moj rad.

Ovaj rad ne bi bilo moguće privesti kraju bez pomoći mojih dragih Rite i Charbela.

## SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
1.1. Epidemiologija raka jajnika.....	2
1.2. Rizični čimbenici za rak jajnika .....	5
1.3. Patohistološke karakteristike tumora jajnika .....	5
1.3.1. Podjela tumora jajnika.....	5
1.3.2. Makroskopski izgled HGSOE.....	8
1.3.3. Mikroskopski izgled HGSOE .....	8
1.3.4. Imunohistokemijska analiza HGSOE.....	10
1.3.5. Molekularne genske promjene u stanicama HGSOE.....	11
1.3.6. Diferencijalna dijagnoza HGSOE .....	11
1.4. Simptomi raka jajnika.....	11
1.5. Dijagnostika raka jajnika .....	12
1.6. Stadij bolesti .....	12
1.7. Liječenje raka jajnika.....	14
1.8. Antigeni raka i testisa (CTA).....	15
1.8.1. Melanoma antigen gen A (MAGE-A).....	16
1.8.2. New York esophageal squamous cell carcinoma-1 (NY-ESO-1).....	16
<b>2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA</b> .....	<b>17</b>
2.1. Primarni ciljevi .....	18
2.2. Sekundarni ciljevi .....	18
<b>3. HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA</b> .....	<b>19</b>
<b>4. METODE ISTRAŽIVANJA</b> .....	<b>21</b>
4.1. Ispitanice.....	22
4.2. Postupci .....	22
4.2.1. Odgovor na kemoterapiju.....	23
4.2.2. Kemoosjetljivost na spojeve platine .....	23
4.2.3. Preživljenje do napredovanja bolesti (PFS) i ukupno preživljenje (OS) .....	24
4.2.4. Ostalna bolest nakon kirurškog liječenja.....	24
4.3. Imunohistokemijska analiza .....	24
4.4. Statistički postupci.....	25

<b>5. REZULTATI</b> .....	<b>26</b>
5.1. Kliničko-patološka obilježja ispitanica .....	27
5.2. Imunohistokemijska analiza s CTA.....	28
5.3. Odgovor na liječenje kemoterapijom .....	31
5.4. Povezanost izražaja CTA s odgovorom na kemoterapiju.....	32
5.5. Osjetljivost na kemoterapiju temeljenu na platini .....	35
5.6. Analize preživljenja .....	39
5.6.1. <i>Preživljenje do progresije bolesti (PFS)</i> .....	39
5.6.2. <i>Ukupno preživljenje</i> .....	42
<b>6. RASPRAVA</b> .....	<b>47</b>
<b>7. ZAKLJUČCI</b> .....	<b>51</b>
<b>8. SAŽETAK</b> .....	<b>53</b>
<b>9. SUMMARY</b> .....	<b>55</b>
<b>10. LITERATURA</b> .....	<b>58</b>
<b>11. ŽIVOTOPIS</b> .....	<b>70</b>

## POPIS SKRAĆENICA

BRCA1	gen karcinoma dojke 1 (engl. <i>breast cancer gene 1</i> )
BRCA2	gen karcinoma dojke 2 (engl. <i>breast cancer gene 2</i> )
CA 125	karcinomski antigen 125 (engl. <i>cancer antigen 125</i> )
CBR	stopa kliničke dobiti liječenja (engl. <i>clinical benefit rate</i> )
CR	potpuni odgovor na liječenje (engl. <i>complete response</i> )
CSC	tumorske matične stanice (engl. <i>cancer stem cells</i> )
CTA	antigeni raka i testisa (engl. <i>Cancer/Testis Antigens</i> )
DNK	deoksiribonukleinska kiselina
ECOG	bodovna ljestvica za procjenu općeg stanja bolesnika (engl. <i>Eastern Cooperative Oncology Group</i> )
ER	estrogenski receptori
EMT	epitelno-mezenhimalna transformacija (engl. <i>epithelial-mesenchymal transition</i> )
FIGO	međunarodno udruženje ginekologa i opstetričara (franc. <i>Federation Internationale de Gynecologie et d'Obstetrique</i> )
HIPEC	hipertermijska intraperitonealna kemoterapija (engl. <i>hyperthermic intraperitoneal chemotherapy</i> )
IARC	SZO Međunarodna agencija za istraživanje raka (engl. <i>WHO International Agency for Research on Cancer</i> )
IQR	engl. <i>interquartile range</i>
MAGE	klon humanog tumorskog antigena, antigen povezan s melanomom (engl. <i>Melanoma-associated antigen</i> )
MSCT	mnogoslojna kompjuterizirana tomografija (engl. <i>multislides computed tomography</i> )

NY-ESO-1	New York Esophageal Squamous Cell Carcinoma-1
ORR	stopa objektivnog odgovora na liječenje (engl. <i>objective response rate</i> )
OS	ukupno preživljenje (engl. <i>overall survival</i> )
PARP	engl. <i>poly (ADP-ribose) polymerase</i>
PD	napredovanje (progresija) bolesti (engl. <i>progression of disease</i> )
PFI	vremensko razdoblje bez spojeva platine (engl. <i>platina-free interval</i> )
PFS	preživljenje do napredovanja (progresije) bolesti (engl. <i>progression free survival</i> )
PI3K/AKT	fosfatidil inozitol 3 kinaza i protein kinaza B (engl. <i>phosphatidylinositol-3-kinase/serine-threonine kinase and AKT – protein kinase B</i> )
PR	djelomični odgovor na liječenje (engl. <i>partial response</i> )
PgR	progesteronski receptori
RECIST	radiološki kriteriji za procjenu razine odgovora solidnih tumora (engl. <i>Response Evaluation Criteria in Solid Tumors</i> )
SD	stabilna bolest (engl. <i>stable disease</i> )
TC	paklitaksel/karboplatin (engl. <i>taxanes/carboplatin</i> )
WHO	Svjetska zdravstvena organizacija (engl. <i>World Health Organization</i> )
vs	naspram, nasuprot (engl. <i>versus</i> )

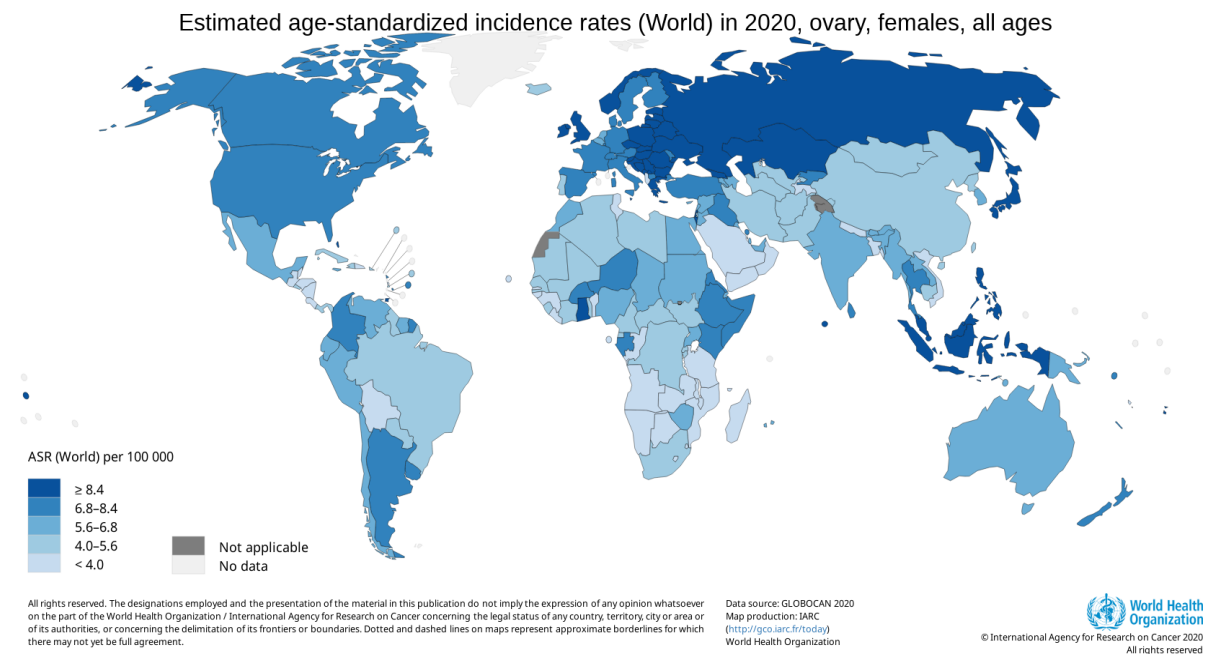
## **1. UVOD**



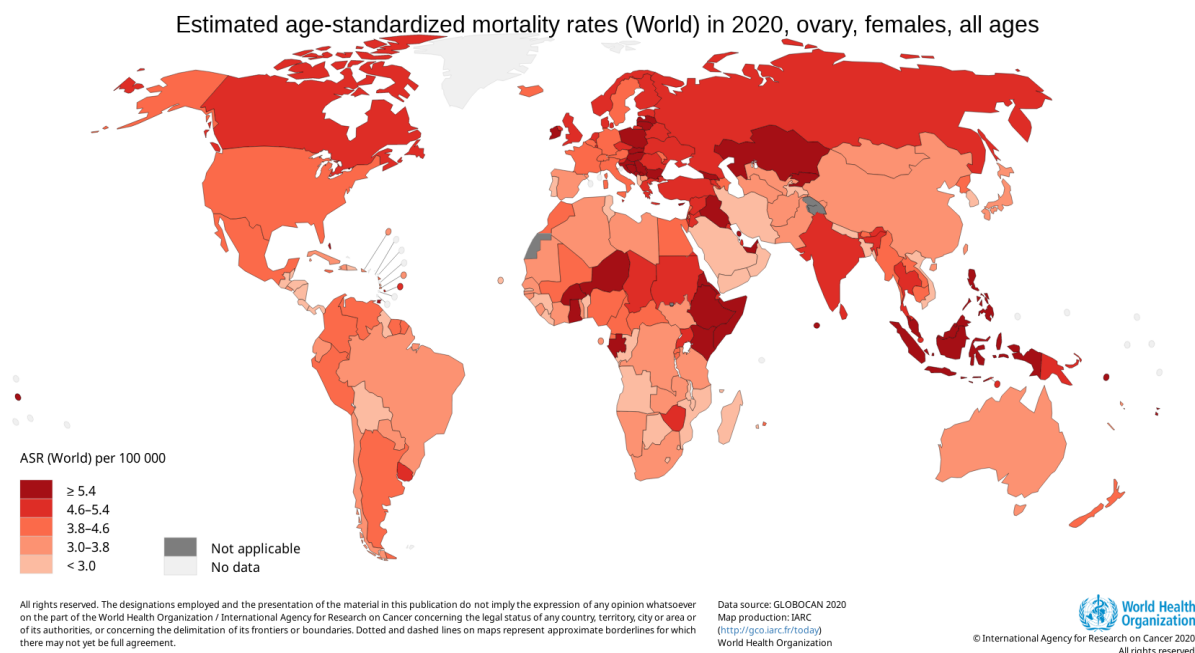
## 1.1. Epidemiologija raka jajnika

Rak jajnika je najsmrtonosniji ginekološki zloćudni tumor. Često se dijagnosticira u uznapređenoj fazi bolesti pa je petogodišnje ukupno preživljenje malo, oko 45% (1). Po incidenciji je rak jajnika treći među ginekološkim tumorima, na njega otpada više od dvije trećine smrti uzrokovanih ginekološkim tumorima. Visoka incidencija bolesti bilježi se kod žena u razvijenim zapadnim zemljama Europe i sjeverne Amerike. U usporedbi s Afroamerikankama i ženama žute rase, Bjelkinje oboljevaju češće (2, 3).

Prema zadnjim podacima Međunarodne agencije za istraživanje raka (engl. *International Agency for Research on Cancer, IARC*) za 2020. godinu, rak jajnika je bio dijagnosticiran kod 240.000 žena diljem svijeta i od njega je umrlo više od 150.000 žena. Globalno je po dobno standardiziranoj incidenciji rak jajnika na osmom mjestu, a po mortalitetu na sedmom mjestu (2, 3).



**Slika 1.** Incidencija raka jajnika u svijetu 2020. godine (dobno standardizirana), WHO International Agency for Research on Cancer (IARC)

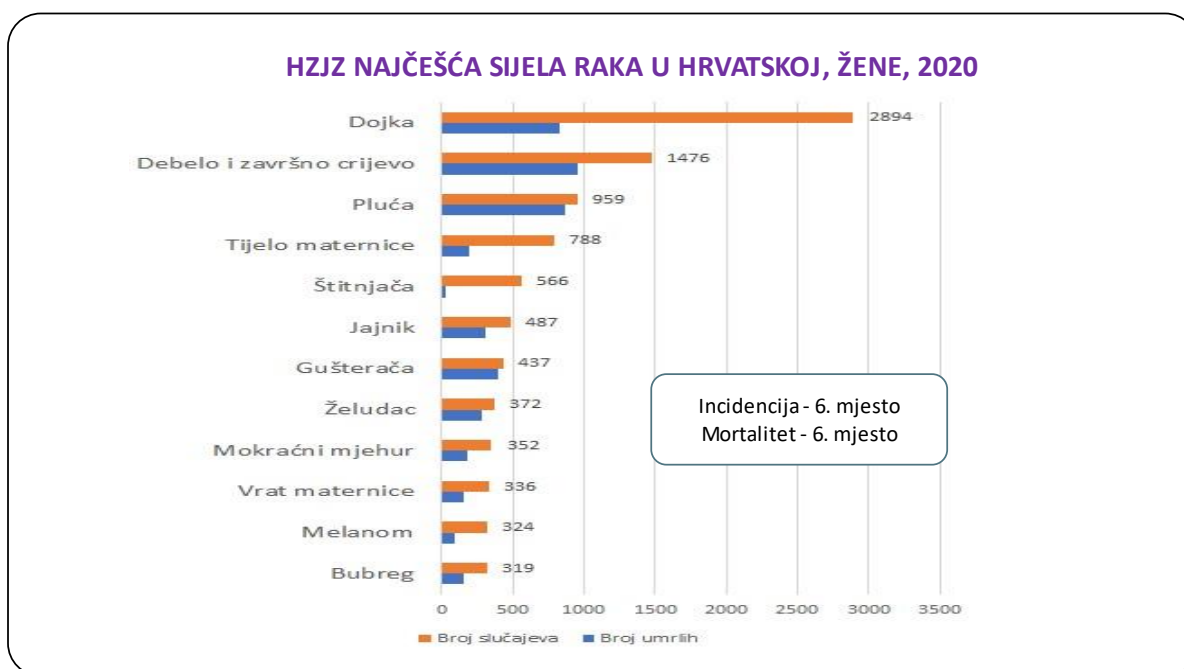


**Slika 2.** Mortalitet od raka jajnika u svijetu 2020. godine (dobno standardiziran) WHO IARC

Prema podacima IARC-a, Europa je po stopi incidencije visoko rizična regija jer je u 2020. godini od raka jajnika oboljelo oko 40.000 žena, a umrlo 27.000 žena. U zemljama Europske unije (EU) rak jajnika je po incidenciji na osmom mjestu, a po mortalitetu na visokom petom mjestu (2).

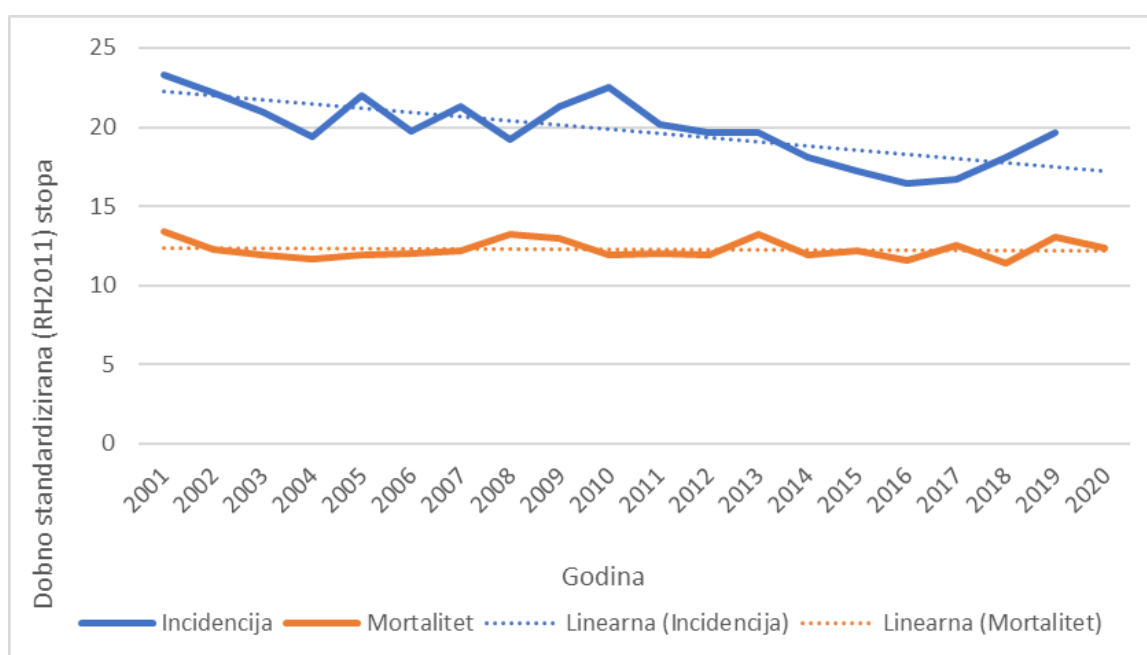
Hrvatska ima visoku stopu incidencije i mortaliteta od raka jajnika u usporedbi sa zemljama EU i svijeta. Prema podacima Registra za rak Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo (HZJZ) za 2020. godinu, rak jajnika je na trećem mjestu po incidenciji svih ginekoloških tumora (3% ukupne incidencije raka kod žena) i po smrtnosti najčešći ginekološki rak (4). Iako se češće javlja kod starijih žena, u 35% slučajeva dijagnosticira se prije 60-te godine života. Prema zadnjim objavljenim podacima HZJZ, u 2020. godini je u Hrvatskoj rak jajnika dijagnosticiran u 368 žena i od raka jajnika je umrlo 298 žena. U usporedbi s 2019. godinom, uočava se pad incidencije od 20% i tumači okolnostima vezanima uz COVID-19 pandemiju (4).

U ukupnoj incidenciji raka kod žena u Hrvatskoj, rak jajnika je na šestom mjestu po incidenciji i mortalitetu. Prema procjenama za 2020. godinu, Hrvatska je po incidenciji na sedmom mjestu u EU (20.2/100 000; prosjek EU-27 je 15.5/100 000), dok je po mortalitetu na devetom mjestu (12.5/100 000; prosjek EU-27 je 10.3/100 000) (4).



**Slika 3.** Incidenција i mortalitet od raka kod žena u Hrvatskoj 2020., HZJZ, Bilten 45, Zagreb, 2022.

U većini europskih zemalja standardizirana stopa incidencije raka jajnika je u padu, što se povezuje sa češćom primjenom oralne kontracepcije te razumnom i odgovornom primjenom hormonske nadomjesne terapije. Trend incidencije i mortaliteta od raka jajnika u Hrvatskoj za razdoblje od 2001. do 2020. godine prikazan je na Slici 4.



**Slika 4.** Trend incidencije i mortaliteta od raka jajnika u Hrvatskoj od 2001.-2020. godine. HZJZ, Registar za rak Republike Hrvatske

U promatranom razdoblju u Hrvatskoj se bilježi pad incidencije raka jajnika za 1% godišnje, ali je mortalitet ostao nepromijenjen (4).

## **1.2. Rizični čimbenici za rak jajnika**

Čimbenici rizika za rak jajnika su prvenstveno paritetni i genski. Najvažniji rizični čimbenici su starija životna dob (prosječna dob oboljelih žena je 63 godine), pozitivna obiteljska anamneza (rak jajnika u obitelji), izbjegavanje primjene oralnih kontraceptiva, hormonsko nadomjesno liječenje u menopauzi, rana menarha i kasna menopauza. Genski rizični čimbenici uključuju pozitivnu obiteljsku anamnezu tj. rak jajnika u obitelji i nasljedne mutacije/sindrome (zametna mutacija gena *BRCA1* ili *BRCA2*, Lynchov sindrom). U moguće čimbenike rizika spadaju pretilost, neplodnost, izloženost zračenju, hormonska terapija kod neplodnosti i *in vitro* oplodnja (5, 6, 7).

Smatra se da je redukcija broja ovulacija protektivni čimbenik za nastanak raka jajnika, jer neprekidne ovulacije povećavaju vjerojatnost gomilanja ozljeda i potiču mutacije u epitelu jajnika tijekom reparacije, uz posljedičnu stimulaciju karcinogeneze (8, 9, 10).

Serozni karcinom jajnika visokog stupnja (engl. *high grade serous ovarian carcinoma*, HGSOC) karakterizira defekt homologne rekombinacije kojim se popravljaju dvostruki lomovi DNA. Najčešći razlog je mutacija tumor supresorskih gena *BRCA1* i *BRCA2*. Pojavnost ovih mutacija kod seroznog karcinoma jajnika visokog stupnja je do 25%. Nasljeđena ili zametna mutacija gena *BRCA1* povećava rizik od nastanka raka jajnika za 15–45%, a nasljeđena mutacija gena *BRCA2* za 10–20% u žena od 50 godina (11, 12, 13, 14).

## **1.3. Patohistološke karakteristike tumora jajnika**

### **1.3.1. Podjela tumora jajnika**

Patohistološka podjela tumora jajnika nadopunjuje se sa svakim novim izdanjem Klasifikacije tumora ženskih spolnih organa Svjetske zdravstvene organizacije (15, 16, 17). Prema zadnjoj klasifikaciji iz 2014. godine, primarni tumori jajnika dijele se na tumore epitelnog, mezenhimalnog i stromalnog porijekla i tumore porijekla spolnih stanica (18). Preostali, iznimno rijetki tumori su u kategoriji raznih tumora (Slika 5).

## WHO Classification of tumors of the ovary

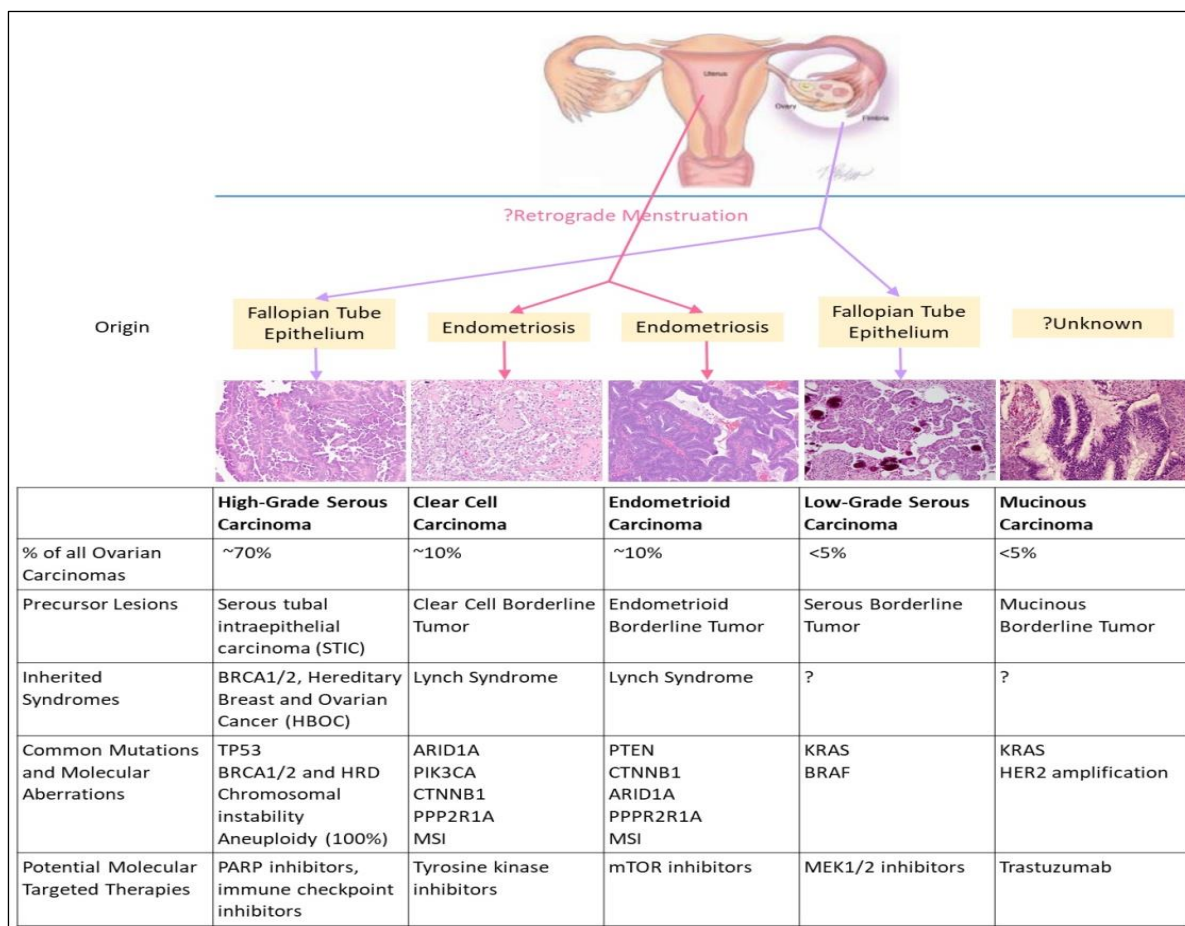
<b>Epithelial tumours</b>		<b>Malignant</b>			
<b>Serous Tumours</b>		<b>Malignant Brenner tumour</b>		90003	
<b>Benign</b>					
Serous cystadenoma	84410	<b>Seromucinous tumours</b>			
Serous adenofibroma	90140	<b>Benign</b>			
Serous surface papilloma	84610	Seromucinous cystadenoma		84740*	
		Seromucinous adenofibroma		90140*	
<b>Borderline</b>		<b>Borderline</b>			
Serous borderline tumour / Atypical proliferative serous tumour	84421	Seromucinous borderline tumour / Atypical proliferative seromucinous tumour		84741**	
Serous borderline tumour - micropapillary variant / Non-invasive low-grade serous carcinoma	84002*	<b>Malignant</b>			
		Seromucinous carcinoma		84742*	
<b>Malignant</b>		<b>Undifferentiated carcinoma</b>		80205	
Low-grade serous carcinoma	84003	<b>Mesenchymal tumours</b>			
High-grade serous carcinoma	84013	<b>Low-grade endometrial stroma sarcoma</b>		89310	
<b>Mucinous tumours</b>		<b>High-grade endometrial stromal sarcoma</b>		89303	
<b>Benign</b>		<b>Mixed epithelial and mesenchymal tumours</b>			
Mucinous cystadenoma	84700	Adenosarcoma		89303	
Mucinous adenofibroma	90150	Carcinosarcoma		89802	
<b>Borderline</b>		<b>Sex cord-stromal tumours</b>			
Mucinous borderline tumour / Atypical proliferative mucinous tumour	84721	<b>Pure stromal tumours</b>			
<b>Malignant</b>		<b>Fibroma</b>		89100	
Mucinous carcinoma	84803	<b>Cellular fibroma</b>		89101	
<b>Endometrioid tumours</b>		<b>Thecoma</b>		90000	
<b>Benign</b>		<b>Luteinized thecoma associated with sclerosing peritonitis</b>		89110	
Endometrioid cyst		<b>Fibrosarcoma</b>		89103	
Endometrioid cystadenoma	83805	<b>Sclerosing stromal tumour</b>		89200	
Endometrioid adenofibroma	83810	<b>Sigmat ring stromal tumour</b>		89300	
<b>Borderline</b>		<b>Monocytic stromal tumour</b>		89800	
Endometrioid borderline tumour / Atypical proliferative endometrioid tumour	83801	<b>Leydig cell tumour</b>		87600	
<b>Malignant</b>		<b>Sertoli cell tumour</b>		87600	
Endometrioid carcinoma	83803	<b>Sertoli cell tumour, malignant</b>		87603	
<b>Clear cell tumours</b>		<b>Pure sex cord tumours</b>			
<b>Benign</b>		<b>Adult granulosa cell tumour</b>		86202	
Clear cell cystadenoma	84430	<b>Juvenile granulosa cell tumour</b>		86201	
Clear cell adenofibroma	83130	<b>Sertoli cell tumour</b>		86401	
<b>Borderline</b>		<b>Sex cord tumour with annular tubules</b>		86201	
Clear cell borderline tumour / Atypical proliferative clear cell tumour	83131	<b>Mixed sex cord-stromal tumours</b>			
<b>Malignant</b>		<b>Sertoli-Leydig cell tumours</b>			
Clear cell carcinoma	83103	<b>Well differentiated</b>		86310	
<b>Brenner tumours</b>		<b>Moderately differentiated</b>		86311	
<b>Benign</b>		<b>With heterologous elements</b>		86341	
Brenner tumour	90000	<b>Poorly differentiated</b>		86310	
<b>Borderline</b>		<b>With heterologous elements</b>		86341	
Borderline Brenner tumour / Atypical proliferative Brenner tumour	90001	<b>Nulliparous</b>		86301	
		<b>With heterologous elements</b>		86341	
		<b>Sex cord-stromal tumours, NOS</b>		89301	
<b>Germ cell tumours</b>		<b>Dysgermoma</b>		90603	
<b>Benign</b>		<b>Yolk sac tumour</b>		90710	
<b>Teratomatous carcinomas</b>		<b>Embryonal carcinoma</b>		90703	
<b>Non-gestational choriocarcinoma</b>		<b>Mature teratoma</b>		90600	
<b>Mature teratoma</b>		<b>Immature teratoma</b>		90603	
<b>Mixed germ cell tumour</b>		<b>Mixed germ cell tumour</b>		90603	
<b>Monodermal teratoma and somato-type tumours arising from a dermoid cyst</b>		<b>Struma ovarii, benign</b>		90900	
<b>Struma ovarii, malignant</b>		<b>Carcinoid</b>		82403	
<b>Spinal carcinoid</b>		<b>Mucinous carcinoid</b>		82403	
<b>Neuroendometrial type tumours</b>		<b>Sebaceous tumours</b>			
<b>Sebaceous adenoma</b>		<b>Sebaceous adenoma</b>		84100	
<b>Sebaceous carcinoma</b>		<b>Other rare monodermal teratomas</b>			
<b>Carcinoma</b>		<b>Squamous cell carcinoma</b>		80703	
<b>Others</b>		<b>Others</b>			
<b>Germ cell - sex cord-stromal tumours</b>		<b>Gonadoblastoma, including gonadoblastoma with malignant germ cell tumour</b>		90731	
<b>Mixed germ cell-sex cord-stromal tumour, unclassified</b>		<b>Mixed germ cell-sex cord-stromal tumour, unclassified</b>		85941*	
<b>Miscellaneous tumours</b>		<b>Tumours of rete ovarii</b>			
<b>Adenoma of rete ovarii</b>		<b>Adenocarcinoma of rete ovarii</b>		91100	
<b>91103</b>					
<b>Wolffian tumour</b>		<b>Small cell carcinoma, hypercalcaemic type</b>		91101	
<b>Small cell carcinoma, pulmonary type</b>		<b>Wilms tumour</b>		80403	
<b>Paraganglioma</b>		<b>Solid pseudopapillary neoplasm</b>		84521	
<b>Mesothelial tumours</b>		<b>Adenomatoid tumour</b>		90540	
<b>Mesothelioma</b>		<b>Mesothelioma</b>		90503	
<b>Soft tissue tumours</b>		<b>Myxoma</b>		89400	
<b>Others</b>		<b>Others</b>			
<b>Tumour-like lesions</b>		<b>Follicle cyst</b>			
<b>Corpus luteum cyst</b>		<b>Large solitary luteinized follicle cyst</b>			
<b>Hyperreactio lutealis</b>		<b>Pregnancy luteoma</b>			
<b>Stromal hyperplasia</b>		<b>Stromal hyperplasia</b>			
<b>Fibromatosis</b>		<b>Fibromatosis</b>			
<b>Massive oedema</b>		<b>Leydig cell hyperplasia</b>			
<b>Lymphoid and myeloid tumours</b>		<b>Lymphoma</b>			
<b>Plasmacytoma</b>		<b>Myeloid neoplasms</b>		87340	
<b>Secondary tumours</b>					

Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS, Young RH. WHO Classification of tumors of the female reproductive organs. 4<sup>th</sup> ed. Lyon: International agency for research on cancer; 2014. p 12-13.

**Slika 5.** Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS, Young RH. WHO Classification of tumors of the female reproductive organs. 4. izdanje. Lyon: International agency for research on cancer; 2014. str. 12-13.

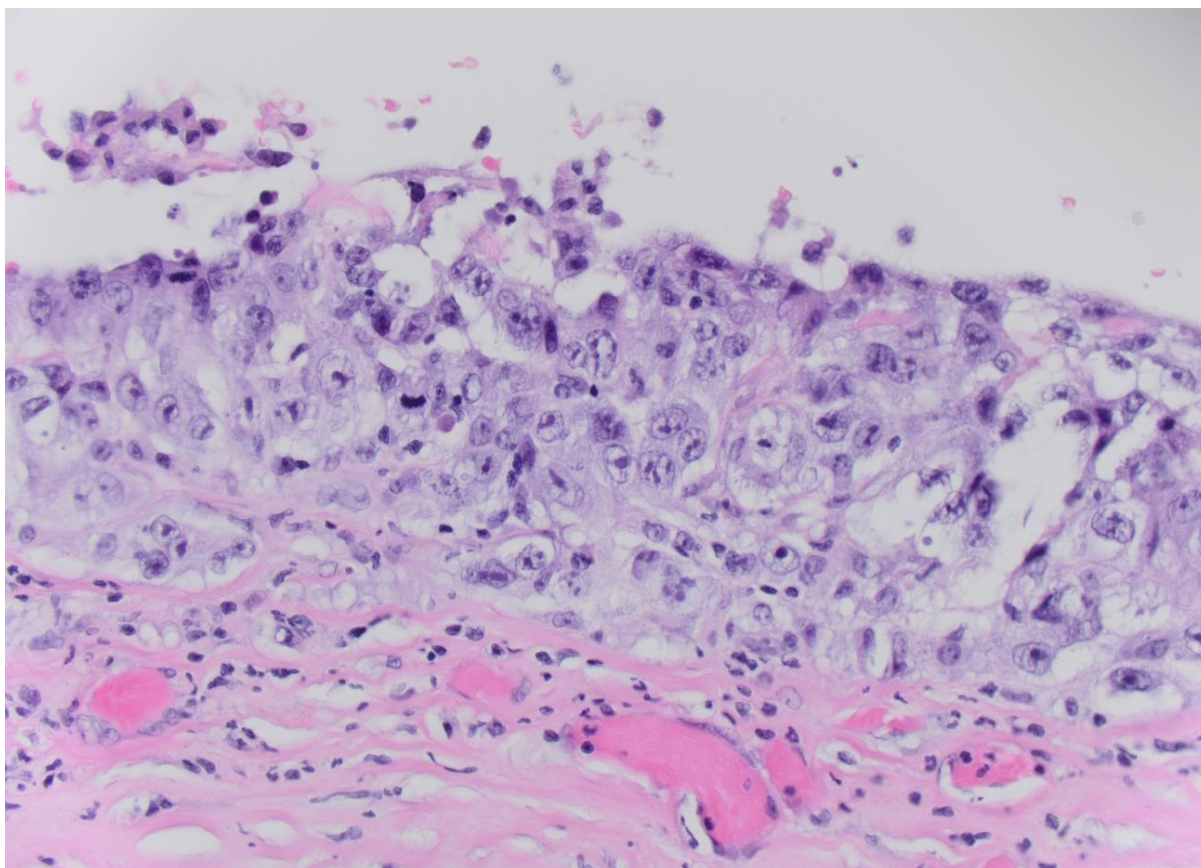
Najčešći rak jajnika je karcinom pokrovnog epitela jajnika koji ima pet tipova: serozni karcinom visokog stupnja (HGSO), serozni karcinom niskog stupnja (LGSO), mucinozni karcinom (MC), endometrioidni karcinom (EC) i karcinom svijetlih stanica (CCC) (18). Ovi se tipovi međusobno razlikuju po rizičnim čimbenicima, porijeklu tumora, molekularnim promjenama, imunohistokemijskom profilu, načinu širenja, vrsti liječenja i prognozi pa ih zbog heterogenosti možemo smatrati različitim bolestima (18, 19, 20).

Slika 6. pokazuje pet glavnih epitelnih tipova karcinoma jajnika porijekla pokrovnog epitela s obzirom na ishodište, naslijeđe, molekularne promjene i terapijske mogućnosti. Najčešći među njima je serozni karcinom visokog stupnja, koji ujedno ima najlošiju prognozu.



**Slika 6.** Porijeklo i molekularni tipovi karcinoma jajnika. Pet glavnih epitelnih tipova raka jajnika s obzirom na porijeklo, naslijeđe, molekularne promjene i terapijske mogućnosti, <http://www.bccancer.bc.ca/books/ovary-epithelial-carcinoma/histological-classification-of-ovarian-carcinoma> (20)

Na serozni karcinom otpada 80% uznapredovalih slučajeva raka jajnika. Po klasifikaciji tumora ženskog spolnog sustava iz 2014. godine, serozni karcinom se dijeli na karcinom niskog stupnja i karcinom visokog stupnja koji se razlikuju po morfologiji, patogenezi, molekularnim promjenama, imunohistokemijskom profilu, načinu širenja i liječenju (21, 22). Većina seroznih karcinoma jajnika visokog stupnja nastaje na fimbrijalnom kraju jajovoda iz prekursorske lezije - seroznog intraepitelog karcinoma jajovoda (engl. *serous tubular intraepithelial carcinoma*, STIC). (Slika 7.) (23).



**Slika 7.** STIC (H&E, 400×, Odjel za patologiju i citologiju OB Zadar)

S druge strane, serozni karcinom jajnika niskog stupnja nastaje iz benignih ili atipičnih (engl. *borderline*) seroznih tumora (Slika 6.). Na njih otpada 10% seroznih karcinoma. Obično se javlja u mlađih žena i ima bolju prognozu (18, 20, 21, 22, 23, 24).

### **1.3.2. Makroskopski izgled HGSOC**

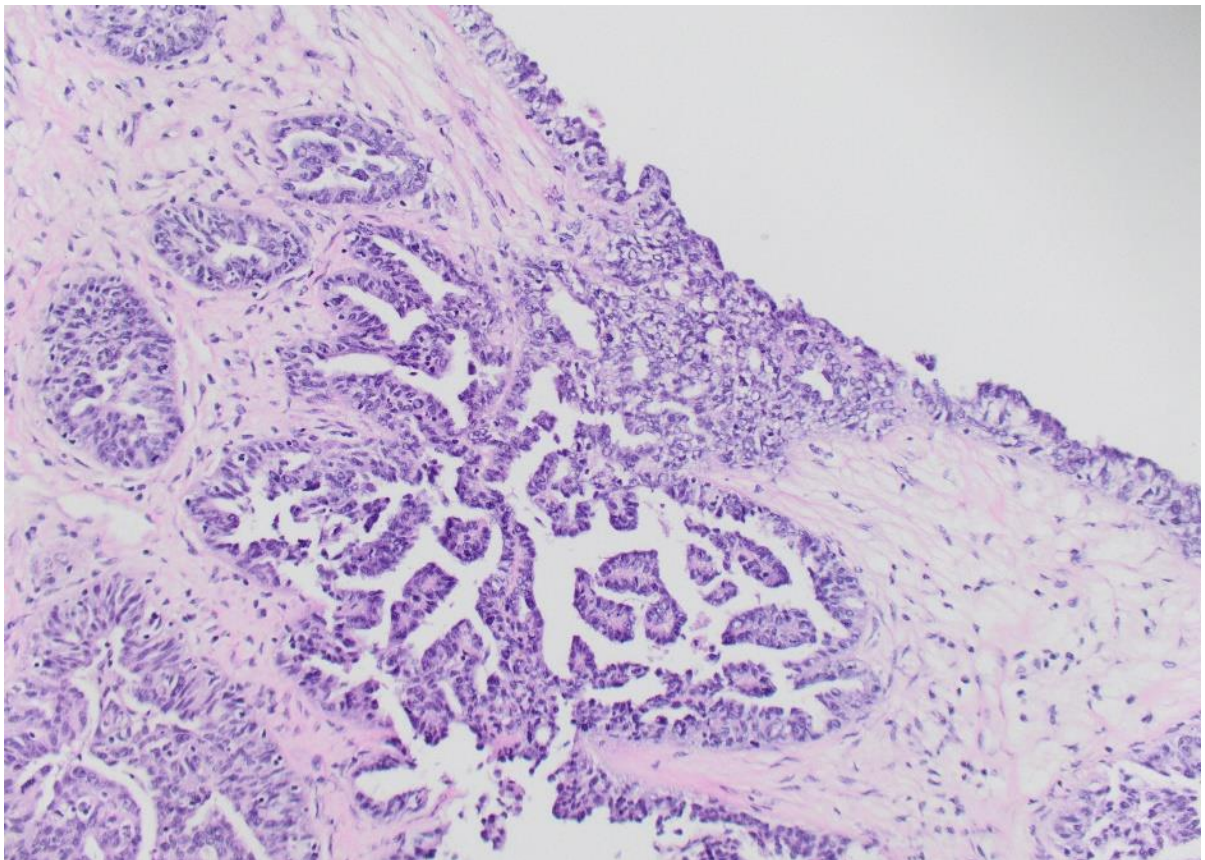
Serozni karcinom jajnika visokog stupnja se najčešće prezentira kao velika multicistična i solidno-cistična tvorba papilarnog načina rasta. Tumori su često obostrani, s područjima nekroze i krvarenja, a zahvaćeni jajnik i jajovod uklopljeni u tumorsku masu. Ciste su ispunjene seroznom i sukrvavom tekućinom, a u slučaju diseminacije, po peritoneumu su razasuti različito veliki bjelkasti čvorovi i ciste.

### **1.3.3. Mikroskopski izgled HGSOC**

Serozni karcinom visokog stupnja je histološki građen od polimorfnih cilindričnih i kubičnih stanica koje oblikuju papilarne formacije, žljezdane i kribriformne strukture te solidne

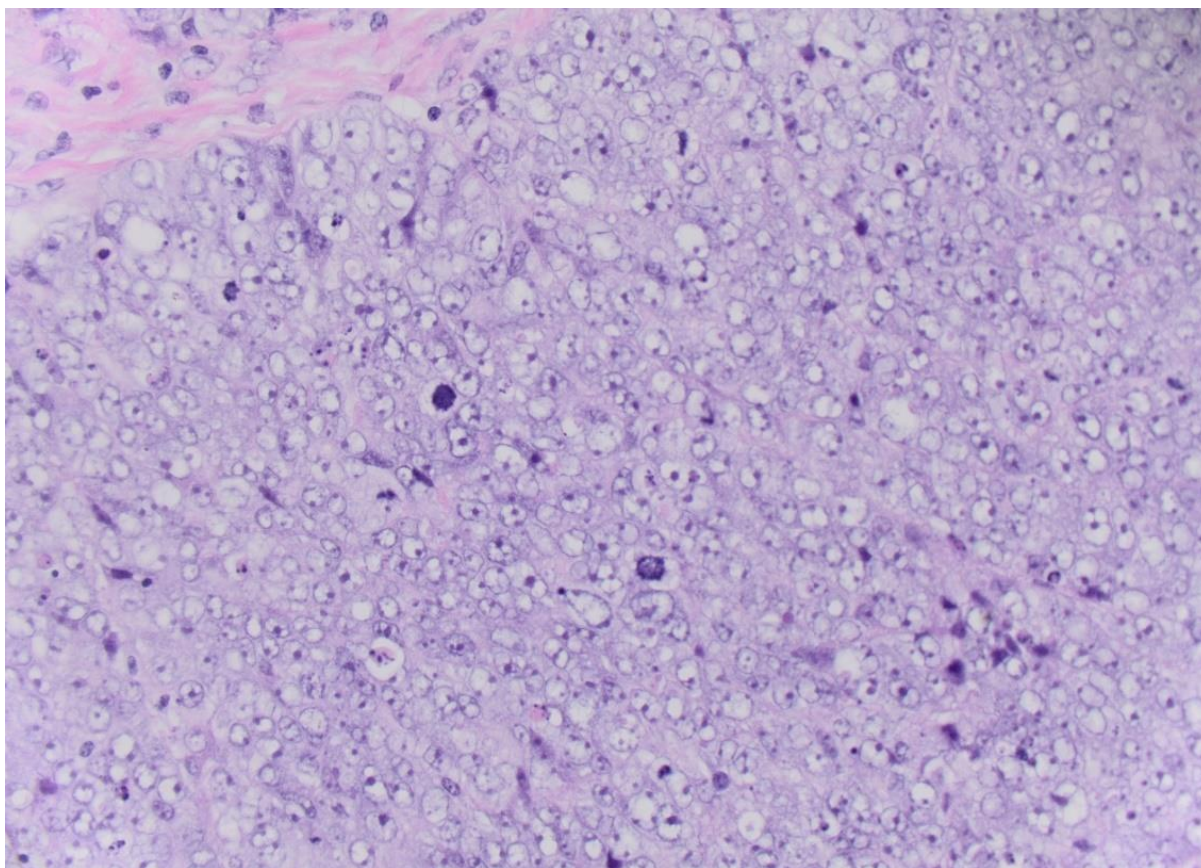
nakupine (Slika 8.) (21, 22, 23). Izražena je nuklearna atipija i pleomorfizam, a često se nalaze orijaške stanice s bizarnim jezgrama (Slika 9.). Histološki podtip tumora nazvan SET (solidni, pseudoendometrioidni ili prijelazni način rasta) najčešće je povezan s mutacijom gena *BRCA1* (25, 26).

Uz tumorsko tkivo koje zahvaća jajnik, nađe se STIC i to u 90% slučajeva u fimbrijama, a u 10% slučajeva u ampuli/istmusu jajovoda (Slika 7.). U 10-20 % slučajeva STIC se može naći bilateralno i multifokalno (27, 28).



**Slika 8.** Serozni karcinom jajnika visokog stupnja (H&E, 200×, Odjel za patologiju i citologiju OB Zadar)





**Slika 9.** Serozni karcinom jajnika visokog stupnja (H&E, 600×, Odjel za patologiju i citologiju OB Zadar)

#### ***1.3.4. Imunohistokemijska analiza HGSOC***

U HGSOC-u je imunohistokemijski profil zloćudnih stanica pozitivan na PAX8, WT1, p16, estrogenske receptore (ER, 80%), progesteronske receptore (PgR, 30%) i CK7. Bojenje s p53 pokazuje tri različita obrasca izražaja: prekomjerni izražaj vidljiv kao jako, difuzno nuklearno obojenje >80% stanica (tzv. *missense* mutacija); potpuno negativni izražaj u tumorskim stanicama uz intaktnu unutarnju kontrolu u tzv. „nultom fenotipu“; difuzno citoplazmatsko obojenje i slabo nuklearno obojenje kod tzv. gubitka funkcije mutacije. Aberantni izražaj p53 je povezan s mutacijom *TP53* (29, 30). U HGSOC-u je proliferacijski indeks visok jer više od 75% tumorskih stanica izražavaju Ki-67 (31).

### **1.3.5. Molekularne genske promjene u stanicima HGSOE**

Molekularnom analizom se gotovo uvijek nađu mutacije gena *TP53*. U oko 50% HGSOE su inaktivirani geni *BRCA1* i *BRCA2* i promjenjen broj kopija DNK, uključujući onkogene *CCN1*, *MYC*, *NOTCH3*, *PIK3CA* i *AKT* (25, 31, 32).

### **1.3.6. Diferencijalna dijagnoza HGSOE**

Diferencijalno dijagnostički, uz primarni karcinom jajnika drugih tipova, u obzir dolazi metastatski karcinom (16, 17, 18, 19, 23, 26, 27). Serozni karcinom niskog stupnja pokazuje minimalni nuklearni polimorfizam, niski proliferacijski indeks, heterogeni izražaj divljeg tipa p53 i negativan/dijelom izražen p16. Karcinom svijetlih stanica je često povezan s endometriozom. Građen je od svijetlih, eozinofilnih i kubičnih stanica koje oblikuju tubulocistične, papilarne i solidne formacije i imaju specifični imunohistokemijski profil (WT1 i ER negativni, HNF-1B i Napsin A pozitivni). Nediferencirani karcinom je građen od diskohezivnih, često monomorfnih atipičnih epitelnih stanica, a u imunohistokemijskom profilu je izražaj CK7 i EMA slab, a PAX8 slab ili negativan. Endometrioidni karcinom se očituje tumorskom masom sa/bez prekursorske lezije. Povezan je s endometriozom, često se manifestira u nižem kliničkom stadiju bolesti, a imunohistokemijski su tumorske stanice difuzno pozitivne na ER i PgR, mrljasto pozitivne na WT1 i p16 i heterogeno je izražen divlji tip p53. U diferencijalnoj dijagnozi HGSOE treba misliti na maligni mezoteliom, najčešće prezentiran jednostavnim jednorednim papilama bez pupanja, slabijom nuklearnom atipijom, niskom mitotskom aktivnošću i karakterističnim imunohistokemijskim profilom (pozitivan izražaj D2-40 i kalretinina i negativan izražaj ER).

## **1.4. Simptomi raka jajnika**

Simptomi raka jajnika su nespecifični i najčešće neprepoznati jer se preklapaju s tegobama kojima žene ne pridaju osobitu pažnju, posebice probavnim smetnjama. Najčešće se opisuje osjećaj nadutosti koji ne prolazi, bol u trbuhu, osjećaj punoće nakon obroka, mučnina, gubitak apetita. Od ostalih simptoma javljaju se smetnje s mokrenjem, inkontinencija urina, povećanje trbuha i bol u leđima. Zbog neprepoznatih simptoma, rak jajnika se u 80% slučajeva dijagnosticira u uznapredovalom stadiju (FIGO stadij III i IV) (5, 33).

## 1.5. Dijagnostika raka jajnika

Nakon klinički i radiološki postavljene sumnje (MSCT-om zdjelice i abdomena s kontrastom), dijagnoza bolesti se postavlja patohistološkim pregledom tumorskog tkiva dobivenog kirurškom resekcijom, bilo inicijalnom biopsijom ili primarnom citoredukcijom (23, 24). Laboratorijskim pretragama u serumu bolesnica s uznapredovalim karcinomom, obično se nađe povišena razina tumorskog biljega CA-125 (34, 35, 36, 37).

## 1.6. Stadij bolesti

Stadij bolesti je značajan prognostički čimbenik kod seroznog karcinoma jajnika visokog stupnja. Serozni karcinomi jajnika, jajovoda i peritoneuma imaju jedinstvenu klasifikaciju jer se radi o histološki istovjetnom tumoru.

Predloženo je da se rak jajnika, u odsutnosti seroznog intraepitelijalnog karcinoma jajovoda (STIC), klasificira kao ovarijalnog porijekla, rak jajnika u prisutnosti STIC-a kao tubarnog porijekla, a rak peritoneuma (karcinoza) u odsutnosti raka jajnika ili jajovoda, kao peritonealnog porijekla.

Klinički stadij bolesti određuje se prema FIGO klasifikaciji (franc. *Federation Internationale de Gynecologie et d'Obstetrique*) i TNM klasifikaciji (Tablica 1., Slika 10.) (38, 39).

FIGO III stadij bolesti označava tumor koji uz lokalizaciju unutar male zdjelice, uključuje karcinomu omentuma i metastazom zahvaćene retroperitonealne limfne čvorove. Razlikuje se širenje bolesti po čahuri jetre i slezene (stadij IIIC) od izoliranih parenhimnih presadnica (stadij IVB).

**Tablica 1.** FIGO klasifikacija raka jajnika, jajovoda i peritoneuma i ekvivalentna TNM klasifikacija

---

**Stadij I**

Stadij I (T1-N0-M0) tumor ograničen na jajnike ili jajovode.

Stadij IA (T1a-N0-M0) uključuje sljedeće:

- Tumor ograničen na jedan jajnik (kapsula netaknuta) ili jajovod
- Nema tumora na vanjskoj površini jajnika ili jajovoda
- Nema malignih stanica u ascitesu ili ispiranju peritoneuma

Stadij IB (T1b-N0-M0) uključuje sljedeće:

- Tumor ograničen na oba jajnika (kapsule intaktne) ili jajovode
- Nema tumora na vanjskoj površini jajnika ili jajovoda
- Nema malignih stanica u ascitesu ili ispiranju peritoneuma

Stadij IC uključuje tumor ograničen na jedan ili oba jajnika ili jajovode, s bilo čime od sljedećeg:

- Stadij IC1: (T1C1-N0-M0) Kirurško izlivanje
- Stadij IC2: (T1C2-N0-M0) Kapsula puknuta prije operacije ili tumor na površini jajnika ili jajovoda
- Stadij IC3: (T1C3-N0-M0) Maligne stanice u ascitesu ili peritonealnim ispircima

---

**Stadij II**

U stadiju II (T2-N0-M0) tumor zahvaća jedan ili oba jajnika ili jajovode, s proširenjem izvan zdjelice (ispod ruba zdjelice) ili primarnim peritonealnim karcinomom.

- Stadij IIA: (T2a-N0-M0) Ekstenzija i/ili implantati na maternici i/ili jajnicima i/ili jajovodima
- Stadij IIB: (T2b-N0-M0) Širenje na druga intraperitonealna tkiva zdjelice

---

**Stadij III**

U stadiju III tumor zahvaća jedan ili oba jajnika ili jajovode, ili primarni peritonealni karcinom, s citološki ili histološki potvrđenim širenjem u peritoneum izvan zdjelice i/ili metastazama u retroperitonealne limfne čvorove (T1/T2-N1-M0).

Stadij IIIA uključuje sljedeće:

- Stadij IIIA1: (T1/2-N1-M0) pozitivni (citološki ili histološki dokazani) samo retroperitonealni limfni čvorovi
- Stadij IIIA1(i) Metastaze do 10 mm u najvećoj dimenziji
- Stadij IIIA1(ii) Metastaze veće od 10 mm u najvećoj dimenziji
- Stadij IIIA2: (T3a2-N0/N1-M0) mikroskopsko ekstrapelvično širenje (iznad ruba zdjelice) peritonealno zahvaćanje sa ili bez pozitivnih retroperitonealnih limfnih čvorova

Stadij IIIB (T3b-N0/N1-M0) uključuje makroskopske peritonealne metastaze izvan zdjelice do 2 cm u najvećoj dimenziji, sa ili bez metastaza u retroperitonealne limfne čvorove.

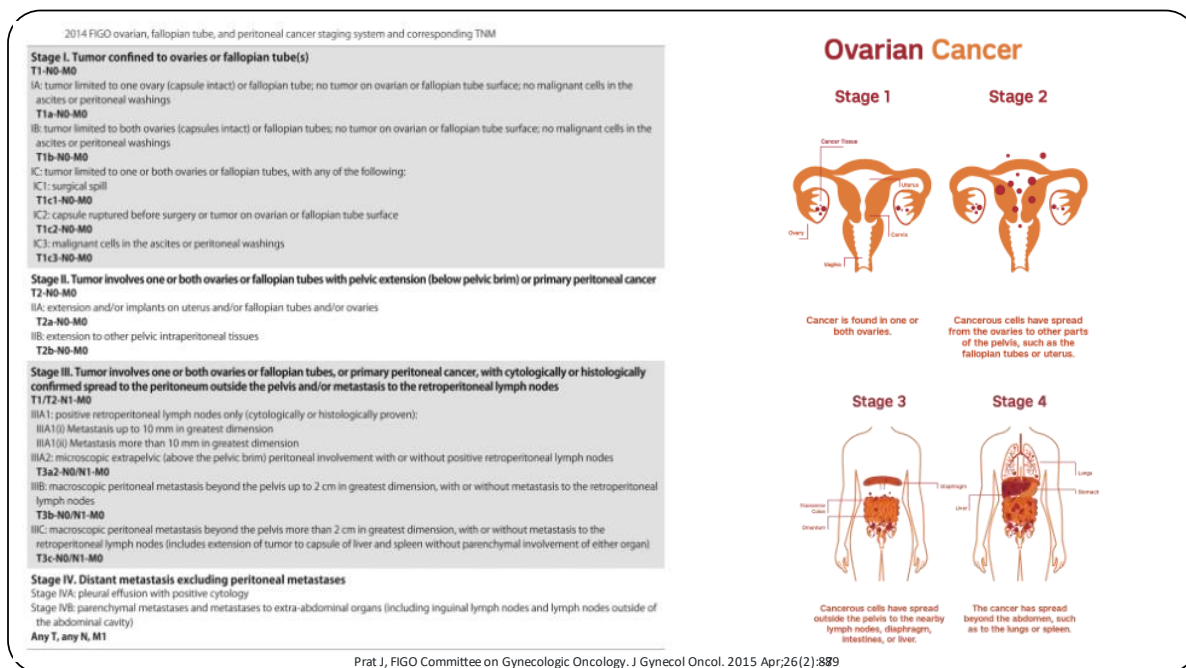
Stadij IIIC (T3c-N0/N1-M0) uključuje makroskopske peritonealne metastaze izvan zdjelice više od 2 cm u najvećoj dimenziji, sa ili bez metastaza u retroperitonealne limfne čvorove. Stadij IIIC uključuje proširenje tumora na kapsulu jetre i slezene bez zahvaćanja parenhima bilo kojeg organa.

---

**Stadij IV**

Stadij IV (bilo koji T–bilo koji N–M1) sastoji se od udaljenih metastaza, isključujući peritonealne metastaze, i uključuje sljedeće:

- Stadij IVA: Pleuralni izljev s pozitivnom citologijom
  - Stadij IVB: Parenhimske metastaze i metastaze u ekstraabdominalne organe (uključujući inguinalne limfne čvorove i limfne čvorove izvan trbušne šupljine)
-



**Slika 10.** FIGO klasifikacija raka jajnika (Prat J, FIGO Committee on Gynecologic Oncology. Staging Classification for Cancer of the Ovary, Fallopian Tube, and Peritoneum: Abridged Republication of Guidelines From the International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO). Obstet Gynecol. 2015 Jul;126(1):171-4.)

## 1.7. Liječenje raka jajnika

Zlatni standard u liječenju bolesnica s uznapredovalim rakom jajnika je kombinacija optimalne kirurške citoredukcije i kemoterapije temeljene na platini, a njihov redoslijed ovisi o stadiju bolesti i općem stanju bolesnice u trenutku dijagnoze bolesti (40).

Kirurško liječenje karcinoma jajnika podrazumijeva primarnu citoredukciju. Opsežni i vrlo zahtjevni operacijski zahvat uključuje histerektomiju s obostranom salpingo-ooforektomijom, zdjelichnu i paraaortalnu limfadenektomiju, omentektomiju, bioptiranje peritoneuma na različitim lokalizacijama, odnosno makroskopsko odstranjenje vidljive tumorske mase u trbuhu. Zahvat je indiciran kod bolesnica u kojih se slikovnom dijagnostikom pretpostavlja ishod bez ostatne bolesti. U slučaju neoperabilne bolesti ili lošeg općeg stanja bolesnice, savjetuje se laparoskopsko uzorkovanje najdostupnije tumorske mase u zdjelici/abdomenu.

Nakon kirurškog zahvata primjenjuje se kemoterapija temeljena na platini (neoadjuvantna ili adjuvantna) intravenskim i/ili intraperitonealnim putem (engl. *hypertermic intraperitoneal chemotherapy*, HIPEC). Spojevima platine pridružen je paklitaksel u TC protokolu (paklitaksel/karboplatin) koji je još uvijek zlatni standard sistemskog liječenja. Kemoterapiji se u prvolinijskom liječenju i liječenju recidiva pridružuje ciljana terapija koja se dijeli u dvije skupine lijekova (41, 42):

1. Inhibitori angiogeneze tj. rasta novih krvnih žila potrebnih za napredovanje tumora (bevacizumab, cediranib),
2. PARP (Poly ADP-ribose polymerase) inhibitori blokiraju proces popravka DNA, što onemogućuje preživljavanje tumorskih stanica (olaparib, rukaparib, niraparib). Najbolji odgovor na liječenje PARP inhibitorima imaju bolesnice s mutacijama gena *BRCA1/BRCA2* koje su pokazale „platinsku osjetljivost“, odnosno imale potpuni ili djelomični odgovor na kemoterapijsko liječenje, održiv u razdoblju dužem od 6 mjeseci (41, 42, 43, 44, 45, 46).

## **1.8. Antigeni raka i testisa (CTA)**

Antigeni raka i testisa (engl. *Cancer/Testis Antigens*, CTA) pripadaju skupini tumoru-pridruženih antigena (engl. *Cancer/Testis Tumor Associated Antigens* TAA) (47, 48). Ovi su antigeni izraženi tijekom embrionalnog razvoja u zametnim stanicama testisa i jajnika te u trofoblastu. Aberantno se pojavljuju i varijabilno su izraženi u brojnim tumorima, uključujući karcinom jajnika (49, 50, 51, 52, 53).

Prvi klon humanog tumorskog antigena, tzv. antigen povezan s melanomom-1 (MAGE-1) opisan je 1990-ih godina. Pokazalo se da kod bolesnika s melanomom MAGE-1 može potaknuti odgovor autolognih citotoksičnih T-limfocita (49, 50, 54, 55). Daljnje studije su otkrile da je MAGE-1 (kasnije nazvan MAGE-A1) izražen kod zloćudnih tumora različitog porijekla, a fiziološki prisutan samo u testisima i posteljici; ne nalazi se u drugom zrelom zdravom tkivu (50, 52, 53). CTA skupina antigena ima specifičan naziv zbog specifičnosti testisa. Testisi su imunološki privilegirani jer zametne stanice u sjemenim kanalčićima nisu dostupne imunološkom sustavu pa izostaje prezentacija njihovih antigena limfocitima T. Stoga se antigeni raka i testisa smatraju svojevrsnim neoantigenima koji bi mogli potaknuti imunološki sustav na specifičnu imunološku reakciju (56, 57, 58).

### ***1.8.1. Melanoma antigen gen A (MAGE-A)***

Melanoma antigen gen A (MAGE-A) je prva skupina antigena povezanih s tumorima koji su bili identificirani na molekularnoj razini (49, 50, 54). Prvi otkriveni rak-testis antigen je MAGE-1. Biološka funkcija tih molekula nije u cijelosti razjašnjena, ali je potvrđeno da sudjeluju u disregulaciji p53 proteina, pojačavanju proliferacijskog potencijala tumora i održavanju tumorskih stanica u stadiju „nalik matičnim tumorskim stanicama“ (59).

Izražaj članova obitelji CTA antigena-A povezanog s melanomom (MAGE-A) na tumorskim stanicama se povezuje s progresijom tumora, vjerojatno zbog potencijalne uloge tog proteina u epitelno-mezenhimalnoj pretvorbi (60, 61). Zanimljivo je da je MAGE-A10 jedan od najimunogenijih CTA i izaziva specifični stanični imunološki odgovor u perifernoj krvi zdravih darivatelja i bolesnika s rakom (62).

### ***1.8.2. New York esophageal squamous cell carcinoma-1 (NY-ESO-1)***

NY-ESO-1 (New York esophageal squamous cell carcinoma-1) je jedan od najistraživanijih CTA, izražen je u brojnim tumorima, uključujući karcinom jajnika (63, 64, 65, 66, 67, 68). Prvi put je otkriven u krvi bolesnika s karcinomom pločastih stanica jednjaka. Prema dosadašnjim saznanjima, izrazito je imunogeničan i dovodi do razvoja specifične B i T stanične imunosti (52, 54, 60). Njegova biološka funkcija nije do kraja razjašnjena, ali je opisano da ima ulogu u regulaciji staničnog ciklusa, apoptozi i staničnom rastu (69). Zbog izražene imunogeničnosti i izražaju ograničenom na tumorske stanice, NY-ESO-1 je kandidat za razvoj ciljane imunoterapije u obliku protutumorskih cjepiva i genetski modificiranih T limfocita (64, 69).

Iako su objavljeni brojni radovi u kojima se izražaj CTA povezuje s lošijim preživljenjem u različitim zloćudnim tumorima, do sad nije analizirana povezanost njihova izražaja s odgovorom na prvolinijsku kemoterapiju temeljenu na platini, ni trajanje odgovora na istu. Povezanost izražaja CTA s odgovorom i trajanjem odgovora na kemoterapiju je važna u selekciji bolesnica s uznapredovalim HGSOE-om, kojima bi kemoterapija temeljena na platini bila neučinkovita, a toksičnost terapije nepotrebna otežavajuća okolnost za daljnje liječenje.

## **2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA**



## 2.1. Primarni ciljevi

Primarni cilj ovog retrospektivnog istraživanja je utvrditi izražaj sljedećih antigena raka i testisa (CTA): MAGE-A1, MAGE-A10, multi-MAGE i NY-ESO-1 u bioptičkim uzorcima seroznog karcinoma jajnika visokog stupnja primjenom imunohistokemijske metode.

Nakon toga, na osnovu osnovnih parametara učinkovitosti liječenja prikupljenih iz povijesti bolesti, utvrditi:

1. povezanost izraženosti navedenih CTA s razinom odgovora na prvolinijsku kemoterapiju temeljenu na spojevima platine,
2. povezanost izraženosti navedenih CTA s dužinom trajanja odgovora na prvolinijsku kemoterapiju temeljenu na spojevima platine.

## 2.2. Sekundarni ciljevi

Sekundarni ciljevi istraživanja su utvrditi:

1. povezanost izražaja CTA s dužinom preživljenja do napredovanja bolesti (engl. *progression free survival*, PFS),
2. povezanost izražaja CTA s dužinom ukupnog preživljenja (engl. *overall survival*, OS).

### **3. HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA**

1. Izražaj proteina antigena raka i testisa MAGE-A1, MAGE-A10, multi-MAGE i NY-ESO-1 identificira HGSOE u uznapredovalom stadiju koji će loše odgovoriti ili neće odgovoriti na kemoterapiju temeljenu na platini, odnosno imati kratko trajanje ostvarenog odgovora.
2. Izražaj antigena raka i testisa MAGE-A1, MAGE-A10, multi-MAGE i NY-ESO-1 u HGSOE je povezan s kraćim preživljenjem do napredovanja bolesti i i kraćim ukupnim preživljenjem.
3. Ciljana imunoterapija usmjerena na antigene raka i testisa mogla bi pružiti inovativne terapijske mogućnosti za bolesnice s HGSOE-om otpornim na platinu.

#### **4. METODE ISTRAŽIVANJA**

#### **4.1. Ispitanice**

U istraživanje su uključene 93 ispitanice s histološki potvrđenim HGSOE stadija III i IV prema FIGO klasifikaciji, koje su bile liječene u Kliničkom bolničkom centru Split i Općoj bolnici Zadar od 01. siječnja 1996. do 31. prosinca 2013. godine. Sve ispitanice su bile podvrgnute operativnom zahvatu i nakon toga liječene prvolinijskom kemoterapijom temeljenom na platini.

Kriteriji uključanja u studiju su bili slijedeći:

- ispitanice su imale cjelovitu medicinsku dokumentaciju iz koje je razvidno da su nakon operativnog zahvata bile liječene kemoterapijom temeljenom na spojevima platine,
- ispitanice su praćene po smjernicama dobre kliničke prakse po kojima je definiran odgovor na liječenje i trajanje istog, odnosno preživljenje do napredovanja bolesti i ukupno preživljenje.

Sve ispitanice imale su iz arhive dostupne parafinske blokove tumorskog tkiva za provjeru histološkog tipa tumora i imunohistokemijsku analizu izražaja CTA (MAGE-A1, MAGE-A10, multi-MAGE i NY-ESO-1).

Iz istraživanja su isključene:

- ispitanice koje su primale neoadjuvantnu kemoterapiju,
- ispitanice koje su odbile predloženu kemoterapiju,
- ispitanice s nepotpunim medicinskim podacima,
- ispitanice čije parafinske kocke tumorskog tkiva nisu bile dostupne,
- ispitanice koje su nakon operacije liječene i praćene u drugim ustanovama.

#### **4.2. Postupci**

Ispitanice su klasificirane prema: životnoj dobi, FIGO stadiju bolesti, veličini ostatnog tumora nakon primarne operacije, vrsti kemoterapije i broju ciklusa kemoterapije, dužini PFS i OS.

Podaci o stopi odgovora na terapiju, PFS i OS dobiveni su iz medicinske dokumentacije.

#### **4.2.1. *Odgovor na kemoterapiju***

Odgovor na kemoterapiju definiran je prema RECIST 1.1 kriterijima kao potpun (kompletan) odgovor, djelomični (parcijalni) odgovor, stabilna bolest i progresija bolesti (70, 71).

Potpun (kompletan) odgovor je definiran povlačenjem svih ciljnih lezija.

Djelomični (parcijalni) odgovor je definiran  $\geq 30\%$ -tnim smanjenjem zbira dimenzija ciljnih lezija.

Progresija bolesti je definirana  $\geq 20\%$ -tnim povećanjem zbira dimenzija poznatih ciljnih lezija, kao i pojavom jedne ili više novih lezija.

Stabilna bolest je definirana smanjenjem zbira dimenzija ciljnih lezija za manje od 30%, odnosno povećanjem zbira dimenzija ciljnih lezija za manje od 20%.

Objektivni odgovor na liječenje podrazumjeva udio bolesnica koje na kemoterapijsko liječenje odgovore potpunim i djelomičnim odgovorom (ORR=CR+PR).

Klinička dobit liječenja podrazumjeva udio bolesnica koje na kemoterapijsko liječenje odgovore potpunim, djelomičnim odgovorom i imaju stabilnu bolest (CBR=CR+PR+SD) (71).

#### **4.2.2. *Kemoosjetljivost na spojeve platine***

Kemoosjetljivost na spojeve platine definirana je prema platina-slobodnom intervalu kao platina-osjetljiva, platina-rezistentna i platina-refraktorna (72, 73, 74, 75).

Bolesnice koje dožive povrat bolesti nakon 6 mjeseci od završetka kemoterapije pripadaju skupini "platina-osjetljivih" bolesnica.

Bolesnice koje odgovore na kemoterapiju i razviju povrat bolesti unutar 6 mjeseci od završetka iste pripadaju skupini "platina-rezistentnih".

Bolesnice kojima bolest napreduje ili imaju stabilnu bolest tijekom prvolinijske kemoterapije ili pak dožive povrat bolesti unutar mjesec dana od završetka iste pripadaju skupini "platina-refraktornih" bolesnica.

#### **4.2.3. Preživljenje do napredovanja bolesti (PFS) i ukupno preživljenje (OS)**

Preživljenje do napredovanja bolesti (PFS) definirano je razdobljem od dijagnoze bolesti do pojave po RECIST-u definiranih kriterija rasta postojećih ili pojave novih mjerljivih lezija, dijagnoze novog primarnog tumora ili smrti bolesnice (76).

Ukupno preživljenje (OS) definirano je razdobljem od dijagnoze bolesti do zadnjeg pregleda ili smrti bolesnice (76).

Bolesnice u ovom istraživanju praćene su do 31. prosinca 2016. godine.

#### **4.2.4. Ostatna bolest nakon kirurškog liječenja**

Ostatna bolest nakon kirurškog liječenja definirana je temeljem intraoperacijskog nalaza ginekologa-operatera i temeljem postoperativnog nalaza kompjutorizirane tomografije (CT) abdomena i zdjelice (29, 32, 38, 39, 77, 78, 79, 80).

Bolesnice su prema ostatnoj bolesti nakon primarne kirurške citoredukcije klasificirane u 3 skupine:

- optimalno resecirane (R0, nema vidljive postoperativne ostatne bolesti),
- suboptimalno resecirane (R1, vidljiva ostatna bolest),
- nepoznati status ostatne bolesti (RX).

### **4.3. Imunohistokemijska analiza**

Imunohistokemijsko bojenje urađeno je na histološkim prepratima debljine 4  $\mu$ m izreznim iz parafinskih blokova tumorskog tkiva. U predanalitičkom postupku su preparati strojno priređeni na standardni način i potom strojno obojeni monoklonskim protutijelima: 3GA11 (protu-MAGE-A10), 77B2 (protu-MAGE-A1), 57B (protu-multi-MAGE) odnosno D8.38 (protu-NY-ESO-1) na uređaju Ventana BenchMark Ultra (Roche, Tucson, AZ, SAD) (52, 66, 81, 82). Za vizualizaciju reakcije korišten je Optiview detekcijski kit i bojenje diaminobenzidinom (DAB) (Ventana, Roche). Isječci tkiva humanog testisa služili su kao pozitivna kontrola. Negativna kontrola bio je preparat u kojem je urađen navedeni postupak, ali nije bilo aplicirano primarno protutijelo. Mikroskopski je pozitivan izražaj bio smeđe

citoplazmatsko i/ili nuklearno obojenje, neovisno o intenzitetu bojanja, s graničnom vrijednošću  $\geq 10\%$  tumorskih stanica.

Histološku analizu i vrednovanje postotka pozitivnih tumorskih stanica uradila su neovisno dva patologa na mikroskopu Olympus BX 46 odnosno BX 51 (Olympus, Tokyo, Japan).

#### **4.4. Statistički postupci**

Prikupljeni podaci uneseni su u program Microsoft Exel za Windows 2007. Za izračun statističke značajnosti korišten je program Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) software verzija 20 za Windows; SPSS Inc., Chicago, Illinois.

Rezultati su prikazani u vidu tablica i grafikona, a interpretirani na razini značajnosti  $p \leq 0.05$  kod svih primijenjenih testova.

Za usporedbu kategorijskih varijabli, odnosno imunohistokemijske izraženosti analiziranih CTA i kliničkih parametara, korišten je  $\chi^2$  test i test logističke regresije. Coxovom regresijskom uninominalnom i multinominalnom analizom utvrđena je povezanost istraživanih varijabli s PFS i OS izaženim u mjesecima.

U analizi preživljenja korištena je Kaplan-Meierova krivulja preživljenja. Razlika u preživljenju ispitana je log-rank testom.



## **5. REZULTATI**

## **5.1. Kliničko-patološka obilježja ispitanica**

U istraživanje su uključene 93 ispitanice s uznapredovalim HGSOE-om, dijagnosticirane i liječene u Kliničkom bolničkom centru Split i Općoj bolnici Zadar od 01. siječnja 1996. do 31. prosinca 2013. godine. Prosječna dob ispitanica bila je 57 godina (IQR 37-79 godina). Sve ispitanice su bile dijagnosticirane u uznapredovalom stadiju bolesti; 72 (77%) u FIGO III stadiju bolesti, a 21 (23%) u FIGO stadiju IV. Ispitanice su podvrgnute operativnom zahvatu nakon kojeg su liječene prvolinijskom kemoterapijom temeljenom na platini u kombinaciji s drugim kemoterapeutičima, sa 6 ili više ciklusa liječenja. Medijan praćenja bio je 60 (IQR 4-175) mjeseci.

Do kraja praćenja, umrlo je 67 (72%) ispitanica. Od 26 (28%) preživjelih ispitanica, 9 (35%) su razvile povrat bolesti.

Kliničko-patološki podaci o FIGO stadiju, ishodu operacije, liječenju kemoterapijom i broju ciklusa kemoterapije te vremenu bez povrata bolesti dobiveni su iz patohistoloških nalaza i medicinske dokumentacije bolesnica, a navedeni su u Tablici 2.

**Tablica 2.** Kliničko-patološke karakteristike ispitanica oboljelih od uznapredovalog seroznog karcinoma jajnika visokog stupnja prema kvalitativnim i kvantitativnim varijablama na kraju praćenja

		Status ispitanica na kraju praćenja			
		Ukupno (N=93)	Umrlo (N=67)	Živa s povratom bolesti (N=9)	Živa bez povrata bolesti (N=17)
Životna dob (median, IQR)		57 (35-79)	59 (37-79)	62 (49-75)	54 (44-76)
PFS (median, IQR)		16 (4-175)	14 (4-109)	22 (8-42)	37 (16-175)
OS (median, IQR)		40 (7-175)	36 (7-144)	44 (34-83)	69 (37-175)
FIGO stadij (N, %)	III	72 (77%)	50 (75%)	6 (67%)	16 (94%)
	IV	21 (23%)	17 (25%)	3 (33%)	1 (6%)
Ishod kirurškog liječenja (N, %)	optimalno	14 (15%)	10 (15%)	0	4 (24%)
	suboptimalno	75 (81%)	54 (80%)	9 (100%)	12 (71%)
	nepoznato	4 (4%)	3 (4%)	0	1 (5%)
Broj kemoterapijskih ciklusa (N, %)	≤6	60 (64%)	39 (58%)	5 (56%)	12 (71%)
	>6	33 (36%)	28 (42%)	4 (44%)	5 (29%)
Recidiv (N, %)	DA	81 (87%)	64 (95%)	9 (100%)	8 (47%)
	NE	12 (13%)	3 (5%)	0	9 (53%)

*N* broj, *IQR* interkvartilni raspon, *PFS* preživljenje do progresije bolesti, *OS* ukupno preživljenje, *FIGO* međunarodno udruženje ginekologa i opstetričara

## 5.2. Imunohistokemijska analiza s CTA

Na prepratima izrezanima iz parafinskog bloka tumorskog tkiva urađeno je imunohistokemijsko bojenje s protutijelima na antigene raka i testisa.

Rezultati bojenja s CTA (MAGE-A1, multi-MAGE, MAGE-A10 i NY-ESO-1) u HGSOC-u kod 93 ispitanice prikazani su u Tablici 3.

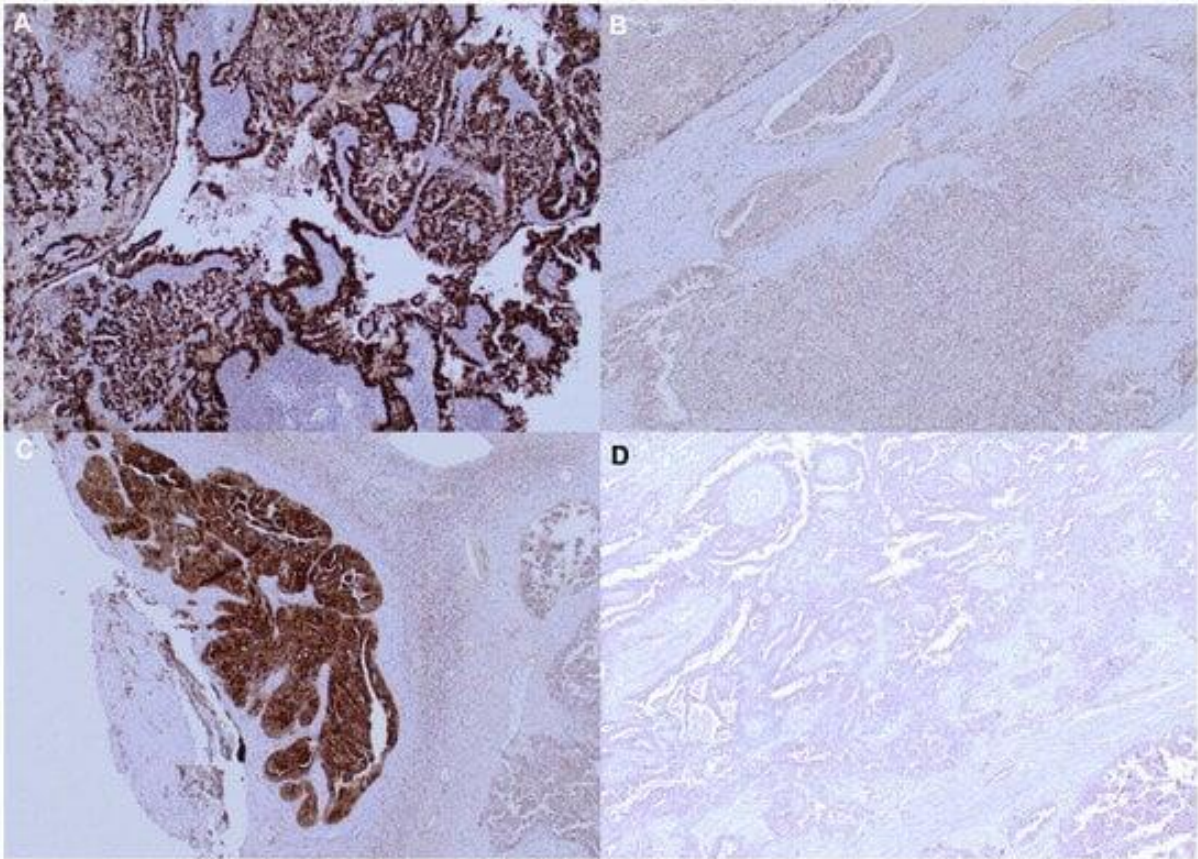
**Tablica 3.** Imunohistokemijski izražaj CTA (MAGE-A1, multi-MAGE-A, MAGE-A10 i NY-ESO-1) u tumorskom tkivu kod 93 ispitanice s uznapredovalim HGSOc

Protutijelo	Pozitivan izražaj (N,%)	Negativan izražaj (N,%)
MAGE-A1	89 (96)	4 (4)
MAGE-A10	47 (51)	46 (49)
multi-MAGE	80 (86)	13 (14)
NY-ESO-1	33 (35)	60 (65)

*N* broj

Pozitivni imunohistokemijski izražaj MAGE-A1 nađen je u 89 (96%), MAGE-A10 u 47 (50%), multi-MAGE u 80 (86%) i NY-ESO-1 u 33 (35%) uznapredovalih seroznih karcinoma visokog gradusa. Pozitivan izražaj svih analiziranih CTA je nađen u 24 (26%) slučajeva.

Pozitivan izražaj MAGE-A1 i MAGE-A10 bio je smeđe nuklearno obojenje zloćudnih stanica, multi-MAGE neselektivno smeđe nuklearno/citoplazmatsko obojenje, a NY-ESO-1 smeđe uglavnom citoplazmatsko obojenje (Slika 11.).



**Slika 11.** Izražaj MAGE-A10 i NY-ESO-1 u uzorcima seroznog karcinoma jajnika visokog stupnja. (A) Pozitivni izražaj MAGE-A10 u tumorskim stanicama; (B) Negativni izražaj MAGE-A10 u tumorskim stanicama; (C) Pozitivni izražaj NY-ESO-1 u tumorskim stanicama; (D) Negativni izražaj NY-ESO-1 u tumorskim stanicama. Izvorno povećanje  $\times 200$ .

U Tablici 4 prikazani je izražaj CTA u tumoru i status na kraju praćenja kod 93 ispitanice s uznapredovalim stadijem seroznog karcinoma jajnika visokog stupnja.

**Tablica 4.** Izražaj CTA u tumoru s obzirom na status na kraju praćenja kod 93 ispitanice s uznapredovalim stadijem seroznog karcinoma jajnika visokog stupnja

		Ukupno (N=93)	Umrle (N=67)	Žive s povratom bolesti (N=9)	Žive bez povrata bolesti (N=17)
MAGE-A1	pozitivno	89 (96%)	58 (98%)	8 (89%)	13 (76%)
	negativno	4 (4%)	1 (2%)	1 (11%)	4 (24%)
multi-MAGE	pozitivno	80 (86%)	50 (85%)	3 (34%)	15 (88%)
	negativno	13 (14%)	9 (15%)	6 (66%)	2 (12%)
MAGE-A10	pozitivno	47 (50%)	41 (61%)	4 (44%)	2 (12%)
	negativno	46 (50%)	26 (39%)	5 (56%)	15 (88%)
NY-ESO-1	pozitivno	33 (35%)	25 (37%)	3 (34%)	5 (42%)
	negativno	60 (65%)	42 (63%)	6 (66%)	12 (58%)

*N* broj

Imunohistokemijsko bojenje s MAGE-A1 i multi-MAGE bilo je pozitivno u gotovo svim analiziranim slučajevima, u 96% odnosno 86%. Među umrlima je izražaj MAGE-A1 u tumoru bio u 98%, a multi-MAGE u 85% slučajeva. Zbog premalog negativnog izražaja i nedovoljne snage statističkog testa, ovi su biljezi isključeni iz daljnje analize (83, 84, 85, 86). Analiza odgovora na liječenje i rezistenciju na kemoterapiju urađena je u odnosu na izražaj MAGE-A10 i NY-ESO-1.

### 5.3. Odgovor na liječenje kemoterapijom

Ispitanice su liječene kemoterapijom temeljenom na platini u 6 ili više od 6 ciklusa terapije. U Tablici 5. objavljena je analiza odgovora na liječenje.

**Tablica 5.** Odgovor na liječenje prvolinijskom kemoterapijom temeljenom na spojevima platine kod 93 ispitanice s uznapredovalim stadijem seroznog karcinoma jajnika visokog stupnja

		Odgovor na liječenje			
		CR (N=62)	PR (N=11)	SD (N=5)	PROG (N=15)
Životna dob (godina)		55 (37-77)	55 (43-75)	61 (50-67)	66 (50-79)
FIGO stadij	III	53 (85%)	9 (82%)	2 (40%)	8 (54%)
	IV	9 (15%)	2 (18%)	3 (60%)	7 (46%)
Ishod kirurškog liječenja	optimalno	14 (23%)	0	0	0
	suboptimalno	45 (73%)	10 (91%)	5 (100%)	15 (100%)
	nepoznato	3 (4%)	1 (9%)	0	0
Broj kemoterapijskih ciklusa	≤6	50 (81%)	11 (100%)	5 (100%)	15 (100%)
	>6	12 (19%)	0	0	0

*N* broj, *CR* potpuni odgovor na liječenje, *PR* djelomični odgovor na liječenje, *SD* stabilna bolest, *PD* progresija bolesti, *FIGO* međunarodno udruženje ginekologa i opstetričara

Prema RECIST 1.1 kriterijima, 62 (66.7%) ispitanice su pokazale potpuni odgovor na kemoterapiju (CR), 11 (11.8%) ispitanica djelomični odgovor (PR), a kod 5 (5.4%) ispitanica je potvrđena stabilna bolest (SD). Čak 15 (16.1%) ispitanica nisu imale odgovor na liječenje kemoterapijom te je nastupila progresija bolesti (PD) unatoč ordiniranoj kemoterapiji (Tablica 5.).

#### 5.4. Povezanost izražaja CTA s odgovorom na kemoterapiju

Povezanost izražaja MAGE-A10 i NY-ESO-1 s odgovorom na prvolinijsku kemoterapiju temeljenu na spojevima platine tj. kemoosjetljivost na spojeve platine kod 93 ispitanice s uznapredovalim stadijem seroznog karcinoma jajnika visokog stupnja prikazani su u Tablici 6.

**Tablica 6.** Povezanost imunohistokemijskog izražaja MAGE-A10 i NY-ESO-1 s odgovorom na prvolinijsku kemoterapiju temeljenu na spojevima platine, odnosno kemoosjetljivost kod 93 ispitanice s uznapredovalim HGSOE.

		Izraženost CTA i odgovor na liječenje				
		UKUPNO (N=93)	CR (N=62)	PR (N=11)	SD (N=5)	PD (N=15)
MAGE A10	pozitivno	51 (55%)	22 (35%)	8 (73%)	4 (80%)	13 (87%)
	negativno	42 (45%)	40 (65%)	3 (27%)	1 (20%)	2 (17%)
NY-ESO-1	pozitivno	37 (40%)	16 (26%)	9 (82%)	2 (40%)	6 (40%)
	negativno	56 (60%)	46 (74%)	2 (18%)	3 (60%)	9 (60%)
Kemoosjetljivost	osjetljivi	58 (62%)	54 (87%)	4 (36%)	0	0
	rezistentni	23 (25%)	8 (13%)	7 (64%)	5 (100%)	3 (20%)
	refrakterni	12 (13%)	0	0	0	12 (80%)

*N* broj, *CR* potpuni odgovor na liječenje, *PR* djelomični odgovor na liječenje, *SD* stabilna bolest, *PD* progresija bolesti

Što se tiče osjetljivosti na prvolinijsku kemoterapiju temeljenu na spojevima platine, 58 (62.4%) ispitanica je pokazalo kemoosjetljivost, 23 (24.7%) kemorezistentnost, a u 12 (12.9%) je bolest napredovala tijekom ordiniranja kemoterapije.

U daljnjoj statističkoj analizi ispitanice su podjeljene u dvije skupine po dobi: ≤57 godina (1. skupina) i >57 godina (2. skupina); po nalazu kirurškog liječenja na dvije skupine: optimalno (1. skupina) i suboptimalno/nepoznato (2. skupina), ispitanice s rezistentnom i refraktornom bolešću (2+3) spojene su u zajedničku skupinu "rezistentnih"(2).

Odgovor na liječenje je analiziran  $\chi^2$  testom.



**Tablica 7.** Univarijatna analiza poveznosti praćenih varijabli s odgovorom na liječenje prvolinijskom kemoterapijom temeljenom na spojevima platine kod 93 ispitanice s uznapređovanim HGSOE.

	Izražaj	Odgovor na liječenje		$\chi^2$	p	Odds ratio (95% CI)	P <sup>''</sup>
		CR+PR (N=73)	SD+PD (N=20)				
MAGE A10	pozitivan* negativan	30 (41%) 43 (59%)	17 (85%) 3 (15%)	10.4	0.001	8.1 (2.2-30)	0.002
NY-ESO-1	pozitivan negativan	25 (34%) 48 (66%)	8 (40%) 12 (60%)	0.045	0.832 <sup>''</sup>		
FIGO stadij	III IV*	62 (85%) 11 (15%)	10 (50%) 10 (50%)	9.0	0.003 <sup>''</sup>	5.6 (1.9-16.7)	0.002
Ishod kirurškog liječenja	optimalan suboptimalan/ nepoznat	14 (20%) 59 (80%)	0 20 (100%)	3.4	0.065 <sup>''</sup>		
Broj ciklusa KT	≤6 >6	50 (68%) 23 (32%)	10 (50%) 10 (50%)	1.6	0.205 <sup>''</sup>		
Kemoosjetljivost	osjetljive rezistentne refrakterne	58 (80%) 15 (20%) 0	0 8 (40%) 12 (60%)	67 39	<0.001 <0.001		
Recidiv	da ne	61 (84%) 12 (16%)	20 (100%) 0	2.45	0.117		
Dob (godine)	≤57 >57*	42 (58%) 31 (42%)	5 (25%) 15 (75%)	5.4	0.02	4.1 (1.3-12.4)	0.014

N broj, CI confidence interval, FIGO međunarodno udruženje ginekologa i opstetričara, CR potpuni odgovor na liječenje, PR djelomični odgovor na liječenje, SD stabilna bolest, PD progresija bolesti; \*referentni nivo; <sup>''</sup> $\chi^2$  test; <sup>''</sup>logistička regresija

Omjer izgleda za kompletni i parcijalni odgovor (CR+PR) u odnosu na stabilnu bolest i progresiju bolesti (SD+PROG) za 8 puta je veći u skupini ispitanica s MAGE-A10 negativnim tumorom nego u skupini ispitanica s MAGE-A10 pozitivnim tumorom (p=0.001).

Omjer izgleda za kompletni i parcijalni odgovor na kemoterapiju (CR+PR) u odnosu na stabilnu bolest i progresiju bolesti (SD+PD) je 5.6 puta veći kod ispitanica s FIGO stadijem III u odnosu na ispitanice s FIGO stadijem IV (p=0.002).

Omjer izgleda za CR+PR u odnosu na SD+PD je za 4 puta veći u skupini mlađih ispitanica (≤57 godina) nego u skupini ispitanica > 57 godina (p=0.002).

Univarijatna analiza odgovora na kemoterapiju temeljenu na platini pokazala je da izražaj MAGE-A10 u tumorskim stanicama predviđa slab odgovor na liječenje ( $p=0.001$ ).

Nije utvrđena povezanost NY-ESO-1 s odgovorom na prvolinijsku kemoterapiju temeljenu na platini ( $p=0.832$ ).

U multivarijatnu regresijsku analizu odgovora na kemoterapiju uključeni su svi prediktori koji su u univarijatnoj logističkoj analizi pokazali statistički značajnu povezanost s odgovorom na terapiju.

**Tablica 8.** Multivarijatna regresijska analiza dobi ispitanica, FIGO stadija i izražaja MAGE-A10 s odgovorom na prvolinijsku kemoterapiju temeljenu na platini kod 93 ispitanice s uznapredovalim stadijem seroznog karcinoma jajnika visokog stupnja.

	Odds ratio (95% CI)	p
Životna dob	4.2 (1.2-14.6)	0.025
FIGO stadij	5.7 (1.6-21)	0.007
MAGE-A10	7.4 (1.8-29.8)	0.005

FIGO međunarodno udruženje ginekologa i opstetričara, CI confidence interval

Potvrđena je statistički značajna povezanost sve tri varijable (dob, stadij, MAGE-A10) s odgovorom na terapiju (CR+PR; SD+PD).

Bolji odgovor na liječenje, izražen putem objektivnog odgovora (CR+PR=ORR, engl. *objective response rate*), pokazale su mlađe ispitanice, ispitanice s nižim FIGO stadijem bolesti i negativni izražaj MAGE-A10 u tumorskim stanicama.

Multivarijantna analiza pokazala je da je izražaj MAGE-A10 u tumorskim stanicama, zajedno s dobi ispitanica i stadijem tumora, neovisni prediktor rezistencije na prvolinijsku kemoterapiju temeljenu na platini ( $p=0.005$ ) (Tablica 8.).

## 5.5. Osjetljivost na kemoterapiju temeljenu na platini

Povezanost između izražaja MAGE-A10 i NY-ESO-1, kliničkih varijabli (dob, stadij bolesti, opseg kirurškog liječenja, broj kemoterapijskih ciklusa, recidiv bolesti) i osjetljivosti na kemoterapiju temeljenu na platini kod 93 ispitanice s uznapredovalim stadijem seroznog karcinoma jajnika visokog stupnja prikazana je u Tablici 9.

**Tablica 9.** Izražaj MAGE-A10 i NY-ESO-1, kliničke varijable i osjetljivost na prvolinijsku kemoterapiju temeljenu na spojevima platine kod 93 ispitanice s uznapredovalim HGSOE.

		Kemoosjetljivost			
	Izražaj	senzitivni (N=58)	rezistentni i refrakterni (N=35)	p	95% CI ods ratio, p
Dob (godina)		56 (40-77)	59 (37-79)	0.299*	-
Izražaj MAGE A10	pozitivan negativan*	20 (34%) 38 (66%)	27 (77%) 8 (23%)	<0.001*	6.4 (2.5-16.7); p<0.001
Izražaj NY-ESO-1	pozitivan negativan	17 (29%) 41 (71%)	16 (46%) 19 (54%)	0.109 <sup>+</sup>	-
FIGO stadij	III* IV	50 (86%) 8 (14%)	22 (63%) 13 (37%)	0.019 <sup>+</sup>	3.7 (1.3-10.2); p=0.012
Ishod kirurškog liječenja	optimalan suboptimalan	14 (24%) 44 (71%)	0 35 (100%)	4	
Broj kemoterapijskih ciklusa	≤6 >6	42 (72%) 16 (28%)	18 (51%) 17 (49%)	0.068 <sup>+</sup>	2.5 (1.0-6.0); p=0.043
Recidiv	1 2	46 (79%) 12 (21%)	35 (100%)	0.010 <sup>+</sup>	

N broj, CI confidence interval, FIGO međunarodno udruženje ginekologa i opstetričara, \*Referentni nivo, +Mann Whitney test

Nije dokazana statistički značajna razlika u životnoj dobi ispitanica u odnosu na razvoj kemoosjetljivosti na spojeve platine ( $\chi^2=1.0$ ;  $p=0.299$ ). Omjer izgleda za razvoj rezistencije na kemoterapiju kod skupine 2 (rezistentne i refrakterne) u odnosu na skupinu 1 (senzitivne) je 6.4 puta veći u skupini MAGE-A10 pozitivnih, nego u skupini MAGE-A10 negativnih tumora.

Omjer izgleda za nastanak rezistencije na kemoterapiju u skupini 2 (rezistentne i refrakterne) u odnosu na skupinu 1 (senzitivne) je za 2.5 puta veći u skupini ispitanica s većim brojem ciklusa kemoterapije.

**Tablica 10.** Univarijatna analiza osjetljivosti na kemoterapiju temeljenu na platini, kliničkih varijabli (dob bolesnica, FIGO stadij bolesti, opseg kirurškog liječenja, broj kemoterapijskih ciklusa, recidiv bolesti) i izražaja MAGE-A10 i NY-ESO-1 kod 93 ispitanice s uznapredovalim stadijem seroznog karcinoma jajnika visokog stupnja.

		Osjetljivost na kemoterapiju					
		senzitivni (N=58)	rezistentni i refrakterni (N=35)	$\chi^2$	P	95% CI ods ratio	P
Dob, godina	1	31 (53%)	16 (46%)	0.259	0.611		
	2	27 (47%)	19 (54%)				
MAGE A10	poz	20 (34%)	27 (77%)	14.2	<0.001	6.4 (2.5-16.7)	<0.001
	neg	38 (66%)	8 (23%)				
NY-ESO-1	poz	17 (29%)	16 (46%)	1.9	0.168		
	neg	41 (71%)	19 (54%)				
FIGO stadij	III	50 (86%)	22 (63%)	5.5	0.019	3.7 (1.3-10.2)	7.012
	IV	8 (14%)	13 (37%)				
Ishod kirurškog liječenja	1	16 (28%)	0	8.4	0.004		
	2	42 (72%)	35 (100%)				
Broj kemoterapijskih ciklusa	$\leq 6$	42 (72%)	18 (51%)	3.3	0.068	2.5 (1.0-6)	0.043
	$> 6$	16 (28%)	17 (49%)				
Recidiv	da	46 (79%)	35 (100%)	6.6	0.010		
	ne	12 (21%)	0				

N broj, FIGO međunarodno udruženje ginekologa i opstetričara, 1 optimalno, 2 suboptimalno+nepoznato,  $\chi^2$  test, CI confidence interval

Univarijatnom analizom nije dokazana značajnost razlike u osjetljivosti na kemoterapiju s obzirom na životnu dob ispitanica ( $\chi^2=0.259$ ;  $p=0.611$ ).

Udio ispitanica pozitivnih na MAGE-A10 u skupini 2 (rezistentnih i refraktornih) je za 2.2 puta veći nego u skupini 1 (senzitivni) ( $\chi^2=14.2$ ;  $p<0.001$ ).

Nije dokazana statistički značajna razlika među skupinama ispitanica podjeljenih temeljem kemoosjetljivosti s obzirom na izražaj NY-ESO-1 u tumoru ( $\chi^2=1.9$ ;  $p=0.168$ ).

U skupini ispitanica s kemosenzitivnom bolesti je za 2.6 puta manje ispitanica s FIGO stadijem IV bolesti nego u skupini 2 (rezistentna i refraktorna bolest) ( $\chi^2=5.5$ ;  $p=0.019$ ).

Nije dokazana statistički značajna razlika u skupinama ispitanica prema broju ciklusa kemoterapije (1= $\leq$ 6, 2= $\geq$ 6) u odnosu na terapijski odgovor ( $\chi^2=3.3$ ;  $p=0.068$ ).

U skupini ispitanica 2 (rezistentnih i refraktornih) ni jedna ispitanica nije imala remisiju bolesti ( $\chi^2=6.6$ ;  $p=0.010$ ).

Dalje je urađena multivarijatna regresijska analiza kemorezistencije.

U multivarijatnu regresijsku analizu za kemorezistenciju uključeni su MAGE-A10 i klinički prediktori.

**Tablica 11.** Multivarijatna regresijska analiza utjecaja stadija bolesti, ciklusa kemoterapije i izraženosti MAGE-A10 na kemoosjetljivost u 93 ispitanice s uznapredovalim stadijem HGSOc-a.

	Odds ratio 95%	p
FIGO stadij	3.1 (1.0-9.9)	0.050
MAGE-A10	6 (2.2-16.4)	<0.001
Broj ciklusa kemoterapije	1.8 (0.65-4.8)	0.265

FIGO međunarodno udruženje ginekologa i opstetričara

Multivarijatnom regresijskom analizom potvrđena je povezanost izražaja MAGE-A10 i stadija bolesti s kemoosjetljivošću ( $p<0.001$ ). Ispitanice u višem FIGO stadiju i s tumorom koji je pokazivao pozitivni izražaj MAGE-A10 imale su češće rezistenciju na kemoterapiju temeljenu na spojevima platine.

Prema multivarijantnoj analizi, izražaj MAGE-A10 u tumorskim stanicama je neovisni pokazatelj rezistencije na prvolinijsku kemoterapiju temeljenu na platini ( $p<0.001$ ) ( Tablica 11.).

## 5.6. Analize preživljenja

### 5.6.1. Preživljenje do progresije bolesti (PFS)

Analiza preživljenja Log rank testom za preživljenje do progresije bolesti (PFS) prema ispitivanim varijablama prikazana je u Tablici 12.

**Tablica 12.** Analiza preživljenja do progresije bolesti (PFS) Log rank testom kod 93 ispitanice s uznapredovalim stadijem seroznog karcinoma jajnika visokog stupnja

	N	Medijan (SE) (95% CI), mjeseci	LR	p
Dob (godine)				
≤57	47	17 (3.4) (10-24)	2.9	0.089
>57	46	16 (1.9) (12-20)		
FIGO stadij				
III	72	21 (2) (17-25)	5.8	0.016
IV	21	11 (2.3) (6.5-15)		
Ishod kirurškog liječenja				
optimalan	14	21 (1.4) (18-24)	1.9	0.164
suboptimalan	79	16 (1.5) (13-19)		
Ciklusi				
≤6	60	19 (1.9) (15-23)	0.926	0.336
>6	33	14 (2) (10-18)		
Odgovor 1				
CR+PR(ORR)	73	21 (1.6) (18-24)	86.5	<0.001
SD+PD	20	7 (0.64) (5.7-8.2)		
Odgovor 2				
CR+PR+SB(CBR)	78	21 (2.2) (17-25)	62.66	<0.001
PD	15	7 (0.95) (5-9)		
MAGE-A10				
pozitivno	47	12 (1.4) (9-15)	23	<0.001
negativno	46	25 (2.5) (20-30)		
NY-ESO-1				
pozitivno	33	14 (1.9) (10-18)	2.5	0.116
negativno	60	21 (2) (16-26)		

*N* broj, *SE* (engl. standard error) standardna greška, *CI* confidence interval, *LR* Log rank test, *FIGO* međunarodno udruženje ginekologa i opstetričara, *CR* potpuni odgovor na liječenje, *PR* djelomični odgovor na liječenje, *ORR* stopa objektivnog odgovora na liječenje, *SD* stabilna bolest, *PD* progresija bolesti, *CBR* stopa kliničke dobiti liječenja

Log rank testom za preživljenje do progresije bolesti (PFS) nismo dokazali da su dob ispitanice (≤57 prema >57 godina) (p=0.089), stadij bolesti (FIGO III prema IV) (p=0.016), ishod kirurškog liječenja (optimalno prema suboptimalno) (p=0.016) i broj ciklusa kemoterapije (≤6 prema >6) (p=0.336) statistički značajno povezani s preživljenjem do progresije bolesti (Tablica 12.).

Statistički značajna povezanost utvrđena je između PFS i objektivnog odgovora na kemoterapiju (CR+PR vs SD+PD) ( $p < 0.001$ ), kliničke dobiti liječenja (CR+PR+SD vs PD) ( $p < 0.001$ ) i izražaja MAGE-A10 (pozitivan prema negativan) ( $p < 0.001$ ) (Tablica 12.).

Nije dokazana statistički značajna povezanost između izražaja NY-ESO-1 i preživljenja do progresije bolesti (LR=2.5,  $p=0.126$ ).

**Tablica 13.** Cox-ova univarijatna regresijska analiza dobi ispitanica, FIGO stadija bolesti, ishoda kirurškog liječenja, broja kemoterapijskih ciklusa, objektivnog odgovora na liječenje, kliničke dobiti liječenja i izražaja MAGE-A10 s preživljenjem do progresije bolesti (PFS) kod 93 ispitanice s uznapredovalim stadijem seroznog karcinoma jajnika visokog stupnja.

	HR (95% CI)	p
Dob	1.5 (0.93-2.2)	0.098
FIGO stadij bolesti	1.8 (1.1-3.3)	0.020
Ishod kirurškog liječenja	1.1 (0.68-1.7)	0.787
Broj kemoterapijskih ciklusa	1.2 (0.79-1.9)	0.348
Odgovor 1. ORR	11.9 (6.3-22.6)	<0.001
Odgovor 2. CBR	8.9 (4.6-17.1)	<0.001
MAGE-A10	2.9 (1.8-4.6)	<0.001
NY-ESO-1	0.704 (0.45-1.1)	0.126

*N* broj, *SE* (engl. standard error) standardna greška, *CI* confidence interval, *LR* Log rank test, *FIGO* međunarodno udruženje ginekologa i opstetričara, *CR* potpuni odgovor na liječenje, *PR* djelomični odgovor na liječenje, *ORR* stopa objektivnog odgovora na liječenje, *SD* stabilna bolest, *PD* progresija bolesti, *CBR* stopa kliničke dobiti liječenja

Ispitanice s ostvarenim objektivnim odgovorom na liječenje (ORR) imale su 11.9 puta duži medijan PFS nego ispitanice sa stabilnom bolesti i progresijom bolesti (LR=86.5,  $p < 0.001$ ). Ispitanice s ostvarenom kliničkom dobiti liječenja (CBR) imale se 8.9 puta duži medijan PFS nego ispitanice kod kojih je došlo do progresije bolesti (LR=62.6,  $p < 0.001$ ) (Tablica 12.).

Medijan PFS je bio 2.9 puta duži u skupini ispitanica s negativnom izražajem MAGE A10 nego u skupini s MAGE-A10 pozitivnom izražajem (LR=23,  $p < 0.001$ ). Nije dokazana povezanost između izražaja NY-ESO-1 i medijana PFS (LR=2.5,  $p=0.126$ ) (Tablica 12.).

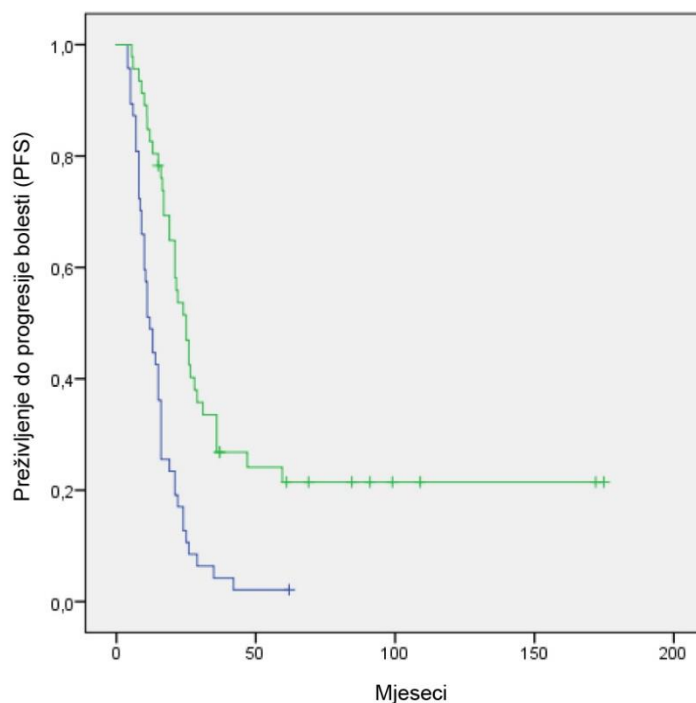
Coxova regresijska uninominalna analiza preživljenja do progresije bolesti (PFS) je pokazala statistički značajnu povezanost PFS s objektivnim odgovorom na liječenje (CR+PR vs SD+PD) ( $p < 0.001$ ), kliničkom dobiti liječenja (CR+PR+SD vs PD) ( $p < 0.001$ ) i s izražajem MAGE A10 (negativan prema pozitivan) ( $p < 0.001$ ) (Tablica 13.).

**Tablica 14.** Multivarijatna regresijska analiza FIGO stadija bolesti, izražaja MAGE-A10 u tumorskim stanicama i odgovora na prvolinijsku kemoterapiju temeljenu na platini s preživljenjem do progresije bolesti kod 93 ispitanice s uznapredovalim stadijem seroznog karcinoma jajnika visokog stupnja.

	HR (95% CI)	p
Odgovor 1. ORR	8.6 (4-18.5)	<0.001
MAGE-A10	2.1 (1.3-3.5)	0.005
FIGO stadij	0.93 (0.50-1.7)	0.816
Odgovor 2. CBR	5.6 (2.6-11.7)	<0.001
MAGE-A10	2.3 (1.4-3.8)	0.001
FIGO stadij	1.12 (0.64-2.1)	0.617

*HR* (engl. hazard ratio) odnos rizika, *CI* confidence interval, *FIGO* međunarodno udruženje ginekologa i opstetričara, *ORR* stopa objektivnog odgovora na liječenje, *CBR* stopa kliničke dobiti liječenja

Multivarijatna regresijska analiza preživljenja do progresije bolesti (PFS) potvrdila je statistički značajnu povezanost PFS s objektivnim odgovorom na liječenje (CR+PR prema SD+PD) ( $p < 0.001$ ), kliničkom dobiti liječenja (CR+PR+SD prema PD) ( $p < 0.001$ ) i s izražajem MAGE-A10 (negativan prema pozitivan) ( $p < 0.001$ ) (Tablica 14.).



**Slika 12.** Kaplan-Meierova krivulja preživljenja do progresije bolesti (PFS) i izražaja MAGE A10 kod 93 ispitanice s uznapredovalim stadijem seroznog raka jajnika visokog stupnja. Plava



linija predstavlja PFS ispitanica s pozitivnim izražajem MAGE-A10 (N=47), a zelena linija PFS ispitanica s negativnim izražajem MAGE-A10 (N=46).

Medijan PFS bio je 16 mjeseci (IQR raspon 4-175 mjeseci). Ispitanice s pozitivnim izražajem MAGE A10 imale su medijan PFS 12 mjeseci, a ipitanice s negativnim izražajem MAGE-A10 25 mjeseci ( $p < 0.001$ ). Izražaj MAGE-A10 u tumorskim stanicama predviđa značajno lošiji PFS ( $p < 0.001$ ) (Slika 12.).

Nije utvrđena povezanost između izražaja NY-ESO-1 i medijana PFS ( $p = 0.126$ ) (Tablica 13.).

### 5.6.2. Ukupno preživljenje

**Tablica 15.** Analiza ukupnog preživljenja prema ispitivanim varijablama log rank testom kod 93 ispitanice s uznapredovalim stadijem HGSOc

	N	medijan, SE, 95% CI, mjeseci	LR	p
Dob (godine)				
≤57	47	59 (7) (45-73)	3.1	0.077
>57	46	38.5 (6.4) (26-51)		
FIGO stadij				
III	72	59 (5) (48.5-69.5)	5.8	0.016
IV	21	25 (4.5) (16.5-34.5)		
Kirurško liječenje				
optimalno	14	62 (9.5) (43-81)	2.3	0.128
suboptimalno	79	40 (7) (26-54)		
Ciklusi				
≤6	60	52 (9.6) (33-71)	1.6	0.212
>6	33	40 (14) (13-67)		
Odgovor 1				
CR+PR(ORR)	73	60 (3.4) (53-67)	68	<0.001
SD+PD	20	19 (1.8) (16-22)		
Odgovor 2				
CR+PR+SB(CBR)	78	59 (4) (51-67)	59.9	<0.001
PD	15	15 (3.4) (8.4-22)		
MAGE-A10				
pozitivan	47	26 (62) (14-38)	27.6	<0.001
negativan	46	8 (13) (55-107)		
NY-ESO-1				
pozitivan	33	38.5 (6) (26-51)	0.947	0.330
negativan	60	55 (5) (45-65)		

*N* broj, *SE* (engl. standard error) standardna greška, *CI* confidence interval, *LR* Log rank test, *FIGO* međunarodno udruženje ginekologa i opstetričara, *CR* potpuni odgovor na liječenje, *PR* djelomični odgovor na liječenje, *ORR* stopa objektivnog odgovora na liječenje, *SD* stabilna bolest, *PD* progresija bolesti, *CBR* stopa kliničke dobiti liječenja

Log rank testom nije dokazana statistički značajna povezanost dobi ispitanica ( $\leq 57$  prema  $> 57$ ) ( $p=0.077$ ), ishoda kirurškog liječenja (optimalno prema suboptimalno) ( $p=0.128$ ) i broja ciklusa kemoterapije ( $\leq 6$  prema  $>6$ ) ( $p=0.212$ ) s ukupnim preživljenjem (OS) (Tablica 15.).

Utvrđena je statistički značajna povezanost između ukupnog preživljenja i stadija bolesti (III prema IV) ( $p=0.016$ ), objektivnog odgovora na kemoterapiju (CR+PR prema SD+PD) ( $p<0.001$ ), kliničke dobiti liječenja (CR+PR+SD prema PD) ( $p<0.001$ ) i izražaja MAGE-A10 (pozitivan prema negativan) ( $p<0.001$ ).

**Tablica 16.** Cox-ova univarijatna regresijska analiza dobi ispitanica, FIGO stadija bolesti, ishoda kirurškog liječenja, broja ciklusa kemoterapije, objektivnog odgovora na liječenje, kliničke dobiti liječenja i izraženosti MAGE-A10 s ukupnim preživljenjem kod 93 ispitanice s uznapredovalim stadijem HGSOc

	HR (95% CI)	P
Dob	1.5 (0.95-2.5)	0.081
FIGO stadij bolesti	1.95 (1.1-3.4)	0.019
Ishod kirurškog liječenja	1.7 (0.85-3.3)	0.135
Broj ciklusa kemoterapije	1.4 (0.835-2.2)	0.217
Odgovor 1. ORR	10.9 (5.5-21.6)	<0.001
Odgovor 2. CBR	10.5 (5-21.8)	<0.001
MAGE-A10	3.9 (2.3-6.7)	<0.001
NY-ESO-1	0.78 (0.48-1.3)	0.335

*HR* (engl. hazard ratio) omjer rizika, *CI* confidence interval, *FIGO* međunarodno udruženje ginekologa i opstetričara, *ORR* stopa objektivnog odgovora na liječenje, *CBR* stopa kliničke dobiti liječenja

Ispitanice s ostvarenom kliničkom dobicom liječenja (CBR) imale se 10.9 puta duži medijan ukupnog preživljenja (OS) nego ispitanice kod kojih je došlo do progresije bolesti ( $p<0.001$ ) (Tablica 15.). Medijan PFS je bio 3.9 puta duži u skupini ispitanica s negativnim izražajem MAGE-A10 nego u skupini s pozitivnim izražajem MAGE-A10 ( $p<0.001$ ) (Tablica 16.). Nije utvrđena povezanost između izražaja NY-ESO-1 i medijana OS (LR=2.5,  $p=0.335$ ) (Tablica 16.).

Coxova regresijska uninominalna analiza ukupnog preživljenja pokazala je statistički značajnu povezanost OS s ostvarenim objektivnim odgovorom na liječenje (CR+PR prema

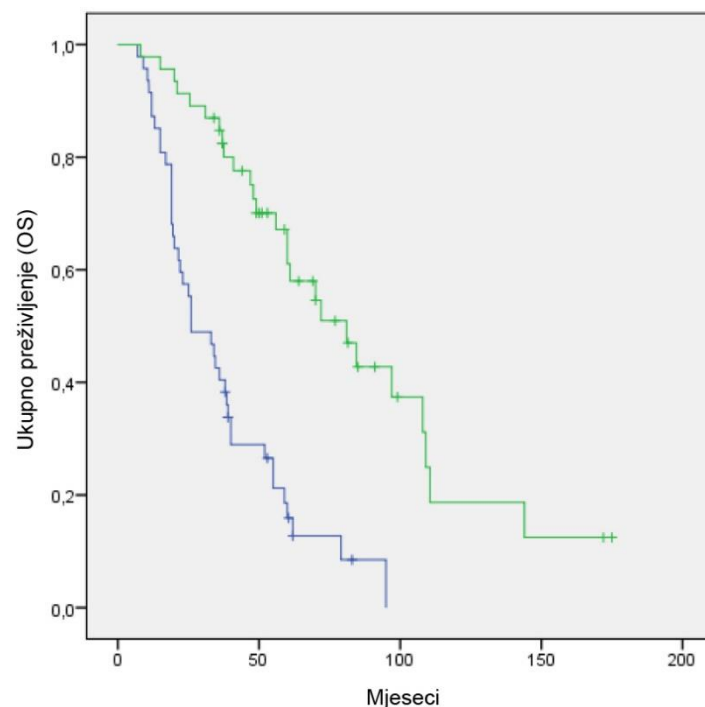
SD+PD) ( $p<0.001$ ), kliničkom dobiti liječenja (CR+PR+SD prema PD) ( $p<0.001$ ) i s izražajem MAGE-A10 (negativan prema pozitivan) ( $p<0.001$ ) (Tablica 16.).

**Tablica 17.** Multivarijatna regresijska analiza ukupnog preživljenja s FIGO stadijem bolesti, izražajem MAGE-A10 i ostvarenim odgovorom na prvolinijsku kemoterapiju temeljenu na platini kod 93 ispitanice s uznapredovalim stadijem seroznog karcinoma jajnika visokog stupnja.

	ODS 95% CI	P
FIGO stadij	1.5 (0.82-2.7)	0.189
Odgovor 1. ORR	6.7 (3.3-13.9)	<0.001
MAGE-A10	3.0 (1.7-5.4)	<0.001
FIGO stadij	1.6 (0.88-2.9)	0.121
Odgovor 2. CBR	6.6 (3-14.4)	<0.001
MAGE-A10	3.3 (1.8-5.8)	<0.001

*CI* confidence interval, *FIGO* međunarodno udruženje ginekologa i opstetričara, *ORR* stopa objektivnog odgovora na liječenje, *CBR* stopa kliničke dobiti liječenja

Coxova multinominalna analiza ukupnog preživljenja potvrdila je statistički značajnu povezanost izražaja MAGE-A10 s dužinom ukupnog preživljenja ( $p=0.01$ ) (Tablica 18.).

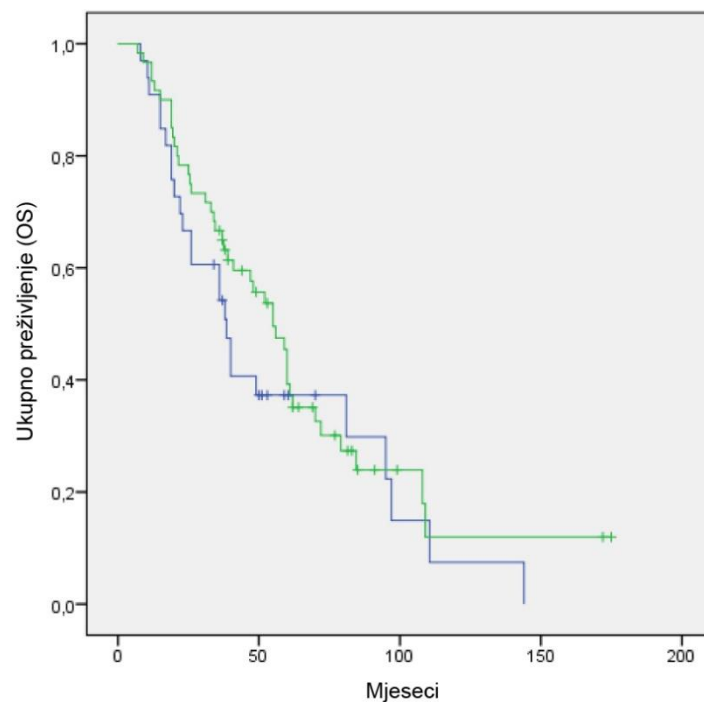


**Slika 13.** Kaplan-Meierova krivulja ukupnog preživljenja (OS) i izražaja MAGE-A10 kod 93 ispitanice s uznapredovalim stadijem seroznog raka jajnika visokog stupnja. Plava linija

predstavlja OS ispitanica s pozitivnim izražajem MAGE-A10 u tumoru (N=47), a zelena linija PFS ispitanica s negativnim izražajem MAGE-A10 u tumoru (N=46).

Medijan ukupnog preživljenja ispitanica bio je 49 mjeseci.

Ispitanice s pozitivnom izražajem MAGE-A10 u tumoru imale su medijan ukupnog preživljenja 26 mjeseci, a ispitanice s negativnim izražajem MAGE-A10 81 mjesec ( $p < 0.001$ ) (Slika 13.). Izražaj MAGE-A10 u tumorskim stanicama značajno predviđa lošije ukupno preživljenje (OS) ( $p < 0.001$ ).



**Slika 14.** Kaplan-Meierova krivulja ukupnog preživljenja (OS) i izražaja NY-ESO kod 93 ispitanice s uznapredovalim stadijem seroznog raka jajnika visokog stupnja. Plava linija predstavlja OS bolesnica s pozitivnom izražajem NY-ESO-1 (N=33), a zelena linija PFS ispitanica s negativnom izražajem NY-ESO-1 (N=60).

Ispitanice s pozitivnim izražajem NY-ESO-1 imaju medijan ukupnog preživljenja 38.5 mjeseci, a ispitanice s negativnim izražajem NY-ESO-1 55 mjeseci ( $p = 0.330$ ).

U zaključku možemo naglasiti da pozitivni izražaj MAGE-A10 u tumorskim stanicama seroznog karcinoma jajnika visokog stupnja predviđa kemorezistenciju na spojeve platine ( $p < 0.001$ ) te kraće preživljenje do povrata/progresije bolesti ( $p < 0.001$ ) i kraće ukupno

preživljenje ( $p < 0.001$ ). Nije nađena statistički značajna povezanost pozitivnog izražaja NY-ESO-1 u tumorskim stanicama s preživljenjem do povrata/progresije bolesti ( $p = 0.126$ ) i ukupnim preživljenjem ( $p = 0.33$ ).

## **6. RASPRAVA**

Rak jajnika je najsmrtonosniji ginekološki zloćudni tumor. Često se dijagnosticira u kasnoj fazi, kad se bolest već proširila po trbušnoj šupljini ili hematogeno metastazirala. Prognoza bolesti je loša, na što upućuje malo petogodišnje preživljenje, oko 45% (1). Zlatni standard u liječenju bolesnica s uznapredovalim rakom jajnika je kombinacija optimalne kirurške citoredukcije i kemoterapije temeljene na platini, a njihov redoslijed ovisi o stadiju bolesti i općem stanju bolesnice u trenutku dijagnoze (40, 43, 44, 45).

U oko 20% bolesnica je prvolinijska kemoterapija na bazi platine neučinkovita i dolazi do brzog napredovanja bolesti. U tom slučaju se ordinira monokemoterapija sekvencijski bez spojeva platine, ali je niska stopa odgovora i kratko ukupno preživljenje (40).

Bolesnice koje imaju platina-osjetljiv recidiv imaju značajno bolju prognozu i liječe se polikemoterapijom temeljenoj na platini uz dodatak bevacizumaba i PARP inhibitora, ovisno o statusu gena *BRCA* (46, 87).

Otpornost stanica karcinoma jajnika na kemoterapiju razlog je izostanku odgovora na liječenje i doprinosi visokoj smrtnosti. Brojni molekularni mehanizmi su u pozadini lošeg odgovora na kemoterapiju, a dio njih još uvijek nejasan (40, 88, 89, 90, 91, 92). Najčešći i najvažniji mehanizmi kemorezistencije uključuju promijenjeni izražaj proteina prijenosnika platine, prekomjernu aktivnost detoksikacijskih spojeva i stimulaciju popravka oštećenja DNA (88).

Kemoterapija na bazi platine je često praćena ozbiljnim nuspojavama. Stoga je praktično nužna identifikacija biljega kojima bi se mogla predvidjeti rezistencija na kemoterapiju temeljenu na platini, kako bi se te bolesnice poštedjelo nepotrebne toksičnosti neučinkovitog liječenja (44, 89). Poznavanje molekularnih mehanizama kemootpornosti od temeljne je važnosti u razvoju novih terapijskih opcija. Biljezi povezani s osjetljivošću stanica raka jajnika na liječenje su već istraživani i opisivani.

Postoje istraživanja koja pokazuju da visoka izraženost E-kadherina, koju je moguće detektirati standardnim imunohistokemijskim tehnikama, kao i prekomjerna izraženost gena koji sudjeluju u procesu epitelo-mezenhimalne transformacije (EMT), pouzdano identificira uznapredovale serozne karcinome jajnika visokog stupnja koji dobro odgovore na kemoterapiju temeljenu na platini (92, 93).

Utvrđeno je da pojačana dediferencijacija tumorskih stanica dovodi do otpornosti na različite vrste kemoterapije kod raznih zloćudnih bolesti, što objašnjava mogući razlog kemorezistencije (94).

Imunoterapija temeljena na blokadi imunoloških kontrolnih točaka je slabo učinkovita u HGSOE, vjerojatno zbog relativno niskog mutacijskog opterećenja tumora i ograničene

proizvodnje neoantigena (95, 96, 97). Obecavajuće rezultate daju adaptivne imunoterapije temeljene na prijenosu T-limfocita stvorenih genskim inženjeringom koji izražavaju kimerne antigenske receptore (CAR) za liječenje uznapredovalih karcinoma jajnika s peritonealnom karcinomatozom (98).

Bitnu prepreku za razvoj novih protokola liječenja predstavlja činjenica da stanice HGSOE imaju relativno malo tumorskih "specifičnih" biljega, što značajno povećava rizik od tzv. "*on target, off tumor*" nuspojava, odnosno uništenja zdravih stanica koje nose iste antigene (98). Stoga su nužni novi inovativni pristupi.

Antigeni raka i testisa (CTA) su velika obitelj proteina fiziološki izraženih u spolnim stanicama i aberantno u različitim tumorima, uključujući karcinom jajnika (52, 53, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66). Njihov izražaj u tumoru povezuje se s progresijom tumora, vjerojatno vezanom uz potencijalnu ulogu tih proteina u epitelno-mezenhimalnoj pretvorbi.

Antigeni MAGE-A i NY-ESO-1 su visoko imunogeni CTA koji izazivaju specifični imunološki odgovor u bolesnika čiji karcinom izražava ove antigene (61, 62, 63, 99). Zbog svoje imunogeničnosti i ograničenog izražaja u tumorskim stanicama, predstavljaju potencijalne kandidate za razvoj ciljanih imunoterapija u obliku protutumorskih cjepiva i genetski modificiranih T limfocita (64).

Fiziološke funkcije CTA su još uvijek uvelike nejasne. Podaci o MAGE-A, najbolje proučenim CTA, ukazuju da su uključeni u ranu onkogenezu i regulaciju progresije staničnog ciklusa i stanične apoptoze (100).

Brojne studije su pokazale povezanost izražaja CTA (MAGE-A i NY-ESO-1) s nepovoljnom prognozom u zloćudnim tumorima različitog histološkog porijekla (52, 53, 60, 61, 101).

Povezanost prekomjernog izražaja CTA i kemorezistencije na spojeve platine opisao je Hartmann sa suradnicima u karcinomu glave i vrata, a Kasuga i Weeraratne u meduloblastomu (102, 103, 104, 105, 106). Proučavali su MAGE-A pozitivne tumorske stanične linije koje su bile rezistentne na kemoterapiju temeljenu na platini (103). Istraženi su osnovni mehanizmi rezistencije i pruženi dokazi da izražaj gena *MAGE-A* inhibira apoptozu zloćudnih stanica, vjerojatno moduliranjem gena *TP53* (105, 107, 108). Sugerira se da bi izraženost gena *MAGE-A* mogla biti pokazatelj demetilacije DNA koja pridonosi selekciji subklonova zloćudnih stanica (109).

U više radova su istraživani antigeni raka i testisa u karcinomu jajnika. Yakirevich, Xu i Szender su objavili da je izražaj MAGE-A4, MAGE-A9, MAGE-A10 i NY-ESO-1 u



tumorskim stanicama karcinoma jajnika povezan s lošom prognozom, ali ni u jednom od ovih radova nije istraživana osjetljivost na kemoterapiju (61, 110, 111, 112).

U ovom istraživanju smo dokazali da izražaj MAGE-A10 u bioptičkim uzorcima seroznog karcinoma jajnika visokog stupnja pouzdano predviđa rezistenciju na prvolinijsku kemoterapiju temeljenu na platini i slab odgovor na liječenje platinom. U skladu s tim i s već objavljenim radovima, utvrdili smo da je izraženost MAGE-A10 povezana s značajno lošijim PFS i OS. Multivarijatna analiza pokazuje da izražaj MAGE-A10 u tumorskim stanicama predstavlja biljeg otpornosti na liječenje kemoterapijom temeljenom na platini, neovisno o dobi i FIGO stadiju bolesti.

Istovremeno, nismo utvrdili povezanost izražaja NY-ESO-1, MAGE-A1 i multi-MAGE s odgovorom na prvolinijsku kemoterapiju temeljenu na platini, kao ni drugim mjerama ishoda (dužina razdoblja do progresije bolesti, dužina ukupnog preživljenja).

Po našem najboljem saznanju, ovo je prva studija u kojoj je utvrđen značaj izražaja MAGE-A10 za osjetljivost na kemoterapiju temeljenu na spojevima platine kod ispitanica s uznapredovalim seroznim karcinomom jajnika visokog stupnja. Temeljem rezultata ove studije, MAGE-A10 bi mogao biti novi biljeg koji identificira agresivniji fenotip seroznog karcinoma jajnika visokog stupnja, koji je otporan na zlatni standard liječenja temeljen na spojevima platine.

Naši bi rezultati mogli biti od velike kliničke važnosti. Procjena izražaja CTA u tumoru mogla bi selekcionirati bolesnice s tumorom otpornim na platinu i tako ih poštediti nuspojava povezanih s kemoterapijom od koje neće biti koristi. S druge strane, uzimajući u obzir visoku imunogenost MAGE-A10 i NY-ESO-1, moguće bi imunoterapija specifično usmjerena na ove CTA mogla značajno nadopuniti ili pak zamijenjiti kemoterapiju temeljenu na platini. S tim u vezi se spominje cijepljenje ili imunoterapija s projektiranim T-stanicama koje izražavaju specifičan receptor za MAGE-A10 ili NY-ESO-1 restriktivan za HLA. Daljnja istraživanja se usmjeravaju na bolesnice kojima je indicirana sekundarna citoredukcija, što bi moglo pomoći kod odluka o provedbi radikalnih kirurških zahvata (113).

Zaključno, naši rezultati ukazuju da bi definiranje izražaja CTA MAGE-A10 moglo pomoći u prepoznavanju bolesnica s uznapredovalim seroznim karcinomom jajnika visokog stupnja koji je otporan na prvolinijsku kemoterapiju temeljenu na platini. Novi terapijski modaliteti, posebno ciljana imunoterapija, specifično usmjerena na antigene raka i testisa, mogla bi poboljšati ishode ove skupine bolesnica, ordinirajući se zajedno s kemoterapijom ili je zamjenjujući u cijelosti.

## **7. ZAKLJUČCI**

1. Antigeni raka i testisa (CTA) MAGE-A1, MAGE-A10, multi-MAGE i NY-ESO-1 izraženi su u uznapredovalom seroznom karcinomu jajnika visokog stupnja (HGSOC). Imunohistokemijskom analizom dokazali smo pozitivan izražaj MAGE-A1 u 96%, multi-MAGE u 86%, MAGE-A10 u 50% i NY-ESO-1 u 35% ispitivanih uzoraka.

2. Ispitanice s HGSOC koje imaju pozitivan izražaj MAGE-A10 u tumorskim stanicama nisu imale terapijski odgovor ili je bio slab i kratkotrajan na prvolinijsko liječenje kemoterapijom temeljenoj na platini ( $p=0.005$ ). Nije dokazana statistički značajna povezanost izražaja MAGE-A1, multi-MAGE i NY-ESO-1 s odgovorom na prvolinijsku kemoterapiju temeljenu na platini.

3. Ispitanice s HGSOC koje imaju pozitivan izražaj MAGE-A10 u tumorskim stanicama češće su razvile rezistenciju na prvolinijsku kemoterapiju temeljenu na platini ( $p<0.001$ ).

4. Ispitanice s HGSOC s pozitivnim izražajem MAGE-A10 u tumorskim stanicama imale su kraće vrijeme do povrata/progresije bolesti (PFS) prema rezultatima univarijatne ( $p<0.001$ ) i multivarijatne analize ( $p<0.001$ ). Nije nađena statistički značajna povezanost između izražaja NY-ESO-1 i PFS ( $p=0.126$ ).

5. Ispitanice s HGSOC koje imaju pozitivan izražaj MAGE-A10 u tumorskim stanicama imale su kraće ukupno preživljenje (OS) prema rezultatima univarijatne ( $p<0.001$ ) i multivarijatne analize ( $p<0.001$ ). Nije nađena statistički značajna povezanost između izražaja NY-ESO-1 i ukupnog preživljenja ( $p=0.33$ ).

## **8. SAŽETAK**

**Uvod:** Antigeni raka i testisa (CTA) predstavljaju skupinu aberantnih proteina koji su izraženi kod različitih vrsta raka te su interesantni kao mogući biljezi zloćudnih tumora i mete za razvoj imunoterapije. Kod ispitanica sa seroznim karcinomom jajnika visokog stupnja (HGSOC) nije do sad analizirana povezanost izražaja CTA s odgovorom na prvolinijsku kemoterapiju temeljenu na platini i trajanje odgovora na istu.

**Cilj istraživanja** bio je analizirati izražaj različitih CTA (MAGE-A1, MAGE-A10, multi-MAGE i NY-ESO-1) u uzorcima HGSOC imunohistokemijskom metodom i ispitati povezanost njihova izražaja s odgovorom i dužinom trajanja odgovora na prvolinijsku kemoterapiju temeljenu na spojevima platine. Analizirana je povezanost izražaja CTA s dužinom preživljenja do napredovanja bolesti (PFS) i dužinom ukupnog preživljenja (OS).

**Materijali i metode.** U istraživanju su uključene 93 bolesnice s histološki potvrđenim HGSOC FIGO stadija III i IV liječene u KBC Split i OB Zadar od 01. siječnja 1996. do 31. prosinca 2013. godine. Sve su bolesnice bile podvrgnute operativnom zahvatu i potom liječene prvolinijskom kemoterapijom na bazi platine. Praćeni pokazatelji bili su dob, FIGO stadij bolesti, veličina ostatnog tumora nakon primarne operacije, broj ciklusa kemoterapije, PES i OS. Imunohistokemijsko bojenje s monoklonskim protutijelima na MAGE-A1, MAGE-A10, multi-MAGE i NY-ESO-1 urađeno je strojno na automatiziranom sustavu Ventana BenchMark Ultra. Pozitivnim je smatrano smeđe citoplazmatsko i/ili nuklearno bojenje, neovisno o intenzitetu bojenja, s graničnom vrijednošću  $\geq 10\%$  tumorskih stanica. U statističkoj obradi podataka korišten je program Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) software verzija 20 za Windows.

**Rezultati.** Pozitivni izražaj MAGE-A10 statistički značajno predviđa rezistenciju na prvolinijsku kemoterapiju na bazi platine ( $p < 0.001$ ) i slab odgovor na liječenje platinom ( $p = 0.005$ ). Pozitivan izražaj MAGE-A10 u tumorskim stanicama je povezan sa značajno kraćim PFS ( $p < 0.001$ ) i OS ( $p < 0.001$ ). Nije nađena povezanost drugih ispitivanih CTA s odgovorom na prvolinijsku kemoterapiju na bazi platine, osjetljivosti na platinu, PFS i OS.

**Zaključak.** Ovo je prva studija u kojoj je utvrđena povezanost između izražaja MAGE-A10 i kemoosjetljivosti ispitanica s HGSOC koje su primale kemoterapiju temeljenu na platini. MAGE-A10 bi mogao postati biljeg agresivnijeg fenotipa seroznog karcinoma jajnika i potencijalna meta za ciljanu imunoterapiju kad izostane odgovor na kemoterapiju temeljenu na platini.

## **9. SUMMARY**

## THE IMPACT OF CANCER/TESTIS ANTIGENS (CTA) EXPRESSION AND THE EFFICACY OF FIRST-LINE PLATINUM-BASED CHEMOTHERAPY IN ADVANCED SEROUS OVARIAN CARCINOMA

**Introduction:** Cancer and testis antigens (CTA) represent a group of aberrant proteins that are expressed in different types of cancer. They are of interest as markers of malignant tumors and targets for the development of immunotherapy. Until now, the association of CTA expression with the response to first-line platinum-based chemotherapy and the duration of the response has not been analyzed in patients with high-grade serous ovarian cancer (HGSOC). The aim of the research was to analyze the expression of different CTAs (MAGE-A1, MAGE-A10, multi-MAGE and NY-ESO-1) in HGSOC samples using the immunohistochemical method and to examine the association of this expression with response and duration of response to first-line chemotherapy based on platinum. The association of CTA expression with the length of survival to disease progression (PFS) and the length of overall survival (OS) was analyzed.

**Materials and methods.** The study included 93 patients with histologically confirmed HGSOC FIGO stage III and IV, treated at University Hospital Split and general Hospital Zadar from January 1, 1996 to December 31, 2013. All patients underwent surgery and were then treated with first-line platinum-based chemotherapy. The variables were age, FIGO stage of the disease, size of the remaining tumor after primary surgery, number of chemotherapy cycles, PFS and OS. Immunohistochemical staining with monoclonal antibodies to MAGE-A1, MAGE-A10, multi-MAGE and NY-ESO-1 was performed mechanically on the automated Ventana BenchMark Ultra autostainer. Brown cytoplasmic and/or nuclear staining, regardless of staining intensity, with a threshold value of  $\geq 10\%$  tumor cells was considered positive. The Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) software version 20 for Windows was used for statistical data processing.

**Results.** MAGE-A10 expression statistically significantly predicts resistance to first-line platinum-based chemotherapy ( $p < 0.001$ ) and poor response to platinum treatment ( $p = 0.005$ ). MAGE-A10 expression in tumor cells is associated with significantly worse PFS ( $p < 0.001$ ) and OS ( $p < 0.001$ ). No correlation was found between the other examined CTAs with response to first-line platinum-based chemotherapy, platinum sensitivity, PFS and OS.

**Conclusion.** This is the first study to establish an association between MAGE-A10 expression and chemosensitivity in subjects with HGSOC receiving platinum-based chemotherapy.

MAGE-A10 could become a marker of a more aggressive phenotype of high-grade serous ovarian cancer and a potential target for targeted immunotherapy when there is no response to platinum-based chemotherapy.



## **10. LITERATURA**

1. SEER statistike raka: Rak jajnika [Internet]. Bethesda: Nacionalni institut za rak; 2023 [Pristupljeno 2023. ožujak 10.].  
Dostupno na: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/ovary.html>
2. WHO International Agency for Research on Cancer (IARC)) World Cancer Report: Cancer Research for Cancer Prevention World Cancer Reports Edited by Wild CP, eiderpass E, Stewart BW, 2020. [Datum pristupa: 2023.10.03.] Dostupno na: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/25-Ovary-fact-sheet.pdf>
3. Gaona-Luviano P, Medina-Gaona LA, Magaña-Pérez K. Epidemiology of ovarian cancer. *Chin Clin Oncol*. 2020 Aug;9(4):47. doi: 10.21037/cco-20-34. Epub 2020 Jun 30.
4. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Registar za rak Republike Hrvatske. Incidencija raka u Hrvatskoj 2020., Bilten 45, Zagreb, 2022.
5. Ali AT, Al-Ani O, Al-Ani F. Epidemiology and risk factors for ovarian cancer. *Prz Menopauzalny*. 2023 Jun;22(2):93-104. doi: 10.5114/pm.2023.128661. Epub 2023 Jun 14.
6. Momenimovahed Z, Tiznobaik A, Taheri S, Salehiniya H. Ovarian cancer in the world: epidemiology and risk factors. *Int J Womens Health*. 2019 Apr 30;11:287-299. doi: 10.2147/IJWH.S197604.
7. Hunn J, Rodriguez GC. Ovarian cancer: etiology, risk factors, and epidemiology. *Clin Obstet Gynecol*. 2012 Mar;55(1):3-23. doi: 10.1097/GRF.0b013e31824b4611.
8. Rupinder KR, Pratap K. Ovulation induction and ovarian cancer: is there a link? *Med J Malaysia*. 2006 Mar;61(1):132-6; quiz 137.
9. Yu L, Sun J, Wang Q, Yu W, Wang A, Zhu S, Xu W, Wang X. Ovulation induction drug and ovarian cancer: an updated systematic review and meta-analysis. *J Ovarian Res*. 2023 Jan 24;16(1):22. doi: 10.1186/s13048-022-01084-z.
10. Cardenas C, Alvero AB, Yun BS, Mor G. Redefining the origin and evolution of ovarian cancer: a hormonal connection. *Endocr Relat Cancer*. 2016 Sep;23(9):R411-22. doi: 10.1530/ERC-16-0209. Epub 2016 Jul 20.
11. Vergote I, Bours V, Blaumeiser B, Baurain JF. New perspective on maintenance therapies for platinum- sensitive recurrent ovarian cancer in women with germline and somatic mutations in BRCA1 and BRCA2 genes. *Facts Views Vis Obgyn*. 2016 Sep;8(3):161-167.
12. Vergote I, Banerjee S, Gerdes AM, van Asperen C, Marth C, Vaz F, et al. Current perspectives on recommendations for BRCA genetic testing in ovarian cancer patients. *Eur J Cancer*. 2016 Dec;69:127-134. doi: 10.1016/j.ejca.2016.10.006. Epub 2016 Nov 4.

13. Ledermann JA, Raja FA, Fotopoulou C, Gonzalez-Martin A, Colombo N, Sessa C; ESMO Guidelines Working Group. Newly diagnosed and relapsed epithelial ovarian carcinoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2013 Oct;24 Suppl 6:vi24-32. doi: 10.1093/annonc/mdt333. Erratum in: *Ann Oncol.* 2018 Oct 1;29(Suppl 4):iv259.
14. Hodgson A, Turashvili G. Pathology of Hereditary Breast and Ovarian Cancer. *Front Oncol.* 2020 Sep 29;10:531790. doi: 10.3389/fonc.2020.531790.
15. Köbel M, Kang E.Y. The Evolution of Ovarian Carcinoma Subclassification. *Cancers* 2022, 14, 416. <https://doi.org/10.3390/cancers14020416>
16. Köbel M, Kalloger SE, Boyd N, McKinney S, Mehl E, Palmer C, et al. Ovarian carcinoma subtypes are different diseases: Implications for biomarker studies. *PLoS Med.* 2008, 5, e232
17. Peres LC, Cushing-Haugen KL, Kobel M, Harris HR, Berchuck A, Rossing MA, et al. Invasive Epithelial Ovarian Cancer Survival by Histotype and Disease Stage. *J. Natl. Cancer Inst.* 2019, 111, 60–68.
18. Kurman RJ, Carcangiu ML; Herrington CS, Young RH. WHO Classification of tumors of the female reproductive organs. 4th ed. Lyon: International agency for research on cancer; 2014. p 12-13.
19. WHO Classification of Tumours Editorial Board. In *Female Genital Tumours*, 5th ed.; International Agency for Research on Cancer: Lyon, France, 2020.
20. Histological Classification of Ovarian Carcinoma. [Datum pristupa: 2023.10.03.] Dostupno na: <http://www.bccancer.bc.ca/books/ovary-epithelial-carcinoma/histological-classification-of-ovarian-carcinoma>
21. Köbel M, Piskorz AM, Lee S, Lui S, LePage C, Marass F, et al Optimized p53 immunohistochemistry is an accurate predictor of TP53 mutation in ovarian carcinoma. *J Pathol Clin Res.* 2016 Jul 13;2(4):247-258. doi: 10.1002/cjp2.53.
22. McCluggage WG, Judge MJ, Clarke BA, Davidson B, Gilks CB, Hollema H, et al. Data set for reporting of ovary, fallopian tube and primary peritoneal carcinoma: recommendations from the International Collaboration on Cancer Reporting (ICCR). *Mod Pathol.* 2015 Aug;28(8):1101-22. doi: 10.1038/modpathol.2015.77. Epub 2015 Jun 19.
23. Singh N, Gilks CB, Wilkinson N, McCluggage WG. Assignment of primary site in high-grade serous tubal, ovarian and peritoneal carcinoma: a proposal. *Histopathology.* 2014 Aug;65(2):149-54. doi: 10.1111/his.12419. Epub 2014 May 20.

24. McCluggage WG, Hirschowitz L, Gilks CB, Wilkinson N, Singh N. The Fallopian Tube Origin and Primary Site Assignment in Extrauterine High-grade Serous Carcinoma: Findings of a Survey of Pathologists and Clinicians. *Int J Gynecol Pathol*. 2017 May;36(3):230-239. doi: 10.1097/PGP.0000000000000336.
25. Punzón-Jiménez P, Lago V, Domingo S, Simón C, Mas A. Molecular Management of High-Grade Serous Ovarian Carcinoma. *Int J Mol Sci*. 2022 Nov 9;23(22):13777. doi: 10.3390/ijms232213777.
26. Hsu CY, Kurman RJ, Vang R, Wang TL, Baak J, Shih IeM. Nuclear size distinguishes low- from high-grade ovarian serous carcinoma and predicts outcome. *Hum Pathol*. 2005 Oct;36(10):1049-54. doi: 10.1016/j.humpath.2005.07.014. Epub 2005 Sep 8.
27. Bogaerts JMA, Steenbeek MP, van Bommel MHD, Bulten J, van der Laak JAWM, de Hullu JA, et al. Recommendations for diagnosing STIC: a systematic review and meta-analysis. *Virchows Arch*. 2022 Apr;480(4):725-737. doi: 10.1007/s00428-021-03244-w. Epub 2021 Dec 1.
28. Mahe E, Tang S, Deb P, Sur M, Lytwyn A, Daya D. Do deeper sections increase the frequency of detection of serous tubal intraepithelial carcinoma (STIC) in the "sectioning and extensively examining the FIMbriated end" (SEE-FIM) protocol? *Int J Gynecol Pathol*. 2013 Jul;32(4):353-7. doi: 10.1097/PGP.0b013e318264ae09.
29. Zhou S, Jiang Y, Pei W, Zhou H, Liang J, Zhou Z. Neoadjuvant chemoradiotherapy followed by lateral pelvic lymph node dissection for rectal cancer patients: A retrospective study of its safety and indications. *J Surg Oncol*. 2021 Sep;124(3):354-360. doi: 10.1002/jso.26509. Epub 2021 Apr 21.
30. Köbel M, Ronnett BM, Singh N, Soslow RA, Gilks CB, McCluggage WG. Interpretation of P53 Immunohistochemistry in Endometrial Carcinomas: Toward Increased Reproducibility. *Int J Gynecol Pathol*. 2019 Jan;38 Suppl 1(Iss 1 Suppl 1):S123-S131. doi: 10.1097/PGP.0000000000000488.
31. Chen M, Yao S, Cao Q, Xia M, Liu J, He M. The prognostic value of Ki67 in ovarian high-grade serous carcinoma: an 11-year cohort study of Chinese patients. *Oncotarget*. 2016 Dec 23;8(64):107877-107885. doi: 10.18632/oncotarget.14112.
32. Hussein YR, Ducie JA, Arnold AG, Kauff ND, Vargas-Alvarez HA, Sala E, et al. Invasion Patterns of Metastatic Extrauterine High-grade Serous Carcinoma With BRCA Germline Mutation and Correlation With Clinical Outcomes. *Am J Surg Pathol*. 2016 Mar;40(3):404-9. doi: 10.1097/PAS.0000000000000556.

33. Reid BM, Permuth JB, Sellers TA. Epidemiology of ovarian cancer: a review. *Cancer Biol Med*. 2017 Feb;14(1):9-32. doi: 10.20892/j.issn.2095-3941.2016.0084.
34. Xie WT, Wang YQ, Xiang ZS, Du ZS, Huang SX, Chen YJ, et al. Efficacy of IOTA simple rules, O-RADS, and CA125 to distinguish benign and malignant adnexal masses. *J Ovarian Res*. 2022 Jan 23;15(1):15. doi: 10.1186/s13048-022-00947-9.
35. Alcazar JL, Pascual MA, Graupera B, Auba M, Errasti T, Olartecoechea B, et al. External validation of IOTA simple descriptors and simple rules for classifying adnexal masses. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2016;48(3):397–402. doi: 10.1002/uog.15854.
36. Andreotti RF, Timmerman D, Benacerraf BR, Bennett GL, Bourne T, Brown DL, et al. Ovarian-adnexal reporting lexicon for ultrasound: a white paper of the ACR ovarian-adnexal reporting and data system committee. *J Am Coll Radiol*. 2018;15(10):1415–1429. doi: 10.1016/j.jacr.2018.07.004.
37. Andreotti RF, Timmerman D, Strachowski LM, Froyman W, Benacerraf BR, Bennett GL, et al. O-RADS US risk stratification and management system: a consensus guideline from the ACR ovarian-adnexal reporting and data system committee. *Radiology*. 2020;294(1):168–185. doi: 10.1148/radiol.2019191150.
38. Prat J, FIGO Committee on Gynecologic Oncology. Staging Classification for Cancer of the Ovary, Fallopian Tube, and Peritoneum: Abridged Republication of Guidelines From the International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO). *Obstet Gynecol*. 2015;126(1):171-4.
39. Horn LC, Brambs CE, Opitz S, Einkenkel J, Mayr D. TNM-Klassifikation gynäkologischer Tumoren : Was bleibt über 2017 hinaus zu tun? [TNM classification of gynecologic malignancies : What remains to be done beyond 2017?]. *Pathologe*. 2019 Feb;40(1):73-79. German. doi: 10.1007/s00292-018-0559-y.
40. Wilson MK, Pujade-Lauraine E, Aoki D, Mirza MR, Lorusso D, Oza AM, et al. Fifth Ovarian Cancer Consensus Conference of the Gynecologic Cancer InterGroup: recurrent disease. *Ann Oncol*. 2017 Apr 1;28(4):727-732.
41. Morgan RD, Clamp AR, Evans DGR, Edmondson RJ, Jayson GC. PARP inhibitors in platinum-sensitive high-grade serous ovarian cancer. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2018 Apr;81(4):647-658. doi: 10.1007/s00280-018-3532-9. Epub 2018 Feb 20.
42. van der Biessen DAJ, Gietema JA, de Jonge MJA, Desar IME, den Hollander MW, Dudley M, et al. A phase 1 study of PARP-inhibitor ABT-767 in advanced solid tumors with BRCA1/2 mutations and high-grade serous ovarian, fallopian tube, or primary

- peritoneal cancer. *Invest New Drugs*. 2018 Oct;36(5):828-835. doi: 10.1007/s10637-017-0551-z. Epub 2018 Jan 8.
43. Burger RA, Brady MF, Bookman MA, Fleming GF, Monk BJ, Huang H, et al. Incorporation of bevacizumab in the primary treatment of ovarian cancer. *N Engl J Med*. 2011;365:2473-83. doi: 10.1056/NEJMoa1104390.
  44. Moore K, Colombo N, Scambia G, Kim BG, Oaknin A, Friedlander M, et al. Maintenance olaparib in patients with newly diagnosed advanced ovarian cancer. *N Engl J Med* 2018;379(26):2495-505. doi: 10.1056/NEJMoa1810858.
  45. Ray-Coquard I, Pautier P, Pignata S, Pérol D, González-Martín A, Berger R, et al. Olaparib plus bevacizumab as first-line maintenance in ovarian cancer. *N Engl J Med*. 2019;381(25):2416-28. doi: 10.1056/NEJMoa1911361.
  46. Poveda A, Floquet A, Ledermann JA, Asher R, Penson RT, Oza AM, et al. Olaparib tablets as maintenance therapy in patients with platinum-sensitive relapsed ovarian cancer and a BRCA1/2 mutation (SOLO2/ENGOT-ov21): A final analysis of a double-blind, randomized, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2021;22(5):620-31. doi: 10.1016/S1470-2045(21)00073-5.
  47. Grizzi F, Mirandola L, Qehajaj D, Cobos E, Figueroa JA, Chiriva-Internati M. Cancer-testis antigens and immunotherapy in the light of cancer complexity. *Int Rev Immunol*. 2015 Mar;34(2):143-53. doi: 10.3109/08830185.2015.1018418.
  48. Suri A. Cancer testis antigens--their importance in immunotherapy and in the early detection of cancer. *Expert Opin Biol Ther*. 2006 Apr;6(4):379-89. doi: 10.1517/14712598.6.4.379.
  49. Lucas S, De Smet C, Arden KC, Viars CS, Lethé B, Lurquin C, Boon T. Identification of a new MAGE gene with tumor-specific expression by representational difference analysis. *Cancer Res*. 1998 Feb 15;58(4):743-52.
  50. Ohman Forslund K, Nordqvist K. The melanoma antigen genes--any clues to their functions in normal tissues? *Exp Cell Res*. 2001 May 1;265(2):185-94. doi: 10.1006/excr.2001.5173.
  51. Zhang W, Barger CJ, Eng KH, Klinkebiel D, Link PA, Omilian A, et al. PRAME expression and promoter hypomethylation in epithelial ovarian cancer. *Oncotarget*. 2016 Jul 19;7(29):45352-45369. doi: 10.18632/oncotarget.9977.
  52. Juretic A, Spagnoli GC, Schultz-Thater E, Sarcevic B. Cancer/testis tumour-associated antigens: immunohistochemical detection with monoclonal antibodies. *Lancet Oncol*. 2003 Feb;4(2):104-9.

53. Poojary M, Jishnu PV, Kabekkodu SP. Prognostic Value of Melanoma-Associated Antigen-A (MAGE-A) Gene Expression in Various Human Cancers: A Systematic Review and Meta-analysis of 7428 Patients and 44 Studies. *Mol Diagn Ther*. 2020 Oct;24(5):537-555.
54. De Smet C, Martelange V, Lucas S, Brasseur F, Lurquin C, Boon T. Identification of human testis-specific transcripts and analysis of their expression in tumor cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 1997 Dec 29;241(3):653-7. doi: 10.1006/bbrc.1997.7868. PMID: 9434763.
55. Faramarzi S, Ghafouri-Fard S. Melanoma: a prototype of cancer-testis antigen-expressing malignancies. *Immunotherapy*. 2017 Oct;9(13):1103-1113. doi: 10.2217/imt-2017-0091.
56. Wang X, Li M. Correlate tumor mutation burden with immune signatures in human cancers. *BMC Immunol*. 2019 Jan 11;20(1):4. doi: 10.1186/s12865-018-0285-5.
57. Farkona S, Diamandis EP, Blasutig IM. Cancer immunotherapy: the beginning of the end of cancer? *BMC Med* 2016; 14:73.
58. Topalian S, Taube JM, Anders RA, Pardoll DM. Mechanism-driven biomarkers to guide immune checkpoint blockade in cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2016; 16:275–87.
59. Ladelfa MF, Peche LY, Toledo MF, Laiseca JE, Schneider C, Monte M. Tumor-specific MAGE proteins as regulators of p53 function. *Cancer Lett*. 2012 Dec 1;325(1):11-7. doi: 10.1016/j.canlet.2012.05.031. Epub 2012 Jun 1.
60. Zhao J, Xu Z, Liu Y, Wang X, Liu X, Gao Y, et al. The expression of cancer-testis antigen in ovarian cancer and the development of immunotherapy. *Am J Cancer Res*. 2022 Feb 15;12(2):681-694.
61. Daudi S, Eng KH, Mhaweche-Fauceglia P, Morrison C, Miliotto A, Beck A, et al. Expression and immune responses to MAGE antigens predict survival in epithelial ovarian cancer. *PLoS One*. 2014 Aug 7;9(8):e104099.
62. Dutoit V, Rubio-Godoy V, Dietrich PY, Quiqueres AL, Schnuriger V, Rimoldi D, et al. Heterogeneous T-cell response to MAGE-A10(254-262): high avidity-specific cytolytic T lymphocytes show superior antitumor activity. *Cancer Res*. 2001 Aug 1;61(15):5850-6.
63. Thomas R, Al-Khadairi G, Roelands J, Hendrickx W, Dermime S, Bedognetti D, Decock J. NY-ESO-1 Based Immunotherapy of Cancer: Current Perspectives. *Front Immunol*. 2018 May 1;9:947.
64. Odunsi K. Immunotherapy in ovarian cancer. *Ann Oncol*. 2017 Nov 1;28(suppl\_8):viii1-viii7.

65. Mrklić I, Spagnoli GC, Juretić A, Pogorelić Z, Tomić S. Co-expression of cancer testis antigens and topoisomerase 2-alpha in triple negative breast carcinomas. *Acta Histochem.* 2014 Jun;116(5):740-6.
66. Schultz-Thater E, Piscuoglio S, Iezzi G, Le Magnen C, Zajac P, Carafa V, et al. MAGE-A10 is a nuclear protein frequently expressed in high percentages of tumor cells in lung, skin and urothelial malignancies. *Int J Cancer.* 2011 Sep 1;129(5):1137-48.
67. Srdelić S, Kuzmić-Prusac I, Spagnoli GC, Juretić A, Čapkun V. MAGE-A4 and MAGE-A1 Immunohistochemical Expression in High-grade Endometrial Cancer. *Int J Gynecol Pathol.* 2019 Jan;38(1):59-65. doi: 10.1097/PGP.0000000000000470.
68. Roguljic A, Spagnoli G, Juretic A, Sarcevic B, Banovic M, Beketic Oreskovic L. Possible predictive role of cancer/testis antigens in breast ductal carcinoma in situ. *Oncol Lett.* 2018 Dec;16(6):7245-7255. doi: 10.3892/ol.2018.9544. Epub 2018 Oct 3.
69. Gnjatic S, Nishikawa H, Jungbluth AA, Güre AO, Ritter G, Jäger E, et al. NY-ESO-1: review of an immunogenic tumor antigen. *Adv Cancer Res.* 2006;95:1-30. doi: 10.1016/S0065-230X(06)95001-5.
70. Nishino M, Jagannathan JP, Ramaiya NH, Van den Abbeele AD. Revised RECIST guideline version 1.1: What oncologists want to know and what radiologists need to know. *AJR Am J Roentgenol.* 2010;195(2):281-9. doi: 10.2214/AJR.09.4110.
71. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, et al New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer.* 2009 Jan;45(2):228-47. doi: 10.1016/j.ejca.2008.10.026.
72. Tapia G, Diaz-Padilla I. Molecular Mechanisms of Platinum Resistance in Ovarian Cancer. U: Diaz-Padilla I, ur.Ovarian Cancer – A Clinical and Translational Update. ISBN: 978-953-51-1030-9, InTech, DOI: 10.5772/55562.
73. Jordan P, Carmo-Fonseca M. Molecular mechanisms involved in cisplatin cytotoxicity. *Cell Mol Life Sci* 2000;57:1229-35.
74. Reed E. Platinum Analogs. U: DeVita VT, Lawrence TS, Rosenberg SA, ur. *Cancer – Principles & Practice of Oncology.* 9. izd. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2011, str.386-92.
75. Kelland L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nat Rev Cancer* 2007;7:573-84.
76. FDA definition of overall survival. Guidelines of industry. [Datum pristupa: 2023.10.03.]  
Dostupno na:



<https://www.fda.gov/media/134798/download#:~:text=on%20Efficacy%20Endpoint-Definitions,does%20not%20grow%20or%20spread>

77. Eisenhauer EL, Abu-Rustum NR, Sonoda Y, Levine DA, Poynor EA, Aghajanian C, et al. The addition of extensive upper abdominal surgery to achieve optimal cytoreduction improves survival in patients with stages IIIC-IV epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2006 Dec;103(3):1083-90. doi: 10.1016/j.ygyno.2006.06.028. Epub 2006 Aug 4.
78. du Bois A, Reuss A, Pujade-Lauraine E, Harter P, Ray-Coquard I, Pfisterer J. Role of surgical outcomes as prognostic factor in advanced epithelial ovarian cancer: a combinex exploratory analysis of 3 prospectively randomised phase 3 multicenetr trials: by the Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie Studiengruppe Ovarialkarzinom (AGO-OVAR) and the groupe d'Investigateurs Nationaux Pour les Etudes des Cancers de l'Ovarie (GINECO). *Cancer* 2009;115:1234-44.
79. Chi DS, Eisenhauer EL, Zivanovic O, Sonoda Y, Abu-Rustum NR, Levine DA, et al. Improved progression-free and overall survival in advanced ovarian cancer as a result of a change in surgical paradigm. *Gynecol Oncol*. 2009 Jul;114(1):26-31. doi: 10.1016/j.ygyno.2009.03.018. Epub 2009 Apr 23.
80. Wimberger P, Wehling M, Lehmann N, Kimmig R, Schmalfeldt B, Burges A, et al. Influence of residual tumor on outcome in ovarian cancer patients with FIGO stage IV disease: an exploratory analysis of the AGO-OVAR (Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie Ovarian Cancer Study Group). *Ann Surg Oncol*. 2010 Jun;17(6):1642-8. doi: 10.1245/s10434-010-0964-9. Epub 2010 Feb 18.
81. Hudolin T, Kastelan Z, Derezić D, Basić-Jukić N, Cesare Spagnoli G, Juretić A, et al. Expression of MAGE-A1, MAGE-A3/4 and NY-ESO-1 cancer-testis antigens in fetal testis. *Acta Dermatovenerol Croat*. 2009;17(2):103-7.
82. Schultz-Thater E, Noppen C, Gudat F, Dürmüller U, Zajac P, Kocher T, et al. NY-ESO-1 tumour associated antigen is a cytoplasmic protein detectable by specific monoclonal antibodies in cell lines and clinical specimens. *Br J Cancer*. 2000 Jul;83(2):204-8. doi: 10.1054/bjoc.2000.1251.
83. Collins GS, Ogundimu EO, Altman DG. Sample size considerations for the external validation of a multivariable prognostic model: a resampling study. *Stat Med*. 2016 Jan 30;35(2):214-26. doi: 10.1002/sim.6787. Epub 2015 Nov 9.
84. Altman DG, Royston P. What do we mean by validating a prognostic model? *Stat Med*. 2000 Feb 29;19(4):453-73. doi: 10.1002/(sici)1097-0258(20000229)19:4<453::aid-sim350>3.0.co;2-5.

85. Royston P, Altman DG. External validation of a Cox prognostic model: principles and methods. *BMC Med Res Methodol*. 2013 Mar 6;13:33. doi: 10.1186/1471-2288-13-33.
86. Ogundimu EO, Altman DG, Collins GS. Adequate sample size for developing prediction models is not simply related to events per variable. *J Clin Epidemiol*. 2016 Aug;76:175-82. doi: 10.1016/j.jclinepi.2016.02.031. Epub 2016 Mar 8.
87. Aghajanian C, Blank SV, Goff BA, Judson PL, Teneriello MG, Husain A, et al. OCEANS: a randomized, double-blind, placebo-controlled phase III trial of chemotherapy with or without bevacizumab in patients with platinum-sensitive recurrent epithelial ovarian, primary peritoneal, or fallopian tube cancer. *J Clin Oncol*. 2012;30(17):2039-45. doi: 10.1200/JCO.2012.42.0505.
88. Dasari S, Tchounwou PB. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *Eur J Pharmacol*. 2014;740:364-78.
89. Zhou J, Kang Y, Chen L, Wang H, Liu J, Zeng S, Yu L. The Drug-Resistance Mechanisms of Five Platinum-Based Antitumor Agents. *Front Pharmacol*. 2020;11:343.
90. Agarwal R, Kaye SB. Ovarian cancer: strategies for overcoming resistance to chemotherapy. *Nat Rev Cancer*. 2003, 3(7), 502-16. doi: 10.1038/nrc1123.
91. Shen DW, Pouliot LM, Hall MD, Gottesman MM. Cisplatin resistance: a cellular self-defense mechanism resulting from multiple epigenetic and genetic changes. *Pharmacol Rev*. 2012, 64(3), 706-21. doi: 10.1124/pr.111.005637. Epub 2012 Jun 1.
92. Leung D, Price ZK, Lokman NA, Wang W, Goonetilleke L, Kadife E, et al. Platinum-resistance in epithelial ovarian cancer: an interplay of epithelial-mesenchymal transition interlinked with reprogrammed metabolism. *J Transl Med*. 2022 Dec 3;20(1):556. doi: 10.1186/s12967-022-03776-y.
93. Miše BP, Telesmanić VD, Tomić S, Šundov D, Čapkun V, Vrdoljak E. Correlation Between E-cadherin Immunoexpression and Efficacy of First Line Platinum-Based Chemotherapy in Advanced High Grade Serous Ovarian Cancer. *Pathol Oncol Res*. 2015;21(2):347-56.
94. Tiwari N, Gheldof A, Tatari M, Christofori G. EMT as the ultimate survival mechanism of cancer cells. *Semin Cancer Biol*. 2012 Jun; 22(3): 194-207. doi: 10.1016/j.semcancer.2012.02.013. Epub 2012 Mar 8.
95. Pawłowska A, Rekowska A, Kuryło W, Pańczyszyn A, Kotarski J, Wertel I. Current Understanding on Why Ovarian Cancer Is Resistant to Immune Checkpoint Inhibitors. *Int J Mol Sci*. 2023;24(13):10859.

96. Alexandrov LB, Nik-Zainal S, Wedge DC, Aparicio SA, Behjati S, Biankin AV, et al. Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature*. 2013;500(7463):415-21.
97. Juretic A, Jürgens-Göbel J, Schaefer C, Noppen C, Willmann TE, Kocher T, et al. Cytotoxic T-lymphocyte responses against mutated p21 ras peptides: an analysis of specific T-cell-receptor gene usage. *Int J Cancer*. 1996;68(4):471-8.
98. Domínguez-Prieto V, Qian S, Villarejo-Campos P, Meliga C, González-Soares S, Guijo Castellano I, et al. Understanding CAR T cell therapy and its role in ovarian cancer and peritoneal carcinomatosis from ovarian cancer. *Front Oncol*. 2023;13:1104547.
99. Groeper C, Gambazzi F, Zajac P, Bubendorf L, Adamina M, Rosenthal R, et al. Cancer/testis antigen expression and specific cytotoxic T lymphocyte responses in non small cell lung cancer. *Int J Cancer*. 2007 Jan 15;120(2):337-43. doi: 10.1002/ijc.22309.
100. Simpson AJ, Caballero OL, Jungbluth A, Chen YT, Old LJ. Cancer/testis antigens, gametogenesis and cancer. *Nat Rev Cancer*. 2005 Aug;5(8):615-25. doi: 10.1038/nrc1669.
101. Li XF, Ren P, Shen WZ, Jin X, Zhang J. The expression, modulation and use of cancer-testis antigens as potential biomarkers for cancer immunotherapy. *Am J Transl Res*. 2020, 12(11), 7002-7019.
102. Hartmann S, Zwick L, Scheurer MJJ, Fuchs AR, Brands, RC Seher, et al. MAGE-A11 expression contributes to cisplatin resistance in head and neck cancer. *Clin Oral Investig*. 2018, 22(3), 1477-1486. doi: 10.1007/s00784-017-2242-8. Epub 2017 Oct 15.
103. Duan Z, Duan Y, Lamendola DE, Yusuf RZ, Naeem R, Penson RT, et al. Overexpression of MAGE/GAGE genes in paclitaxel/doxorubicin-resistant human cancer cell lines. *Clin Cancer Res*. 2003, 9(7), 2778-85.
104. Kasuga C, Nakahara Y, Ueda S, Hawkins C, Taylor MD, Smith CA, et al. Expression of MAGE and GAGE genes in medulloblastoma and modulation of resistance to chemotherapy. Laboratory investigation. *J NeurosurgPediatr*. 2008, 1(4), 305-13. doi: 10.3171/PED/2008/1/4/305.
105. Weeraratne SD, Amani V, Neiss A, Teider N, Scott DK, Pomeroy SL, et al. miR-34a confers chemosensitivity through modulation of MAGE-A and p53 in medulloblastoma. *Neuro Oncol*. 2011 Feb;13(2):165-75. doi: 10.1093/neuonc/noq179. Epub 2010 Dec 22.
106. Hartmann S, Kriegebaum U, Kuchler N, Brands RC, Linz C, Kübler AC, et al. Correlation of MAGE-A tumor antigens and the efficacy of various chemotherapeutic agents in head and neck carcinoma cells. *Clin Oral Investig*. 2014, 18(1), 189-97. doi: 10.1007/s00784-013-0936-0. Epub 2013 Feb 21.

107. Marcar L, Maclaine NJ, Hupp TR, Meek DW. Mage-A cancer/testis antigens inhibit p53 function by blocking its interaction with chromatin. *Cancer Res.* 2010 Dec 15;70(24):10362-70. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1341. Epub 2010 Nov 5.
108. Nardiello T, Jungbluth AA, Mei A, Diliberto M, Huang X, Dabrowski A, et al. MAGE-A inhibits apoptosis in proliferating myeloma cells through repression of Bax and maintenance of survivin. *Clin Cancer Res.* 2011 Jul 1;17(13):4309-19. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-10-1820. Epub 2011 May 12.
109. Sigalotti L, Fratta E, Coral S, Tanzarella S, Danielli R, Colizzi F, et al. Intratumor heterogeneity of cancer/testis antigens expression in human cutaneous melanoma is methylation-regulated and functionally reverted by 5-aza-2'-deoxycytidine. *Cancer Res.* 2004 Dec 15;64(24):9167-71. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-04-1442.
110. Yakirevich E, Sabo E, Lavie O, Mazareb S, Spagnoli GC, Resnick MB. Expression of the MAGE-A4 and NY-ESO-1 cancer-testis antigens in serous ovarian neoplasms. *Clin Cancer Res.* 2003 Dec 15;9(17):6453-60.
111. Xu Y, Wang C, Zhang Y, Jia L, Huang J. Overexpression of MAGE-A9 Is Predictive of Poor Prognosis in Epithelial Ovarian Cancer. *Sci Rep.* 2015 Jul 15;5:12104. doi: 10.1038/srep12104.
112. Szender JB, Papanicolau-Sengos A, Eng KH, Miliotto AJ, Lugade AA, Gnjatic S, et al. NY-ESO-1 expression predicts an aggressive phenotype of ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2017 Jun;145(3):420-425. doi: 10.1016/j.ygyno.2017.03.509. Epub 2017 Apr 6.
113. Matak L, Mikuš M, Čorić M, Spagnol G, Matak M, Vujić G. Comparison end-to-end anastomosis with ostomy after secondary surgical cytoreduction for recurrent high-grade serous ovarian cancer: observational single-center study. *Arch Gynecol Obstet.* 2023 Jul;308(1):231-237. doi: 10.1007/s00404-023-06918-9. Epub 2023 Jan 21.

## **11. ŽIVOTOPIS**

## **OSOBNI PODACI**

Ime i prezime: Nataša Lisica-Šikić

Datum i mjesto rođenja: 03.09.1967., Zadar

Prebivalište: Petrčane, Ulica XXX 6A

Posao: Opća bolnica Zadar, Bože Peričića 5, Zadar

Mobitel: 098 277134

E-mail: nlicasikic@gmail.com

## **OBRAZOVANJE**

- Centar za odgoj i usmjereno obrazovanje "Juraj Baraković" Zadar (gimnazija)
- Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
- Specijalizacija iz patološke anatomije; specijalistički ispit: srpanj 2004. godine
- Stručni poslijediplomski studij iz patologije, Medicinski fakultet sveučilišta u Zagrebu, 2000.-2002. godine
- Doktorski studij „Biologija novotvorina“ na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Splitu 2009.-2011. godine

## **PROFESIONALNO I RADNO ISKUSTVO**

- Liječnik stažist u Dom zdravlja studenata Zagreb; 1995.-1997. godine
- Liječnik opće medicine u Domu zdravlja studenata Zagreb 1997.-1999. godine
- Liječnik specijalizant patologije u KB Merkur, KBC-u Zagreb, Klinika za tumore Zagreb od 2000.- 2004. godine
- Liječnik specijalist patolog na Odjelu za patologiju i sudsku medicinu Opće bolnice Zadar od 2004. do danas
- Voditelj odjela za patologiju, citologiju i sudsku medicinu OB Zadar od 2006.- do danas
- Primarijat 2019. godine

## **OSTALE AKTIVNOSTI**

- Stalni sudski vještak patološke anatomije od 2005. godine
- Predavač u srednjoj Medicinskoj školi Ante Kuzmanića u Zadru - predmet Patologija i citologija od 2010. godine
- Član Povjerenstva za nadzor nad radom mrtvozornika Zadarske županije od 2014. godine

- Naslovni asistent u znanstvenom području biomedicina i zdravstvo, polje kliničke medicinske znanosti (patologija) na Odjelu za zdravstvene studije Sveučilišta u Zadru od 2019. godine

#### **DODATNA STRUČNA USAVRŠAVANJA**

- 2005. Poslijediplomski tečaj za obavljanje poslova sudskog vještačenja medicinske struke iz područja patološke anatomije,
- 2007. Međunarodna radionica - međunarodni tečaj stalnog usavršavanja liječnika I kategorije: „Tumori prostate" Velenje, Slovenija
- 2018. Međunarodni tečaj (radionica) I kategorije: „Nove metode liječenja melanoma" u sklopu međunarodnog projekta MelaDetect
- 2019. Međunarodni tečaj I kategorije: „Iskustva liječnika i pacijenata" - Meladetect

Nacionalni programi ranog otkivanja raka dojke, debelog crijeva, vrata maternice:

- 2016. Edukacijska radionica za rak vrata maternice - Twinning projekt “Unaprjeđenje kvalitete provedbe Nacionalnih programa ranog otkrivanja raka (CRO SCREENING)”
- 2017. Twinning projekt unaprjeđenje kvalitete kvalitete provedbe Nacionalnih programa ranog otkrivanja raka (CRO SCREENING) - rak vrata maternice
- 2017. Radionica rak debelog crijeva „Provedba regionalnih radionica za 80 zdravstvenih stručnjaka vezano za organizaciju i implementaciju Nacionalnih programa probira raka“ - twinning projekt (CRO SCREENING)
- 2017. Twinning projekt “Unaprjeđenje kvalitete provedbe Nacionalnih programa ranog otkrivanja raka (CRO SCREENING)” - rak debelog crijeva

#### **ČLANSTVO U STRUKOVNIM UDRUGAMA I INSTITUCIJAMA**

- Član Hrvatskog liječničkog zbora
- Član Hrvatskog društva patologa i sudskih medicinara
- Član Europskog društva patologa
- Član Stručnog vijeća Opće bolnice Zadar

## **STRUČNO-PUBLICISTIČKI RAD**

Sudjelovala sam u 19 znanstvenih ili stručnih radova, od kojih je 12 u međunarodno indeksiranim publikacijama (3 indeksirana u bazi CurrentContents, 7 u bazi SCI-Exp, 3 u bazi Scopus). Prvi sam autor 13 priopćenja na stručnim ili znanstvenim skupovima od kojih 2 na međunarodnim, 3 na domaćim skupovima s međunarodnim sudjelovanjem, 6 na domaćim skupovima. Prvi sam autor ili koautor 14 objavljenih sažetaka (kongresna priopćenja), te prvi autor ili koautor 11 priopćenja (poster prezentacija) na stručnim skupovima.

### **Popis objavljenih radova**

#### **Popis radova indeksiranih u bazi CurrentContents**

1. Bačić I, Škarica R, Sulen N, Zadro Z, **Lisica-Šikić N**, Karlo R, Petani B. The role of videomediastinoscopy in staging of non-small cell lung cancer. *Coll Antropol.* 2012 Dec;36(4):1441-4.
2. Rudić M, Kranjčec Z, **Lisica-Šikić N**, Kovačić M. Giant basal cell carcinoma of the forehead: a case report. *Coll Antropol.* 2012 Mar;36(1):317-9.
3. Kovačić M, Rudić M, Nekić I, **Lisica-Šikić N**, Kranjčec Z, Šimurina T. Giant pilomatrixoma (benign calcifying epithelioma of Malherbe) of the neck and face. *Dermatologic surgery.* 2007;33(3): 340-343. doi:10.1111/j.1524-4725.2007.33070.

#### **Popis radova indeksiranih u bazi WOS, SCI-Exp**

1. **Lisica Šikić N**, Petrić Miše B, Tomić S, Spagnol G, Matak L, Juretić A, Spagnoli G. MAGE-A10 Protein Expression in Advanced High Grade Serous Ovarian Cancer Is Associated with Resistance to First-Line Platinum-Based Chemotherapy. *Cancers.* 2023; 15(19):4697. <https://doi.org/10.3390/cancers15194697>
2. Jurić O, **Lisica Šikić N**, Žufić V, Matak L, Karlo R, Mihanović J. Rectal prolapse as the initial presentation of rectal cancer-A case report. *Front Surg.* 2023 Apr 11;10:1176726. doi: 10.3389/fsurg.2023.1176726.
3. Matak L, Dukić B, Tupek T, **Lisica-Šikić N**, Mikuš M. Primary ectopic lobular breast cancer of the vulva: case report and review of literature. *J Obstet Gynaecol.* 2020 Jul;40(5):727-730. doi: 10.1080/01443615.2019.1623182. Epub 2019 Jul 29.
4. Matak M, **Lisica-Šikić N**, Matak L. Cutaneous vulvar metastasis in a patient with rectal adenocarcinoma. *Int J Dermatol.* 2022 May;61(5):e168-e169. doi: 10.1111/ijd.16006. Epub 2021 Nov 24.



5. Mihanović J, **Lisica Šikić N**, Mrklič I, Katušić Z, Karlo R, Jukić M. Comparison of new versus reused Harmonic scalpel performance in laparoscopic appendectomy in patients with acute appendicitis-a randomized clinical trial. *Langenbecks Arch Surg.* 2021 Feb 25;406(1):153-162.
6. Matak L, Bačić I, Mihanović J, **Lisica Šikić N** et al. Recurrent pleural effusion and pain in the shoulder in women of reproductive age could have a gynaecological cause: case series. *Case Reports in Journal of Perinatal Medicine.* Jul;2019; 8(2) DOI: 10.1515/crpm-2019-0028.
7. Jonjić N, Mustać E, Tomić S, Razumović JJ, Šarčević B, Blažičević V, Labinac LP, Švigelj D, Kopjar A, **Lisica Šikić N**, Vrbičić B, Borić I. Interlaboratory concordance in HER-2 positive breast cancer. *Acta Clin Croat.* 2015 Dec;54(4):479-85.

#### **Popis radova indeksiranih u bazi Scopus**

1. Tomić S, Mrklič I, Jakić Razumović J, Jonjić N, Šarčević B, Blažičević V, Jurković I, Vrbičić B, **Lisica Šikić N**, Labinac Peteh L, Tomasović Lončarić Č, Vučić M, Gašparov S, Švigelj D, Radiković S, Mahovne I. Inter-laboratory comparison of Ki-67 proliferating index detected by visual assessment and automated digital image analysis. *Breast Disease* 2019 April 1, DOI: 10.3233/BD-180341.
2. Ražov-Radas M, **Lisica-Šikić N**. Rano otkrivanje adenokarcinoma jednjaka u sluznici Barrettovog jednjaka. *Med. Jad.* 2018; 48(3):91-98.

#### **Popis ostalih radova**

1. **Lisica-Šikić N**, Balorda Lj, Balorda A. Influence of Implementation of the National Program for Early Cervical Cancer Detection on Incidence of Cervical Cancer in Zadar County [Abstract]. In: 7th International Symposium „Health for All?! Social engagement and self-management of health and chronic disease!“; 10 May 2019, Rijeka, Croatia.
2. Balorda Lj, Tešić V, Balorda A, **Lisica-Šikić N**, Škrgatić Z. Zloćudna novotvorina dojke u žena u Zadarskoj županiji U: 4. Hrvatski epidemiološki kongres s međunarodnim sudjelovanjem, 16.-18. svibanj, 2019; Opatija, Croatia.
3. **Lisica-Sikić N**, Culina Z, Bacic I, Skitarelic Na, Culina D. Giant Ancient Schwannoma Presenting as a Mediastinal Multicystic Tumor: A Case Report. [Abstract]. In: 9. kongres Hrvatskog torakalnog društva Torax 2019., 10.-13. svibanj; Zagreb, Croatia.

4. **Lisica-Sikić N**, Turcinov J. Malignant Small Bowel tumors over a 10-years period (2007-2017) at General Hospital Zadar [Abstract]. 8. kongres Hrvatskog gastroenterološkog društva s međunarodnim sudjelovanjem, 11.-14. listopada 2018.; Split, Croatia.
5. Petrić Miše B, **Lisica Šikić N**, Tomić S, Šundov D, Čapkun V, Vrdoljak E. Correlation between IMP3 expression in advanced high-grade serous ovarian cancer with platinum sensitivity and patient survival [Abstract]. 12th Central European Oncology Congress – Book of abstracts; 2016 June 22.-25.; Opatija, Croatia.
6. Klarin I, Kristina M, **Lisica Sikić N**, Skific I. Malignant Lymphoma Of The Duodenum Presenting With Melaena And Obstructive Jaundice At The Same Time – A Case Report. The Internet Journal of Gastroenterology. 2009.; 10(1).
7. Dasović-Knežević M, **Lisica-Šikić N**, Dukić B. Extraluminal Gastrointestinal Stromal Tumor Simulating Ovarian Tumor - Case Report. Acta Clinica Croatica. 2005.;44(2):228-229.

### **Popis priopćenja na stručnim ili znanstvenim skupovima**

Međunarodni skupovi:

1. **Lisica-Šikić N**, Balorda P, Balorda A, Balorda Lj: The Importance of a Nutritionist-Planned Diet in Inflammatory Bowel Disease Treatment [Abstract], 7th International Congress of Nutritionists, 8 - 10 November 2019; Zagreb, Croatia. Poster
2. **Lisica Šikić N**, Balorda Lj, Balorda A: Influence of Implementation of the National Program for Early Cervical Cancer Detection on Incidence of Cervical Cancer in Zadar County [Abstract]. In: 7th International Symposium „Health for All?! Social engagement and self-management of health and chronic disease!“; 10 May 2019, Rijeka, Croatia. Poster
3. Petrić Miše B, **Lisica Šikić N**, Tomić S, Juretić A, Spagnoli G, Čapkun V, Vrdoljak E. Impact of MAGE-A10 immunoexpression on efficacy of first line platinum-based chemotherapy in advanced high-grade serous ovarian cancer [Abstract]. In: 20th Biennial Meeting of the European Society of Gynaecological Oncology (ESGO 2017); 4-7 November 2017., Vienna, Austria. Poster
4. Petrić Miše B, **Lisica Šikić N**, Tomić S, Juretić A, Spagnoli G, Čapkun V, Vrdoljak E. Impact of NY-ESO-1 immunoexpression on efficacy of first line platinum-based chemotherapy in advanced high-grade serous ovarian cancer [Abstract]. In: 20th

Biennial Meeting of the European Society of Gynaecological Oncology (ESGO 2017); 4-7 November 2017., Vienna, Austria. Poster

5. Petrić Miše B, **Lisica Šikić N**, Tomić S, Šundov D, Čapkun V, Vrdoljak E. Correlation between IMP3 expression in advanced high-grade serous ovarian cancer with platinum sensitivity and patient survival [Abstract]. 12th Central European Oncology Congress – Book of abstracts; 22-25 June, 2016., Opatija, Croatia. Poster
6. Dasović-Knežević M, **Lisica-Šikić N**, Dukić B. Case report: An extraluminal gastrointestinal stromal tumor (EGIST) simulating ovarian tumor [abstract]. 16th Ljudevit Jurak International Symposium on Comparative Pathology – Book of abstracts; 3 June 2005, Zagreb, Croatia. Poster

#### **Domaći skupovi s međunarodnim sudjelovanjem:**

1. Basioli Kasap E, Benček F, Morović D, **Lisica-Šikić N**, Dokoza M. Spontani pneumotoraks - prvi znak karcinoma pluća. 8. kongres Hrvatskog pulmološkog društva 13.-16. 10. 2022. Dubrovnik, Hrvatska. Poster
2. Balorda Lj, Tešić V, Balorda A, **Lisica Šikić N**, Škrgatić Z. Zloćudna novotvorina dojke u žena u Zadarskoj županiji. 4. Hrvatski epidemiološki kongres s međunarodnim sudjelovanjem, 16.-18. svibanj 2019., Opatija, Croatia. Poster
3. **Lisica-Sikić N**, Culina Z, Bacic I, Skitarelic Na, Culina D. Giant Ancient Schwannoma Presenting as a Mediastinal Multicystic Tumor: A Case Report. [Abstract]. 9. kongres Hrvatskog torakalnog društva Torax, 10.-13. travanj, 2019., Zagreb, Croatia. Poster
4. **Lisica-Sikić N**, Turcinov J. Malignant Small Bowel tumors over a 10-years period (2007-2017) at General Hospital Zadar [Abstract]: 8. kongres Hrvatskog gastroenterološkog društva s međunarodnim sudjelovanjem, 11.-14. listopad 2018.; Split, Croatia. Poster
5. **Lisica-Šikić N**. Patohistološki aspekti kolorektalnog karcinoma. XXIII. godišnji sastanak Hrvatskog gastroenterološkog društva s međunarodnim sudjelovanjem, 25-27. travanj 2014.; Zadar. Pozvano predavanje
6. Kranjčec Z, Rudić M, **Lisica-Šikić N**, Nekić I, Kovačić M. Primarni neuroendokrini tumor submandibularne žlijezde: prikaz slučaja [sažetak]: 8. kongres Hrvatskog društva za otorinolaringologiju i kirurgiju glave i vrata s međunarodnim sudjelovanjem-Knjiga sažetaka; 8.-11. svibanj 2013., Vodice, Hrvatska. Med Jad. 2013;43 (Suppl.):28. Poster i sažetak

7. Kozić M, Turčinov J, **Lisica-Šikić N**, Klarin I, Ražov Radas M, Marcelić R, Matas Z, Markulin A. Dijagnostička vrijednost biopsije jetre i imunohistokemijskih pretraga kod jetrenih metastaza s nepoznatom primarnom lokalizacijom tumora [sažetak]. U: 5. kongres hrvatskog gastroenterološkog društva – Knjiga sažetaka, May 2009, Dubrovnik, Croatia. Poster

#### **Domaći skupovi:**

1. **Lisica-Šikić N**. FNB promjene na gušterači analiza patologa. EUS i ERCP iz perspektive OB Zadar Stručni skup Hrvatskog gastroenterološkog društva, 23. studenog 2019., Zadar, Hrvatska. Pozvano predavanje
2. **Lisica-Šikić N**. Karcinom dojke - uloga patologa. Stručni skup Hrvatskog liječničkog zbora, 14. prosinac 2017., Zadar. Predavanje
3. **Lisica-Šikić N**. Karcinom debelog crijeva-patohistološki aspekti, Nacionalni program ranog otkrivanja raka debelog crijeva - Zadarski rezultati danas i sutra, Stručni skup Hrvatskog liječničkog zbora, 25. travanj 2016., Zadar. Predavanje
4. **Lisica-Šikić N**. Uloga patologa u dijagnostici i liječenju karcinoma dojke. 7. Skup hrvatskih specijalizanata i mladih liječnika, listopad 2013., Biograd n/m, Hrvatska. Pozvano predavanje
5. **Lisica-Šikić N**. Kolorektalni karcinom-patohistološki aspekti [sažetak]. 6. Skup hrvatskih specijalizanata i mladih liječnika, 2. lipanj 2012., Biograd n/M, Hrvatska. Predavanje
6. **Lisica-Šikić N**. Dijagnostički i terapijski postupci kod bolesnika s rakom debelog crijeva. Stručni skup Hrvatskog liječničkog zbora Zadar: Multidisciplinarni pristup - liječenje bolesnika s rakom debelog crijeva, 7. prosinac 2011., Zadar. Predavanje
7. **Lisica-Šikić N**. Maligna alteracija kod bolesnika s ulceroznim kolitisom. Stručni skup Hrvatskog gastroenterološkog društva, 13.lipanj 2006., Biograd n/m, Hrvatska. Pozvano predavanje
8. Kovačić M, Rudić M, Nekić I, **Lisica-Šikić N**, Kranjčec Z. Gigantski pilomatriksom glave i vrata [sažetak]. IV Kongres Hrvatskog društva za otorinolaringologiju i kirurgiju glave i vrata, Zbornik sažetaka; 18. - 21. svibanj 2005., Poreč, Hrvatska. Poster i sažetak