UNIVERZITET U BANJOJ LUCI

MEDICINSKI FAKULTET BANJA LUKA

ŽIVORAD GAJANIN

PROGNOSTIČKI ZNAČAJ MORFOLOŠKIH KARAKTERISTIKA I EKSPRESIJE RECEPTORA FAKTORA RASTA U KARCINOMU GRLIĆA MATERICE

DOKTORSKA DISERTACIJA

BANJA LUKA, 2020. GODINE

UNIVERSITY OF BANJA LUKA

FACULTY OF MEDICINE

ŽIVORAD GAJANIN

PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS AND EXPRESSION OF GROWTH FACTOR RECEPTORS IN CERVICAL CANCER

DOCTORAL DISSERTATION

BANJA LUKA, 2020.

MENTOR: Prof. dr Nenad Lučić, redovni profesor, Medicinski fakultet, Univerzitet u Banjoj Luci

NASLOV: PROGNOSTIČKI ZNAČAJ MORFOLOŠKIH KARAKTERISTIKA I EKSPRESIJE RECEPTORA FAKTORA RASTA U KARCINOMU GRLIĆA MATERICE

REZIME: Karcinom grlića materice se nalazi na četvrtom mjestu po učestalosti karcinoma u ženskoj populaciji i predstavlja najčešći ginekološki malignitet širom svijeta. U zemljama u razvoju je uočen visok stepen incidencije karcinoma grlića materice od 85% na godišnjem nivou. Stopa smrtnosti je takođe veća u ovim zemljama. Za razliku od zemalja u razvoju, u zapadnim razvijenim zemljama se vrše trajni screening programi za detekciju i rano otkrivanje karcinoma grlića materice, pa samim tim bilježe i nižu incidenciju, a veću stopu preživljavanja.

Terapija bolesnica sa karcinomom cerviksa je usmjerena ne samo na primarnu lokalizaciju tumora, već i na okolna tkiva i limfne čvorove. Liječenje se postiže radikalnom histerektomijom sa pelvičnom limfadenektomijeom, zračenjem u kombinaciji sa hemoterapijom ili kombinacijom svih metoda liječenja. Preživljavanje pacijentica zavisi od proširenosti (stadijuma) bolesti. Petogodišnje preživljavanje u stadijumu IA1 iznosi 98,7%, a u stadijumu IVB 15%, bez obzira na primjenjeni terapijski protokol.

Stoga, postoji potreba da se istraživanjem utvrde biološki mehanizmi koji utiču na nastanak, progresiju i ishod liječenja karcinoma grića materice, te da se ustanove nove terapijske „mete“ koje bi omogućile bolju prognozu za oboljene od karcinoma cerviksa. Molekularna patogeneza karcinoma cerviksa uključuje aberantnu ekspresiju onkogena i tumor supresorskih gena, te promjene u signalnim putevima kao što su Wnt/β-katenin, mTOR i Notch putevi. Tačni ćelijski mehanizmi karcinogeneze u ovom karcinomu su još uvijek slabo razjašnjeni. Brojna istraživanja ukazuju na značaj ekspresije receptora FLOT2, Wnt5A i ROR2 u malignitetima na različitim lokalizacijama. Istraživanja su utvrdila da ekspresija pomenutih receptora može uticati na sljedeće procese: tumorogenezu, tumorsku progresiju, proliferaciju, diferencijaciju, apoptozu, adheziju, invaziju, imunosupresiju, sklonost ka metastaziranju, pojavu recidiva i rezistenciju na hemo i radioterapiju.

Razumijevanje molekularne osnove u vezi sa nastankom karcinoma cerviksa može uticati na ranu dijagnozu, razvoj novih terapijskih modaliteta i prognozu bolesti. Identifikacijom novih biomarkera omogućiće se predviđanje progresije, prognoza tumora i razvoj novih ciljanih terapijskih metoda u liječenju karcinoma cerviksa.

U našem istraživanju utvrdili smo klinički značaj ekspresije FLOT2, Wnt5A i ROR 2 u karcinomu cerviksa i povezanost njihove ekspresije u tumorskim ćelijama sa drugim prognostičkim faktorima, pojavom recidiva bolesti i ukupnim preživljavanjem pacijentica oboljelih od karcinoma grlića materice.

U istraživanje je uključena 101 pacijentica sa karcinomom cerviksa, kod kojih je urađena hirurška intervencija u Univerzitetskom Kliničkom centru Republike Srpske. Na hirurškim materijalima utvrđeni su prognostički parametri, te je imunohistohemijskom tehnikom određivana ekspresija faktora rasta FLOT2, Wnt5A i ROR 2.

Pacijentice su praćene 5 godina, te je utvrđen uticaj prognostičkih parametara i ekspresije faktora rasta na prognozu i preživljavanje.

Prosječna starost pacijentica u istraživanju je 51 godina, a najveći broj pacijentica je bio u dobnoj grupi od 41 – 60 godina (56,4%). Najčešća intervencija tokom liječenja je bila radikalna histerektomija sa pelvičnom limfadenektomijom (97%). Invazivni skvamocelularni karcinom je detektovan kod 92% ispitanica, umjerenog stepena diferencijacije kod 74,3%, a sa dubinom invazije strome cerviksa >5mm kod 90% naših pacijentica. Stadijum FIGO IB1 je utvrđen kod 53,5% ispitanica, invazija u limfne sudove u 57,4% slučajeva, krvne sudove u 15,8% slučajeva, a metastaze u limfne čvorove kod 37% pacijentica, dok su pozitivni rubovi resekcije uočeni kod 4,5 % naših ispitanica.

Ekspresija faktora rasta u tumorskim ćelijama je najčešće bila prisutna u visokom intenzitetu: FLOT2 u 81,2% slučajeva, Wnt5A u 70,3% slučajeva i ROR2 u 62,4% slučajeva.

Preživljavanje pacijentica oboljelih od karcinoma grlića materice nakon pet godina praćenja u našoj studiji je bilo 70,8%.

Na dužinu preživljavanja u našem istraživanju su uticali: tip hirurške intervencije, FIGO stadijum bolesti, pTNM stadijum bolesti, invazija limfnih sudova, invazija krvnih sudova, broj metastatskih limfnih čvorova, ekspresija FLOT2 u tumorskim ćelijama, primjenjene vrste terapije i postojanje povratka (relapsa) bolesti.

Na dužinu preživljavanja u našem istraživanju nisu uticali: godine starosti pacijentice, histološki tip invazivnog karcinoma, histološki gradus tumora, dubina invazije strome cerviksa, ukupan broj odstranjenih pelvičnih limfnih čvorova, status rubova resekcije, ekspresija Wnt5A u tumorskim ćelijama i ekspresija ROR2 u tumorskim ćelijama.

Kao nezavisni prognostički faktori u našem istraživanju su se pokazali: invazija u limfne sudove, invazija u krvne sudove, metastatski izmjenjeni limfni čvorovi i ekspresije FLOT2 u tumorskim ćelijama.

U istraživanju nismo utvrdili značaj u prognozi i preživljavanju pacijentica koje su imale visoku ekspresiju Vnt5A i ROR2, u odnosu na one koje nisu imale ekspresiju.

Ipak, rezultate istraživanja treba interpretirati sa oprezom, s obzirom na to da je riječ o istraživanju u okviru jedne institucije, kao i o tome da je analiziran selektovani uzorak, koga su činile pacijentice koje su bile operabilne u vrijeme dijagnostikovanja bolesti. Sve aktivnosti i istraživanja za utvrđivanje bioloških mehanizama nastanka, progresije, invazije, metastaziranja, te mogućih specifičnih "meta" na koje bi djelovala terapijska sredstva treba nastaviti i intenzivirati, a sa ciljem smanjenja stope morbiditeta i mortaliteta žena oboljelih od karcinoma cerviksa.

Ključne riječi: karcinom cerviksa, prognoza, ekspresija FLOT2, Wnt5A i ROR2
Naučna oblast: Ginekologija i opstetricija
Naučno polje: Kliničke medicinske nauke
Klasifikaciona oznaka prema Cerif šifrarniku za naučnu oblast: B-570
Tip odabrane licence Kreativne zajednice: Autorstvo-nekomercijalno (CC BY-NC)

SUPERVISOR: Prof. dr Nenad Lučić, Full professor, Faculty of Medicine, University of Banja Luka

TITLE: PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS AND EXPRESSION OF GROWTH FACTOR RECEPTORS IN CERVICAL CANCER**SUMMARY:**

Cervical cancer is ranked fourth in cancer prevalence in the female population and is the most common gynecologic malignancy worldwide. In developing countries, a high incidence of cervical cancer of 85% has been observed annually. The mortality rate is also higher in these countries. In contrast to developing countries, ongoing screening programs for the detection and early detection of cervical cancer are being carried out in western developed countries, and thus there is a lower incidence and a higher survival rate in these countries.

Therapy of patients with cervical cancer is focused not only on the primary localization of the tumor but also on the surrounding tissues and lymph nodes. Treatment is achieved by radical hysterectomy with pelvic lymphadenectomy, radiation in combination with chemotherapy or a combination of all treatment methods. The survival of patients depends on the expansion (stage) of the disease. Five-year survival in stage IA1 is 98.7%, and in stage IVB 15%, regardless of the used therapeutic protocol.

Therefore, there is a need for research to identify biological mechanisms that influence the onset, progression, and outcome of treatment for cervical cancer, and to identify new therapeutic "targets" that would provide a better prognosis for cervical cancer patients. Molecular pathogenesis of cervical cancer involves aberrant expression of oncogenes and tumor suppressor genes, and changes in signaling pathways such as Wnt/β-catenin, mTOR, and Notch pathways. The exact cellular mechanisms of carcinogenesis in this cancer are still poorly understood. Numerous studies indicate the importance of expression of FLOT2, Wnt5A, and ROR2 receptors in malignancies at different localities. Studies have found that the expression of these receptors can influence the following processes: tumorigenesis, tumor progression, proliferation, differentiation, apoptosis, adhesion, invasion, immunosuppression, propensity for metastasis, recurrence, and resistance to chemo and radiotherapy.

The understanding of the molecular basis of cervical cancer onset may influence early diagnosis, development of new therapeutic modalities, and disease prognosis.

The identification of new biomarkers will enable the prognosis of progression, tumor prognosis and the development of new targeted therapeutic methods in the treatment of cervical cancer.

In our study, we established the clinical significance of expression of FLOT2, Wnt5A, and ROR 2 in cervical cancer and the association of their expression in tumor cells with other prognostic factors, the onset of disease recurrence, and overall survival of patients with cervical cancer.

The study included 101 patients with cervical cancer who underwent surgical intervention at the University Clinical Center of Republic of Srpska. On surgical materials, we have determined prognostic parameters, and the expression of growth factors FLOT2, Wnt5A and ROR 2 were determined by immunohistochemical technique.

Patients were followed for 5 years and the influence of prognostic parameters and growth factor expression on the prognosis and survival was determined.

The average age of the patients in the study was 51 years and the highest number of patients was in the age group of 41-60 years (56.4%). The most frequent intervention during treatment was radical hysterectomy with pelvic lymphadenectomy (97%). Invasive squamous cell carcinoma was detected in 92% of patients, with a moderate degree of differentiation in 74.3%, and with a depth of invasion of the cervical stroma > 5mm in 90% of our patients. The stage of FIGO IB1 was determined in 53.5% of the subjects, invasion into the lymphatic vessels in 57.4% of cases, blood vessels in 15.8% of cases, and metastases into the lymph nodes in 37% of patients, while positive resection margins were observed in 4,5% patients.

Growth factor expression in tumor cells was most commonly present in high intensity: FLOT2 in 81.2% of cases, Wnt5A in 70.3% of cases and ROR2 in 62.4% of cases.

The survival rate of patients with cervical cancer after five years of follow-up in our study was 70.8%.

Survival length in our study was influenced by type of surgery, FIGO stage of the disease, pTNM stage of the disease, invasion of lymphatic vessels, invasion of blood vessels, number of metastatic lymph nodes, expression of FLOT2 in tumor cells, applied therapy type and the existence of relapse.

Survival length in our study was not influenced by patient's age, histologic type of invasive cancer, the histologic grade of the tumor, depth of invasion of cervical stroma, the total number

of removed pelvic lymph nodes, the status of resection margins, expression of Wnt5A in tumor cells and expression of ROR2 in tumor cells.

Independent prognostic factors in our study were invasion into the lymphatic vessels, invasion into the blood vessels, metastatic altered lymph nodes, and FLOT2 expression in tumor cells.

In the study, we did not determine significance in the prognosis and survival of patients who had high expression of Vnt5A and ROR2, compared to those who did not have expression.

However, the results of the study should be interpreted with caution, given that it is research within one institution, as well as the analysis of a selected sample of patients who were operable at the time of diagnosis of the disease. All activities and research to determine the biological mechanisms of onset, progression, invasion, metastasis, and possible specific “targets” that the therapeutic agents would affect should be continued and intensified in order to reduce the morbidity and mortality rates of women with cervical cancer.

Keywords: Cervical carcinoma, Prognosis, Expression LOT2, Wnt5A i ROR2
Scientific field: Gynecology and Opstetrics
Research field: Dentistry, Classification CERIF mark: B-570
Type of Creative Commons license: Authorship – noncommercial (CC BY-NC)

ZAHVALNICA

Najiskrenije se zahvaljujem mentoru ovog rada prof. dr sc. Nenadu Lučiću na razumijevanju, strpljenju i dobronamjernim sugestijama.

Posebnu zahvalnost dugujem kolektivu Zavoda za patologiju Univerzitetskog kliničkog centra Republike Srpske na uloženom trudu.

Neizmjernu zahvalnost dugujem porodici za pomoć i razumijevanje.

SADRŽAJ

1. Uvod 1
1.1 Karcinom grlića materice 1
1.1.1 Incidencija karcinoma grlića materice 1
1.1.2 Faktori rizika 2
1.1.3 Patofiziologija 3
1.1.4 Širenje tumora 5
1.1.5 Limfogeno širenje tumora 6
1.1.6 Lokalno i sistemsko širenje CC 7
1.2 Histološki tipovi karcinoma grlića materice 8
1.2.1 Skvamozni karcinom 8
1.2.2 Adenokarcinom 8
1.2.3 Adenoma malignum 9
1.2.4 Adenoskvamozni karcinom 9
1.2.5 Neuroendokrini karcinom 9
1.3 Etiologija karcinoma cervikasa uterusa 11
1.4 Patogeneza i tok bolesti 11
1.5 Klinička slika 13
1.6 Dijagnostika karcinoma cerviksa 13
1.6.1 Biopsija 14
1.6.2 Konizacija 15
1.6.3 Radiološka slika 15
1.6.4 Klinički stadijum bolesti 16
1.6.5 Diferencijalna dijagnoza 17
1.6.6 Komplikacije 17
1.7 Prevencija 17
1.8 Liječenje karcinoma cerviksa 19
1.8.1 Liječenje u ranom stadijumu bolesti (stadijum IA1 do IIA) 19
1.8.2 Radikalna histerektomija i terapijska limfadenektomija 21
1.8.3 Adjuvantna postoperativna radioterapija 22
1.8.4 Primarna radioterapija sa hemoterapijom 22
1.8.5 Liječenje u posebim situacijama 23

1.8.6 Veliki karcinom grlića materice 24
1.8.7 Liječenje lokalno uznapredovale bolesti (stadijum IIB do IVA) 25
1.8.8 Liječenje diseminirane primarne (stadijum IVB) i perzistentne ili rekurentne bolesti 26
1.8.9 Totalna pelvična egzenteracija kod izolovanog centralnog pelvičnog recidiva bolesti 26
1.8.10 Palijativno zbrinjavanje 27
1.8.11 Karcinom cerviksa u posebnim situacijama pacijentkinje 28
1.9 Terapijske komplikacije 29
1.10 Praćenje poslije tretmana i prognoza 30
1.11 Ekspresija faktora rasta 32
2 CILJEVI ISTRAŽIVANJA 36
2.1 Hipoteza 36
3 PACIJENTICE I METODE RADA 37
3.1 Pacijentice 37
3.2 Metode rada 37
3.2.1 Histološka analiza 38
3.2.2 Imunohistohemijska analiza 38
3.2.2.1 Interpretacija rezultata imunohistohemijske obrade uzoraka 40
3.2.3 Statistička obrada podataka 41
4 REZULTATI 43
4.1 Demografske karakteristike pacijentica i uticaj na preživljavanje 44
4.2 Morfološke karakteristike carcinoma grlića materice u ispitivanoj grupi pacijentica . 49
4.2.1 Tip operativnog zahvata (vrsta materijala) i uticaj na preživljavanje pacijentica oboljelih od CC 49
4.2.2 Histološki tip CC i uticaj na preživljavanje pacijentica 50
4.2.3 Histološki gradus CC i uticaj na preživljavanje pacijentica 56
4.2.4 Dubina invazije strome ko CC i uticaj na preživljavanje pacijentica 61
4.2.5 FIGO stadijum CC i uticaj na preživljavanje pacijentica 67
4.2.6 pTNM stadijum bolesti CC i uticaj na preživljavanje pacijentica 76
4.2.7 Invazija u limfne sudove i uticaj na preživljavanje pacijentica 83
4.2.8 Invazija u krvne sudove i uticaj na preživljavanje pacijentica 87
4.2.9 Analiza regionalnih limfnih čvorova, prisustvo metastaza u limfne čvorove i uticaj na preživljavanje pacijentica 91

4.2.10 Analiza uticaja rubova resekcije na preživljavanje pacijentica 96
4.3 Ekspresija faktora rasta u karcinomu grlića materice i njihov uticaj na preživljavanje 97
4.3.1 Analiza ekspresije FLOT 2 u uzorcima carcinoma grlića materice i uticaj na na preživljavanje 97
4.3.2 Analiza ekspresije Wnt5A u uzorcima carcinoma grlića materice i uticaj na na preživljavanje 104
4.3.3 Analiza ekspresije ROR2 u uzorcima carcinoma grlića materice i uticaj na na preživljavanje 110
4.4 Terapijske procedure koje su korišćene u liječenju pacijentica oboljelih od carcinoma grlića materice i uticaj na preživljavanje 115
4.5 Povrat maligne bolesti kod pacijentica oboljelih od carcinoma grlića materice i uticaj na preživljavanje 120
4.6 Preživljavanje pacijentica koje su oboljele od carcinoma cerviksa 124
4.7 Prikaz Cox-ovog modela proporcionalnog rizika dejstva različitih parametara u analizi preživljavanja pacijentica sa karcinomom cerviksa 125
5 DISKUSIJA 128
6 ZAKLJUČCI 146
7 LITERATURA 147

1. UVOD

Karcinom grlića materice (CC – engl. cervical cancer) je najčešći ginekološki malignitet kod žena širom svijeta. Većina ovih karcinoma je povezana sa humanim papiloma virusom (HPV), iako i drugi faktori dovode do neoplastične progresije nakon infekcije. U poređenju sa drugim malignim bolestima CC pogađa mlađu populaciju. Većina CC je asimptomatska. Dijagnoza se obično postavlja na osnovu histološke analize uzoraka dobijenih tokom kolposkopije. Rjeđe se uoči promjena na grliću materice tokom ginekološkog pregleda. Klinički stadijum bolesti je presudan u odlučivanju o terapijskom modalitetu. Rane faze bolesti se uspješno tretiraju hirurški. Za uznapredovale stadijume bolesti primarna terapijska opcija je hemoiradijacija. Najznačajniji faktor koji utiče na prognozu i preživljavanje je stadijum bolesti. Prevencija se bazira uglavnom na ranoj dijagnostici i tretmanu cervikalnih displazija teškog stepena (high – grade), te HPV vakcinaciji.
Shodno navedenom, preporučuju se redovni screening pregledi i HPV vakcinacija kako bi se stopa CC smanjila u budućnosti [1].

Rani stadijumi bolesti su često asimptomatski, što naglašava značaj citologije u skriningu. Abnormalno krvarenje iz uterusa i vaginalni iscjedak su najčešći simptomi. Lezija lokalizovana na grliću materice može klinički izgledati kao tumorski izraštaj ili ulceracija, a lezije lokalizovane u endocervikalnom kanalu mogu biti okultne (skrivene). Dijagnoza karcinoma cerviksa mora biti potvrđena biopsijom [1,2,3].

1.1. Karcinom grlića materice

1.1.1. Incidencija karcinoma grlića materice

Karcinom grlića materice je čest malignitet i nalazi se na četvrtom mjestu po učestalosti karcinoma u ženskoj populaciji u svijetu [4]. Uočena je veća incidencija karcinoma grlića materice u zemljama u razvoju (85% ukupno dijagnostikovanih karcinoma na godišnjem nivou). Stopa smrtnosti je takođe veća u ovim zemljama.

U odnosu na zapadne razvijene zemlje, ove razlike u incidenciji i preživljavanju se mogu objasniti postojanjem adekvatnog i dugotrajnog screening programa na karcinom grlića materice u razvijenim zemljama.

U Sjedninjenim Američkim Državama (SAD) karcinom grlića materice je treći najčešći ginekološki malignitet i jedanaesti malignitet u ženskoj populaciji. Žene u SAD-u imaju rizik od nastanka ovog karcinoma 1 od 132. Procjenjuje se da u ovoj državi na godišnjem nivou oboli 12 900 žena i umre od ovog tumora 4100. Najveću stopu smrtnosti imaju Amerikanke crnkinje i one koje žive u niskim socio-ekonomskim uslovima, a najveću incidenciju imaju latinoameričke žene, doseljenici u SAD. Na pojavu karcinoma grlića materice utiču socio-ekonomski status, kulturološke karakteristike, dostupnost screening programa, te mogućnosti liječenja. Karcinom grlića materice se u odnosu na druge ginekološke malignitete, razvija ranije i prosječna starost bolesnica je oko 49 godina [1,5].

1.1.2. Faktori rizika

Demografske razlike su jedan od faktora rizika, ali veoma značajan faktor rizika je HPV infekcija. Najznačajniji faktor rizika je neredovan screening na karcinom grlića materice [1,5,6]. Većina zemalja koje uspješno i na adekvatan način provode screening su dokumentovale pad incidencije CC. HPV je primarni etiološki agens povezan sa nastankom CC. I drugi seksualno prenosivi faktori mogu imati značajnu ulogu. Jedan od njih je i *herpes simplex* virus tip 2. U 99,7% CC su povezani sa infekcijom onkogenim subtipovima HPV. Najčešće su HPV subtip 16 (57%), HPV subtip 18 (16%). Svaki od subtipova onkogenih HPV može uzrokovati nastanak skvamocelularnoog karcinoma ili adenokarcinoma grlića materice [1,5,6].

Drugi rizici su niži stepen obrazovanja, starija životna dob, gojaznost, pušenje, siromaštvo. Broj poroda i partnera ima ulogu na nastanku CC. Veći broj poroda, u kratkom vremenskom periodu povećava rizik za nastanak CC. Žene koje su uspješno završile sedam trudnoća imaju četiri puta veći rizik od nastanka CC od nulipara [1].

Jedan od rizika je i dugotrajna upotreba kombinacije oralnih kontraceptiva.

Kod žena koje su HPV pozitivne i koriste kombinacije oralnih kontraceptiva vjerovatnoća nastanka CC je četiri puta veća u odnosu na žene koje nisu konzumiralne kontraceptive, a HPV su pozitivne.

Takođe, žene koje dugotrajno koriste oralne kontraceptive, bez postojanja drugih faktora rizika imaju veću vjerovatnoću da obole od CC, u odnosu na žene koje ne koriste kontraceptive.

Seksualna aktivnost je povezana sa povećannom vjerovatnoćom HPV infekcije i povećanom vjerovatnoćom nastanka CC. Žene koje imaju više od šest partnera imaju relativno veći rizik od nastanka CC. Rani početak seksualne aktivnosti takođe utiče na pojavu CC. Apstinencija i korišćenje mehaničkih zaštitnih sredstava tokom seksualnog kontakta smanjuje incidenciju CC.

Žene sa imunsupresijom imaju povećan rizik nastanka CC. Veća incidencija CC je kod pacijenata oboljelih od sindroma stečene imunodeficijencije (engl. acquired immune deficiency syndrome - AIDS) i kod žena koje su primaoci transplantata [1,5].

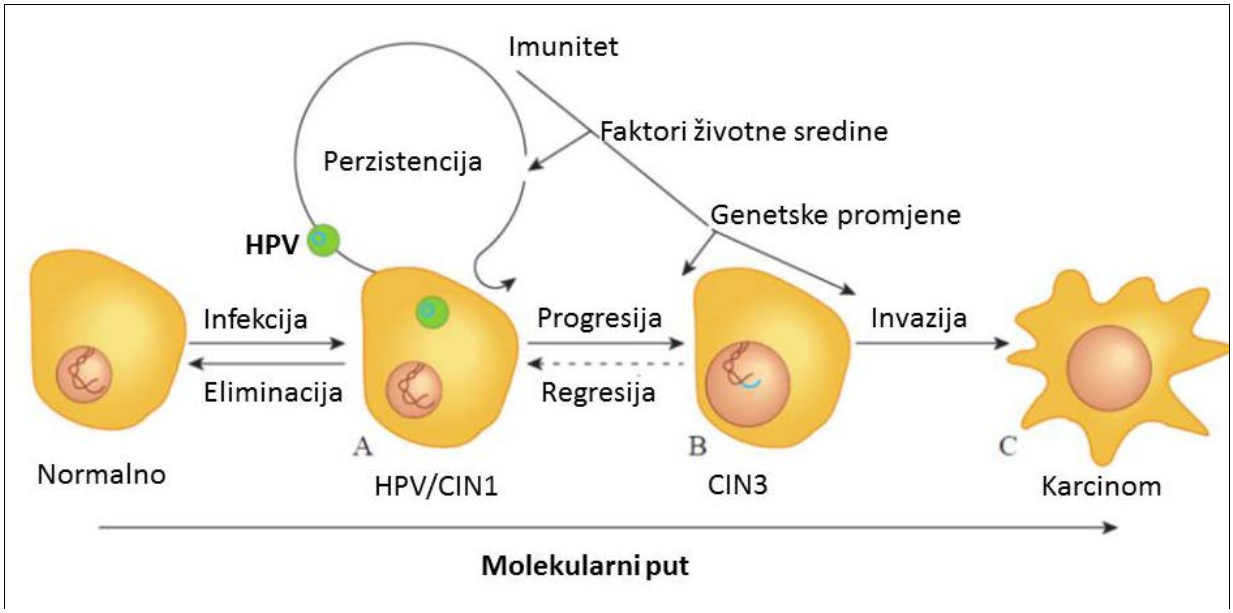
1.1.3. Patofiziologija

Kod većine žena HPV infekcija se uspješno liječi. Ali, perzistentne infekcije mogu uzrokovati nastanak displastičnih promjena u cervikalnom epitelu. Iz displastičnih promjena se može razviti skvamocelularni karcinom, obično lokalizovan na skvamokolumnarnom prelazu. Vrijeme progresije displastičnih promjena u karcinom je različito, a obično traje nekoliko godina. Molekularne promjene koje se odnose na cervikalnu karcinogenezu su složene i nisu u potpunosti razjašnjene. Smatra se da u karcinogenezi i nastanku CC učestvuju faktori spoljašnje sredine, imunitet, genomske varijacije somatskih ćelija. Sve veći broj dokaza sugeriše da HPV onkoproteini mogu biti okidač proliferacije tumorskih ćelija. Onkogeni HPV subtipovi mogu da se integrišu u genom humane DNK (dezoksiribonukleinska kiselina) (Slika 1). Kao rezultat toga, onkogeni HPV rani proteini E1 i E2 omogućavaju replikaciju virusa unutar ćelija cervikalnog epitela. Ovi proteini su prisutni u visokim koncentracijama u ćelijama kod pacijenata sa ranom infekcijom onkogenim HPV. Oni mogu dovesti do citoloških promjena u epitelu koje se morfološki karakterišu kao skvamozna intraepitelna lezija niskog stepena – (engl. low-grade squamous intraepithelial lesion L-SIL). Amplifikacija i replikacija virusa može dovesti do transformacije normalne ćelije u tumorsku.

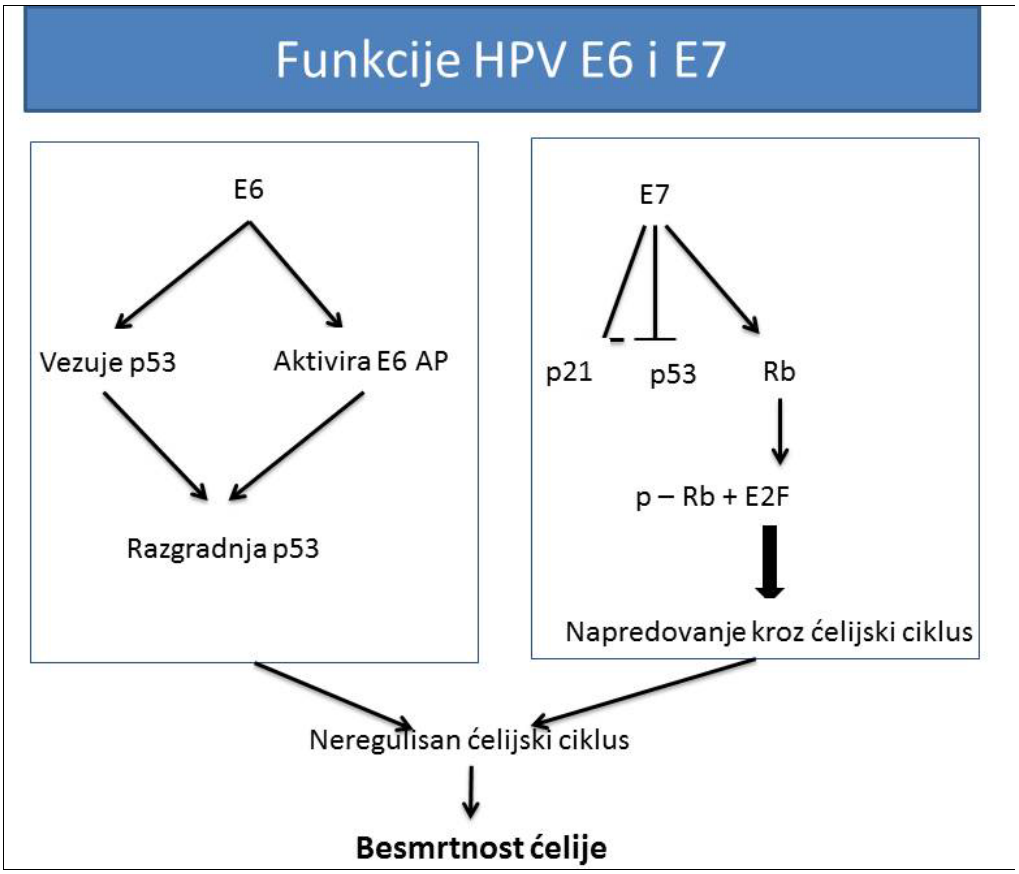
Specifični proizvodi virusnih gena E6 i E7 onkoproteini su uključeni u ovu transformaciju. E7 protein se vezije za Rb protein (produkt tumor supresorskog Rb gena).

Takođe E7 protein smanjuje aktivnost p21 proteina (produkt p21 tumor supresorskog gena) i narušava funkciju p53 proteina.

Protein E6 se vezuje za p53 protein (protein produkt p53 tumor supresorskog gena). U oba slučaja vezivanje dovodi do degradacije proteina za koje se vežu (produkata tumor supresorskih gena). Kao posljedica kumulativnog djelovanja E6 i E7 proteina dolazi do promjena u ćelijskom ciklusu, nekontroliasne proliferacije i izbjegavanje apoptoze ćelija (Slika 2) [1,7].



Slika 1. Kritična tačka u nastanku CC je nastanak displazije. A. Inicijalna tačka je ćelija sa rizikom od nastnka aktivne HPV infekcije. HPV genom (plavi prsten) postoji kao plasmid, odvojen od DNK domaćina. B. Klinički značajna preinvazivna lezija intraepitelna neoplazija gradus 3 (CIN III) ili karcinom *in situ* (CIS) je prelazni stadijum u nastanku CC. HPV genom je integrisan u DNK domaćina, što dovodi do povećane proliferativne sposobnosti. C. Intereakcijom između faktora spoljašnje sredine, imuniteta i genetskih promjena dovode do nastanka invazivnog CC [1].

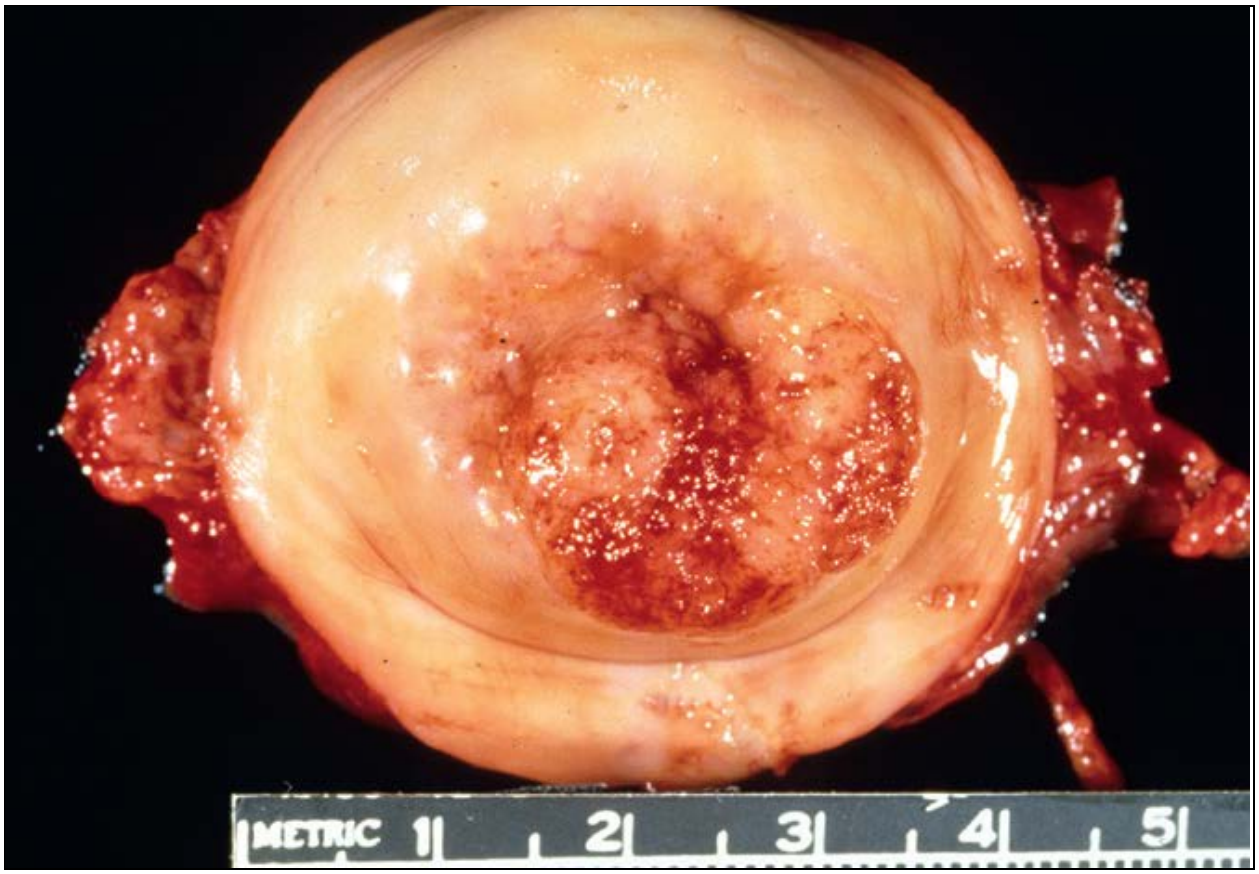


Slika 2. Efekti E6 i E7 onkoproteina. Na lijevom dijelu slike prikazano je direktno vezivanje E6 onkoproteina sa p53 i takođe aktivacija E6 AP, a što dovodi do razgradnje p53 tumor supresorskog proteina. Na desnom dijelu slike onkoprotein E7 fosforilira Rb tumorsupresorski protein, što rezultira oslobađanjem E2F transkripcijskog faktora koji su uključeni u regulaciju (napredovanje) ćelijskog ciklusa. E7 takođe reguliše aktivnost p21 tumorsupresorskog proteina, što dodatno ograničava funkciju p53. Kumulativan učinak E6 i E7 dovodi do poremećaja u ćelijskom ciklusu što za rezultat ima nekontrolisanu ćelijsku proliferaciju [1].

1.1.4. Širenje tumora

Nakon maligne transformacije, tumorski rast može biti ulcerozni, egzofitični i endofitični. Lezije koje su lokalizovane u donjem dijelu endocervikalnog kanala i ektocerviksu su klinički vidljive prilikom ginekoloških pregleda (slika 3).

Nakon lokalne invazije strome grlića materice, CC se širi jednim od puteva (limfni i/ili hematogeni) zahvatajući lokalne (limfne čvorove) ili udaljene organe [1,5].

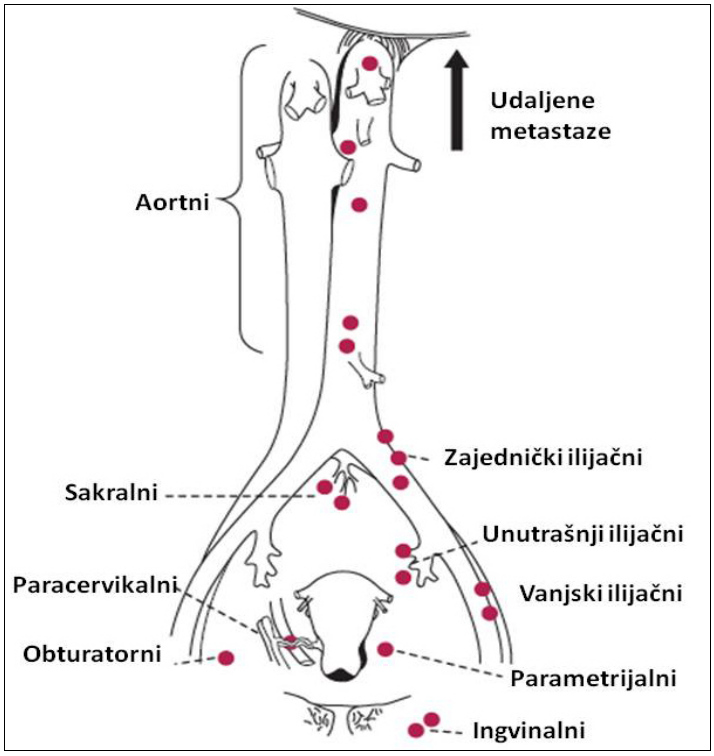


Slika 3. Invazivni karcinom grlića materice - makroskopski izgled. Promjena je prisutna na vaginalnoj porciji grlića [8].

1.1.5. Limfogeno širenje tumora

Karcinom grlića materice se obično širi putem limfnih sudova u regionalne limfne čvorove. Cerviks ima bogatu limfatičnu mrežu i prvi čvorovi koji budu zahvaćeni tumorskim procesom su paracervikalni i parametrijalni limfni čvorovi. Kasnije mogu biti zahvaćene sljedeće grupe limfnih čvorova: unutrašnji ilijačni, vanjski ilijačni, zajednički ilijačni, bočni sakralni, presakralni, obturatorni, ingvinalni, te paraaortalni limfni čvorovi (slika 4).

Značajan prognostički faktor je invazija limfnih i krvnih sudova. Zahvaćenst vaskularnih struktura zahtijeva prilagođavanje hirurških intervencija, te adjuvantnu radioterapiju [1,5].



Slika 4. Limfna drenaža grlića materice. Parametrijalni limfni čvorovi se hirurški odstranjuju prilikom radikalne histerektomije. Disekcija limfnih čvorova kod karcinoma cerviksa podrazumijeva resekciju pelvičnih limfnih čvorova (od spoljašnje ilijačne arterije i vene, unutrašnje ilijačne arterije i zajedničke ilijačne arterije) sa ili bez paraaortalnih limfnih čvorova do nivoa odvajanja donje mezenterijalne arterije [1].

1.1.6. Lokalno i sistemsko širenje CC

Direktno širenje tumora je najčešće u područje parametrija, sve do bočnih zidova karlice. Kao posljedica lokalnog širenja mogu biti zahvaćeni ureteri i spriječen protok urina, sa posljedičnim razvojem hidrouretera, odnosno hidronefroze. Pored navedenog, lokalnim širenjem može biti zahvaćena mokraćna bešika.

Rektum je rjeđe zahvaćen direktnom tumorskom invazijom. Najčešća mjesta metastatskog, hematogenog širenja CC su pluća, jajnik, jetra, kosti [1,5].

1.2. Histološki tipovi karcinoma grlića materice

Oko 70 do 75% karcinoma grlića materice čini skvamozni karcinom. Ostatak čine različite vrste adenokarcinoma (20 - 25%), adenoskvamozni karcinom (3 - 5%), i nediferentovani karcinom. Klasifikacija tumora grlića materice prikazana je na slici 5 [4].

1.2.1. Skvamozni karcinom

Skvamozni karcinom grlića materice je klasifikovan prema predominantnom tipu ćelija koje grade tumor: keratinizirajući, nekeratinizirajući, papilarni, bazaloidni, *Warty* (kondilomatozni), verukozni, skvamotranzicocelularni, limfoepiteliomu sličan tip.
Verukozni karcinom je povezan sa HPV-6, i predstavlja rijedak podtip dobro diferentovanog skvamoznog karcinoma. Predstavlja sporo rastući, lokalno invazivni tumor.
Ovaj tumor je histološki sagrađen od dobro diferentovanih pločastih ćelija, sa razgranatim papilarnim izraštajima sličnim listu paprati. Stromalna invazija je površna. Radikalna resekcija je osnova terapije [4].

1.2.2. Adenokarcinom

Adenokarcinom grlića materice vodi porijeklo od žljezdanih struktura cerviksa. Incidenca adenokarcinoma (endocervikalni adenokarcinom – uobičajni tip, mucinozni, viloglandularni, endometriodini, svijetlih ćelija, serozni, metanefritični i mješoviti adeno-neuroendokrini) je u porastu u posljednjim decenijama, naročito kod žena mlađih od 35 godina. Povećanje može biti posljedica učestalijih HPV infekcija, a takođe i rezultat boljeg skrininga i prevencije skvamoznog karcinoma, što dovodi do pomaka učestalosti adenokarcinoma u odnosu na skvamozni karcinom. U početnom stadijumu karcinom je lokalizovan u endocervikalnom kanalu, ektocerviks je normalnog izgleda, te lezija često neće biti dijagnostikovana dok ne uznapreduje i ulcerira.
Svijetloćelijski karcinom je varijanta adenokarcinoma povezan je sa izloženošću diethylstilbestrol-u (DES) u toku intrauterinog perioda razvoja. Prognoza ovog tipa adenokarcinoma je slična kao kod drugih tipova. Viloglandularni podtip adenokarcinoma se češće javlja kod mlađih osoba i ima povoljniju prognozu [2,3,4,5].

1.2.3. Adenoma malignum

Adenoma malignum (minimal deviation adenocarcinoma) je izuzetno dobro diferentovan adenokarcinom, kojeg je teško prepoznati kao maligni proces. Predstavlja oko 1% svih adenokarcinoma grlića materice, te je povezan sa Peuzt-Jegersovim sindromom. Pacijentkinje obolijevaju obično u 5. ili 6. deceniji života. Dijagnoza se često kasno postavlja zbog normalnih citoloških nalaza. Ciljane biopsije su često nedovoljne za dijagnozu i neophodno je učiniti konizaciju za dalju evaluaciju bolesti [2,3,4,5].
Adenoid cistični karcinom je rijetka varijanta adenokarcinoma grlića materice. Agresivniji je od ostalih histoloških varijanti, dijagnostikuje se kod promiskuitetnih žena, najčešće u 6. ili 7. deceniji [2,3,4,5].

1.2.4. Adenoskvamozni karcinom

Tumor koji je sagrađen od mješavine malignih pločastih ćelija i žljezdanih struktura. Čini oko 1 - 2 % karcinoma grlića materice. Glassy cell karcinom je loše diferentovana forma adenoskvamoznog karcinoma i ima vrlo agresivan tok. Sinhroni adenokarcinom i skvamozni karcinom koji infiltruju dijelove cerviksa se označavaju kao kolizioni tumori [2,3,4,5].

1.2.5. Neuroendokrini karcinom

Oko 1/3 tumora malih ćelija pokazuju ekspresiju neuroendokrinih markera. Ove tumore treba razlikovati od sitnoćelijske varijante skvamoznog karcinoma. Neuroendokrini tumori imaju sklonost invazije u limfne sudove, metastaziranja u limfne čvorove, recidiviranja i niske stope preživljavanja. Karcinoid tumori koji vode porijeklo od argirofilnih ćelija endocervikalnog epitela su maligni, ali su rijetko povezani sa karcinoidnim sindromom.
Zbog sklonosti ranom sistemskom širenju, sistemska hemoterapija je sastavni dio liječenja neuroendokrinih tumora grlića materice [2,3,4,5].
Sekundarni maligni tumori cerviksa uterusa potiču iz drugih organa, direktnim širenjem tumora na grlić materice, a uključuju tumore koji potiču od endometrijuma, rektuma i mokraćnog mjehura.

Limfogene ili vaskularne metastaze su rjeđe, a mogu poticati iz tumora endometrijuma, jajnika, želuca, dojke, debelog crijeva, bubrega i pankreasa [4].

Slika 5. WHO histološka klasifikacija tumora cerviksa uterusa [4].

Rak grlića materice se nalazi na šestom mjestu najčešćih tumora solidnih organa kod žena u SAD-u. U SAD-u se procjenjuje da se 10 370 slučajeva invazivnih karcinoma dijagnostikuje na godišnjem nivou, a 3710 smrti od ove bolesti u jednoj godini. U zemljama u razvoju svake godine oboli 370 000, žena a 50% od navedenog broja umre, te predstavlja drugi najčešći uzrok morbiditeta i mortaliteta žena u ovim zemljama [3]. Broj oboljelih žena u 2009. godini u Republici Srpskoj je 191. Procjena stope obolijevanja je 19,1 na 100 000 stanovnika u 2009. godini. Prema podacima iz Instituta za zaštitu zdravlja Republike Srpske, karcinom cerviksa se nalazi na drugom mjestu po učestalosti, poslije karcinoma dojke u ženskom dijelu populacije [9].

Razlika u incidenci u razvijenim zemljama i zemljama u razvoju je rezultat smanjenja za 75% u incidenciji karcinoma grlića materice u razvijenim zemljama, nakon uvođenja programa rane dijagnostike i liječenja preinvazivne bolesti.

Prosječna starost pri dijagnozi karcinoma grlića iznosi oko 51 godine. Međutim, bolest se može pojaviti i u drugoj deceniji, kao i tokom trudnoće. Više od 95% pacijentkinja sa ranim karcinomom grlića materice se može izliječiti [1,5]. Podaci Instituta za zaštitu zdravlja Republike Srpske ukazuju da se karcinom cerviksa nalazi na šestom mjestu [9].

1.3. Etiologija karcinoma cervikasa uterusa

Faktori rizika za nastanak karcinoma grlića materice su isti kao i za nastanak CIN lezija. HPV infekcija ima centralno mjesto u nastanku karcinoma grlića materice. HPV DNK se nalazi u 99,7% svih karcinoma cerviksa. HPV 16 je najčešći tip u skvamoznom karcinomu, a HPV 18 je najčešće prisutan u adenokarcinomu.
Drugi faktori rizika su imunosupresija, infekcija HIV-om, prisustvo drugih polno prenosivih bolesti, pušenje, promiskuitet i upotreba oralnih kontraceptiva [4].

1.4. Patogeneza i tok bolesti

HPV je epiteliotropan virus. Nakon što je epitel inficiran HPV-om moguć je jedan od tri klinička ishoda:

- Asimtomatska (latentna) infekcija;
- Aktivna infekcija HPV-om koja dovodi do vegetativne replikacije, ali ne i integracije u genom ćelije (npr. kondilomi, CIN I),
- Neoplastična transformacija koja nastaje nakon integracije onkogene HPV DNK u humani genom.

Integracija HPV-a u ljudski genom je povezana sa promjenama na ćelijama koje postaju besmrtne, sa omogućavanjem maligne transformacije inficirane ćelije. Navedeno je povezano sa ekspresijom virusnih onkogena E6 i E7. Onkoproteini (produkti navedenih gena) ometaju kontrolne mehanizme ćelijskog ciklusa u ćelijama domaćina.
E6 i E7 imaju sposobnost da formiraju kompleks sa p53 i Rb. Onemogućavanje funkcije ova dva glavna tumor supresorska gena smatra se ključnim u besmrtnosti ćelije i njene maligne transformacije izazvane HPV-om [1,3].
Nastanak karcinoma grlića materice je obično proces koji se razvija sporo. Većina slučajeva počinje kao CIN III ili kao CIS, sa postepenom progresijom tokom nekoliko

godina. Najmanje 90% skvamoznih karcinoma grlića materice se razvija od intraepitelnih promjena gotovo uvijek 1 cm oko skvamokolumnarne granice grlića materice, na vaginalnoj porciji grlića ili nešto više u endocervikalnom kanalu.

U slučajevima rane invazije strome (stadijum IA1) do dubine 3 mm ispod bazalne membrane, proces je lokalizovan, pod uslovom da nema invazije limfnih sudova.

Invazija strome veća od 3mm nosi veći rizik od metastaza u limfne čvorove (tabela 1). Kada je prisutna invazija u limfne sudove, tumorske ćelije metastaziraju u karlične limfne čvorove (parametrijalne, hipogastrične, obturatorne, vanjske ilijačne i sakralne).

Slabo diferentovani tumori i odmakli stadijum bolesti povećavaju rizik od zahvaćenosti limfnih čvorova. Kako tumor raste, infiltrativno zahvata susjedne strukture (parametrija). Skvamozni karcinom klinički ograničen na uterus, zahvata regionalne pelvične limfne čvorove u 15 do 29% slučajeva. Kada je karcinom zahvatio parametrija (stadijum IIB), tumorsko tkivo se nalazi u limfnim čvorovima u 30 - 40% slučajeva, a u paraaortalnim limfnim čvorovima u oko 15 - 30% slučajeva.

Uznapredovala lokalna bolest povećava vjerovatnoću postojanja udaljenih metastaza. Paraaortalni limfni čvorovi su zahvaćeni kod oko 45% bolesnica u stadijumu IVA [1,5,10,11].

Tabela 1. Zahvaćenost limfnih čvorova kod mikroskopskog skvamoznog karcinoma cerviksa [11].

Dubina invazije	Rizik od metastaza u limfne čvorove
FIGO stadijum IA1	
Rana stromalna invazija (<1 mm)	3/1543 (0.2%)
Mikroinvazija (1 - 3 mm)	5/809 (0.6%)
FIGO stadijum IA2	
Mikroskopska invazija (3 - 5 mm)	14/214 (6.5%)

Zahvaćenost ovarijuma je rijetka i javlja se u oko 0,5% slučajeva skvamoznog karcinoma i 1,7% adenokarcinoma cerviksa. Najčešće hematogene metastaze su u jetri i plućima, ali se mogu naći i u mozgu, kostima i crijevima, nadbubrežnoj žlijezdi, slezini i pankreasu kod 45% bolesnica u stadijumu IVA.

Kod neliječenog karcinoma ili karcinoma koji ne reaguje na terapiju smrt se javlja u 95% slučajeva u roku do 2 godine nakon početka simptoma.

Smrt može nastati zbog uremije, plućne embolije, krvarenja nastalog zbog zahvaćenosti krvnih sudova tumorom. Po život su opasne i sepsa koja nastaje kao komplikacija pijelonefritisa, vezikovaginalne ili rektovaginalne fistule.
Opstrukcija debelog crijeva nastala zbog direktnog širenja tumora na rektosigmoidni dio može biti jedan od terminalnih komplikacija. Bolovi koji nastaju zbog perineuralnog širenja su značajan klinički problem u odmaklom stadijumu bolesti [1,5,11].

1.5. Klinička slika

Abnormalno vaginalno krvarenje je najčešći simptom invazivnog karcinoma cerviksa. Krverenje može biti oskudno u obliku obojenog minimalnog iscjetka (leukoreja), a nekad je prisutno i obilno krvarenje. Leukoreja je obično krvav ili gnojni iscjedak neprijatnog mirisa, bez pruritusa. U anamnezi se obično navodi krvarenje poslije seksualnog odnosa.
Bol u karlici, često unilateralan, koji se širi u leđa i natkoljenicu je manifestacija bolesti u odmaklom stadijumu. Nekontrolisanje mokrenja ili stolice, te pojava fekalija u vagini su znak postojanja fistula. Slabost, gubitak težine, anemija su karakteristike kasnih faza bolesti.

1.6. Dijagnostika karcinoma cerviksa

Pregledom se u pretkliničkoj fazi bolesti na cerviksu ne nalaze promjene. Kako bolest napreduje, pojavljuju se promjene na grliću, koje se mogu uočiti ginekološkim pregledom. Infiltrativni karcinom uzrokuje povećanje, nepravilnost i očvrsnuće cerviksa i eventualno susjednih parametrija. Način rasta tumora može biti endofitični, koji dovodi do bačvastog uvećanja cerviksa ili egzofitični gdje se lezija pojavljuje kao trošan, karfiolasti izraštaj na vaginalnoj porciji cerviksa uterusa. Ulceracija može biti primarna manifestacija invazivnog karcinoma cerviksa, u ranoj fazi često je površna i liči ektopijama i hroničnom cervicitisu. Napredovanjem bolesti ulkus postaje sve dublji i nekrotičan, sa induriranim trošnim rubovima koji su skloni krvarenju. Forniks vagine može biti zahvaćen patološkim procesom. Kasnije dolazi do infiltracije parametrija što uzrokuje nodularna zadebljanja ligamenata (sakrouterini i kardinalni) i dovodi do fiksacije grlića materice [3,4].
Potrebno je naglasiti da je HPV infekcija osnovni faktor rizika nastanka CC, te su moguće pojave sinhronih karcinoma lokalizovanih na području grlića, vagine, vulve i analne

sluznice. Zbog navedenog potrebno je prilikom pregleda detaljno uraditi pregled svih pomenutih organa.

Lezije na grliću mogu klinički podsjećati na druge patološke procese kao što su: lejomiom, cervikalni polip, vaginitis, eroziju grlića, cervicitis, abortus, herpetični cervicitis, šankr, prolaps uterusa, polip i slično. Bimanuelnim, ginekološkim pregledom može se procijeniti zahvaćenost tumorskim procesom uterusa i drugih struktura unutar male karlice.

U kasnijim fazama mogu biti zahvaćene kosti, limfni čvorovi, ureteri, mokraćna bešika i rektum. Sa zahvatanjem pomenutih struktura pojavljuju se i odgovarajući simptomi [1,5].

1.6.1. Biopsija

Histološka analiza bioptičkog uzorka promjene na grliću materice je primarna dijagnostička procedura u dijagnostici CC. PAPA (Papanicolaou) test se koristi u skriningu na karcinom grlića materice. Senzitivnost ovog testa se kreće od 53% do 80% u detekciji lezija visokog stepena.

Zbog obilne nekroze malignih ćelija i prekrivanja uzorka sa upalnim ćelijama, nije neuobičajeno da invazivni karcinom grlića materice postoji i pored negativnog citološkog nalaza. Sve suspektne lezije grlića materice treba bioptirati, bez obzira na rezultate citoloških analiza. Biopsija, bilo Schiller pozitivnih područja, ulceroznih dijelova, nodularnih ili papilarnih lezija omogućuje dijagnozu u većini slučajeva. Kolposkopski navođena biopsija i ECC ili konizacija grlića materice mogu biti indikovane u slučajevima gdje su izvještaji kvalifikovani kao suspektni, ili kod postojanja invazivnih lezija, a gdje nije klinički prisutna lezija. Kolposkopska slika koja upućuje na postojanje ranog invazivnog karcinoma podrazumijeva prisustvo izrazito nepravilne kapilarne mreže, koja se vidi u obliku zareza, vadičepa, špageta. Krvni sudovi su različitog kalibra, naglo mijenjaju smijer, često su angulirani pod oštrim uglom.

Ulceracija ili izrazito nepravilan oblik grlića materice sa bjeličastom ili žućkastom površinom i brojnim bizarnim atipičnim krvnim sudovima su takođe karakteristike prisustva invazivne lezije. Krvarenje je često i nakon minimalne manipulacije [1,4,5].

1.6.2. Konizacija

U slučaju kada se u bioptičkom uzorku nalaze elementi CIS, a ne može se isključiti prisustvo invazije, ili u slučaju negativnog kolposkopskog nalaza, a pozitivnog citološkog nalaza indikovano je učiniti konizaciju sa ciljem utvrđivanja prisustva ili odsustva invazivne lezije.

Ako se u bioptičkom uzorku konstatuje mikroinvazija (<3 mm) konizacija je neophodna kako bi se utvrdila definitivna dubina invazije. Koničan isječak mora biti označen za patologa, kako bi se utvrdila lokalizacija i proširenost lezije, te odnos prema rubovima resekcije. Konizacija za lezije koje se makroskopski uočavaju nije indikovana. Dijagnoza u takvim slučajevima je gotovo uvijek pouzdana u bioptičkim uzorcima [1,4,5].

1.6.3. Radiološka slika

Radiografija grudnog koša je neophodna kod svih pacijentkinja kod kojih je dijagnostikovan karcinom grlića materice.

Takođe, preporučuje se intravenska pijelografija (IVP) ili kompjuterizovana tomografija (CT) urinarnog trakta, kako bi se utvrdila zahvaćenost uretera, ili postojanje hidrouretera ili hidronefroze.

Magnetna rezonanca (MR), CT, limfangiografija, positron emission tomography (PET) scanning, može ukazati na širenje tumorskog procesa unutar male karlice, zahvatanje paraaortalnih limfnih čvorova, kao i drugih organa. Senzitivnost CT, MR i PET scanning u detekciji metastaza u limfnim čvorovima se kreće 45%, 60% i 80% prema redoslijedu. Iako se PET ne preporučuje u kliničkom stadiranju bolesti, može imati veliki značaj u planiranju liječenja (obim radioterapije ili radikalnost hirurške intervencije) [1,5].

1.6.4. Klinički stadijum bolesti

Određivanje kliničkog stadijuma bolesti je važno zbog prognoze i plana terapije. Klinički stadijum takođe pruža podatke za poređenje metoda liječenja za različite stadijume bolesti u svijetu. Najčešće korišćen sistem stadiranja je International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO). Stadiranje bolesti se izvodi kliničkim pregledom, te pregledom mokraćne bešike, uretera i crijeva. Ako je lezija ograničena na cerviks, dodatne metode koje su neophodne u ovom slučaju su radiografija grudnog koša i procjena uretera (IVP ili CT), i u tim slučajevima je moguće odrediti klinički stadijum bolesti. Ako je moguće procijeniti lokalnu proširenost bolesti ambulantno, neophodno je izvršiti pregled uz upotrebu anestezije uz korišćenje cistoskopije i rektoskopije.
Značajne informacije se mogu dobiti CT, MRI, limfangiografijom, PET scan, koje utiču na plan liječenja [12,13,14,15]. Procedure koje je potrebno uraditi u kliničkom stadiranju CC su navedene u tabeli 2.

Tabela 2. Procedure koje se koriste u kliničkom stadiranju CC [1].

Testovi	Rezultati (utvrđivanje)
Laboratorijski	
Analiza krvne slike	Moguća anemija
Elektroliti	Poremećaj elektrolita
Urin	Hematurija
Funkcija jetre	Oštećenje funkcije zbog metastaza
Urea/Kreatinin	Oštećenje funkcije bubrega (ili opstrukcija)
Radiološke analize	
Radiografija grudnog koša	Plućne metastaze
Intravenska pijelografija	Hidronefroza
CT abdomena i karlice	Nodalne i udaljene metastaze, hidronefroza
MR	Lokalno širenje na parametrija, metastaze u limfne čvorove
PET-scan	Nodalne i udaljene metastaze
Instrumentalne procedure	
Cistoskopija	Zahvaćenost mokraćne bešike
Rektoskopija	Zahvaćenost rektuma
Laparoskopija	Utvrđivanje proširenosti tumora u karlici

Prije donošenja definitivne odluke o terapijskom tretmanu promjene na grliću materice potrebno je osigurati pouzdanu dijagnozu bolesti i stepen njene proširenosti. Većina autora predlaže najmanje invazivne, a dovoljno pouzdane procedure [1,5].

1.6.5. Diferencijalna dijagnoza

Niz lezija lokalizovanih na grliću materice se može zamijeniti sa karcinomom. Klinička stanja koja je neophodno isključiti su: ektopija, hronični cervicitis, kondilomi, cervikalna tuberkuloza, ulceracije kod polno prenosivih bolesti (sifilis, granuloma ingvinale, limfogranuloma venerum, meki ulkus), aktinomikoza, abortus cervikalno lokalizovane trudnoće, metastatski horiokarcinom, drugi tipovi karcinoma. Histološki pregled je obično dovoljan u diferencijaciji [1,5].

1.6.6. Komplikacije

Komplikacije prisustva karcinoma grlića materice su uglavnom povezane sa veličinom tumora, lokalnom invazijom, nekrozom, infekcijom i metastatskim širenjem bolesti. Takođe, komplikacije su povezane i sa terapijskim modalitetima (radikalni hirurški tretman, radioterapija) koji dovode do dodatnih komplikacija [1,5,6].

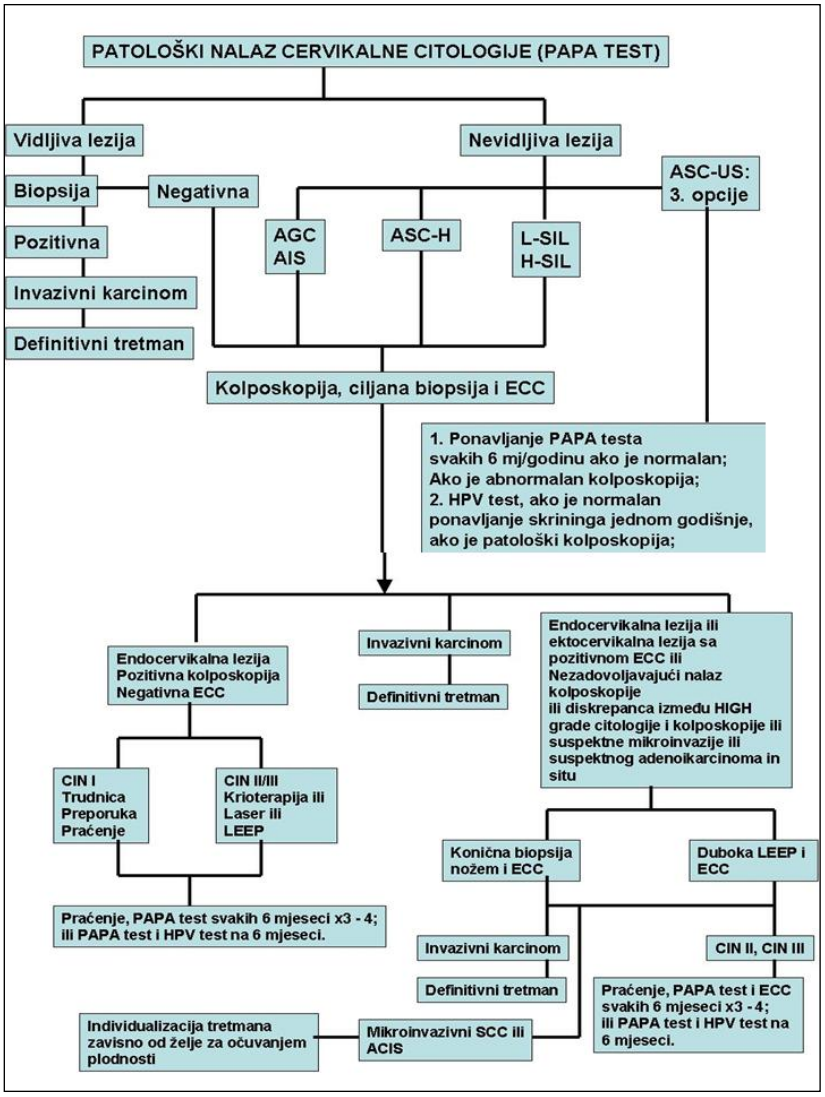
1.7. Prevencija

Do sada su sprečavanje obolijevanja i smrtnosti od karcinoma grlića materice u velikoj mjeri bazirani na dijagnostikovanju i liječenju preinvazivnih i ranih invazivnih formi bolesti. Trenutno oko 60% žena, kod kojih se dijagnostikuje invazivni karcinom grlića, nisu nikad bile na skriningu ili nisu bile na skriningu u posljednjih pet godina. Neophodno je raditi na prepoznavanju faktora rizika, uvođenju obaveznog screening-a, edukaciji žena i adekvatnom tretmanu dijagnostikovanih lezija.

Univerzalni citološki skrining svih postpubertalnih žena se mora nastaviti i provoditi redovno, sve dok se ne nađe bolji senzitivniji i specifičniji način skriniranja. Žene sa dijagnostikovanim preinvazivnim lezijama grlića materice treba liječiti i pratiti prema preporukama (slika 6). Takođe je važno napomenuti da su citološki razmazi ograničene vrijednosti u dijagnostici invazivne bolesti, a u nekim studijama lažno negativni nalazi su prisutni u 50% slučajeva. Seksualna apstinencija je efikasna, ali nepraktična profilaktička mjera.

Edukacija mladih žena i muškaraca o faktorima rizika i potrebe za redovnim skrinigom, kao i informisanost o povezanosti HPV infekcije i pušenja sa nastankom karcinoma grlića materice je presudno [1,4,5,16].

Nekoliko vakcina je prošlo faze ispitivanja i već se koriste u prevenciji. Gardasil je kvadrivalentna vakcina protiv HPV 16/18/6/11 i dobila je odobrenje Food and Drug Administration (FDA). U SAD-u je u upotrebi od 2006. godine. Upotrebljava se u ženskom dijelu populacije starosti od 9 - 26 godina. Dosadašnja ispitivanja su pokazala da je vakcina prilično sigurna, dobro se podnosi, veoma imunogena i ima odličnu efikasnost u sprečavanju nastanka perzistentne HPV infekcije i razvoja citoloških atipija povezanih sa infekcijom [16].



Slika 6. Algoritam postupanja u slučaju patološkog citološkog nalaza sa klinički vidljivim ili nevidljivim promjenama na cerviksu [17].

1.8. Liječenje karcinoma cerviksa

Invazivni karcinom grlića materice se širi prije svega direktnom invazijom i limfogeno. Terapija bolesnika sa karcinomom cerviksa mora biti usmjerena, ne samo na primarno sjedište tumora već i na okolna tkiva i limfne čvorove. Navedeno se postiže pomoću radikalne histerektomije sa pelvičnom limfadenektomijeom, zračenjem u kombinaciji sa hemoterapijom ili kombinacijom svih metoda liječenja [1,5].

1.8.1. Liječenje u ranom stadijumu bolesti (stadijum IA1 do IIA)

Bolesnice u ranom stadijumu bolesti mogu biti liječene ili radikalnom histerektomijom i pelvičnom limfadenektomijom, kao i primarnom radioterapijom u kombinaciji sa hemoterapijom. Stadijumi bolesti su navedeni u tabeli 3. Ukupna petogodišnja stopa izlječenja kod pacijenata koji su operisani i onih koji su liječeni radioterapijom je približno ista. Prednost operativne terapije je postoperativno utvrđivanje patološkog stadijuma bolesti, te eventualne zahvaćenosti limfnih čvorova. Na osnovu patološkog stadijuma poslije hirurške terapije uvodi se adjuvantna hemoterapija, ako je potrebna. Takođe, hirurška terapija je potrebna kod seksualno aktivnih žena sa ranim stadijem bolesti, zbog toga što zračenje uzrokuje vaginalnu stenozu i atrofiju. Adjuvantna radioterapija sa hemoterapijom se provodi kod bolesnika sa povećanim rizikom od povrata bolesti nakon radikalne histerektomije [1,5,18].

Tabela 3. Stadijumi karcinoma cerviksa [12].

PRIMARNI TUMOR (T)		
TNM kategorija	**FIGO stadijum**	**Definicija**
TX		Primarni tumor se ne može procjenjivati.
T0		Nema dokaza o prisustvu primarnog tumora.
Tis	*	Karcinom *in situ* (preinvazivni karcinom)
T1	I	Karcinom grlića materice ograničen na uterus (širenje na tijelo materice treba biti naznačeno)
T1a**	IA	Invazivni karcinom dijagnostikovan samo pomoću mikroskopa. Invazija strome maksimalno do dubine 5 mm mjereno od baze epitela i horizontalno širenje do 7 mm ili manje. Invazija vaskularnih prostora, venskih ili limfatičnih ne utiče na klasifikaciju.
T1a1	IA1	Stromalna invazija do 3 mm ili manje, a horizontalno

		širenje do 7 mm ili manje.
T1a2	IA2	Stromalna invazija iznosi više od 3 mm i ne više od 5 mm, a horizontalno širenje do 7 mm ili manje.
T1b	IB	Klinički vidljiva lezija ograničena na cerviks ili mikroskopska lezija veća od T1a2/IA2, uključuje i sve makroskopski vidljive lezije čak i one sa superficijalnom invazijom.
T1b1	IB1	Klinički vidljiva lezija najvećeg promjera do 4 cm.
T1b2	IB2	Klinički vidljiva lezija najvećeg promjera većeg od 4 cm.
T2	II	Karcinom cerviksa se širi izvan uterusa, ali ne do zida karlice ili do donje trećine vagine.
T2a	IIA	Tumor bez invazije parametrija.
T2a1	IIA1	Klinički vidljiva lezija najvećeg promjera do 4 cm.
T2a2	IIA2	Klinički vidljiva lezija najvećeg promjera većeg od 4 cm.
T2b	IIB	Tumor sa invazijom parametrija.
T3	III	Tumor se širi do karličnog zida i/ili zahvata donju trećinu vagine, i/ili uzrokuje hidronefrozu ili insuficijenciju bubrega.
T3a	IIIA	Tumor zahvata donju trećinu vagine, ne širi se do zida karlice.
T3b	IIIB	Tumor se širi do karličnog zida i/ili uzrokuje hidronefrozu ili insuficijenciju bubrega.
T4	IVA	Tumor zahvata mukozu mokraćne bešike ili rektuma, i/ili se širi izvan male karlice (bulozni edem nije dovoljan za klasifikaciju tumora kao T4)
		*FIGO stadiranje ne uključuje stadijum 0 i Tis
		**Sve makroskopski vidljive lezije, čak i kad imaju površnu invaziju klasifikuju se kao T1b/IB

LIMFNI ČVOROVI (N)

TNM kategorija	FIGO stadijum	Definicija
NX		Regionalni limfni čvorovi se ne mogu procjenjivati
N0		Nema metastaza u regionalne limfne čvorove
NO(i+)		Prisutne izolovane tumorske ćelije u regionalnom limfnom čvoru/čvorovima, čiji dijametar nije veći od 0,2mm
N1		Prisutne metastaze u regionalne limfne čvorove
UDALJENE METASTAZE (M)		
M0		Nema udaljenih metastaza.
M1	IVB	Prisutne udaljene metastaze (uključuje peritonealnu šupljinu, supraklavikularne, medijastinalne limfne čvorove, udaljene limfne čvorove, pluća, jetru, kosti).

Osnovne razlike u novom AJCC stagin iz 2017. godine je u tome da zahvaćenost limfnih čvorova ne utiče na FIGO klasifikaciju (ranije su bili klasifikovani kao FIGO IIIB),

i da se metastaze u paraaortalne limfne čvorove ne smatraju kao udaljene metastaze, tj. ne pripadaju kategoriji M1[12].

1.8.2. Radikalna histerektomija i terapijska limfadenektomija

Radikalna histerektomija (tehnika opisana od Wertheima, Meigsa i Okabayashi) sa pelvičnom limfadenektomijom je hirurška intervencija koja se izvodi kod invazivnog karcinoma grlića materice koji je ograničen na cerviks (stadijum I i II). Operacija je tehnički složena i trebaju je izvoditi samo timovi sa iskustvom u radikalnoj pelvičnoj hirurgiji.

Hirurška resekcija podrazumijeva odstranjenje uterusa, paracervikalnih struktura (ligamenti) i gornjeg dijela vagine. Operativna tehnika se može izvoditi vaginalno i u tom slučaju zahtijeva izvođenje duboke Schuchardt-ove (paravaginalne) incizije.

Postoji pet različitih vrsta histerektomije, a razlikuju se po obimu parametrijalne disekcije i resekciji vaginalnog tkiva [19,20] (tabela 4).

Tip I histerektomije je indikovan kod pacijentkinja sa stadijumom bolesti IA1. Alterantivno liječenje kod mlađih bolesnica koje žele rađati je konizacija. Stadijumi bolesti IA2 do II se liječe tipom I histerektomije (modifikovana radikalna) ili tipom III (radikalna histerektomija). Rijetko je potrebna veća resekcija dijela vagine. Hirurški tretman podrazumijeva težnju za radikalitetom koji obezbjeđuje dovoljnu udaljenost resekcionog ruba od tumora. Studije ukazuju da modifikovana radikalna histerektomija daje terapeutske rezultate koji se mogu porediti sa radikalnom histerektomijom za stadijume bolesti IB i IIA, sa kraćom operativnom hospitalizacijom i nižom stopom uroloških komplikacija. Kompletna pelvična limfadenektomija u toku radikalne histerektomije, zajedno sa paraaortalnom limfadenektomijom je indikovana za tumore veće od 2 cm ili za slučajeve sa suspektnim metastazama u pelvičnim limfnim čvorovima. Resekcija svih makroskopski izmijenjenih limfnih čvorova značajno poboljšava stopu preživljavanja. Mikroskopska analiza limfnih čvorova omogućava "krojenje" postoperativnog radijacijskog polja, ako je indikovana radioterapija [20,21].

Tabela 4. Tipovi histerektomije na osnovu radikalnosti operacije

Tip histerektomije	Opis procedure
Tip I	Ekstrafascijalna histerektomija sa ekstirpacijom svih struktura grlića materice, bez seciranja (sječenja) grlića
Tip II	Podvezivanje *a. uterinae* na mjestu gdje se ukršta sa ureterom. Uterosakralni i kardinalni ligamenti su presječeni u središnjem dijelu između uterusa i sakruma, odnosno pelvičnog zida. Gornja trećina vagine je resecirana.
Tip III	Podvezivanje *a. uterinae* na mjestu početka od *a. vesicalis superior* ili *a. iliacae internae*. Uterosakralni i kardinalni ligamenti su odvojeni od pripojišta za sakrum, odnosno pelvični zid. Gornja polovina vagine je resecirana.
Tip IV	Ureter se odvaja od vezikouterinog ligamenta, *a. vesicalis superior* se podvezuje, tri četvrtine vagine se reseciraju.
Tip V	Uključuje i resekciju dijela mokraćnog mjehura i distalnih dijelova mokraćovoda sa novom reimplantacijom mokraćovoda u mjehur.

1.8.3. Adjuvantna postoperativna radioterapija

Adjuvantna postoperativna radioterapija sa hemoterapijom je indikovana kod žena sa karcinomom koji je lokalizovan na cerviks, a koje imaju povećani rizik od recidiva bolesti (pozitivni limfni čvorovi, pozitivni rubovi resekcije, mala udaljenost od rubova resekcije, mikroskopska zahvaćenost parametrija). U takvim slučajevima adjuvantna radioterapija uz hemoterapiju (platinum-based) je bolja opcija, u odnosu na samo radioterapiju, uz poboljšanje četverogodišnjeg perioda bez progresije bolesti od 63% do 80% slučajeva. Žene sa srednjim stepenom rizika od rekurentne bolesti (veliki tumor, duboka invazija strome cerviksa, invazija limfnih i krvnih sudova), takođe imaju koristi od postoperativne adjuvantne radioterapije.

Ove pacijentkinje imaju dvogodišnji period bez rekurencije bolesti u 88% slučajeva, u odnosu na 79% slučajeva kod pacijentkija koje su bez adjuvantne radioterapije [21].

1.8.4. Primarna radioterapija sa hemoterapijom

Rani cervikalni karcinom (stadijum IA do IIA) se može primarno tretirati radioterapijom sa istovremenom hemoterapijom ili radikalnom hirurškom terapijom.

Rezultati liječenja su uporedivi. Izbor liječenja zavisi od veličine tumora, kondicije pacijenta, te preferencije onkologa određene institucije. Hirurgija je poželjna kod mlađih pacijentkinja, sa željom da se sačuva funkcija ovarijuma. Ako je vjerovatnoća da će pacijent postoperativno morati ići i na radioterapiju, prenošenje ovarijuma izvan operativnog polja je takođe moguće. Kod primarne primjene radioterapije u liječenju karcinoma cerviksa kombinuje se vanjska i unutrašnja iradijacija. Najmanje pet terapija zračenjem u kombinaciji sa hemoterapijom se pokazalo veoma uspješnim tretmanom u odnosu na samo radioterapiju. Navedeno je dovelo do usvajanja radioterapije u kombinaciji sa hemoterapijom kao standard za liječenje, u svim slučajevima kada je radioterapija prvi izbor ili u odmaklim stadijima bolesti [1,21].

1.8.5. Liječenje u posebim situacijama

Stadijum bolesti IA1

Definitivna dijagnoza mikroinvazivnog skvamoznog karcinoma grlića materice se može izvršiti samo na koničnom isječku. Ove bolesnice se mogu liječiti običnom histerektomijom (vaginalnom ili abdominalnom). Za mlađe žene, koje žele da očuvaju plodnost, konizacija je prihvatljiv način liječenja, pod uslovom da je maksimalna dubina invazije do 3 mm, da su resekcioni rubovi negativni i da ne postoji invazija krvnih i limnfih sudova. Ako su margine i/ili ECC pozitivni, rizik od rezidualne bolesti je visok i iznosi 33%. U takvim slučajevima potrebno je izvršiti rekonizaciju (ako je cilj očuvanje materice). Prisustvo invazije limfnih i krvnih sudova ne utiče na FIGO stadijum bolesti, a prisutna je u oko 10% slučajeva u stadijumu IA1.
Ovi pacijenti imaju mali, ali značajan rizik od pojave metastaza u parametrijalnim i pelvičnim limfnim čvorovima. Ove bolesnice treba tretirati kao stadijum IA2 bolesti [18].

Radikalna trahelektomija (*trachelectomia*)

Unazad petnaest godina, radikalna trahelektomija je evoluirala kao alternativa radikalnoj histerektomiji kod pažljivo odabranih pacijentkinja, sa ranim stadijumom karcinoma grlića materice (IA2 ili mali tumor u IB1 stadijumu), a koje žele očuvati reproduktivnu funkciju.

Poslije radikalne resekcije grlića materice postavlja se „cerclage“ i izvodi se terapijska limfadenektomija.

Iskustva u ovoj tehnici rastu i ishod se može porediti sa ishodom bolesnica liječenih radikalnom histerektomijom u pažljivo odabranim slučajevima. Ishod trudnoće kod žena koje su liječene radikalnom trahelektomijom je 16% abortusa tokom prvog trimestra, 10% pobačaja u drugom trimestru, 19% prijevremeni porod i 49% porođaj u terminu [22,23,24,25,26].

1.8.6. Veliki karcinom grlića materice

Tretman bolesnica u sadijumu IB2 i IIA je i danas predmet rasprave. Predloženi tretmani ovih slučajeva uključuju sljedeće:

1. Primarna radioterapija sa hemoterapijom i kasnijom mogućom adjuvantnom ekstrafascijalnom histerektomijom;

Radioterapija u kombinaciji sa hemoterapijom se obično preporučuje za bolesnice sa velikim tumorima grlića materice. Međutim, mnogi od ovih velikih tumora sadrže hipoksična centralna područja, koja ne reaguju na radioterapiju, zbog čega dolazi do slabijeg odgovora u 15 do 35% slučajeva. Primjena naknadne adjuvantne histerektomije, nakon radioterapije, smanjuje stopu recidiva na 2 do 5%. Uticaj adjuvantne histerektomije na pojavu ekstrapelvičnih recidiva i preživljavanje je manje utemeljen.

2. Primarna radikalna histerektomija sa terapijskom limfadenektomijom i kasnijom mogućom radioterapijom sa hemoterapijom u indikovanim slučajevima na osnovu patohistološkog izvještaja;

Potencijalne prednosti ovog pristupa su uklanjanje velikog primarnog tumora, kompletni hirurški „staging“ koji je praćen odstranjenjem svih izmijenjenih limfnih čvorova, očuvanje funkcije jajnika (premještanje jajnika je moguće na drugu poziciju ukoliko se procijeni da će biti neophodna dodatna radioterapija). Ako je postoperativna radioterapija neophodna, polje zračenja se može prilagoditi na osnovu hirurškog i patohistološkog izvještaja. Resekcija makroskopski izmijenjenih limfnih čvorova ima terapijski značaj, s obzirom da poboljšava preživljavanje bolesnika sa metastazama koje su dijagnostikovane mikroskopski.

Primarni hirurški pristup treba pored ostalog primijeniti i kod bolesnica sa akutnom ili hroničnom inflamacijskom pelvičnom bolesti, kod nedijagnostikovanih koegzistentnih adneksalnih masa, ili anatomskih promjena koje otežavaju aplikaciju radioterapije [1,5,21, 27,28].

3. Neoadjuvantna hemoterapija nakon koje slijedi radikalna histerektomija i limfadenektomija i naknadna hemoterapija u indikovanim slučajevima na osnovu patohistološkog izvještaja;

Neoadjuvantna hemoterapija, najčešće tri ciklusa platinum-based nakon koje se izvodi radikalna histerektomija sa limfadenektomijom, nedavno je predložena kao mogući novi način liječenja bolesnika sa velikim tumorima ograničenim na cerviks. Neoadjuvantna terapija je potrebna kako bi se poboljšala resektabilnost velikih tumora, postigla kontrola bolesti i dužina preživljavanja. Iako u literaturi postoje različita mišljenja, može se zaključiti da je neophodan multimodalni tretman hemoterapijom, radikalnom hirurškom terapijom i radioterapijom. Dalje, randomizirane studije su neophodne kako bi se utvrdila tačna uloga neoadjuvantne hemoterapije u liječenju ovih bolesnika [1,5,21,27,28].

1.8.7. Liječenje lokalno uznapredovale bolesti (stadijum IIB do IVA)

Kod bolesnica sa lokalno uznapredovalim karcinomom grlića materice najbolji terapijski efekti se postižu primarnom radioterapijom (vanjska i brahiterapija) u kombinaciji sa hemoterapijom. Prošireno polje iradijacije se koristi kod metastatskih depozita u paraaortalnim limfnim čvorovima. Korist cisplatin-based hemoterapije u kombinaciji sa radioterapijom u odnosu na samo radioterapiju je dokazana u više randomiziranih kontrolnih studija.

Dokazano je da kombinovana terapija za 30 do 50% smanjuje rizik od smrti u odnosu na pacijente koji su liječeni isključivio radioterapijom. Kombinovana hemoradioterapja je naročito pokazala benefit kod karcinoma u stadijumu II i velikih tumora u IB stadijumu bolesti. Petogodišnje preživljavanje je povećano sa 58% na 77%. Kod bolesnica u višim stadijumima bolesti kombinacija hemoradioterapije u odnosu na samo radioterapiju nije toliko značajna s obzirom na procenat preživljavanja (u radioterapiji petogodišnje preživljavanje je 57%, a u kombinovanoj terapiji preživljavanje je 63%) [27,29,30].

1.8.8. Liječenje diseminirane primarne (stadijum IVB) i perzistentne ili rekurentne bolesti

Upotreba hemoterapeutika u liječenju karcinoma grlića materice je obeshrabrujuća. Naime, većina kandidata za ovu vrstu terapije su bolesnice sa diseminiranom bolešću ili sa karcinomima koje nisu adekvatno odgovorile na druge terapijske procedure (radikalne operativne zahvate ili radioterapiju). Mali pomaci u liječenju su postignuti kombinacijom cisplatina, fosfamida, paclitaxela, vinorelbinetrebina. Terapijska prednost kombinacije hemoterapeutika je mala. Palijativna radioterapija karlice može biti indikovana, naročito u slučaju kontrole krvarenja. Ako se pojavi palpabilna masa supraklavikularno palijativno se može koristiti radioterapija sa hemoterapijom, sa ili bez hirurške resekcije promjene [27,29,30].

1.8.9. Totalna pelvična egzenteracija kod izolovanog centralnog pelvičnog recidiva bolesti

Pacijentice kod kojih se pojavi centralni recidiv karcinoma grlića, nakon provedene primarne radioterapije ili nakon operacije i radioterapije, mogu biti kandidati za ovakav radikalni, potencijalno kurativni hirurški tretman, ako nakon detaljne procjene nisu utvrđene metastaze bolesti. U malom procentu pacijentkinja sa karcinomom grlića materice koji je inicijalno liječen radioterapijom, mali recidiv karcinoma može biti utvrđen centralno u cerviksu.

Radikalna histerektomija može biti alternativa radikalnoj pelvičnoj egzenteraciji u ovako odabranoj grupi bolesnica. Hirurgija je samo potencijalno kurativna metoda liječenja perzistentnog ili centralno recidivirajućeg karcinoma i nakon hirurškog tretmana provodi se adekvatna radioterapija.

Egzenteracija karlice je jedna od najtežih i najmutilantnijih ginekoloških operacija i zahtijeva odstranjenje mokraćnog mjehura, rektuma i vagine, zajedno sa uterusom, ako uterus nije u prethodnom tretmanu odstranjen. Nakon toga slijedi rekonstrukcija svih struktura (obezbijediti drenažu uretera, obezbijediti crijevnu pasažu, te izvršiti rekonstrukciju vagine).

Zavisno od mjesta recidiva može se izvesti prednja egzenteracija (uz očuvanje rektosigmoidnog dijela debelog crijeva), ili zadnja (uz očuvanje mokraćnog mjehura) [1,5,29,30].

Zbog velikog hiruškog morbiditeta i mortaliteta, za izvođenje ovog operativnog zahvata moraju se poštovati strogi kriterijumi opravdanosti. Pelvična egzenteracija treba da bude rezervisana za one slučajeve koji ne mogu biti efikasno tretirani na bilo koji drugi način. U stvarnosti to znači:

1. Bioptičkom procedurom je dokazano prisustvo perzistentnog ili recidivirajućeg tumora grlića materice, nakon provedene radioterapije i/ili hirurške terapije, a gdje perzistentni ili recidivirajući tumor zauzima centralni dio karlice (bez metastaza) i koji može biti u cjelosti odstranjen;
2. Pacijent koji prihvata postojanje urinarne i fekalne stome na abdomenu, koja će se postaviti tokom operacije.

Bitno je naglasiti ogroman značaj psihičkih i fizičkih priprema pacijenta za ovu operaciju. Zbog ogromnih poteškoća u adekvatnoj procjeni pacijentica kandidata za ovu operaciju, samo oko 50% pacijenata će tokom intervencije zaista i biti kandidati, to jest bolest je resektabilna i nemetastatska. Petogodišnje preživljavanje nakon pelvične egzenteracije kod recidivirajućeg karcinoma grlića materice je oko 30 do 40% [1,29,30].

1.8.10. Palijativno zbrinjavanje

Sveobuhvatno zbrinjavanje pacijentkinja koje su oboljele od karcinoma podrazumijeva pored antitumorske terapije i dobru simptomatsku terapiju, kao i ličnu i porodičnu podršku. Palijativno zbrinjavanje bolesnica sa progresivnim karcinomom grlića materice zahtijeva mnogo angažmana. Akcenat treba staviti na olakšanje simptoma, komfornosti, nezavisnosti i personalnu rehabilitaciju i razvoj, naročito u slučajevima neizlječive bolesti [1,5,31].

Većina pacijentica sa tumorima grlića materice u odmaklom stadijumu će razviti simptome koji su povezani sa lokalizacijom i proširenošću bolesti. Ulceracije grlića i susjedne vagine uzrokuju nastanak nekrotičnog iscjetka neprijatnog mirisa. Nekroza tkiva može dovesti do masovnog krvarenja. Ako je rektum ili mokraćni mjehur zahvaćen tumorskim tkivom, nekroza u tim dijelovima može uzrokovati nastanak fistula i inkontinencije stolice i urina.

Bol nastala zbog infiltracije lumbosakralnog pleksusa, mekih tkiva i kosti karlice se često javlja u uznapredovalom stadijumu bolesti. Kompresija uretera dovodi do hidronefroze, a ako je proces bilateralan dovodi do oštećenja bubrega i uremije koja može biti uzrok smrti. Komfor i samostalnost mogu biti značajno poboljšani, iako je bolest u takvom stadijumu da adekvatna antitumorska terapija ne postoji.
Sve navedene tegobe pacijenta je potrebno zbrinuti na adekvatan i propisan način [5,31].

1.8.11. Karcinom cerviksa u posebnim situacijama pacijentkinje

Karcinom cerviksa u trudnoći

Invazivni karcinom cerviksa u trudnoći češće se sreće u područjima gdje ne postoje programi citološkog skrininga. Nalaz atipičnih ćelija u citološkom materijalu zahtijeva hitnu kolposkopiju i primjenu drugih dijagnostičkih metoda kako bi se utvrdila ili isključila dijagnoza invazivnog procesa. Invazivni karcinom grlića materice se sreće kao komplikacija u trudnoći u oko 0,05% slučajeva. Kao i u slučaju karcinoma bez trudnoće, glavni simptom prisustva bolesti je krvarenje. Ovaj simptom se često zanemari, s obzirom da se pripiše povezanosti sa trudnoćom.
Dijagnoza i tretman pacijentkinje sa invazivnim karcinomom u trudnoći predstavlja velike teškoće. Trudnoća ne utiče na prognozu bolesti i fetus ne utiče na bolest majke, ali bolest može uticati na ishod trudnoće (npr. prijevremeni porod) [32,33].
Ako je trudnoća rana i bolest u stadijumu I do IIA, radikalna histerektomija i terapijska limfadenektomija se mogu izvesti istovremeno sa porođajem, osim ako bolesnica ne želi da prekine trudnoću. Žene kod kojih je gestacijska dob blizu vanmaterične održivosti fetusa, mogu odlučiti nastaviti trudnoću, nakon detaljnog informisanja o rizicima za majku. Porod kod bolesnica sa displazijama i *in situ* karcinomom može biti prirodnim putem. Kod bolesnica sa invazivnim karcinomom porod treba biti izvršen "carskim rezom", kako bi se spriječilo krvarenje i širenje tumora prilikom vaginalnog poroda. "Carski rez" sa radikalnom histerektomijom i terapijskom limfadenektomijom je tretman izbora kod pacijentkinja u stadijumu od IA2 do IIA, čim se obezbijedi adekvatna zrelost fetusa [32,33].
Kao i kod bolesnica bez trudnoće, radioterapija u kombinaciji sa hemoterapijom se koristi u liječenju bolesti u odmaklim stadijima.

U prvom trimestru radioterapija se može obaviti uz očekivani spontani abortus. U drugom trimestru indikovan je prekid trudnoće i histerektomija prije radioterapije. Postoje i mišljenja da treba primijeniti radioterapiju i čekati spontani abortus. U posebnim slučajevima sa lokalno uznapredovalom bolešću, u kojima bolesnica odbija prekid trudnoće, u obzir dolazi primjena neoadjuvantne hemoterapije u nastojanju da se spriječi progresija bolesti tokom vremena potrebnog da se postigne zrelost ploda. Porođaj treba završiti "carskim rezom". U isto vrijeme se može izvesti i limfadenektomija. Postporođajno pacijentkinja prima hemoradioterapiju po smijernicama za pacijentkinje bez trudnoće [32,33].

Karcinom cervikalnog bataljka

Rane stadijume karcinoma cervikalnog bataljka treba tretirati sa radikalnom trahelektomijom i terapijskom limfonodektomijom. Hirurško liječenje se preferira u odnosu na hemoradioterapiju kod ovakvih slučajeva. Međutim, radioterapija u kombinaciji sa hemoterapijom se primjenjuje kod bolesnica u odmaklom stadijumu bolesti [1,5].

Karcinom grlića materice incidentalno dijagnostikovan nakon obične histerektomije

Kod žena kod kojih se utvrdi da imaju mikroinvazivnu bolest, nakon histerektomije, se ne zahtijevaju nikakve dodatne terapijske procedure. Bolesnice sa invazivnim karcinomom koje nemaju makroskopsku zahvaćenost parametrija su kandidati za parametrektomiju, gornju vaginektomiju i limfadenektomiju. Ovaj pristup je naročito poželjan kod mlađih žena, kod kojih se želi sačuvati funkcija ovarijuma. Prilikom hirurške intervencije se uklanjaju svi makroskopski uvećani limfni čvorovi. Indikacije za hemoradioterapiju su iste kao navedene naprijed [1,5].

1.9. Terapijske komplikacije

Komplikacije radikalnih hirurških intervencija

Operativna smrtnost nakon radikalne histerektomije i limfadenektomije je smanjena na manje od 1%. Najčešća komplikacija je dugotrajna disfunkcija mokraćne bešike. Oko 75% ima dobar oporavak funkcije mokraćne bešike u periodu 1 – 2. sedmice nakon radikalne histerektomije,

a većina bolesnica će imati zadovoljavajuću funkciju mokrenja unutar tri sedmice. Ozbiljne komplikacije su nastanak fistula. Najčešća je uretrovaginalna (1 - 2%), zatim vezikovaginalna i rektovaginalna fistula. Modifikovane radikalne histerektomije su praćene kraćim vremenom oporavka pacijenta, bržim oporavkom funkcije mokraćnog mjehura i rjeđim fistulama. Druge komplikacije su infekcije mokraćnog sistema, limfociste i limfedemi, sepsa, dehiscencija, tromboembolijske bolesti, ileus, postoperativna krvarenja [11].

Hirurška stopa smrtnosti kod radikalne pelvične egzenteracije je smanjena sa 25% na manje od 5%, ali bez obzira 50% bolesnica ima značajne tegobe. Komplikacije su intraoperativna i postoperativna krvarenja, infekcije, urinarne fistule i opstrukcije, disfunkcija rekonstruisanih struktura (mokraćne bešike, crijeva) i poremećaji elektrolita.

Komplikacije radioterapije

Režimi u kojima se izvodi radioterapija su prilagođeni da povećaju šansu za izlječenje, a da šteta koju nanese normalnom tkivu bude što je moguće manja. Učinci radioterapije na normalnom tkivu su faktori koji ograničavaju terapijske doze zračenja koje se mogu primijeniti. U liječenju karcinoma ginekološke regije najteže su komlikacije koje nastaju na gastrointestinalnom i urinarnom sistemu. Komplikacije koje nastaju zbog upotrebe radioterapije su podijeljene na rane i kasne. U rane komplikacije se ubrajaju: enteritis, proktosigmoiditis, cistitis, vulvitis i nekad depresija koštane srži. U kasne komplikacije se ubrajaju sljedeće: oštećenje krvnih sudova, hronični proktosigmoiditis, hemoragični cistitis, strikture crijeva, formiranje fistula, fibroza karlice i gubitak funkcije jajnika i oštećenje seksualne funkcije [1,5,11].

1.10. Praćenje poslije tretmana i prognoza

Oko 35% bolesnica sa invazivim karcinomom grlića materice ima perzistentnu ili recidivirajuću bolest nakon terapije. Oko 50% smrti od karcinoma grlića materice javlja se u prvoj godini nakon tretmana, 25% u drugoj godini, a 15% u trećoj godini.

Navedeni podaci objašnjavaju prihvaćeni način praćenja kod asimptomatskih bolesnika, svaka 3 mjeseca u prvoj godini, 4 mjeseca u drugoj godini i 6 mjeseci od 3. do 5. godine nakon tretmana.

Kod simptomatskih pacijenata, neophodno je izvršiti dodatne dijagnostičke analize odmah po pojavi simptoma. Najčešći znakovi i simptomi recidiva maligne bolesti su pozitivni citološki pregled, palpabilan tumor u karlici ili abdomenu, ulceracija grlića materice ili vagine, bol u karlici, leđima, preponi i donjim ekstremitetima, unilateralni edem donjeg ekstermiteta, vaginalno krvarenje ili iscjedak, supraklavikularna limfadenopatija, ascites, gubitak na težini, progresivna opstrukcija uretera, kašalj (naročito praćen hemoptizijama ili bolovima u grudima) [4,5].

Glavni prognistički faktori koji utiču na preživljavanje su: stadijum bolesti, status limfnih čvorova, veličina tumora, dubina invazije strome grlića materice, invazija limfnih i krvnih sudova, histološki tip tumora. U manjoj mjeri na preživljavanje utiče stepen diferencijacije tumora.

Najznačajniji prognostički faktor poslije stadijuma bolesti je status limfnih čvorova. Petogodišnje preživljavanje žena sa invazivnim karcinomom grlića materice u stadijumu IB ili IIA, bez metastaza u limfnim čvorovima je 88 do 96%, a sa metastazama u limfnim čvorovima je 64 do 73% [1,4,5].

U tabeli 5 je prikazano preživljavanje zavisno od stadijuma bolesti. Rezultati su bazirani na FIGO jednogodišnjem izvještaju o rezultatima liječenja ginekoloških karcinoma, a rezultati su prikupljeni za svaki stadijum bolesti iz više od 100 institucija širom svijeta.

Recidivi nakon redioterapije nisu često smješteni centralno, a time i pacijenti nisu kandidati za radikalnu pelvičnu egzenteraciju. Samo oko 25% recidiva su lokalizovani u centralnom dijelu karlice. Najčešće mjesto recidiva su bočni zidovi karlice [1,5].

Tabela 5. Preživljavanje pacijentkinja oboljelih od karcinoma cerviksa u zavisnosti od FIGO stadijuma [34].

Stadijum	Broj pacijenata	Preživljavanje 1 godina	2 godine	5 godina
IA1	860	99.8%	99.5%	98.7%
IA2	227	98.2%	97.7%	95.9%
IB	3480	98.1%	94.0%	86.5%
IIA	881	94.1%	85.6%	68.8%
IIB	2375	93.3%	80.7%	64.7%
IIIA	160	82.8%	58.8%	40.4%
IIIB	1949	81.5%	62.2%	43.3%
IVA	245	56.1%	35.6%	19.5%
IVB	189	45.8%	23.9%	15.0%

1.11. Ekspresija faktora rasta

Zbog svega navedneog postoji potreba da se istraživanjem utvrde biološki mehanizmi koji utiču na nastanak, progresiju i ishod liječenja karcinoma grića materice.

Molekularna patogeneza CC uključuje aberantnu ekspresiju dominantnog onkogena i tumor supresorskih gena, kao i promjene u signalnim putevima kao što su Wnt/β-katenin, mTOR, Notch putevi [35]. Tačni ćelijski mehanizmi karcinogeneze u CC su još uvjek slabo razjašnjeni.

Wnt signalni put uključuje brojne proteine koji su potrebni za početak procesa ćelijske proliferacije i diferencijacije u različitim organima [36]. Aktivacija ovog puta započinje vezivanjem proteina za vanćelijsku domenu receptra koju čine šest transmembranskih proteina pripadnika G-protein vezanih receptora. Nakon njihove aktivacije kreće kaskadna reakcija unutar ćelije, a koja završava proliferacijom ćelije. Postoje dokazi da Wnt signalni put igra važnu ulogu u karcinogenezi i napredovanju tumora. Aktivacija Wnt signalizacije može uvesti tumorsku ćeliju u proliferaciju i migraciju, dok supresija ovog puta može dovesti do inhibicije rasta tumora. Takođe, aktivacija Wnt signalnog puta može ukazivati na hemosenzitivnost i radiorezistentnost tumora [37,38,39,40]. Trajna aktivacija Wnt-β-katenina ukazuje na lošu prognozu nekoliko karcinoma [41].

Brojne studije su ukazale da Wnt-β-katenin signalizaccija različita u regulisanju tumorske progresije, proliferacije, diferencijacije te prelaska epitelno-mezenhimalne granice od strane tumorskih ćelija [42]. Aberantna aktivaccija Wnt signalnog puta je obično povezana sa imunosupresijom koja je posredovana tumorskim ćelijama, sklonosti ka metastaziranju,

te povećanoj rezistenciji na hemo, radio i hormonsku terapiju [42,43]. Istraživanja su pokazala da Wnt-β-katenin signalnog puta može imati ključnu ulogu u progresiji u karcinom grlića materice posle perzistentne HPV infekcije [44]. Zbog svega navedenog inhibicija Wnt-β-katenin signalnog puta može biti nova i atraktivna strategija u liječenju tumora. XAV939 se sitna molekula koja je okarakteristana kao inhibitor Wnt signalnog puta. Ona može blokirati Wnt signalizaciju u karcinomu vezivanjem na katalitičku tanskinazu (TNKS), domen poli-ADP-riboze polimeraze (PARP), što dovodi do značajne stabilizacije Axin proteina, a u konačnici uzrokuje inhibiciju transkripsije koja je regulisana β-kateninom [45,46].

U poređenju sa drugim inhibitorima Wnt signalnog puta XAV939 je jako specifičan za ovaj signalni put, i ne utiče na NF-jB or TGF-b signalne puteve [43]. Zhang i saradnici su ukazali na povezanost između blokade Wnt signalnog puta sa XAV939 i radiosenzitivnosti ćelija karcinoma grlića materice. To je prvi rad koji ukazuje da XAV939 ima potencijal senzibilizacije tumorskih ćelija inhibicijom Wnt signalnog puta [47].

FLOT2 je protein koji pripada SPFH familiji proteina i predstavlja receptor za faktore (rasta) koji su povezani sa prenosom signala u ćeliji. Prisutan je u različitim tkivima (mozak, srce, pluća i placenta) i povezan je sa različitim tipovima humanih karcinoma [48,49]. Neka od istraživanja ukazuju da ekspresija FLOT2 ukazuje na lošu prognozu i pojavu metastaza CC [50]. Takođe, istraživanja ukazuju i na povezanost ekspresije FLOT2 i pojave metastaza u melanomu [51], lošiju prognozu u karcinomu želuca [52], lošu prognozu i brzu progresiju u karcinomu bubrega [53]. Međutim, uloga FLOT2 u progresiji i predviđanju ishoda CC još uvjek nije poznata.

U prethodnim istraživanjima dokazano je da FLOT2 povezan sa progresijom i metastazama nazofaringealnog karcinoma [54,55].

FLOT2 receptori djeluju sa signalnim molekulama kao što su faktori rasta, adhezivni molekuli, G-protein. Takođe predstavlja kontrolu nastanka tumora preko regulisanja proliferacije ćelija, diferencijacije, apoptoze, adhezije i invazije. Publikovani su radovi u kojima je navedeno da FLOT2 učestvuje u nastanku nekoliko malignih tumora kao što su karcinom dojke, želuca, grlića materice i nazofaringealni karcinom [56].

PLCD3 je enzim, član porodice fosfolipaza C (PLC). PLC je glavni enzim u eukariotima na putu fosfoinozida i uključen je u transdukciju signala preko dva sekundarna glasnika diacilglicerol (DAG) i inozitol 1,4,5-trifosfata (IP3).

PLC izoenzimi imaju karakteristična svojstva koja ispoljavaju njihove fiziološke i patološke funkcije, na način da svaki izoenzim može biti povezan sa specifičnom bolesti u humanoj populaciji [57]. PLC-β1 je prisutan kod šizofrenije [58], u mijelodisplastičnom sindoromu [59], leukemogenezi [60], dijabetesu [61]. PLC-γ1 je uključen kod epilepsije [62], u tumorskoj invaziji i metastazama u tumorima mozga [63] i procesu nastanka tumora dojke [64]. PLC-δ1 je povezan sa gojaznošću [65], neurodegenerativnim poremećajima [66], Alzheimer-ovom bolesti [67] i može biti tumor-supresor [68]. PLC može biti povezan sa muškom neplodnošću [69] a PLC-β3 je povezan sa limfomima i drugim tumorima [70].

Liu i saradnici su istraživali uticaj PLCD3 proteina na FLOT2 u nazofaringealnom karcinomu. Dokazali su da PLCD3 interaktivno djeluje sa FLOT da i značajno je povezan sa nastankom, progresijom i pojavom metastaza, a što ukazuje da može biti nezavisni dijagnostički i prognostički marker i potencijalni teerapijski cilj i liječenju nekih maligniteta [71].

Receptor sličan tirozin kinaznom receptoru, orphan 2 receptor (ROR2), poznat kao neutrofna tirozin kinaza, pripada ROR familiji receptora koji se nalaze na površini ćelije. ROR2 su uključeni u formiranje hrskavice i njegova normalna aktivnost je potrebna za razvoj i rast hrskavice [72,73,74]. Nedavna istraživanja ukazuju da mutacije u ROR2 genu mogu biti uzorok nastanka tumora. Wright i saradnici su dokazali da ekspresija ROR2 je u korelaciji sa ekspresijom gena uključenih u produkciju ekstracelularnog matriksa i stimuliše rast tumora porijekla bubrežnih ćelija [75,76]. Autori su utvrdili ulogu ekspresije ROR2 receptora i u karcinomu debelog crijeva [77]. Edris i saradnici su utvrdili da je ekspresija ROR2 receptora značajan prognostički faktor u malignim tumorima mekih tkiva (sarkomima) [78]. Klinički značaj ekspresije ROR2 receptora u karcinomima cerviksa i povezanost ekspresije sa drugim prognostičkim parametrima još uvjek nije u potpunosti jasan.

ROR2 utiče na različite ćelijske procese, uključujući ćelijski ciklus, proliferaicju, diferencijaciju i migraciju [79].

Kao receptor Wnt5A, ROR2 posreduje u PCP putu i inhibira β-katenin/T-ćelijski put [80]. U radovima su prikazani rezultati u kojima se naglašava da je ROR2 eksprimiran u karcinomu bubrežnih ćelija, skvamocelularnom karcinomu i metastatskom melanomu [75,81,82],

a da je njegova ekspresija manja u hepatocelularnom karcinomu, meduloblastomu i karcinomu debelog crijeva [77,83,84]. Shodno navedenim istraživanjima, funkcije ROR2 variraju zavisno od tipa tumora i signalne putanje.

Zhang i saradnici su ispitivali ekspresiju Wnt5A i ROR2 u skvamocelularnom karcinomu larinksa. Utvrdili su da je ekspresija u tumorskom tkivu Wnt5A i ROR2 značajno veća u odnosu na susjedno normalno tkivo. Visok nivo ekspresije Wnt5A i ROR2 je povezan sa češćim metastazama u limfnim čvorovima [85].

***

Razumijevanje molekularne osnove povezane sa nastankom CC može uticati na ranu dijagnozu, razvoj novih terapijskih modaliteta i uticati na prognozu bolesti [35]. Identifikacijom novih biomarkera će se omogućiti predviđanje progresije, prognoze tumora i razvoj novih ciljnih terapijskih metoda u liječenju CC [72].

U našem istraživanju želimo da utvrdimo ekspresiju Wnt5A, FLOT2 i ROR 2 u karcinomu grlića materice. Takođe, našom analizom želimo da utvrdimo klinički značaj ekspresije naprijed navedenih receptora faktora rasta, kao i povezanost njihove ekspresije u tumorskim ćelijama sa drugim prognostičkim faktorima, pojavom recidiva bolesti i ukupnim preživljavanjem pacijentica oboljelih od CC.

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

1. Utvrditi standardne prognostičke parametre i primarni patološki stadijum bolesti.
2. Utvrditi stepen ekspresije receptora faktora rasta: FLOT-2, ROR-2 i Wnt5A protein u karcinomu grlića materice.
3. Utvrditi korelaciju između standardnih patohistoloških prognostičkih parametara za karcinom grlića materice i stepena ekspresije receptora faktora rasta.
4. Utvrditi koji od standardnih patoloških prognostičkih parametra i ekspresija faktora rasta utiču na pojavu recidiva bolesti i dužinu preživljavanja pacijenata sa karcinomom grlića materice.

2.1. Hipoteza

Karcinomi cerviksa sa nepovoljnim patohistološkim prognostičkim parametrima imaju visok stepen ekspresije Wnt5A, FLOT2 i ROR 2.
Kod pacijentica sa karcinomom grlića materice koji ima visoku ekspresiju Wnt5A, FLOT2 i ROR 2 brže dolazi do pojave recidiva bolesti i kraći je period preživljavanja.

3. PACIJENTICE I METODE RADA

3.1. Pacijentice

U studiju je uključeno ukupno 101 pacijentica sa karcinomom cerviksa kod kojih je urađena hirurška intervencija u Univerzitetskom Kliničkom centru Republike Srpske (UKC RS). Pacijentice su uključene u studiju metodom slučajnog izbora, bez obzira na starosnu dob i histološki tip tumora.

Kriterijumi za uključenje u studiju:

1. Pacijentice oboljele od karcinoma grlića materice;
2. U liječenju karcinoma grlića materice je korišćena hirurška terapija;
3. Postoje podaci o toku i ishodu bolesti kod pacijentica.

Kriterijumi za isključenje iz studije:

1. Pacijentice koje ne boluju od karcinoma grlića materice;
2. Nepostojanje reprezentativnih uzoraka za histološku i imunohistohemijsku analizu;
3. Pacijentice koje u liječenju karcinoma nisu hirurški tretirane;
4. Nedosatatak podataka za tok i ishod bolesti.

Dizajn istraživanja je dijelom retrospektivna, a dijelom prospektivna analitička studija.

3.2. Metode rada

Praćenje bolesnika: tok i ishod liječenja, dužina preživljavanja i uzrok smrti utvrđen je na osnovu medicinske dokumentacije i podataka dobijenih intervjuom sa pacijenticom ili njenom porodicom.

Pacijentice su na osnovu toka i ishoda bolesti podijeljene u dvije grupe:

grupa I- pacijentice sa povoljnim ishodom bolesti (u toku perioda praćenja žive, bez recidiva bolesti);

grupa II- pacijentice sa nepovoljnim ishodom bolesti:

1. žive, sa relapsom bolesti u toku praćenja,
2. pacijentice umrle u toku praćenja.

Podaci o starosti kao i podaci o makroskopskim karakteristikama tumora (lokalizacija tumora, makroskopski tip rasta tumora i drugi podaci su preuzeti iz patohistoloških nalaza uloženih u registre pacijenata.

3.2.1. Histološka analiza

Nakon fiksacije reseciranog materijala u 10% neutralnom puferovanom formalinu i obrade u tkivnom procesoru (TP 1020 Leica Microsystem), odabrani reprezentativni uzorci karcinoma grlića materice su ukalupljeni u parafinske blokove. Parafinski blokovi su zatim rezani na mikrotomu (microTec CUT 4055, SLEE MAINZ) da bi se dobili semiserijski presjeci debljine od 4 -5µm. Dobijeni presjeci su nanošeni na odgovarajuća predmetena stakalca i sušeni 30 minuta na 60°C u termostatu. Nakon sušenja, u prvom koraku histološke procedure presjeci tkiva su deparafinisani u ksilolu (dvije izmjene po 5 minuta), zatim rehidrirani u opadajućoj koncentraciji etil alkohola (100%, 96% i 70% , po 5 minuta za svaku izmjenu) i isprani u destilovanoj vodi. Nakon rehidratacije su bojeni rutinskom metodom hematoksilin - eosin (HE) u linearnom automatskom sistemu (ST 4040 Leica Microsystems) i analizirani svjetlosnim mikroskopom (Leica DM 2500).
Na ovako pripremljenim patohistološkim preparatima su određivani, kvalitativnom metodom, standardni patohistološki parametri nepovoljne prognoze: hirurška procedura koja je korišćena u liječenju, veličina tumora, histološki tip tumora (prema klasifikaciji Svjetske zdravstvene organizacije – SZO [4]), histološki gradus tumora, dubina invazije strome, način rasta, margine (endocevrvikalna kod parcijalnih resekcija cerviksa), egzocervikalna–vaginalna, duboka (cirkumferencijalna margina), invazija limfnih sudova, invazija krvnih sudova, perineuralna i intraneuralna invazija, status limfnih čvorova, patološki sadijum bolesti (pTNM), druge promjene [12,13,14].
Na osnovu rutinskih HE preparata odabrani su i uzorci tumorskog tkiva koji su u sljedećem koraku histološke analize korišteni za imunohistohemijsko bojenje.

3.2.2. Imunohistohemijska analiza

Za imunohistohemijsku analizu odabrani parafinski blokovi su dodatno rezani na tanke presjeke debljine 2 - 4 µm. Presjeci su montirani na pozitivno naelektrisana Super Frost predmetna stakla (Menzel-glaser). Nakon deparafinizacije i rehidratacije imunohistohemijsko bojenje je nastavljeno blokiranjem aktivnosti endogene peroksidaze. Ova aktivnost je blokirana inkubacijom tkiva u 3% vodonik peroksidu 10 minuta na sobnoj temperaturi.

Nakon kratkotrajnog ispiranja vodonik peroksida destilovanom vodom slijedilo je toplotno demaskiranje antigena. Demaskiranje je obavljeno u PT modulu zagrijavanjem tkiva 20 minuta u citratnom puferu pH 6.0, pri temperaturi od 97˚.

Da bi se spriječilo nespecfično bojenje pozadine i/ili da bi se smanjilo nespecifično vezivanje endogenih IgG presjeci tkiva su neposredno prije aplikacije primarnih antitjela inkubirani komercijalnim proteinskim blokom (Ultra V Block, Thermo Fisher Scientific USA) 5 minuta na sobnoj teperaturi.

Imunohistohemijska detekcija antigena je izvedena reakcijom peroksidaze hrena primjenom komercijalnih antitjela u odgovarajućim razrjeđenjima. U radu su korištena sljedeća antitjela:

- mišije anti-Wnt5a monoklonalno antitjelo, klon 3D10 (1:400; MA5-15511, Invitrogen),
- zečije anti-ROR2 poliklonalno antitjelo (1:50; PA5-14727, Invitrogen) i
- zečije anti- Flotillin 2 poliklonalno antitjelo (1:500; PA5-30033, Invitrogen).

Optimalne vrjednosti titra su aplicirane na tkiva i inkubirane preko noći u vlažnoj komori na 4˚. Po isteku inkubacije, naredni dan, višak antitjela je ispran TBS puferom (Tris buffered saline) pH 7,4. Za vizualizaciju je korišten ready to use polimerni detekcioni sistem (UltraVision Detection sistem HRP polimer & DAB Plus Chromogen). U prvom koraku vizualizacije je primjenjen pojačivač primarog antitjela (10 minuta) a zatim HRP polimer (15 minuta); oba na sobnoj temperaturi. Poslije svake izmjene (primarno antitjelo, pojačivač i polimer) tkiva su ispirana TBS puferom (Tris buffered saline) pH 7,4 .

Specifičnost imunhistohemijske reakcije je postajala vidljiva nakon petominutne inkubacije sa 3,3 ' - diaminobenzidine tetrachloride (DAB) hromogenom (Svi reagensi su firme Thermo Fisher Scientific Fermont, CA 94539, USA).

Nizom provedenih inkubacija (primarno antitjelo, HRP polimer i DAB hromogen), nastali kompleks razvije smeđu boju u cilju detekcije pozitivne imunološke reakcije.

Nakon ispiranja hromogena destilovanom vodom presjeci tkiva su kratko kontrastirani Maier- ovim hematokilinom a potom isprani tekućom vodom, dehidrirani u rastućoj koncentraciji etanola (70% , 90% i 100%), bistreni u ksilolu i trajno uklopljeni u kanada balzam. Nakon okončanja procesa preparati su analizirani na svjetlosnom mikroskopu i

fotografisani. Za kontrolisano praćenje imunohistohemijske reakcije (pozitivna i negativna kontrola) poštovane su preporuke proizvođača. Za kontrolisanje pozitivne reakcije bojenja Flotillin 2 i Wnt5a je korišteno tkivo karcinom pluća a za ROR2 tkivo karcinoma bubreg. Za negativnu kontrolu je na tkivo apliciran TBS pufer zbog čega se u kontrolnim presjecima tkiva zbog izostavljanja primarnog antitjela nije mogla naći nikakva imunološka aktivnost.

Imunohistohemijska analiza je vršena svjetlosnim mikroskopom, kvalitativnom ili semikvantitativnom analizom.

3.2.2.1. Interpretacija rezultata imunohistohemijske obrade uzoraka

Patohistološku analizu i imunohistohemijsku analizu svih uzoraka radio je jedan patolog.

Za određivanje stepena imunohistohemijske ekspresije korišćen je semikvantitativni sistem ocjenjivanja koji je uključivao intenzitet imunobojenja i procenat ćelija koje su imale sigurnu pozitivnu imunokoloraciju (reakciju).

Ocjene intenziteta imunohistohemijskog bojenja:

0: Bez imunološke reakcije (negativno);

1: Slabo bojenje;

2: Pozitivno bojenje srednjeg (umjerenog) intenziteta;

3: Intenzivno (jako) bojenje;

Za procjenu procenta obojenih tumorskih ćelija korišćen je sledeći sistem:

0: Bez bojenja (0%);

1: 1 – 25% tumorskih ćelija ima pozitivnu imunohistohemijsku reakciju;

2: 26 – 50% tumorskih ćelija ima pozitivnu imunohistohemijsku reakciju;

3: 51 – 75% tumorskih ćelija ima pozitivnu imunohistohemijsku reakciju;

4: 76 – 100 % tumorskih ćelija ima pozitivnu imunohistohemijsku reakciju.

Određivanje pozitivnosti je vršeno na osnovu formule:

Ukupni rezultat R = rezultat postotka obojenih ćelija X rezultat intenziteta;

Ukupni rezultat $R \leq 1$ – negativan (0);

$R \geq 2 \leq 4$ - Slabo pozitivan (1+);

$R \geq 6 \leq 8$ umjereno pozitivan (2+);

$R \geq 9$ jako pozitivan (3+) [83,86,87].

3.2.3. Statistička obrada podataka

Dobijeni podaci su obrađeni prema osnovnim deskriptivnim statističkim metodama: srednja vrijednost, standardna devijacija i medijana, za numerička obilježja. Za obilježja diskontinuirane prirode je korišćena učestalost i gradacija pozitivnosti po analognoj skali. Razlike između grupa po analiziranim varijablama su testirane parametarskom analitičkom statističkom metodom- Studentovim t testom za nezavisne uzorke. Za neparametrijska obilježja i procjenu uticaja varijabli na progresiju bolesti, primjenjivane su analitičke metode za procjenu značajnosti razlike: Perasonov $\chi 2$ test i Fišerov test tačne vjerovatnoće. Ispitivanje vjerovatnoće preživljavanja i uticaja pojedinih varijabli na preživljavanje bolesnica je računato prema Kaplan-Maierovom algoritmu. Za univarijantno poređenje krivih preživljavanja između pojednih grupa i kategorija analiziranih varijabli korišćen je $\chi 2$ test i Long-rank test.

Multivarijantna analiza u nekoliko izabranih modela je urađena primjenom Coxovog modela proporcionalnih hazarda.

Svi podaci su unijeti u tabele i prikazani grafički.

U slučaju kad je vjerovatnoća da je nulta hipoteza tačna jednaka ili manja od 5% ($p \leq 0,05$) razlika između analiziranih grupa je prihvaćena kao statistički značajna, a kada je vjerovatnoća jednaka ili manja od 1% ($p \leq 0,01$) razlika između analiziranih grupa je prihvaćena kao visoko statistički značajna. U statističkoj obradi podataka korišćen je kompjuterski program SPSS v.16 (SPSS, Chicago, IL, USA).

Tokom istraživanja korišćen je statistički softverski paket SPSS (Originalno: Statistical Package for the Social Sciences), verzija 20.

Rezultati istraživanja su predstavljeni deskriptivno – tabelarno i grafički i korišćeni su adekvatni statistički testovi.

Varijable mjerene nominalnom ili ordinalnom skalom predstavljene su tabelarno, uz prikaz apsolutne i procentualne vrijednosti, a u nekim slučajevima predstavljene su i kumulativne vrijednosti. Pri grafičkom predstavljanju korišćeni su dvodimenzionalni stubičasti dijagrami.

Pri prikazu neprekinutih varijabli predstavljeno je: broj ispitanika (N), minimalna vrijednost (Minimum), maksimalna vrijednost (Maximum), medijana (Median, Md),

aritmetička sredina (Mean) i standardna devijacija (Std. Deviation ili Std. Dev.), a za grafički prikaz korišćen je box-plot dijagram.

Normalnost raspodjele neprekinutih varijabli testirana je Kolmogorov-Smirnov-ovim testom. Za granične slučajeve korišćen je Shapiro-Wilk-ov test.

Ako je poznato da osnovni skup ima približno normalan raspored, bolje je koristiti parametarske tehnike, a ako osnovni skup znatnije odstupa od normalnog rasporeda ili ako podaci sadrže više ekstremnih opservacija, preporučuje se upotreba neparametarskih tehnika [88]. U radu su korišćene ove preporuke.

Pri normalnoj raspodjeli pojedinih neprekinutih varijabli korišćen je t – test nezavisnih uzoraka (Independent Samples t test) za dvije grupe ispitanika, a kada je osnovni skup znatnije odstupao od normalne raspodjele primjenjivan je Mann-Whitney-ev U test, koji je ekvivalent parametarskom t – testu nezavisnih uzoraka, pri čemu poredi medijane uzoraka.

Hi-kvadrat (χ^2) test se najčešće koristi kod podataka datih kategorija i poredi opservirane i očekivane frekvencije u različitim kategorijama [89].

Pri izračunavanju χ^2 testa u tablicama kontingencije 2 x 2 vršena je korekcija prema Yates-u.

Ako su pojedine učestalosti u poljima tablice kontingencije 2 x 2 manje od pet (5) ili je ukupan broj ispitanika manji od 20 primjenjivan je Fisher-ov test [89].

Spearman-ov koeficijent korelacije rangova (Spearman's rank correlation coefficient) predstavlja neparametarski ekvivalent Pearson-ovom koeficijentu korelacije,

a koristi se ako je bar jedna od varijabli A ili B mjerena ordinalnom skalom ili varijable A i B nemaju normalnu distribuciju ili je uzorak mali ili je potrebna mjera povezanosti između dvije varijable kada ta povezanost nije linearna.

Kaplan-Meier-ov algoritam je korišćen pri ispitivanju vjerovatnoće preživljavanja i uticaja pojedinih varijabli na preživljavanje pacijenata. Pri univarijantnom poređenju krivih preživljavanja između pojednih grupa i kategorija analiziranih varijabli korišćeni su χ^2 test i Long Rank test.

Multivarijaciona analiza predstavlja skup tehnika koje se koriste kada treba da se istovremeno ispituju varijacije većeg broja varijabli [89]. Izabrani model je urađen primjenom Cox-ovog modela proporcionalnih hazarda.

4. REZULTATI

Naše istraživanje je obuhvatalo bioptičke materijale 101 pacijentice, koje su operisane u Univerzitetskom kliničkom Centru Republike Srpske, Klinika za ginekologiju i akušerstvo. Analiza je urađena u Zavodu za patologiju, i utvrđena je definitivna patohistološka dijagnoza bolesti. Istraživanje je obavljeno u periodu od januara 2006. do 20. septembra 2018. godine.

Kriterijumi za uključenje u studiju:

1. Pacijentice oboljele od karcinoma grlića materice;
2. U liječenju karcinoma grlića materice je korišćena hirurška terapija;
3. Postoje podaci o toku i ishodu bolesti kod pacijentica.

Kriterijumi za isključenje iz studije:

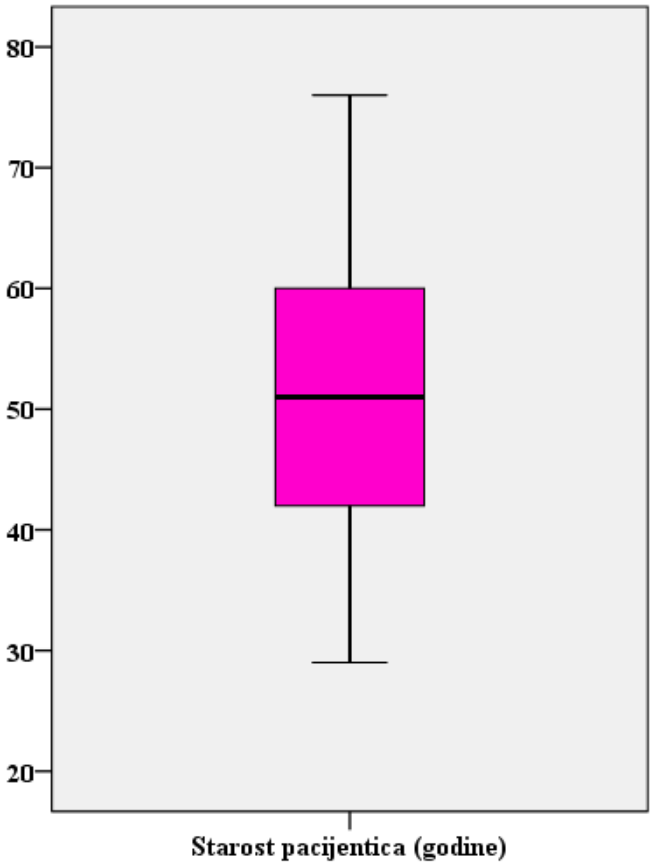
1. Pacijentice koje ne boluju od karcinoma grlića materice;
2. Nepostojanje reprezentativnih uzoraka za histološku i imunohistohemijsku analizu;
3. Pacijentice koje u liječenju karcinoma nisu hirurški tretirane;
4. Nedosatatak podataka za tok i ishod bolesti.

4.1. Demografske karakteristike pacijentica i uticaj na preživljavanje

Prosječna starost svih pacijentica je 51,11 godina. Najmlađe pacijenica je imala 29 godina, a najstarija 76 godina (tabela 6, slika 7).

Tabela 6. Starosna struktura pacijentica.

N	Minimum	Maximum	Median	Mean	Std. Deviation
101	29	76	51.00	51.11	11.137

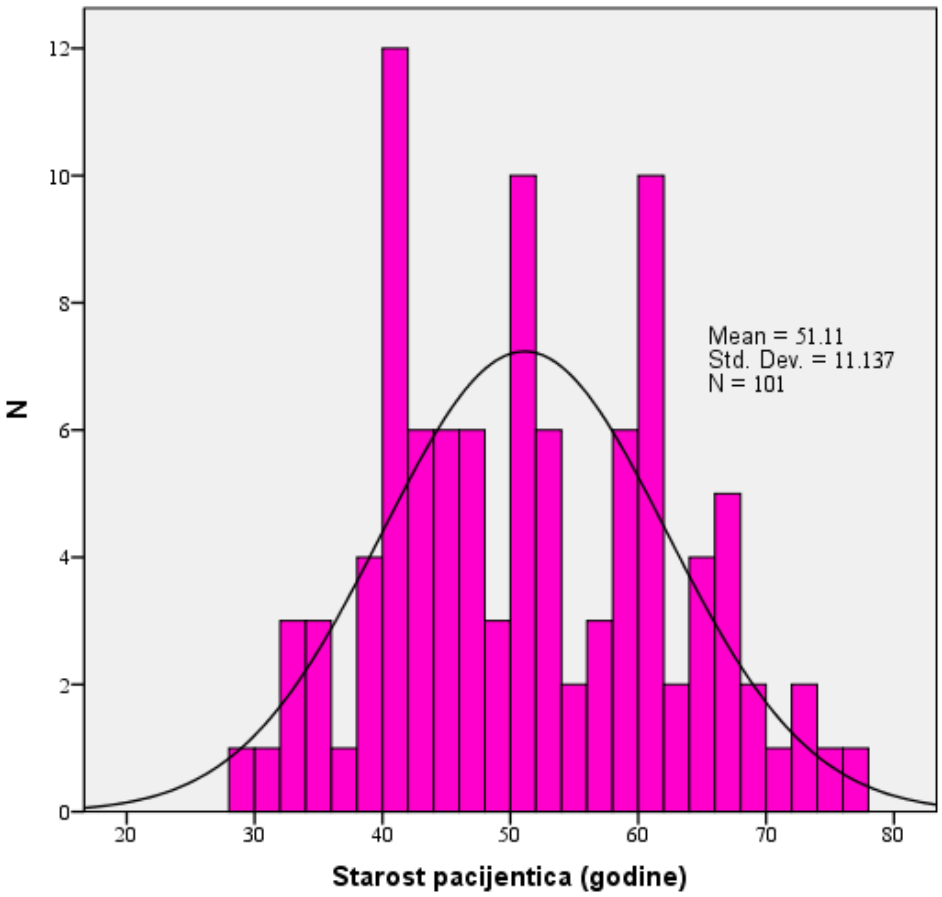


Slika 7. Starosna struktura pacijentica.

Pacijentice su najčeće bile u petoj ili šestoj decinij života. U navedenoj starosnoj grupi (starosti od 41 godine do 60 godina) je bilo 56,4% (57 pacijentica), (tabela 7, slika 8).

Tabela 7. Prikaz starosti pacijentica po dekadama u trenutku operativnog tretmana

Starosne grupe (god)	N	%	Kumulativno
21 – 30 /3/	2	2.0	2.0
31 – 40 /4/	18	17.8	19.8
41 – 50 /5/	28	27.7	47.5
51 – 60 /6/	29	28.7	76.2
61 – 70 /7/	19	18.8	95.0
71 – 80 /8/	5	5.0	100.0
Ukupno	101	100.0	



Slika 8. Prikaz starosti pacijentica po godinama u momentu operativnog tretmana

Od ukupnog broja pacijentica (101), u konačnu analizu su uključene 89 pacijentica. 12 pacijentica je isključeno iz studije zbog sljedećih razoga: nisu pronađena predmetna stakla (5 pacijentica), nisu pronađeni parafinski kalupi (4 pacijentice) i kod 3 pacijentice nije bilo moguće utvrditi ishod bolesti.

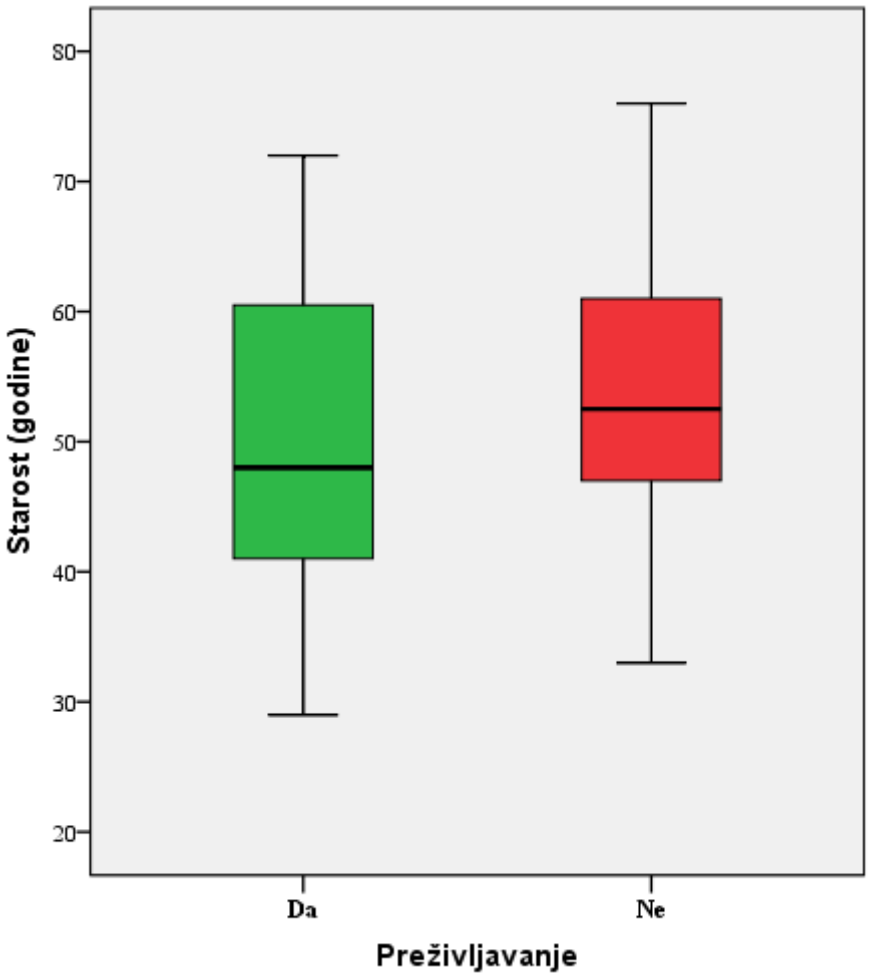
Od ukupnog broja (89) pacijentica preživjelo je u momentu zatvaranja studije (20.09. 2018. godine) njih 63 (70,78%). (tabela 8, slika 9).

Analizirali smo uticaj starosti na ishod bolesti. Može se zaključiti da pacijentice koje su preživjele su u prosjeku nešto mlađe (50.03 godina), u odnosu na pacijentice koje su umrle u vrijeme zaključivanja studije (54,27 godina).

Primjenom Independent Samples t testa nije dobijena statistički značajna razlika ($t = -1.596$, $p = 0.114$) starosti pacijentica koje su preživjele, u odnosu na pacijentice koje nisu preživjele (tabela 8 slika 9). Možemo ovdje zaključiti da u našem istraživanju godine starosti nisu uticale na period preživljavanja.

Tabela 8. Prikaz odnosa preživljavanja pacijentica oboljelih od karcinoma grlića materice i godina starosti.

Preživljavanje	N	Min.	Max.	Median	Mean	Std. Deviation
Da	63	29	72	48.00	50.03	11.271
Ne	26	33	76	52.50	54.27	11.684
Ukupno	89	29	76	51.00	51.27	11.491



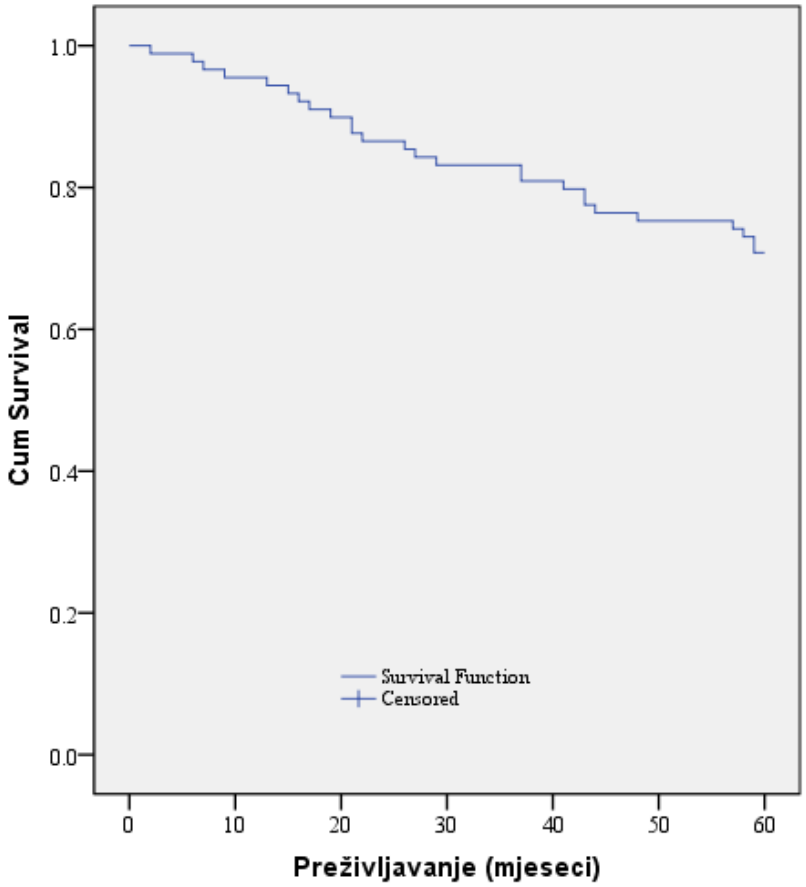
Slika 9. Prikaz uticaja starosti pacijentica oboljelih od karcinoma grlića materice na ishod bolesti.

Prosječno vrijeme praćenja pacijentica je bilo 69.73 ± 32.468 mjeseci sa minimalnim periodom praćenja od dva mjeseca i maksimalnim periodom praćenja od 144 mjeseca. Za sve pacijentice koje su preživjele na dan zatvaranja studije (20. 9. 2018. god) prosječno vrijeme praćenja je bilo 86.19 ± 20.669 mjeseci sa medijanom 85 mjeseci, a prosječno vrijeme praćenja pacijentica koje nisu preživjele je bilo 29,85 ± 17,724 mjeseca (minimalni period praćenja je bio dva mjeseca, a maksimalni period praćenja je bio 59 mjeseci) sa medijanom 26.5 mjeseci (tabela 9).

Tabela 9. Preživljavanje pacijenata tokom ispitivanog perioda

Preživljavanje	N	Min.	Max.	Median	Mean	Std. Deviation
Da	63	60	144	85.00	86.19	20.669
Ne	26	2	59	26.50	29.85	17.724
Ukupno	89	2	144	73.00	69.73	32.468

Preživljavanje pacijentica sa karcinomom grlića materice nakon: 12 mjeseci bilo je 95.5%; 24 mjeseca - 86.5%: 36 mjeseci - 83,1%; 48 mjeseci - 75.3%, a na kraju ispitivanog perioda je 70.8%, a (slika 10).



Slika 10. Kaplan-Meierova kriva preživljavanja pacijentica oboljelih od karcinoma grlića materice u analiziranom uzorku.

4.2. Morfološke karakteristike karcinoma grlića materice u ispitivanoj grupi pacijentica

4.2.1. Tip operativnog zahvata (vrsta materijala) i uticaj na preživljavanje pacijentica oboljelih CC

Kod većine pacijentica hirurški materijal na kome je izvršena analiza je bio uterus 98 (97%) bolesnice, a kod svega 3 (3%) pacijentice je urađen koničan isječak vaginalne porcije (tabela 10).

Tabela 10. Vrsta materijala na kome je urađena analiza.

Vrsta materijala	N	%
Konus PVU	3	3.0
Uterus	98	97.0
Ukupno	101	100.0

Ovi podaci nam govore da je karciom u vrijeme operativnog zahvata bio uglavnom u stadijumu u kome nije bilo moguće provesti poštednu operaciju (koničnu resekciju).

Analizirali smo da li tip hirurške intervencije, odnosno vrsta materijala na kojoj je rađena analiza utiče na preživljavanje pacijentica sa karcinomom grlića materice. Utvrđeno je da su pacijentice kod kojih je urađena hirurška resekcija grlića materice (konizacija) tokom praćenja sve žive, a da kod pacijentica kod kojih je učinjena radikalna hirurška intervencija (histerektomija sa regionalnom limfonodektomijom) preživjelo je 63 pacijentice (70,8%), (tabela 11). Primjenom Fisher-ovog testa nije dobijena statistički značajna razlika ($p = 0.553$), s obzirom na vrstu hirurške intervencije i vrijeme preživljavanja u analiziranoj grupi pacijentica.

I naši rezutati potvrđuju da je jako značajna rana dijagnostika karcinoma grlića materice. Dakle, sve pacijentice kod kojih je dijagnoza utvrđena u ranom stadijumu, do FIGO IA2 su poslije poštedne hirurške resekcije preživjele.
Naši rezultati upućuju na to da je potrebno raditi na screening-u (ranom dijagnostikovanju) premalignih i malignih promjena na grliću materice.

Tabela 11. Uticaj tipa hirurške intervencije (vrste materijala) na preživljavanje pacijentica oboljelih od karcionoma cerviksa.

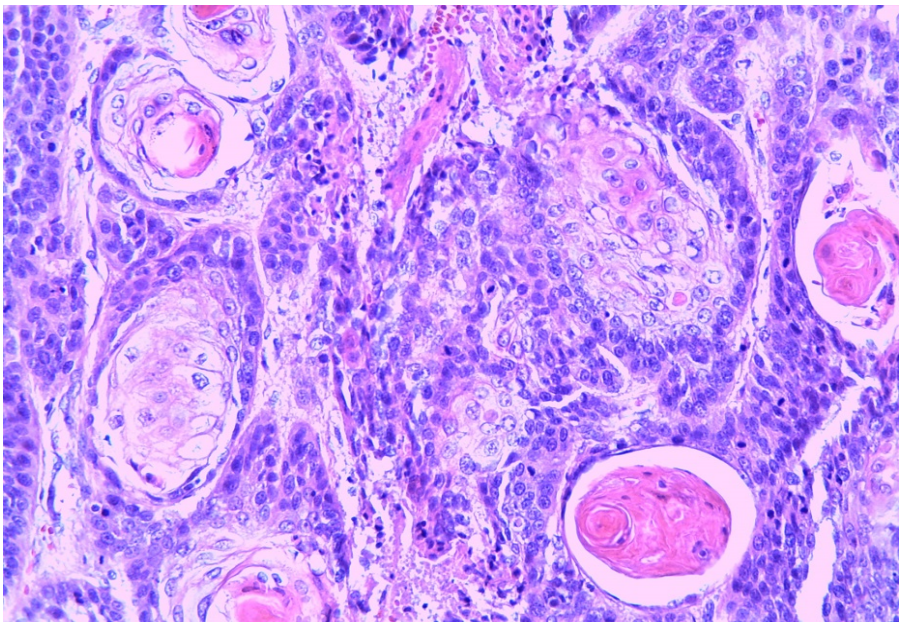
Vrsta materijala		Preživljavanje		Ukupno
		Da	Ne	
Konus PVU	N	**3**	**0**	**3**
	%	100.0%	0.0%	3.4%
		4.8%	0.0%	
Uterus	N	**60**	**26**	**86**
	%	69.8%	30.2%	96.6%
		95.2%	100.0%	
Ukupno	N	**63**	**26**	**89**
	%	70.8%	29.2%	100.0%

4.2.2. Histološki tip CC i uticaj na preživljavanje pacijentica

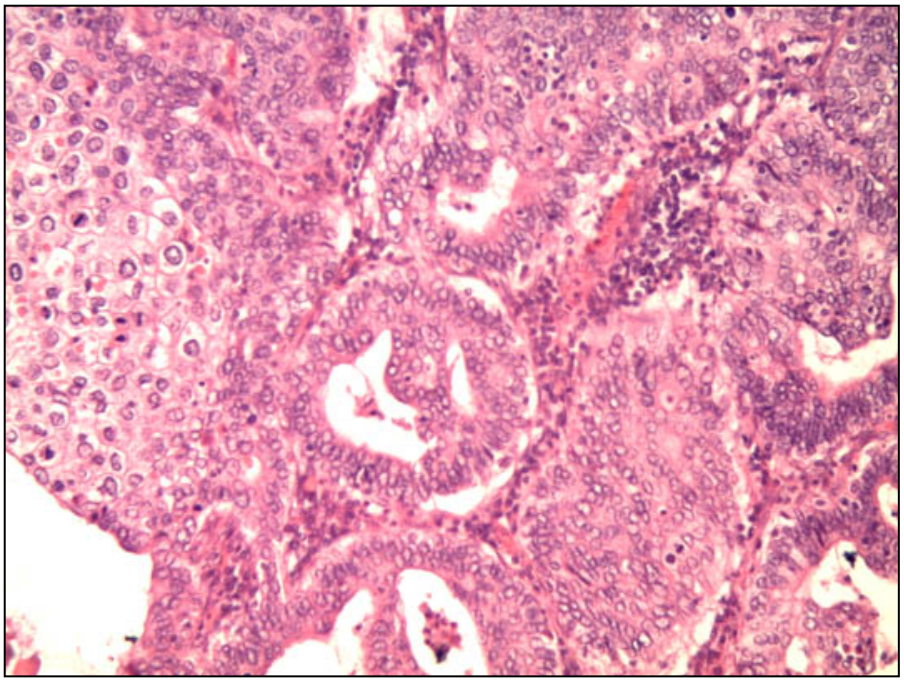
Kod ispitanica u 93 (92,1%) slučajeva je utvrđena dijagnoza skvamocelularnog karcinoma. U 6 (5,9%) slučajeva utvrđena je dijagnoza adenoskvamoznog karcinoma, a u 2 (2%) slučajeva utvrđena je dijagnoza adenokarcinoma – endocervikalni tip, (tabela 12, slika 11, slika 12, slika 13).

Tabela 12. Prikaz histoloških tipova karcinoma grlića materice u analiziranom materijalu.

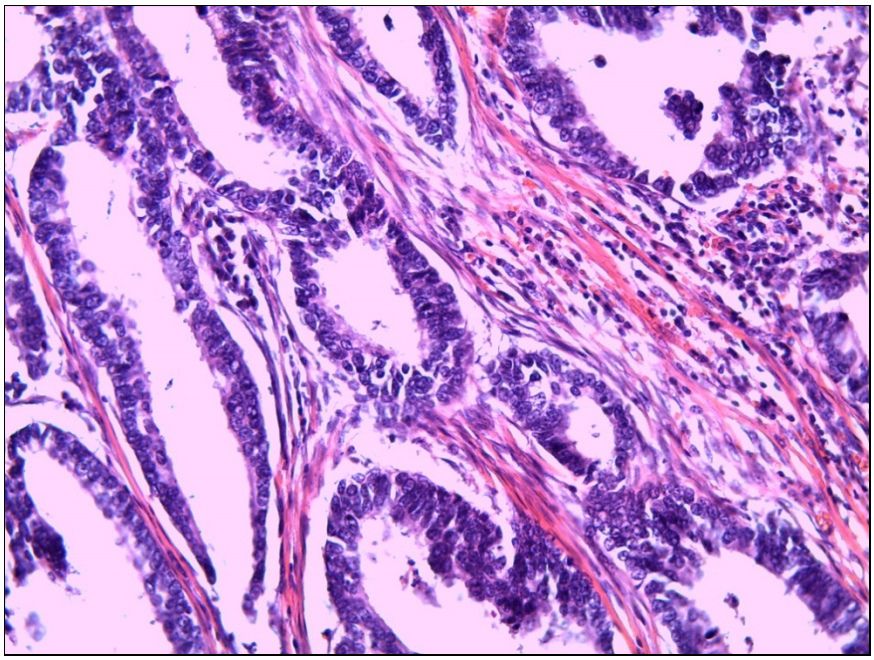
Histološki tip tumora	N	%
Adenocarcinoma – endocervikalni tip	2	2.0
Carcinoma – adenosquamosum	6	5.9
Carcinoma squamocellulare	93	92.1
Ukupno	101	100.0



Slika 11. *Carcnoma squamocellulare invasivum cervicis uteri, gradus I*, HEX200.



Slika 12. *Carcinoma adenosquamosum cervicis uteri, gradus II*, HEx200.



Slika 13. *Adenocarcinoma cervicis uteri, gradus I,* HEx200.

Kod dvije pacijentice je bio prisutan *Adenocarcinoma* – endocervikalni histološki tip tumora i obe pacijentice su preživjele (prva pacijentica je praćena 81, a druga 87 mjeseci). *Carcinoma – adenosquamosum* histološki tip tumora je evidentiran kod šest pacijentica, od koji jedna nije preživjela (preživjela je 58 mjeseci), a prosječno preživljavanje svih šest pacijentica je 78.17 godina sa medijanom od 75.5 godina. *Carcinoma squamocellulare* histološki tip tumora je evidentiran kod 81 pacjentice, od kojih 25 nije preživjelo, a prosječno vrijeme preživljavanja pacijetica sa ovim tipom histološkog tumora je 68.75 mjeseci sa medijanom od 71 mjesec (tabela 13 i 14).

Tabela 13. Prikaz uticaja histološkog tipa CC na preživljavanje pacijentica.

Histološki tip tumora	N	Minimum	Maximum	Median	Mean	Std. Deviation
Adenocarcinoma – endocer. tip	2	81	87	84.00	84.00	4.243
Carcinoma - adenosquamosum	6	58	103	75.50	78.17	18.627
Carcinoma squamocellulare	81	2	144	71.00	68.75	33.561
Ukupno	89	2	144	73.00	69.73	32.468

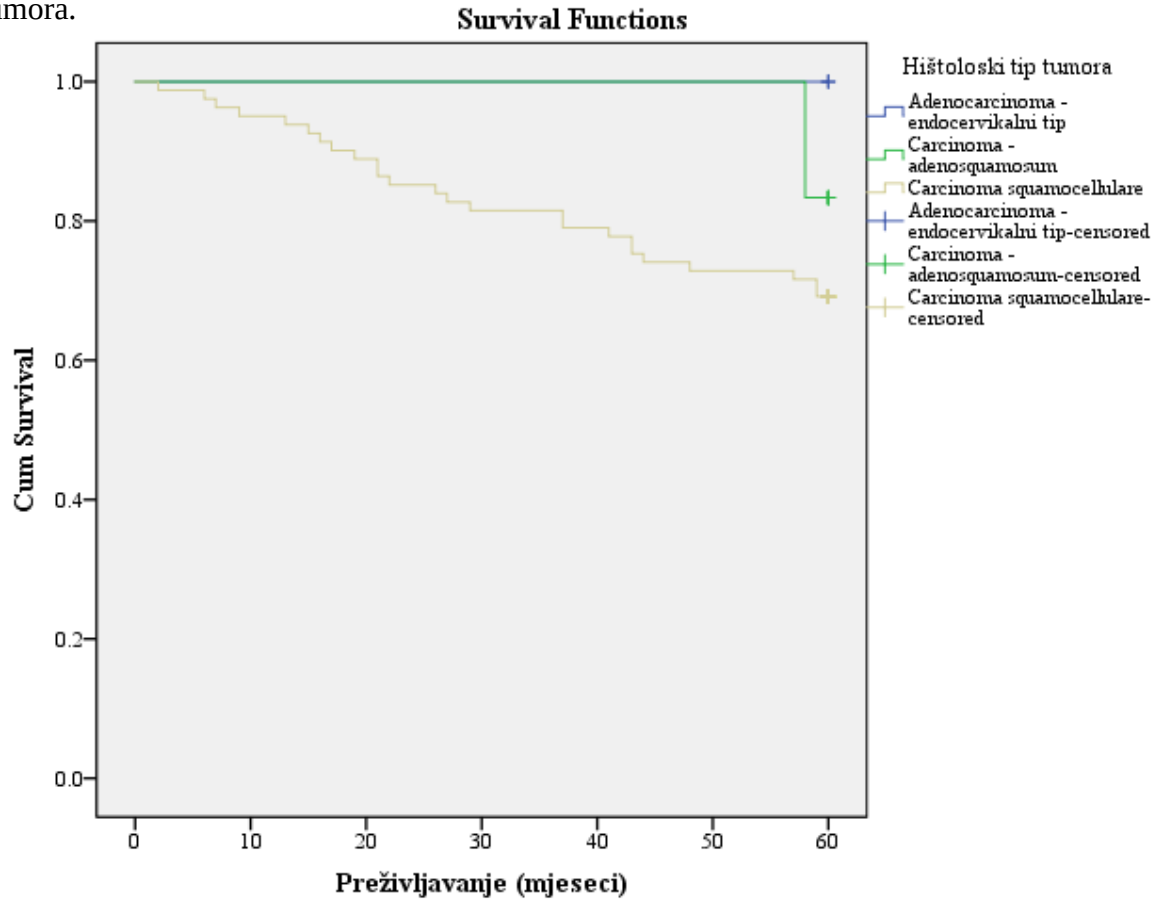
Tabela 14. Prikaz uticaja histološkog tipa CC na preživljavanje pacijentica.

Histološki tip tumora		Preživljavanje		Ukupno
		Da	Ne	
Adenocarcinoma - endocervikalni tip	N	**2**	**0**	**2**
	%	100.0%	0.0%	2.2%
		3.2%	0.0%	
Carcinoma - adenosquamosum	N	**5**	**1**	**6**
	%	83.3%	16.7%	6.7%
		7.9%	3.8%	
Carcinoma squamocellulare	N	**56**	**25**	**81**
	%	69.1%	30.9%	91.0%
		88.9%	96.2%	
Ukupno	N	**63**	**26**	**89**
	%	70.8%	29.2%	100.0%

Nije dobijena statistički značajna razlika u dužini preživljavanja (Log Rank test = 1.335; p= 0.513) u histološkom tipu tumora između pacijentica koje su preživjele i koje nisu.

Pacijentice kod kojih je registrovan histološki tip tumora *Adenocarcinoma* - endocervikalni nisu imale statistički značajno lošije preživljavanje, ni u odnosu na pacijentice sa histološkim tipom tumora *Carcinoma - adenosquamosum* (LogRank test=0.333; p = 0.564), a ni u odnosu na pacijentice sa histološkim tipom tumora *Carcinoma squamocellulare* (Log Rank test=0.735; p = 0.391). Takođe, nije nađena statistički značajna razlika (Log Rank test=0.6125; p = 0.434) u preživljavanju pacijentica kod kojih je registrovan histološki tip tumora *Carcinoma - adenosquamosum* i histološki tip tumora *Carcinoma squamocellulare*. Možemo zaključiti da u našem istraživanju histološki tip karcinoma cerviksa nije uticao na preživljavanje pacijenata (nije dobijena statistički značajna razlika).

Na slici 14 predstavljena je Kaplan-Meier-ova kriva preživljavanja u odnosu na histološki tip tumora.



Slika 14. Kaplan-Meier-ova kriva preživljavanja u odnosu na histološki tip tumora

Pacijentica kod koje je registrovan histološki tip tumora *Carcinoma-adenosquamosum* je preživjela 58 mjeseci, dok su pacijentice kod kojih je registrovan histološki tip tumora *Carcinoma squamocellulare* imale prosječno preživljavanje od 28.72 mjeseca.

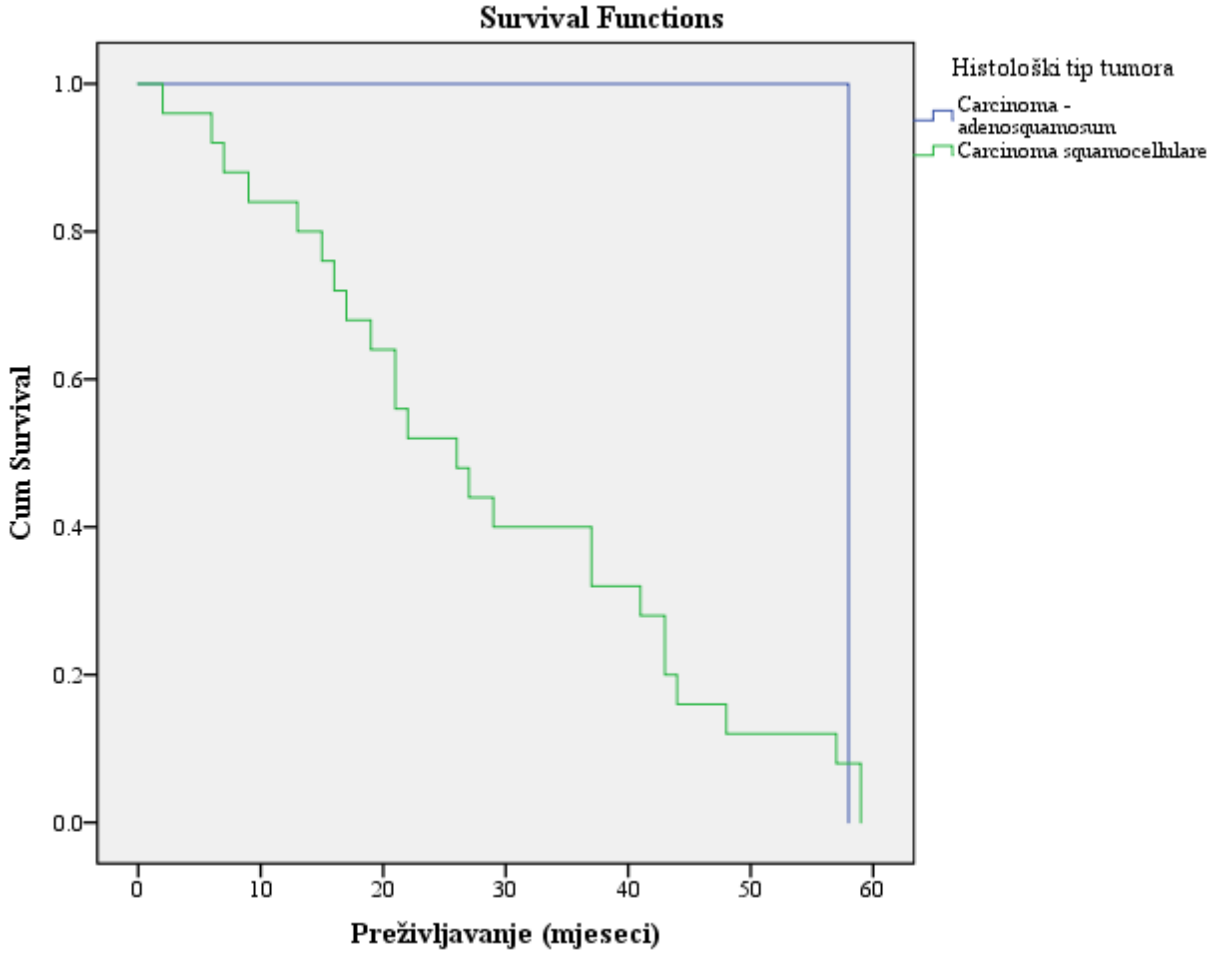
Grupa pacijentica kod kojih je registrovan histološki tip tumora *Carcinoma squamocellulare* je imala medijanu 26.00 mjeseci (tabela 15, slika 15).

Tabela 15. Prosječna dužina preživljavanja i medijana preživljavanja pacijentica koje nisu preživjele u odnosu na histološki tip tumora

Histološki tip tumora	Prosječna dužina preživljavanja				Medijana			
	Prosječna vrijednost	Standardna greška	95% Interval povjerenja		Medijana	Standardna greška	95% Interval povjerenja	
			Donja granica	Gornja granica			Donja granica	Gornja granica
Carcinoma - adenosquamosum	58.000	.000	58.000	58.000	58.000	.	.	.
Carcinoma squamocellulare	28.720	3.423	22.011	35.429	26.000	4.996	16.208	35.792
Ukupno	29.846	3.476	23.033	36.659	26.000	5.099	16.006	35.994

Nije dobijena statistički značajna razlika u dužini preživljavanja pacijentica koje nisu dočekale kraj studije (preminulih pacijentica) (Log Rank test = 0.913; p = 0.339) koje su imale histološki tip tumora *Carcinoma - adenosquamosum* i pacijentica koje su imale histološki tip tumora *Carcinoma squamocellulare*.

Na slici 15. prikazane su Kaplan-Meier-ove krive preživljavanja umrlih pacijenata u odnosu na histološki tip tumora.



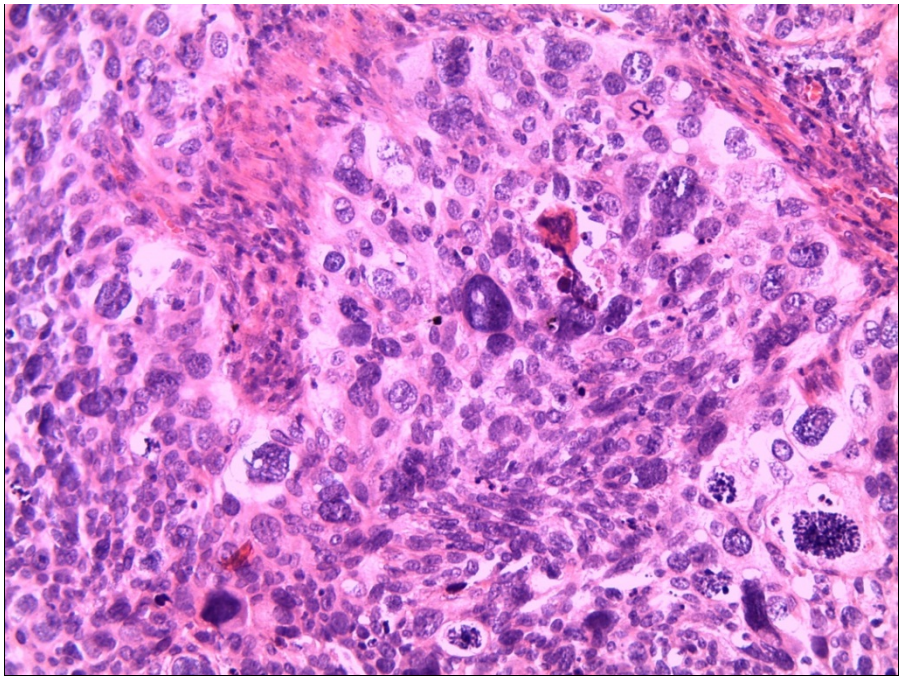
Slika 15. Kaplan-Meier-ove krive preživljavanja umrlih pacijenata u odnosu na histološki tip tumora

4.2.3. Histološki gradus CC i uticaj na preživljavanje pacijentica

Kod 75 ispitanica (74,3% slučajeva) tumor je bio umjerenog stepena diferentovanosti (gradus II), kod 18 pacijentica (17,8% slučajeva) je lošeg stepena diferentovanosti (gradus III), a kod 8 pacijentica (7,9% slučajeva) je bio dobro diferentovan (tabela 16). Histološki izgled tumora sa različitim stepenom diferentovanosti su prikazani na slikama 11, 12, 13 i 16.

Tabela 16. Prikaz histološkog gradus karcinoma grlića materice u analiziranom materijalu.

Histološki gradus tumora	N	%
Gradus I	8	7.9
Gradus II	75	74.3
Gradus III	18	17.8
Ukupno	101	100.0



Slika 16. *Carcnoma squamocellulare invasivum cervicis uteri, gradus III*, HEX400.

U tabeli 17 prikazan je uticaj histološkog gradusa CC na preživljavanje. Uočava se da oboljele pacijentice čiji je tumor loše ili umjereno diferentovan imaju lošiju prognozu. U našem materijalu od ukupnog broja pacijentica, njih 17 sa CC gradus III, kraj studije nije dočekalo 7 pacijentica, a od 65 pacijentica sa CC gradus II nije dočekalo kraj studije 18 pacijentica (tabela 9, slika 1 – slika 4).

Tabela 17. Prikaz uticaja histološkog gradusa CC na preživljavanje pacijentica.

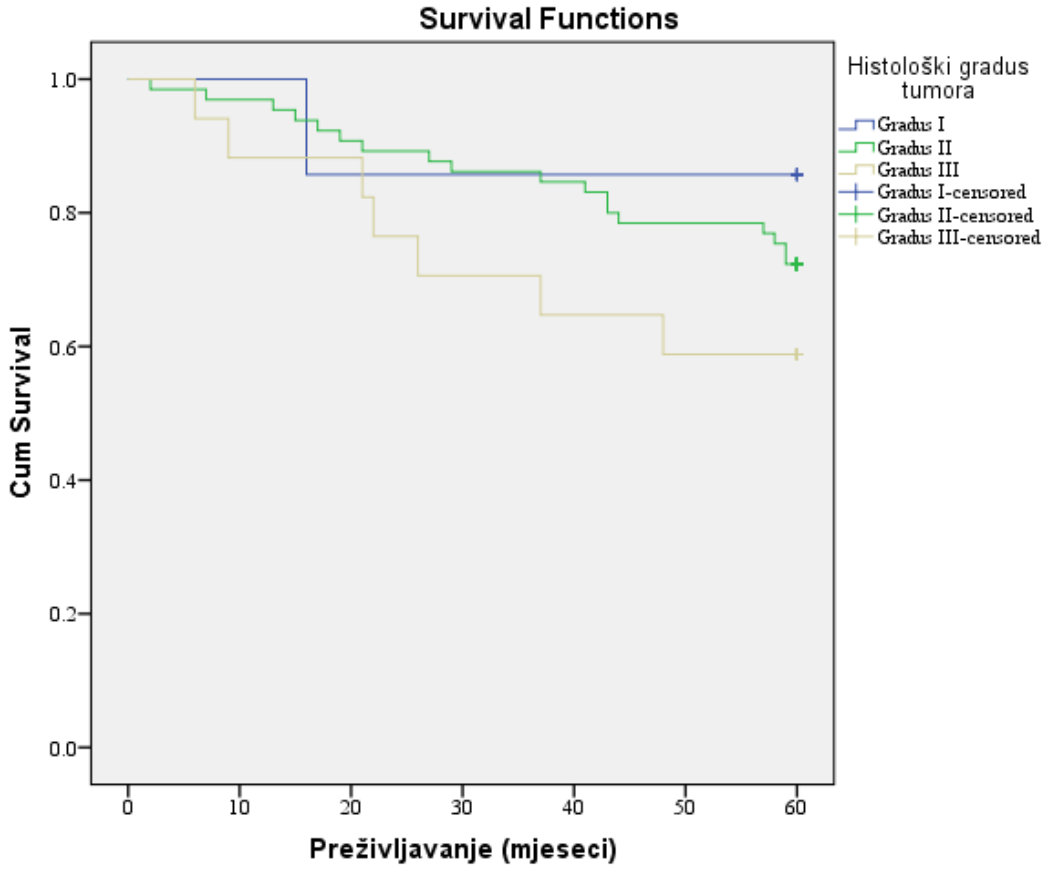
Histološki gradus tumora		Preživljavanje		Ukupno
		Da	Ne	
Gradus I	N	**6**	**1**	**7**
	%	85.7%	14.3%	7.9%
		9.5%	3.8%	
Gradus II	N	**47**	**18**	**65**
	%	72.3%	27.7%	73.0%
		74.6%	69.2%	
Gradus III	N	**10**	**7**	**17**
	%	58.8%	41.2%	19.1%
		15.9%	26.9%	
Ukupno	N	**63**	**26**	**89**
	%	70.8%	29.2%	100.0%

Primjenom χ^2 testa nije dobijena statistički značajna razlika (χ^2 = 2.004, p = 0.367) histološkog gradusa tumora i preživljavanja pacijentica.

Nije dobijena statistički značajna razlika primjenom Fisher-ovog testa histološkog gradusa tumora Gradus I i Gradus II (p = 0.667), kao ni Gradus I i Gradus III (p = 0.352) u odnosu na preživljavanje. Primjenom χ^2 testa uz korekciju prema Yates-u nije dobijena statistički značajna razlika. (χ^2 = 0.607, p = 0.436) histoloških gradusa tumora Gradus II i Gradus III i preživljavanja pacijenata.

Možemo zaključiti da najkraće preživljavanje imaju pacijentice sa loše diferentovanim karcinomom grlića materice (gradus III), a zatim umjereno diferentovani (gradus II). Međutim, statističkim testiranjem nije dobijena značajna razlika u preživljavanju pacijetica u odnosu na histološki gradus tumora.

Na slici 17. je predstavljena Kaplan-Meier-ova kriva preživljavanja u odnosu na histološki gradus tumora.



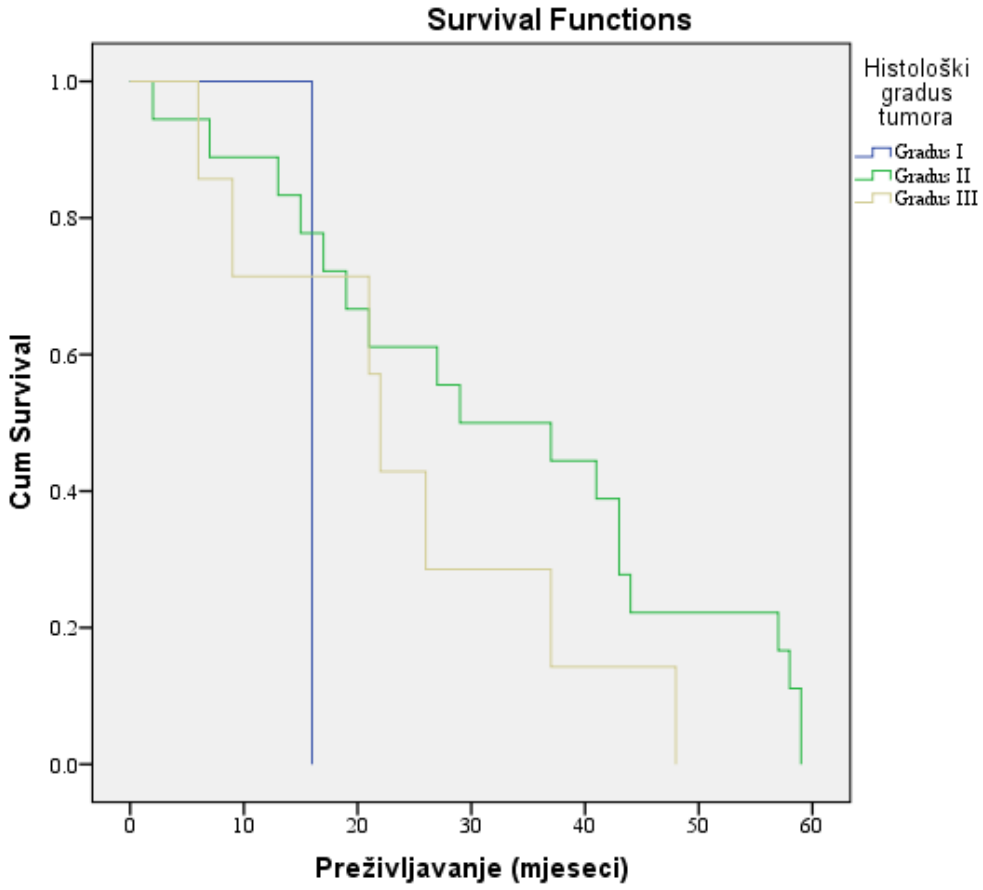
Slika 17. Kaplan-Meier-ova kriva preživljavanja u odnosu na histološki gradus tumora.

Ako se analizira uticaj histološkog gradusa na dužinu preživljavanja, pacijentica koje su tokom praćenja umrle, nije utvrđena statistički značajna razlika (Log Rank test = 3.233; p= 0.199). Na osnovu toga se može zaključiti da u našem uzorku histološki gradus nije uticao na dužinu preživljavanja.

Pacijentice koje nisu preživjele i kod kojih je registrovan histološki tumor Gradus I nisu imale statistički značajno lošije preživljavanje ni u odnosu na pacijentice sa histološkim tumorom Gradus II (Log Rank test = 1.779; p = 0.182), a ni u odnosu na pacijentice sa histološkim tumorom Gradus III (Log Rank test = 0.863; p = 0.353).

Takođe, nije nađena statistički značajna razlika u preživljavanju pacijentica kod kojih je registrovan histološki tumor Gradus II i histološki tumor Gradus III (Log Rank test = 1.654; p=0.198).

Na slici 18 prikazane su Kaplan-Meier-ove krive dužine preživljavanja pacijentica koje su umrle tokom perioda praćenja u odnosu na histološki gradus tumora.



Slika 18. Kaplan-Meier-ova kriva dužine preživljavanja pacijentica koje su umrle tokom perioda praćenja u odnosu na histološki gradus tumora.

4.2.4. Dubina invazije strome kod CC i uticaj na preživljavanje pacijentica

Dubina invazije u analiziranom materijalu se kretala od 1 mm do 66 mm. Prosječna dubina invazije kod svih ispitanica je iznosila 15,4 mm (tabela 18, slika 19 i slika 20).

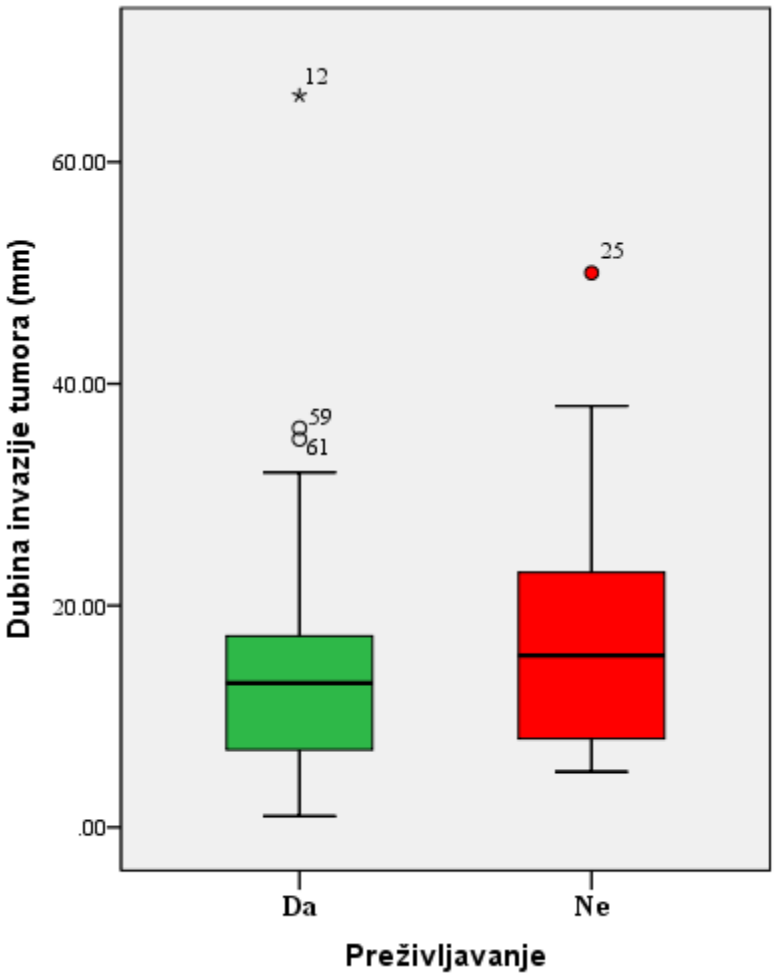
Tabela 18. Prikaz dubine invazije strome grlića materice tumorskim ćelijama u analiziranom materijalu.

N	Minimum	Maximum	Median	Mean	Std. Deviation
101	1.00	66.00	13.0000	15.3931	10.33735

Analiziran je uticaj dubine invazije strome grlića materice na preživljavanje. Utvrđeno je da je prosječna dubina invazije veća kod pacijentica koje nisu preživjele vrijeme zaključivanja studije (17,4) u odnosu na pacijentice koje su preživjele (14,05) (tabela 19, slika 19).

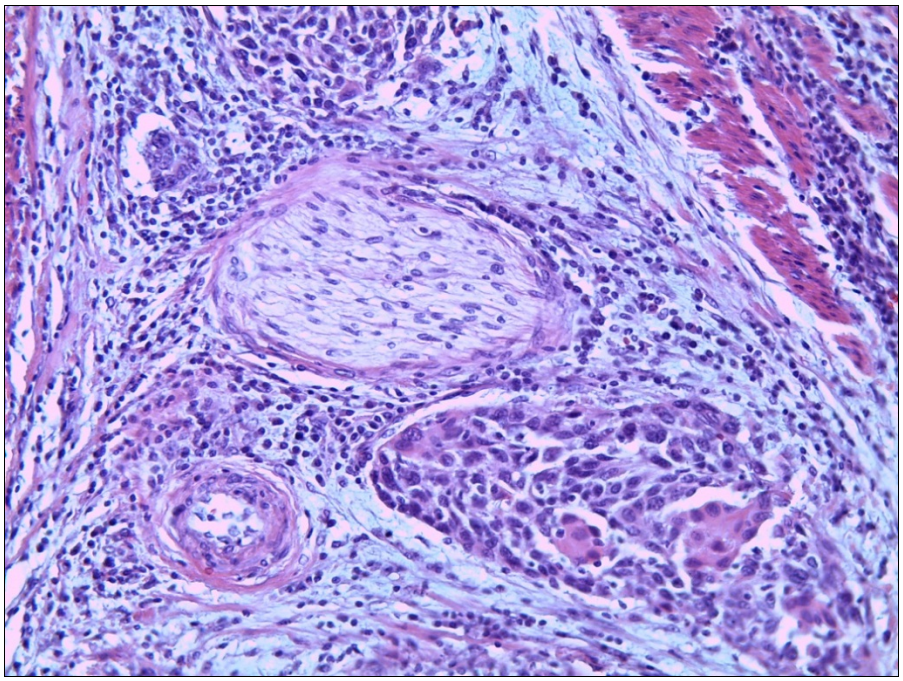
Tabela 19. Prikaz uticaja dubine invazije strome grlića materice tumorskim ćelijama i preživljavanje pacijentica.

Preživljavanje	N	Minimum	Maximum	Median	Mean	Std. Deviation
Da	63	1.00	66.00	13.0000	14.0508	10.33491
Ne	26	5.00	50.00	15.5000	17.4000	11.14490
Ukupno	89	1.00	66.00	13.0000	15.0292	10.62475



Slika 19. Prikaz uticaja dubine invazije strome grlića materice tumorskim ćelijama i preživljavanje pacijentica.

Primjenom Mann-Whitney-evog testa nije dobijena statistički značajna razlika (z = -1.454, p = 0.146) dubine invazije tumora (mm) između pacijentica koje su preživjele (N = 63, Md = 13.00) i pacijentica koje nisu preživjele (N = 26, Md = 15.50).



Slika 20. *Carcinoma squamocellulare invasivum cervicis uteri, gradus II*, HEX200. Prikaz perineuralne invazije i invazije glatkog mišićnog tkiva u zidu grlića materice.

U radu smo izvršili podjelu prema dubini invazije na tri grupe. Prvu grupu su činile pacijentice sa invazijom do 3mm (FIGO IA1), drugu od 3,01 do 5 mm (FIGO IA2), i treću grupu su činile pacijentice sa invazijom većom od 5 mm (sve pacijentice čiji je stadijum veći od FIGO IA2, a koje su hirurški tretirane). U tabeli 20 uočava se da je kod većine pacijentica u vrijeme operacije CC dubina invazije bila preko 5mm (91 pacijentica ili 90%).

Tabela 20. Prikaz dubine invazije strome grlića materice tumorskim ćelijama u analiziranom materijalu, po grupama.

Dubina invazije /grupe/ tumora	N	%
<= 3.00 mm	5	5.0
3.01 - 5.00 mm	5	5.0
> 5.00 mm	91	90.0
Ukupno	101	100.0

Možemo zaključiti da u našem istraživanju većina pacijentica kod kojih je dijagnostikovan CC dubina invazije strome je bila veća od 5mm (90%),

odnosno u stadijumu bolesti po FIGO klasifikaciju većem od FIGO IA2. Zaključak je da se prilično kasno dijagnostikuje maligna lezija na grliću materice.

Pacijentice koje su bile sa invazijom strome manjom od 3 mm, su sve preživjele okončanje studije, kao i većina pacijentica koje su imale invaziju strome do 5 mm (80%). Pacijentice kod kojih je invazija strome bila veća od 5 mm imale su stopu preživljavanja od 70,8% (tabela 21).

Tabela 21. Prikaz uticaja dubine invazije strome grlića materice tumorskim ćelijama po grupama i preživljavanja pacijentica.

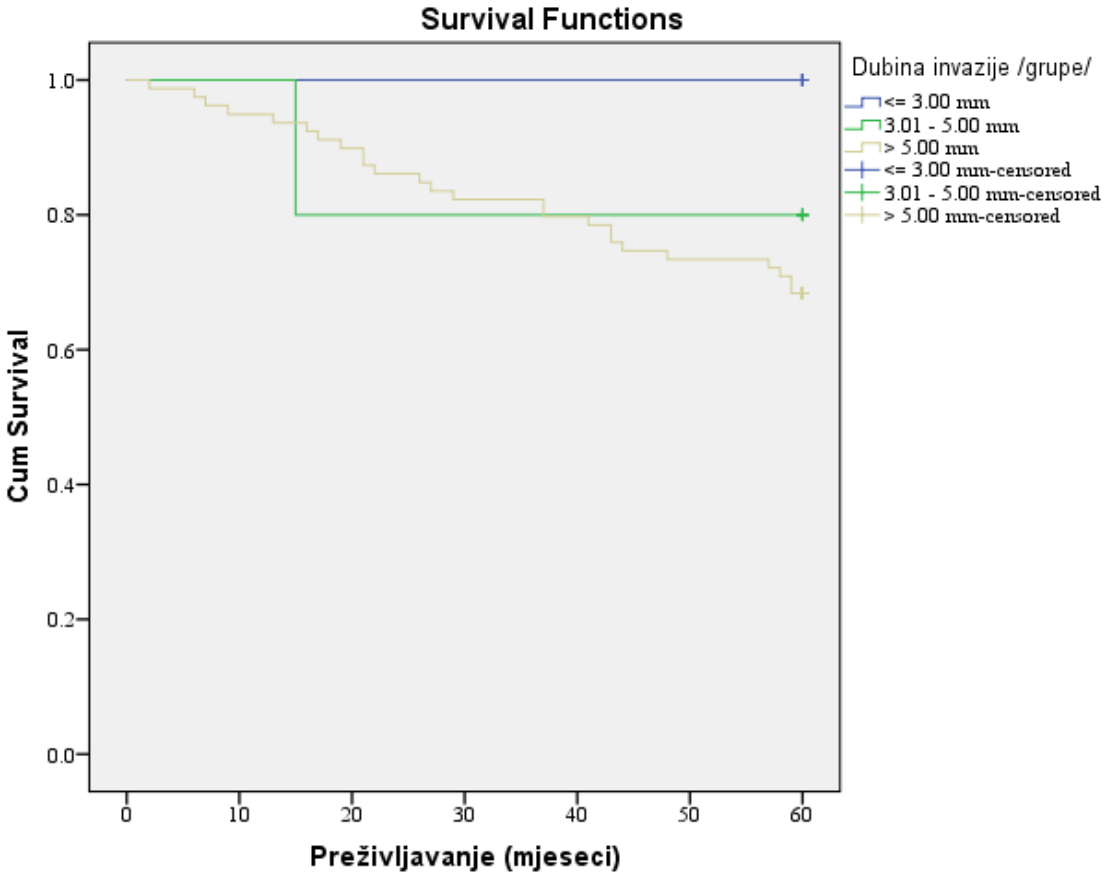
Dubina invazije /grupe/		Preživljavanje Da	Preživljavanje Ne	Ukupno
<= 3.00 mm	N	**5**	**0**	**5**
	%	100.0%	0.0%	5.6%
		7.9%	0.0%	
3.01 - 5.00 mm	N	**4**	**1**	**5**
	%	80.0%	20.0%	5.6%
		6.3%	3.8%	
> 5.00 mm	N	**54**	**25**	**79**
	%	68.4%	31.6%	88.8%
		85.7%	96.2%	
Ukupno	N	**63**	**26**	**89**
		70.8%	29.2%	100.0%

Primjenom χ^2 testa uz korekciju prema Yates-u nije dobijena statistički značajna razlika (χ^2 = 1.101, p = 0.294) dužine preživljavanja pacijentica u odnosu na dubinu invazije /grupe/.

Nije dobijena statistički značajna razlika u pogledu dubine invazije strome tumorskim ćelijama i preživljavanja pacijentica oboljelih od CC (Log Rank test = 2.059; p = 0.357). Pacijentice kod kojih je dubina invazije <= 3 mm nisu imale statistički značajno lošije preživljavanje, u odnosu na pacijentice kod kojih je dubina invazije 3.01 do 5 mm (Log Rank test = 1.000; p = 0.317), a ni u odnosu na pacijente kod kojih je dubina invazije > 5mm (Log Rank test = 1.892; p = 0.169).

Takođe, nije nađena statistički značajna razlika u preživljavanju pacijentica kod kojih je dubina invazije 3.01 do 5 mm i kod kojih je dubina invazije > 5 mm (Log Rank test=0.203; p=0.652).

Na slici 21. prikazane su Kaplan-Meier-ove krive dužine preživljavanja pacijentica u odnosu na dubinu invazije strome grliča materice.



Slika 21. Kaplan-Meier-ova kriva dužine preživljavanja pacijentica u odnosu na dubinu invazije strome grlića materice.

Pacijentice koje nisu preživjele, u prosjeku su živjele 29.85 mjeseci. Pacijentice kod kojih je registrovana dubina invazije od 3.01 do 5 mm su imale kraće preživljavanje (15 mjeseci), a jedna pacijentica je umrla tokom perioda praćenja, u odnosu na pacijentice kod kojih je registrovana dubina invazije preko 5 mm koje su imale prosječno preživljavanje 30.44 mjeseca.

Medijana preživljavanja za sve pacijentice koje nisu preživjele je 26 mjeseci. Grupa pacijentica kod kojih je registrovana dubina invazije preko 5 mm je imala medijanu 27.00

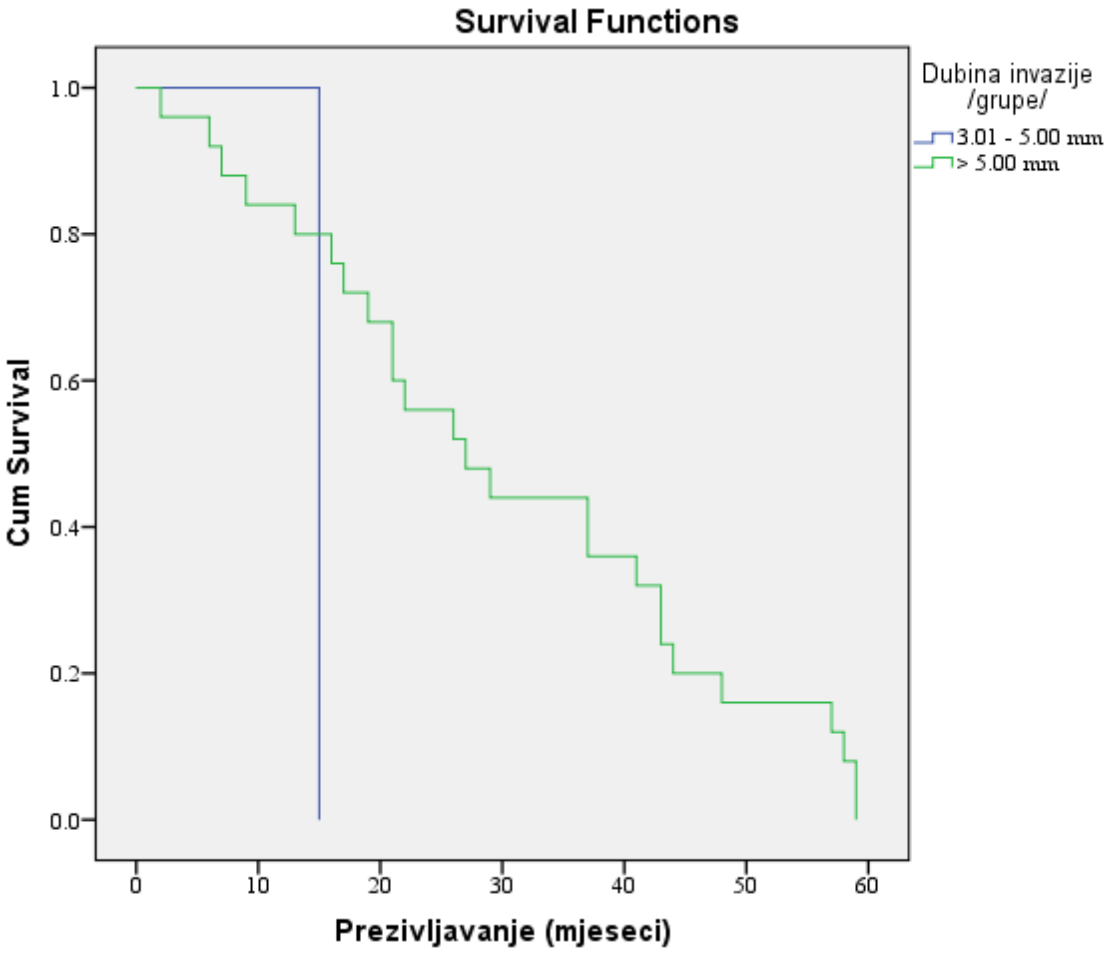
mjeseci, a grupa pacijentica kod kojih je registrovana dubina invazije od 3.01 do 5 mm je imala medijanu 15.00 mjeseca (tabela 22).

Tabela 22. Prosječna dužina preživljavanja i medijana preživljavanja pacijentica koje nisu preživjele u odnosu na dubinu invazije

Dubina invazije /grupe/	Mean				Medijana			
	Prosječna vrijednost	Standardna greška	95% Interval povjerenja		Medijana	Standardna greška	95% Interval povjerenja	
			Donja granica	Gornja granica			Donja granica	Gornja granica
3.01 - 5.00 mm	15.000	.000	15.000	15.000	15.000	.	.	.
> 5.00 mm	30.440	3.565	23.453	37.427	27.000	5.829	15.576	38.424
Ukupno	29.846	3.476	23.033	36.659	26.000	5.099	16.006	35.994

Pacijentice koje nisu preživjele do kraja studije, a kod kojih je registrovana dubina invazije od 3.01 do 5 mm nisu imale statistički značajno lošije preživljavanje (Log Rank test = 2.249; p = 0.134) u odnosu na pacijentice sa dubina invazije preko 5 mm.

Na slici 22. prikazane su Kaplan-Meier-ove krive dužine preživljavanja pacijentica koje nisu dočekale kraj studije, u odnosu na dubinu invazije strome grlića materice.



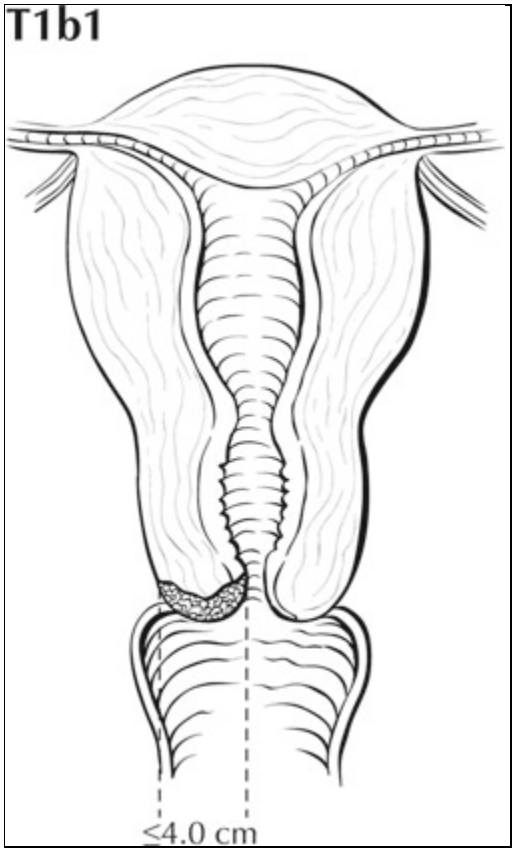
Slika 22. Kaplan-Meier-ova kriva dužine preživljavanja pacijentica koje su umrle tokom perioda praćenja u odnosu na invazije strome grlića materice.

4.2.5. FIGO stadijum CC i uticaj na preživljavanje pacijentica.

Analiza pacijentica prema stadijumu bolesti po FIGO klasifikaciji je prikazana u tabeli 23. Analizom je utvrđeno da su operisane pacijentice imale malignu bolest grlića materice najčešće u stadijumu FIGO IB1. U stadijumu FIGO IB1 je bilo 54 (53,5%) pacijentice (slika 23).

Tabela 23. Prikaz stadijuma CC po FIGO klasifikaciji u analiziranom materijalu.

FIGO stadijum tumora	N	%
IA1	1	1.0
IA2	3	3.0
IB1	54	53.5
IB2	5	5.0
IIA1	4	4.0
IIA2	8	7.9
IIB	11	10.9
IIIB	14	13.9
IVA	1	1.0
Ukupno	101	100.0



Slika 23. Grafički prikaz najčešćeg stadijuma CC u našem istraživanju (pT1b1; FIGO IB1) [12].

Analizirali smo uticaj stadijuma bolesti na preživljavanje pacijentica. Vidljivo je u tabeli 24 da pacijentice u višem stadijumu bolesti imaju lošiju prognozu (stepen preživljavanja). Primjenom Kruskal Wallis-ovog testa dobijena je statistički značajna razlika ($\chi^2 = 8.144$, $p = 0.017$) dužine preživljavanja pacijentica u odnosu na FIGO stadijum tumora.

Dodatnom primjenom Mann-Whitney-evog testa nije dobijena statistički značajna razlika (z = -0.222, p = 0.824) testirajući dužinu preživljavanja pacijentica kod kojih je evidentiran Figo I stadijum tumora /grupe/ (N = 57, Md = 76) u odnosu na pacijentice sa Figo II stadijum tumora /grupe/ (N = 19, Md = 82).

Testirajući dužinu preživljavanja pacijentica kod kojih je evidentiran Figo I stadijum tumora /grupe/ (N = 57, Md = 76) u odnosu na pacijentice sa Figo III i IV stadijumima tumora /grupe/ (N = 13, Md = 22) dobijena je visoko statistički značajna razlika (z = -2.820, p = 0.005) dužine preživljavanja pacijentica, dok je pri testiranju dužine preživljavanja pacijentica kod kojih je evidentiran Figo II stadijum tumora /grupe/ (N = 19, Md = 82) u odnosu na pacijentice sa Figo III i IV stadijumima tumora /grupe/ (N = 13, Md = 22) dobijena statistički značajna razlika (z = -2.245, p = 0.025) dužine preživljavanja pacijentica.

Izvršili smo testiranje i pojedinačnig FIGO stadijuma bolesti i njihov uticaj na preživljavanje pacijentica.

Dobijena je visoko statistički značajna razlika (Log Rank test = 36.605; p = 0.000) testirajući vrste FIGO stadijuma tumora između pacijentica koje su preživjele i koje nisu.

Pacijentice kod kojih je FIGO stadijum tumora IIIB imale su visoko statistički značajno lošije preživljavanje (Log Rank test = 19.720; p = 0.000) u odnosu na pacijentice kod kojih je FIGO stadijum tumora IB1.

Testirajući pacijentice kod kojih je FIGO stadijum tumora IVA dobijeno je visoko statistički značajno lošije preživljavanje (Log Rank test = 23.258; p = 0.000) u odnosu na pacijentice kod kojih je FIGO stadijum tumora IB1.

Visoko statistički značajno lošije preživljavanje (Log Rank test = 7.725; p = 0.005) dobijeno je kod pacijentica kod kojih je FIGO stadijum tumora IIIB u odnosu na pacijentice kod kojih je FIGO stadijum tumora IIB.

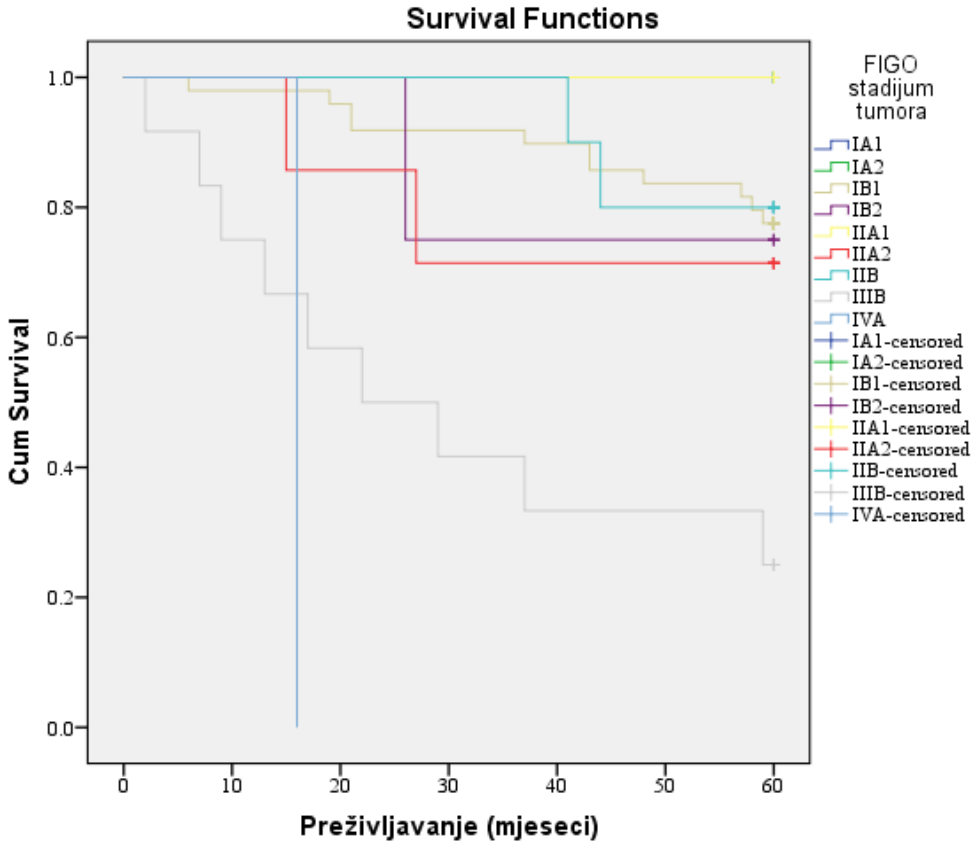
Takođe je visoko statistički značajno lošije preživljavanje (Log Rank test = 10.000; p=0.002) pacijentice kod koje je FIGO stadijum tumora IVA u odnosu na pacijentice kod kojih je FIGO stadijum IIB.

Statistički značajno lošije preživljavanje (Log Rank test = 4.000; p = 0.046) dobijeno je kod pacijentice kod koje je FIGO stadijum tumora IVA u odnosu na pacijentice kod kojih je FIGO stadijum tumora IB2.

U ostalim slučajevima nije dobijena statistički značajna razlika.

Na slici 24 predstavljene su Kaplan-Meier-ove krive dužine preživljavanja pacijentica sa CC u odnosu na FIGO stadijum tumora.

Možemo konstatovati da su pacjentice kod kojih je dijagnostikovan tumor u odmaklom stadijumu bolesti imale lošiju prognozu i kraće su živjele u odnosu na pacijentice kod kojih je CC dijagnostikovan u ranim stadijima bolesti.



Slika 24. Kaplan-Meier-ova kriva dužine preživljavanja pacijentica u odnosu na FIGO stadijum tumora.

Pacijentice koje nisu preživjele do kraja studije i kod kojih je registrovan FIGO stadijum tumora IV4 su imale prosječno najkraće preživljavanje (16 mjeseci).

Prosječno preživljavanje pacijentica koje nisu preživjele i kod kojih je registrovan FIGO stadijum tumora IIA2 je 21 mjesec, a kod registrovanog FIGO stadijum tumora IIIB je 21.67, IB2 je 26, IB1 37.46, te kod IIB je 42.5 mjeseci.

Grupa pacijentica kod kojih je registrovana FIGO stadijum tumora IB1 je imala medijanu 43.00 mjeseci, a grupa pacijentica kod kojih je FIGO stadijum tumora IIB je 41 mjesec, a kod registrovanog FIGO stadijum tumora IB2 je 26, IIIB je 17, IVA 16, te kod IIA2 je 15 mjeseci (tabela 24).

Tabela 24. Prosječna dužina preživljavanja i medijana preživljavanja pacijentica koje nisu preživjele do kraja studije u odnosu na FIGO stadijum tumora

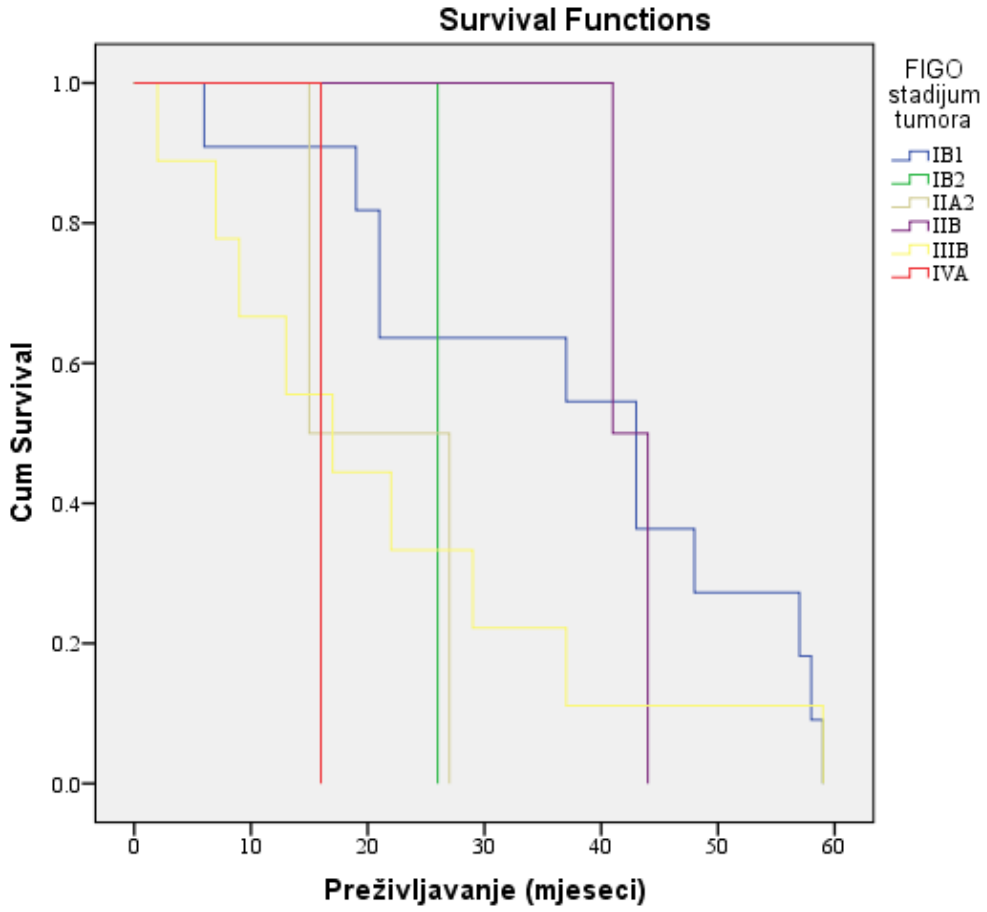
FIGO stadijum tumora	Prosječna dužina preživljavanja[a]				Medijana			
	Prosječna vrijednost	Standardna greška	95% Interval povjerenja		Medijana	Standardna greška	95% Interval povjerenja	
			Donja granica	Gornja granica			Donja granica	Gornja granica
IB1	37.455	5.488	26.699	48.211	43.000	11.700	20.068	65.932
IB2	26.000	.000	26.000	26.000	26.000	.	.	.
IIA2	21.000	6.000	9.240	32.760	15.000	.	.	.
IIB	42.500	1.500	39.560	45.440	41.000	.	.	.
IIIB	21.667	5.942	10.021	33.313	17.000	5.963	5.313	28.687
IVA	16.000	.000	16.000	16.000	16.000	.	.	.
Ukupno	29.846	3.476	23.033	36.659	26.000	5.099	16.006	35.994

Pacijentice koje nisu preživjele i kod kojih su registrovani različiti FIGO stadiji tumora nisu imale statistički značajno različitu dužinu preživljavanje (Log Rank test = 5.392; p = 0.370).

Testirajući pacijentice kod kojih je FIGO stadijum tumora IVA dobijeno je visoko statistički značajno lošije preživljavanje (Log Rank test = 4.288; p = 0.038) u odnosu na pacijentice kod kojih je FIGO stadijum tumora IB1.

U ostalim slučajevima nije dobijena statistički značajna razlika.

Na slici 25. prikazane su Kaplan-Meier-ove krive dužine preživljavanja pacijentica koje nisu doživjele kraj studije, u odnosu na FIGO stadijum tumora.



Slika 25. Kaplan-Meier-ove krive dužine preživljavanja pacijentica koje nisu doživjele kraj studije, u odnosu na FIGO stadijum tumora.

Pacijentice smo grupisali prema FIGO klasifikaciji u četiri kategorije FIGO I - FIGO IV. S obzirom da je mali broj pacijentica bio u stadijumu FIGO III i FIGO IV, te dvije kategorije smo spojili u jednu FIGO stadijum III i IV.

Kod najvećeg broja pacijentica, njih 57 (64% slučajeva) registrovan je FIGO – stadij tumora I, od kojih većina preživjela (45 pacijentica ili 78.9% slučajeva). FIGO – stadij tumora II je evidentiran kod 19 pacijentica (21.3% slučajeva), od kojih je 15 pacijentica (78.9%) preživjelo. Najlošije preživljavanje su imale pacijentice kod kojih je registrovan FIGO – stadij tumora III i IV: od 13 (14.6%) pacijentica kod kojih je registrovan FIGO – stadij tumora III i IV samo su tri (23.1%) pacijentice preživjele (tabela 25).

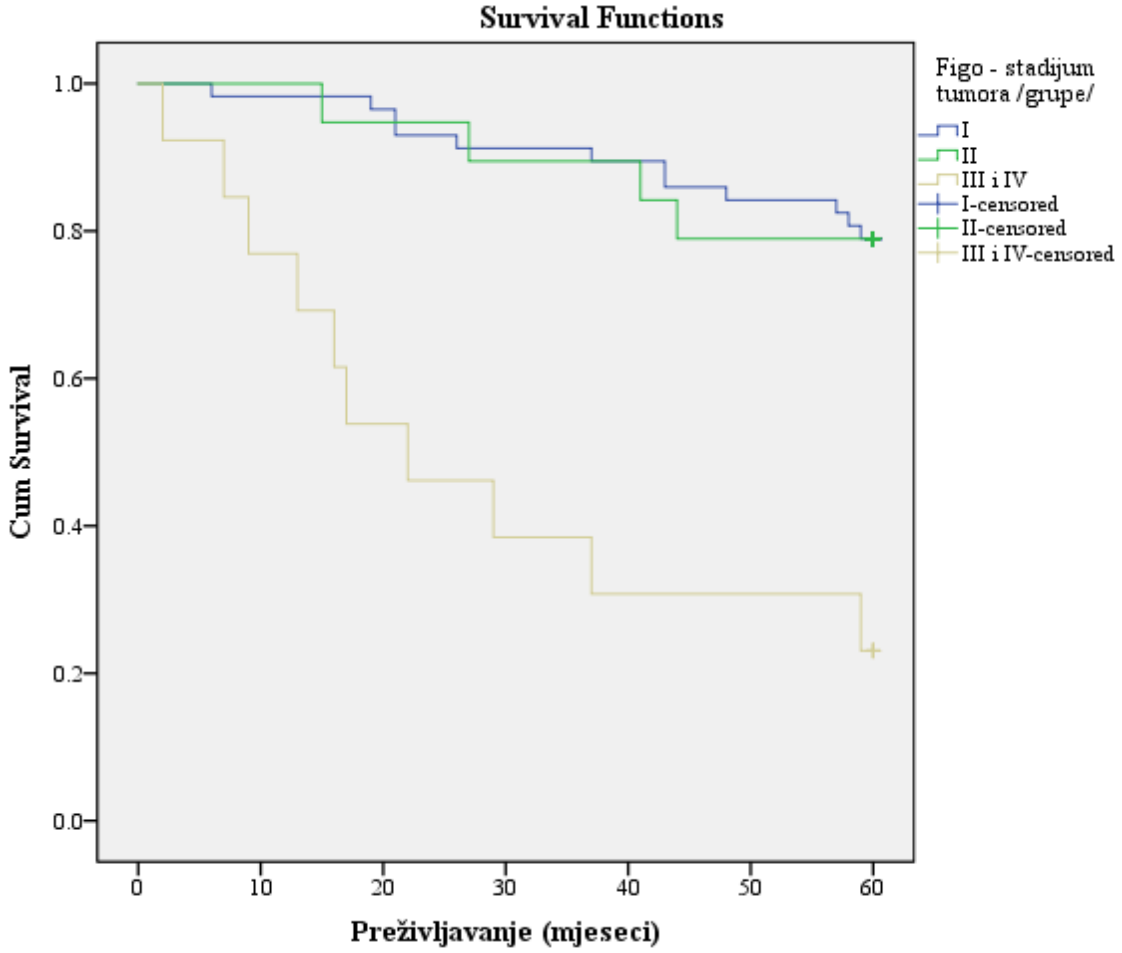
Tabela 25. Prikaz preživljavanja pacijentica oboljelih od CC u odnosu na FIGO stadijum bolesti.

Figo - stadijum tumora /grupe/		Preživljavanje		Ukupno
		Da	Ne	
I	N	**45**	**12**	**57**
	%	78.9%	21.1%	64.0%
		71.4%	46.2%	
II	N	**15**	**4**	**19**
	%	78.9%	21.1%	21.3%
		23.8%	15.4%	
III i IV	N	**3**	**10**	**13**
	%	23.1%	76.9%	14.6%
		4.8%	38.5%	
Ukupno	N	**63**	**26**	**89**
	%	70.8%	29.2%	100.0%

Dobijena je visoko statistički značajna razlika (Log Rank test = 30.004; p= 0.000) u FIGO – stadijumu tumora /grupe/ između pacijentica koje su preživjele i koje nisu.

Pacijentice kod kojih je registrovan FIGO – stadijum tumora i nisu imale statistički značajno duže preživljavanje (LogRank test=0.002; p = 0.968) u odnosu na pacijentice koje su imale FIGO – stadijum tumora II, ali su imale visoko statistički značajno duže preživljavanje (LogRank test=26.087; p = 0.000) u odnosu na pacijentice koje su imale FIGO – stadijum tumora III i IV. Nađena je i visoko statistički značajna razlika (Log Rank test=12.366; p = 0.000) u preživljavanju pacijentica kod kojih je registrovan FIGO – stadijum tumora II u odnosu na pacijentice sa FIGO – stadijum tumora III i IV (pacijentice kod kojih je registrovan FIGO – stadijum tumora II su visoko statistički značajno duže živjele).

Na slici 26. predstavljena je Kaplan-Meier-ova kriva preživljavanja u odnosu na FIGO – stadijum tumora.



Slika 26. Kaplan-Meier-ova kriva preživljavanja u odnosu na FIGO – stadijum tumora.

Pacijentice kod kojih je registrovan FIGO – stadijum tumora I /grupe/ su prosječno najduže preživjele – 36.5 mjeseci, dok su pacijentice kod kojih je registrovan FIGO – stadijum tumora II /grupe/ imale prosječno preživljavanje od 31.75 mjeseci. Prosječno najkraće vrijeme preživljavanje (21.1 mjesec) su imale pacijentice kod kojih je registrovan FIGO – stadijum tumora III i IV /grupe/.

Medijana kod pacijentica kod kojih je registrovan FIGO – stadijum tumora I /grupe/ su imale medijanu od 37, a pacijentice kod kojih je registrovan FIGO – stadijum tumora II /grupe/ 27, dok su pacijentice sa registrovanim FIGO – stadijum tumora III i IV /grupe/ imali najkraću medijanu – 16 mjeseci (tabela 26 i slika 27).

Tabela 26. Prosječna dužina preživljavanja i medijana preživljavanja pacijentica koje nisu preživjele u odnosu na FIGO – stadijum tumora

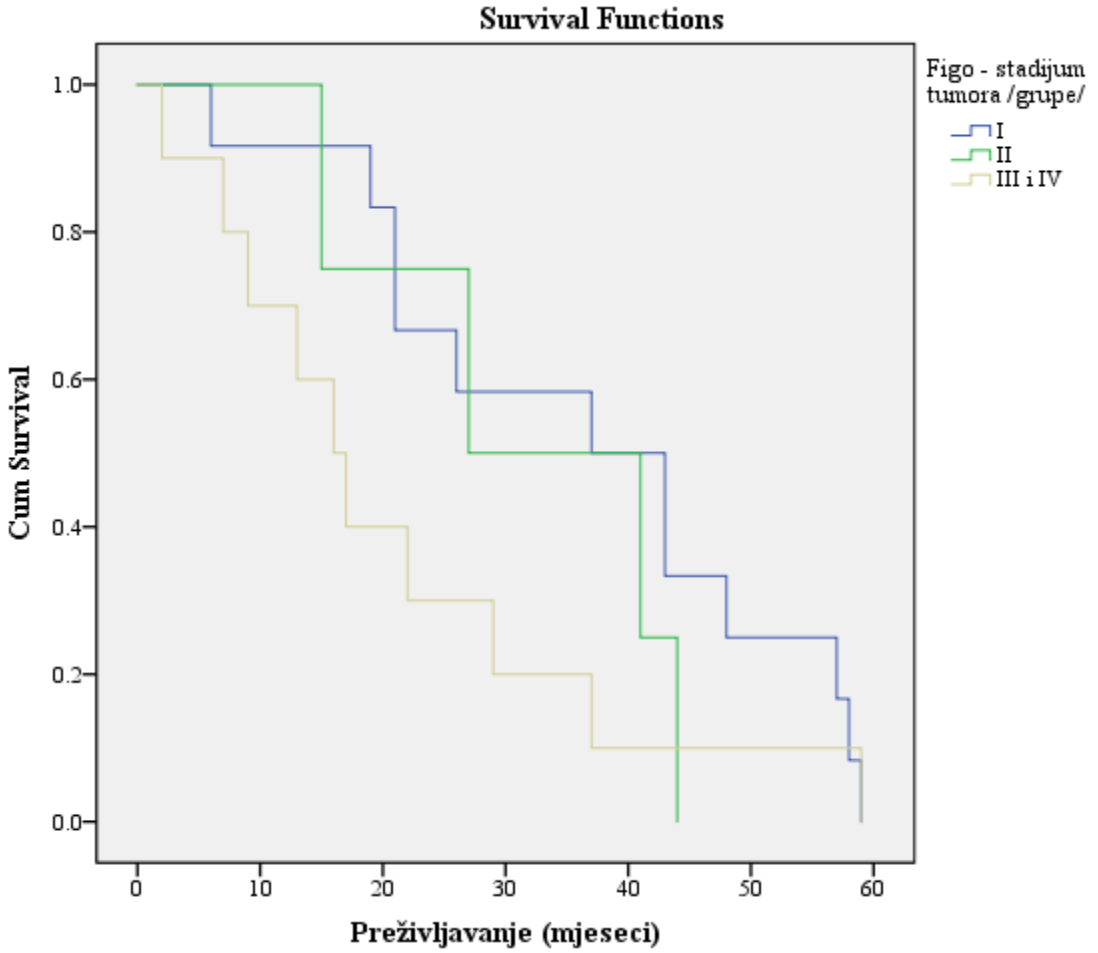
Figo - stadijum tumora /grupe/	Prosječna dužina preživljavanja				Medijana			
	Prosječna vrijednost	Standardna greška	95% Interval povjerenja		Medijana	Standardna greška	95% Interval povjerenja	
			Donja granica	Gornja granica			Donja granica	Gornja granica
I	36.500	5.100	26.504	46.496	37.000	9.815	17.763	56.237
II	31.750	6.700	18.617	44.883	27.000	13.000	1.520	52.480
III i IV	21.100	5.345	10.624	31.576	16.000	3.162	9.802	22.198
Ukupno	29.846	3.476	23.033	36.659	26.000	5.099	16.006	35.994

Nije dobijena statistički značajna razlika (Log Rank test = 2.505; p= 0.286) u dužini preživljavanja pacijentica koje nisu preživjele u odnosu na FIGO – stadijum tumora /grupe/.

Poredeći međusobno FIGO stadije tumora /grupe/ nije postojala statistički značajna razlika u dužini preživljavanju umrlih pacijentica između:

- FIGO stadija tumora I i FIGO stadija tumora II (LogRank test=0.811; p = 0.368),
- FIGO stadija tumora I i FIGO stadija tumora III i IV (LogRank test=2.182; p = 0.140) i
- FIGO stadija tumora II i FIGO stadija tumora III i IV (LogRank test=0.642; p = 0.423).

Na slici 27. prikazane su Kaplan-Meier-ove krive preživljavanja umrlih pacijenata u odnosu na FIGO – stadijum tumora.



Slika 27. Kaplan-Meier-ove krive preživljavanja umrlih pacijenata u odnosu na FIGO – stadijum tumora.

4.2.6. pTNM stadijum bolesti CC i uticaj na preživljavanje pacijentica

Analiza pacijentica prema stadijumu bolesti po pTNM klasifikaciji je prikazana u tabeli 27. Analizom je utvrđeno da su operisane pacijentice imale malignu bolest grlića materice najčešće u stadijumu pT1b1N0Mx kod 36 pacijentica ili u 35,6% slučajeva (slika 23).

Tabela 27. Prikaz stadijuma CC po pTNM klasifikaciji u analiziranom materijalu.

pTNM stadijum tumora	N	%
pT1a1N0Mx	2	2.0
pT1a2N0Mx	2	2.0
pT1b1N0Mx	36	35.6
pT1b1N1Mx	13	12.9
pT1b1NxMx	6	5.9
pT1b2N0Mx	5	5.0
pT1b2N1Mx	1	1.0
pT2a1N0Mx	4	4.0
pT2a1N1Mx	2	2.0
pT2a2N0Mx	4	4.0
pT2a2N1Mx	6	5.9
pT2bN0Mx	8	7.9
pT2bN1Mx	10	9.9
pT3bNxMx	1	1.0
pT4aNxMx	1	1.0
Ukupno	101	100.0

Analizirali smo uticaj stadijuma bolesti na preživljavanje pacijentica. Vidljivo je u tabeli 28 da pacijentice u višem stadijumu bolesti imaju lošiju prognozu (stepen preživljavanja). Kod po dvije pacijentice kod kojih je evidentiran pT1a1N0Mx ili pT1a2N0Mx ili pT2a1N0Mx stadijum tumora i kod tri pacijentice kod kojih je evidentiran pT2a2N0Mx stadijum tumora su preživjele. Od 35 (39.3%) pacijentica kojima je evidentiran pT1b1N0Mx stadijum tumora njih 28 (80%) je preživjelo, a sedam (20%) nije. Sedam od 10 pacijentica kod kojih je evidentiran pT1b1N1Mx stadijum tumora, četiri od pet pacijentica sa stadijumom tumora pT1b1NxMx, tri od četiri sa stadijumom tumora pT1b2N0Mx, dvije od šest sa stadijumom tumora pT2a2N1Mx, šest od osam sa stadijumom tumora pT2bN0Mx, i četiri od devet sa stadijumom tumora pT2bN1Mx su preživjele. Po jedna od pacijentica sa stadijumom tumora pT2a1N1Mx ili pT3bNxMx ili pT4aNxMx nisu preživjele (tabela 28).

Tabela 28. Prikaz uticaja pTNM stadijuma CC i preživljavanja pacijentica.

pTNM stadijum tumora i preživljavanje		Preživljavanje Da	Preživljavanje Ne	Ukupno
pT1a1N0Mx	N	2	0	2
	%	100.0%	0.0%	2.2%
		3.2%	0.0%	
pT1a2N0Mx	N	2	0	2
	%	100.0%	0.0%	2.2%
		3.2%	0.0%	
pT1b1N0Mx	N	28	7	35
	%	80.0%	20.0%	39.3%
		44.4%	26.9%	
pT1b1N1Mx	N	7	3	10
	%	70.0%	30.0%	11.2%
		11.1%	11.5%	
pT1b1NxMx	N	4	1	5
	%	80.0%	20.0%	5.6%
		6.3%	3.8%	
pT1b2N0Mx	N	3	1	4
	%	75.0%	25.0%	4.5%
		4.8%	3.8%	
pT2a1N0Mx	N	2	0	2
	%	100.0%	0.0%	2.2%
		3.2%	0.0%	
pT2a1N1Mx	N	0	1	1
	%	0.0%	100.0%	1.1%
		0.0%	3.8%	
pT2a2N0Mx	N	3	0	3
	%	100.0%	0.0%	3.4%
		4.8%	0.0%	
pT2a2N1Mx	N	2	4	6
	%	33.3%	66.7%	6.7%
		3.2	15.4	

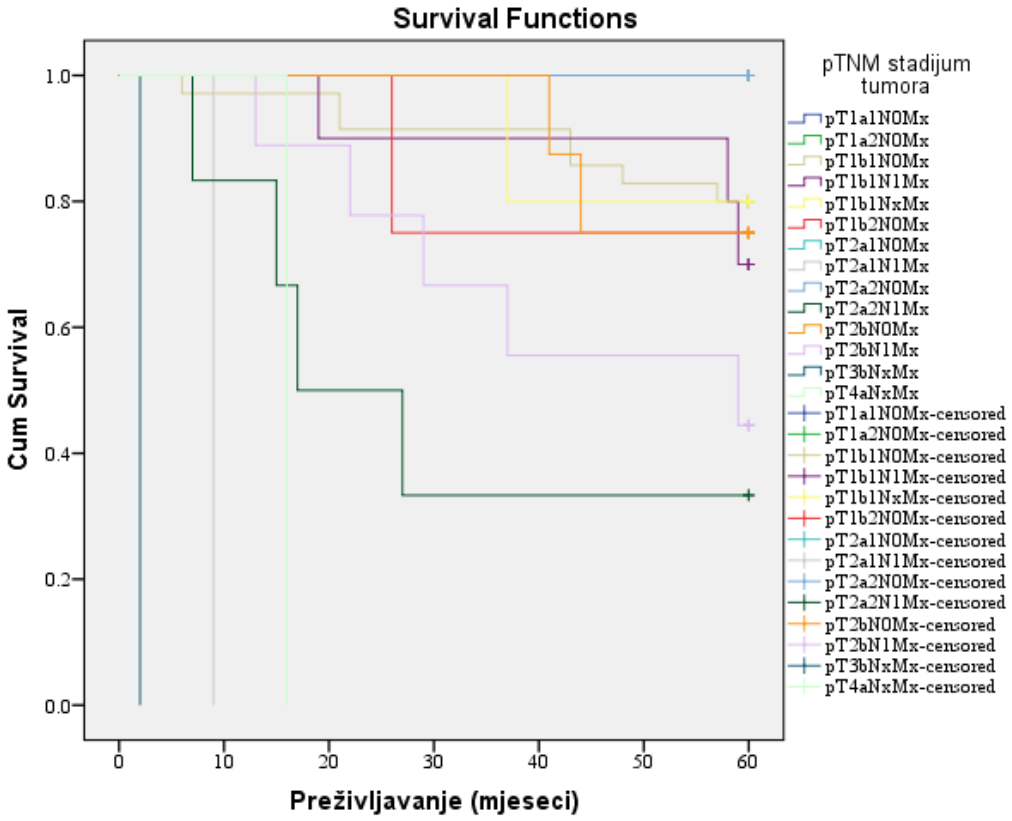
pT2bN0Mx	N	6	2	8
	%	75.0 %	25.0 %	9.0%
		9.5 %	7.7 %	
pT2bN1Mx	N	4	5	9
	%	44.4 %	55.6 %	10.1%
		6.3 %	19.2 %	
pT3bNxMx	N	0	1	1
	%	0.0 %	100. 0%	1.1%
		0.0 %	3.8 %	
pT4aNxMx	N	0	1	1
	%	0.0 %	100. 0%	1.1%
		0.0 %	3.8 %	
Ukupno	N	63	26	89
	%	70.8 %	29.2 %	100.0%

Dobijena je visoko statistički značajna razlika (Log Rank test = 136.431; p= 0.000) testirajući vrste pTNM stadijuma tumora između pacijentica koje su preživjele i koje nisu. Visoko statistički značajno se razlikuje preživljavanje između pacijentica koje su imale sljedeće vrste pTNM stadijuma tumora: pT1b1N0Mx i pT2a1N1Mx (Log Rank test = 16.261, p = 0.000); pT1b1N1Mx i pT2a1N1Mx (Log Rank test = 10.000, p = 0.002); pT1b1N0Mx i pT2a2N1Mx (Log Rank test = 9.765, p = 0.002); pT1b1N0Mx i pT3bNxMx (Log Rank test = 35.000, p = 0.000); pT1b1N1Mx i pT3bNxMx (Log Rank test = 10.000, p = 0.002); pT1b1N0Mx i pT4aNxMx (Log Rank test = 16.261, p = 0.000); pT1b1N1Mx i pT4aNxMx (Log Rank test = 10.000, p = 0.002); pT2a1N1Mx i pT2bN1Mx (Log Rank test = 9.000, p = 0.003); pT2bN0Mx i pT2a1N1Mx (Log Rank test = 8.000, p = 0.005); pT2bN0Mx i pT3bNxMx (Log Rank test = 8.000, p = 0.005); pT2bN1Mx i pT3bNxMx (Log Rank test = 9.000, p = 0.003) i pT2bN0Mx i pT4aNxMx (Log Rank test = 8.000, p = 0.005), a statistički značajno se razlikuje preživljavanje između pacijentica koje su imale sljedeće vrste pTNM stadijuma tumora: pT1b1N0Mx i pT2bN1Mx (Log Rank test = 5.223, p = 0.022); pT1b1NxMx i pT2a1N1Mx (Log Rank test = 5.000, p = 0.025); pT1b2N0Mx i pT2a1N1Mx (Log Rank test = 4.000, p = 0.046);

pT1b1NxMx i pT3bNxMx (Log Rank test = 5.000, p = 0.025); pT1b2N0Mx i pT3bNxMx (Log Rank test = 4.000, p = 0.046); pT1b2N0Mx i pT4aNxMx (Log Rank test = 4.000, p = 0.046); pT2a1N1Mx i pT1b1N0Mx (Log Rank test = 16.261, p = 0.046); pT2a2N1Mx i pT3bNxMx (Log Rank test = 6.000, p = 0.014) i pT1b1NxMx i pT4aNxMx (Log Rank test = 5.000, p = 0.025).

U ostalim slučajevima nije dobijena statistički značajna razlika.
Možemo ovdje zaključiti da je patološki stadijum bolesti (pTNM) značajan prognostički parameter i utiče na preživljavanje pacijentica sa CC.

Na slici 28 predstavljene su Kaplan-Meier-ova krive dužine preživljavanja pacijentica u odnosu na pTNM stadijum tumora.



Slika 28. Kaplan-Meier-ova krive dužine preživljavanja pacijentica u odnosu na pTNM stadijum tumora.

Pacijentice koje nisu dočekale kraj studije (preživjele) i kod kojih je registrovan pT3bNxMx stadijum tumora su imale prosječno najkraće preživljavanje (dva mjeseca).

Prosječno preživljavanje pacijentica koje nisu preživjele i kod kojih je registrovan pT2a1N1Mx stadijum tumora je devet mjeseci, a kod registrovanog pT4aNxMx stadijum tumora je 16, pT2a2N1Mx je 16.5, pT1b2N0Mx 26, pT2bN1Mx 32, pT1b1N0Mx 34.14, pT1b1NxMx 37, pT2bN0Mx 42.5, te kod pT1b1N1Mx je 45.33 mjeseci.

Grupa pacijentica kod kojih je registrovana pT3bNxMx stadijum tumora je imala medijanu dva mjeseca, a grupa pacijentica kod kojih je pT2a1N1Mx stadijum tumora je devet mjeseci, a kod registrovanog pT2a2N1Mx stadijum tumora je 15, pT4aNxMx je 16, pT1b2N0Mx 26, pT2bN1Mx 29, pT1b1NxMx 37, pT2bN0Mx 41, pT1b1N0Mx 43, te kod pT1b1N1Mx je 58 mjeseci (tabela 29 i slika 29).

Tabela 29. Prosječna dužina preživljavanja i medijana preživljavanja pacijentica koje nisu preživjele u odnosu na pTNM stadijum tumora

pTNM stadijum tumora	Prosječna dužina preživljavanja[a]				Medijana			
	PV	SG	95% Interval povjerenja		M	SG	95% Interval povjerenja	
			DG	GG			DG	GG
pT1b1N0Mx	34.143	6.916	20.588	47.698	43.000	13.148	17.231	68.769
pT1b1N1Mx	45.333	13.170	19.520	71.146	58.000	31.843	.000	120.413
pT1b1NxMx	37.000	.000	37.000	37.000	37.000	.	.	.
pT1b2N0Mx	26.000	.000	26.000	26.000	26.000	.	.	.
pT2a1N1Mx	9.000	.000	9.000	9.000	9.000	.	.	.
pT2a2N1Mx	16.500	4.113	8.439	24.561	15.000	5.000	5.200	24.800
pT2bN0Mx	42.500	1.500	39.560	45.440	41.000	.	.	.
pT2bN1Mx	32.000	7.823	16.667	47.333	29.000	7.668	13.970	44.030
pT3bNxMx	2.000	.000	2.000	2.000	2.000	.	.	.
pT4aNxMx	16.000	.000	16.000	16.000	16.000	.	.	.
Ukupno	29.846	3.476	23.033	36.659	26.000	5.099	16.006	35.994

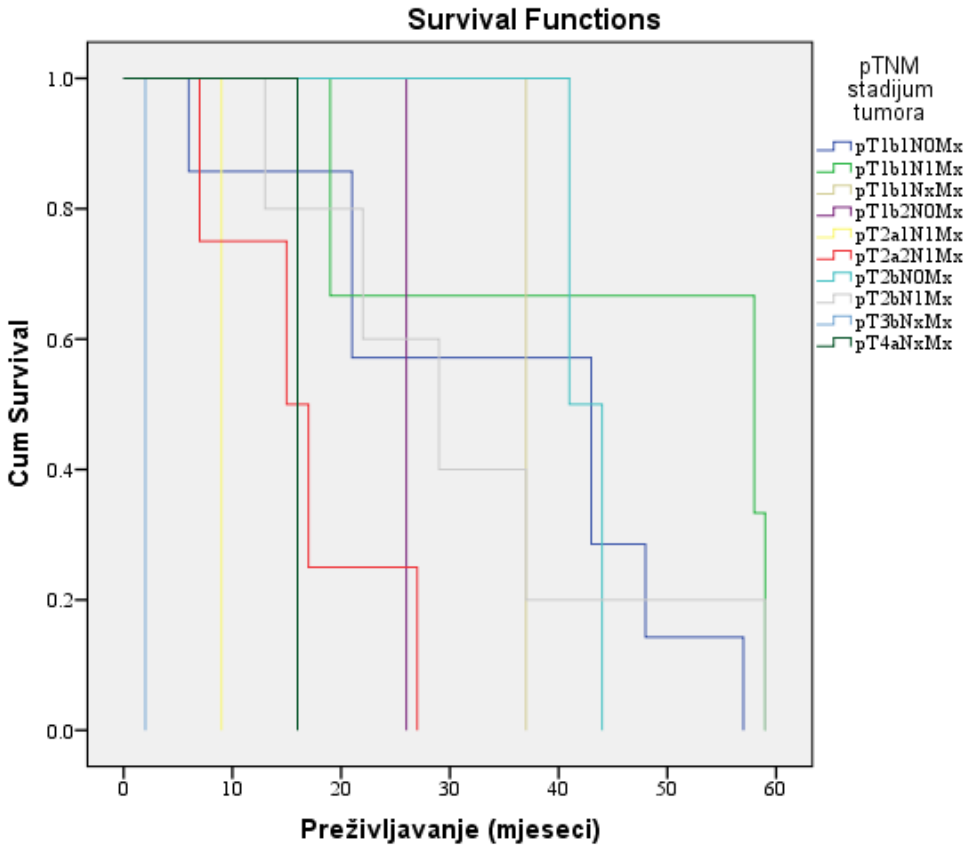
Pacijentice koje nisu dočekale kraj studje (nisu preživjele) i kod kojih su registrovani različiti pTMN stadij tumora imale su visoko statistički značajno različitu dužinu preživljavanja (Log Rank test = 40.620; p = 0.000.

Testirajući pacijentice kod kojih je pTNM stadijum tumora pT3bNxMx dobijeno je visoko statistički značajno lošije preživljavanje (Log Rank test = 7.000; p = 0.008) u odnosu na pacijentice kod kojih je pTNM stadijum tumora pT1b1N0Mx.

Statistički značajno lošije preživljavanje (Log Rank test = 5.000; p = 0.025) su imale pacijentice kod kojih je evidentiran pTNM stadij tumora pT2a1N1Mx u odnosu na pT2bN1Mx, kao i pacijentice kod kojih je evidentiran pTNM stadij tumora pT2a2N1Mx u odnosu na pT2bN0Mx (Log Rank test = 3.863; p = 0.049), te pacijentica kod kojih je evidentiran pTNM stadij tumora pT3bNxMx u odnosu na pT2bN1Mx (Log Rank test = 5.000; p = 0.025) i pacijentica kod kojih je evidentiran pTNM stadij tumora pT3bNxMx u odnosu na pT2a2N1Mx (Log Rank test = 4.000; p = 0.046).

U ostalim slučajevima nije dobijena statistički značajna razlika.

Na slici 29 prikazane su Kaplan-Meier-ove krive dužine preživljavanja pacijentica koje nisu dočekale kraj studije, u odnosu na pTNM stadijum tumora.



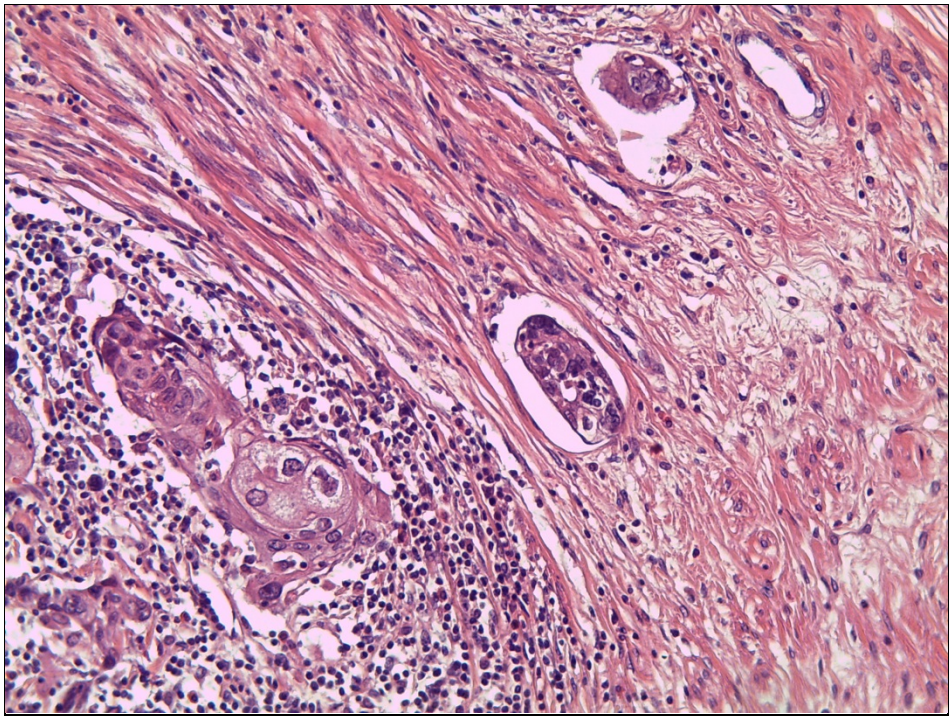
Slika 29. Kaplan-Meier-ove krive dužine preživljavanja pacijentica koje nisu dočekale kraj studije, u odnosu na pTNM stadijum tumora.

4.2.7. Invazija u limfne sudove i uticaj na preživljavanje pacijentica

U materijalima utvrđeno je prisustvo invazije limfnih sudova u 58 (57,4%) slučaja (tabela 30, slika 30).

Tabela 30. Prikaz invazije u limfne sudove u analiziranom materijalu.

Invazija u limfne sudove	N	%
Odsutna	43	42.6
Prisutna	58	57.4
Ukupno	101	100.0



Slika 30. Prisustvo ćelija skvamocelularnog karcinoma u dilatiranim limfnim sudovima cerviksa, HEx200.

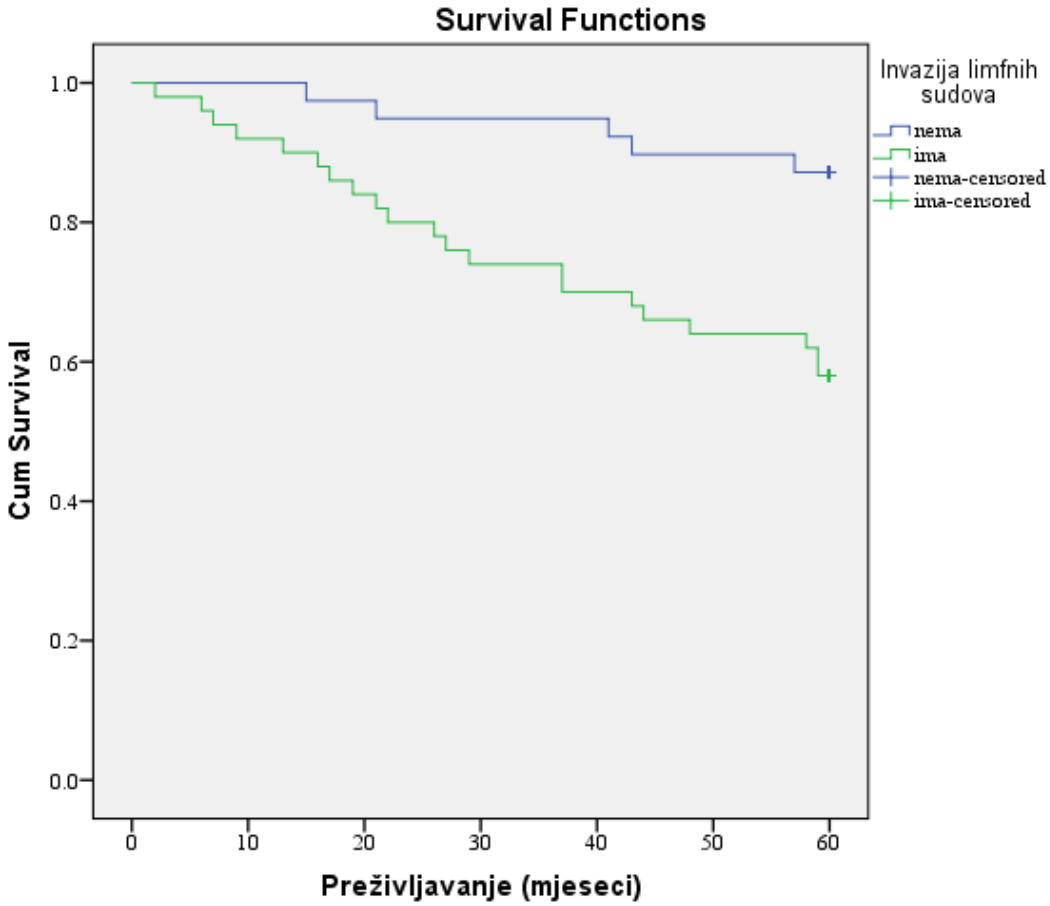
U analizi je utvrđeno da pacijentice kod kojih je verifikovana invazija limfnih sudova imaju lošiju prognozu, odnosno 80% pacijentica nije dočekalo kraj studije (tabela 31). Primjenom χ^2 testa uz korekciju prema Yates-u dobijena je visoko statistički značajna razlika ($\chi^2 = 7.665$, $p = 0.006$) invazije u limfne sudove i preživljavanja pacijentica.
Invaziju u limfne sudove je imalo 50 pacijentica od kojih je 29 (58%) preživjelo, a od 39 pacijentica koje nisu imale invaziju u limfne sudove 34 (87.2%) su preživjele (tabela 31).
Dobijena je visoko statistički značajna razlika (Log Rank test = 8.994; p= 0.003) testirajući invaziju limfnih sudova između pacijentica koje su preživjele i koje nisu.

Invazija u limfne sudove je značajan prognostički parametra za pacijentice oboljele od karcinoma cerviksa.

Tabela 31. Prikaz prisustva invazije u limfne sudove i preživljavanja pacijentica.

Invazija u limfne sudove		Preživljavanje Da	Preživljavanje Ne	Ukupno
Odsutna	N	**34**	**5**	**39**
	%	87.2%	12.8%	43.8%
		54.0%	19.2%	
Prisutna	N	**29**	**21**	**50**
	%	58.0%	42.0%	56.2%
		46.0%	80.8%	
Ukupno	N	**63**	**26**	**89**
	%	70.8%	29.2%	100.0%

Na slici 31 predstavljene su Kaplan-Meier-ova krive dužine preživljavanja pacijentica u odnosu na prisustvo invazije limfnih sudova.



Slika 31. Kaplan-Meier-ova krive dužine preživljavanja pacijentica u odnosu na prisustvo invazije limfnih sudova.

Pacijentice koje nisu dočekale kraj studije (nisu preživjele), a kod kojih nije bilo invazije limfnih sudova su imale prosječno duže preživljavanje (35.4 mjeseci). Prosječno preživljavanje pacijentica koje nisu preživjele i koje su imale invaziju limfnih sudova prosječno su živjele 28.52 mjeseca.

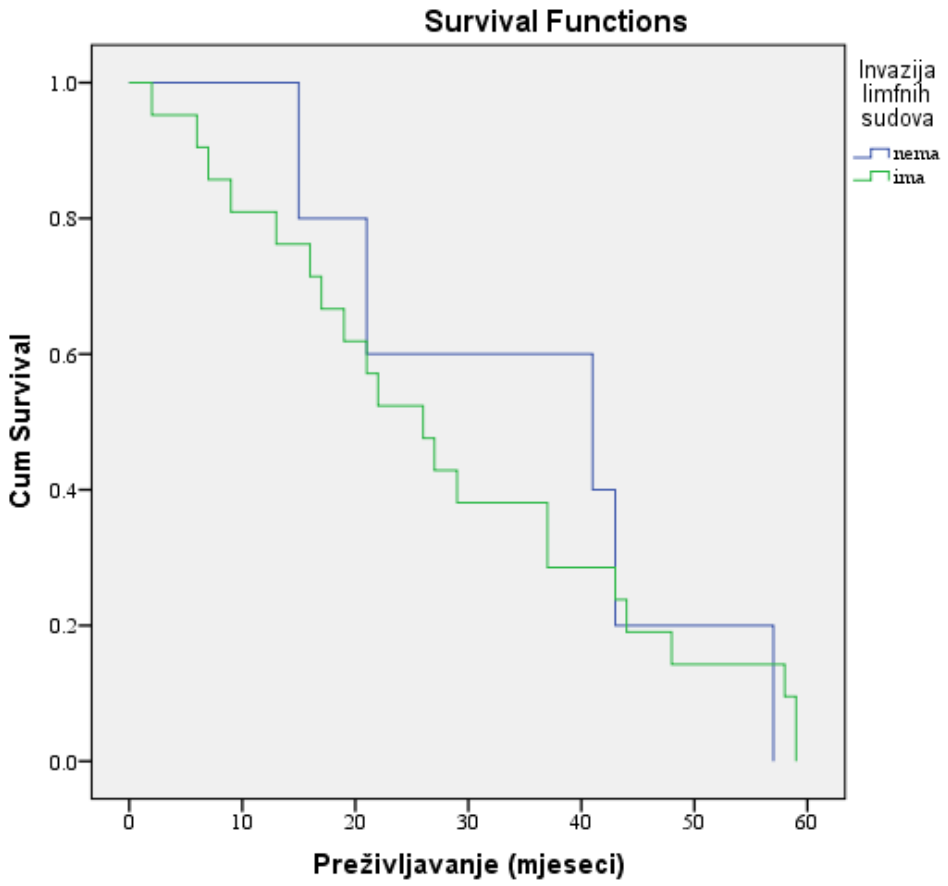
Grupa pacijentica koje nisu imale invaziju limfnih sudova je imala medijanu 41.00 mjesec, a grupa pacijentica kod kojih je bila invazija limfnih sudova medijana je 26 mjeseci (tabela 32).

Tabela 32. Prosječna dužina preživljavanja i medijana preživljavanja pacijentica koje nisu preživjele u odnosu na invaziju limfnih sudova

Invazija limfnih sudova	Prosječna dužina preživljavanja				Medijana			
	Prosječna vrijednost	Standardna greška	95% Interval povjerenja		Medijana	Standardna greška	95% Interval povjerenja	
			Donja granica	Gornja granica			Donja granica	Gornja granica
nema	35.400	7.679	20.350	50.450	41.000	21.909	.000	83.941
ima	28.524	3.929	20.823	36.224	26.000	4.577	17.028	34.972
Ukupno	29.846	3.476	23.033	36.659	26.000	5.099	16.006	35.994

Nije dobijena statistički značajna razlika (Log Rank test = 0.20; p= 0.889) u (ne)postojanju invazije limfnih sudova kod pacijentica koje nisu preživjele.

Na slici 32 prikazane su Kaplan-Meier-ove krive dužine preživljavanja pacijentica koje nisu dočekale kraj studije, u odnosu na prisustvo invazije limfnih sudova.



Slika 32. Kaplan-Meier-ove krive dužine preživljavanja pacijentica koje nisu dočekale kraj studije, u odnosu na prisustvo invazije limfnih sudova.

4.2.8. Invazija u krvne sudove i uticaj na preživljavanje pacijentica

U materijalima utvrđeno je prisustvo invazije krvnih sudova u 16 (15,8%) slučaja (tabela 33).

Tabela 33. Prikaz invazije u krvne sudove u analiziranom materijalu.

Invazija u krvne sudove	N	%
nema	84	83.2
ima	16	15.8
Ukupno	100	99.0
nedostajući podaci	1	1.0
Ukupno	101	100.0

Analiziran je uticaj prisustva invazije u krvne sudove na preživljavanje pacijentica oboljelih od karcinoma grlića materice. Utvrđena je statistički značajna razlika u preživljavanju pacijentica kod kojih je verifikovana invazija krvnih sudova, u odnosu na pacijentice kod kojih invazija nije bila prisutna (tabela 34). Primjenom χ^2 testa uz korekciju prema Yates-u dobijena je statistički značajna razlika ($\chi^2 = 5.223$, $p = 0.022$) invazije u krvne sudove i preživljavanja pacijentica.

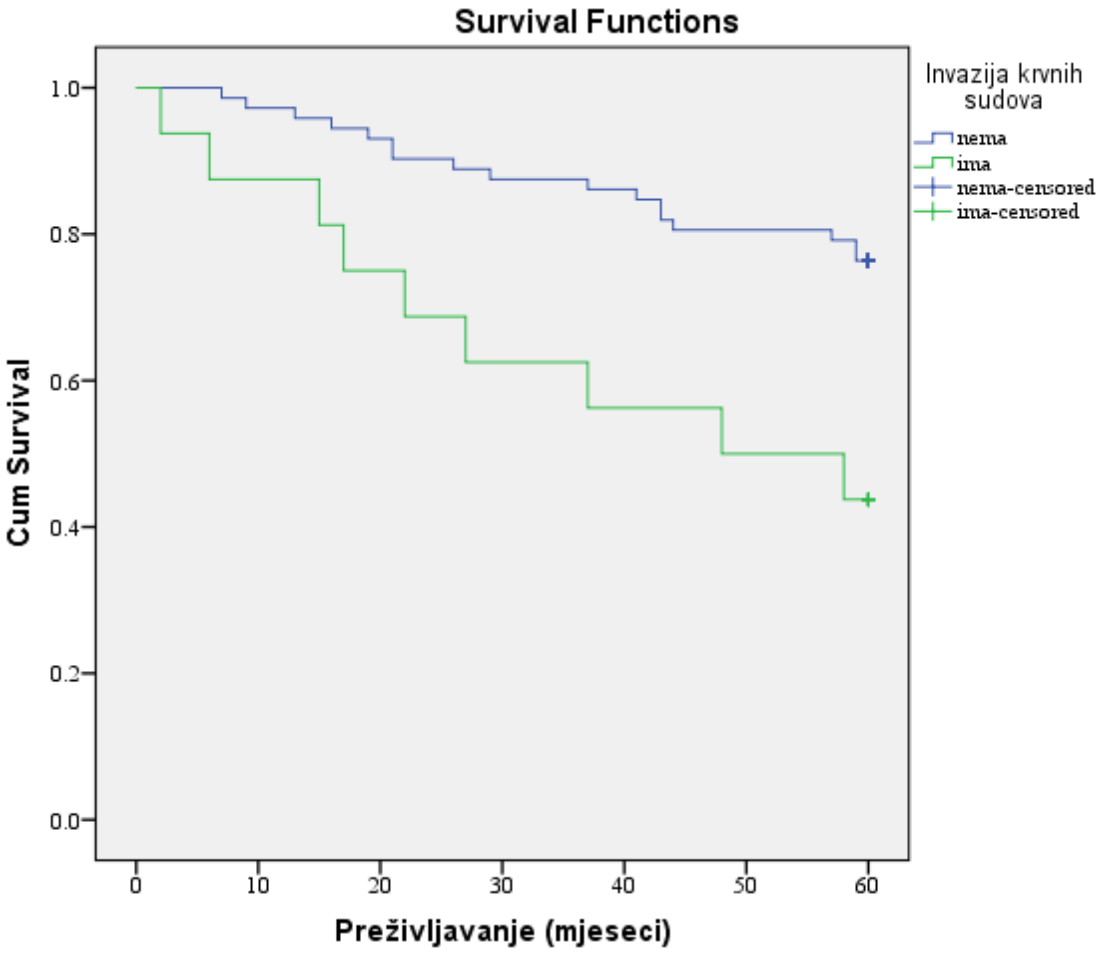
Dobijena je visoko statistički značajna razlika (Log Rank test = 8.598; p= 0.003) testirajući invaziju krvnih sudova između pacijentica koje su preživjele i koje nisu.

Može se zaključiti da prisustvo invazije u krvne sudove utiče na dužinu preživljavanja i negativan je prognostički faktor.

Tabela 34. Prikaz prisustva invazije u limfne sudove i preživljavanja pacijentica.

Invazija u krvne sudove		Preživljavanje		Ukupno
		Da	Ne	
Odsutna	N	**55**	**17**	**72**
	%	76.4%	23.6%	100.0%
		88.7%	65.4%	81.8%
Prisutna	N	**7**	**9**	**16**
	%	43.8%	56.2%	100.0%
		11.3%	34.6%	18.2%
Ukupno	N	**62**	**26**	**88**
	%	70.5%	29.5%	100.0%

Na slici 33 predstavljene su Kaplan-Meier-ove krive dužine preživljavanja pacijentica u odnosu na prisustvo invazije krvnih sudova.



Slika 33. Kaplan-Meier-ove krive dužine preživljavanja pacijentica u odnosu na prisustvo invazije krvnih sudova.

Pacijentice koje nisu dočekale kraj studije (nisu preživjele), a kod kojih nije bilo invazije krvnih sudova su imale prosječno duže preživljavanje (32 mjeseci). Prosječno preživljavanje pacijentica koje nisu preživjele i koje su imale invaziju krvnih sudova prosječno su živjele 25.78 mjeseci.

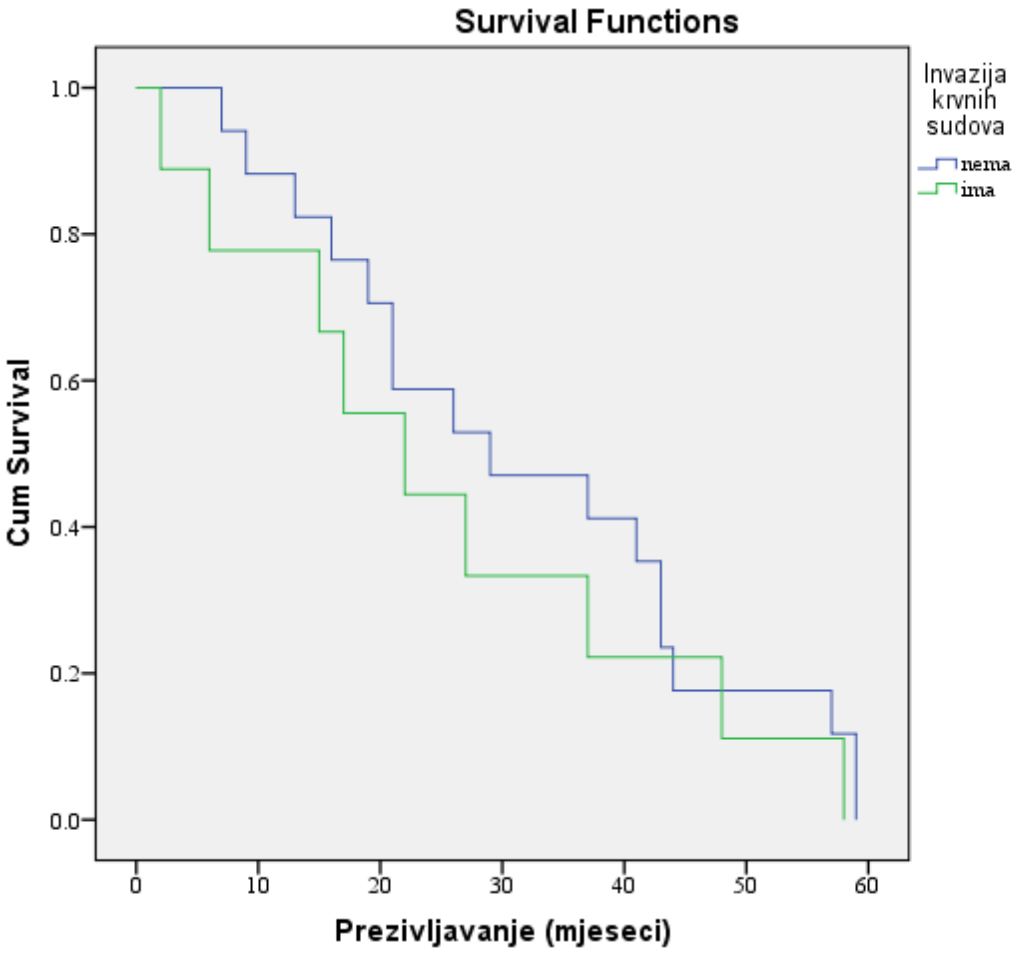
Grupa pacijentica koje nisu imale invaziju krvnih sudova je imala medijanu 29.00 mjeseci, a grupa pacijentica kod kojih je bila invazija krvnih sudova medijana je 22 mjeseca (tabela 35).

Tabela 35. Prosječna dužina preživljavanja i medijana preživljavanja pacijentica koje nisu preživjele u odnosu na invaziju krvnih sudova

Invazija krvnih sudova	Prosječna dužina preživljavanja				Medijana			
	Prosječna vrijednost	Standardna greška	95% Interval povjerenja		Medijana	Standardna greška	95% Interval povjerenja	
			Donja granica	Gornja granica			Donja granica	Gornja granica
nema	32.000	4.202	23.765	40.235	29.000	10.976	7.487	50.513
ima	25.778	6.262	13.504	38.052	22.000	7.454	7.391	36.609
Ukupno	29.846	3.476	23.033	36.659	26.000	5.099	16.006	35.994

Nije dobijena statistički značajna razlika (Log Rank test = 0.698; p= 0.403) u dužini preživljavanja pacijentica koje nisu dočekale kraj studije u odnosu na prisustvo invazije krvnih sudova.

Na slici 34 prikazane su Kaplan-Meier-ove krive dužine preživljavanja pacijentica koje nisu dočekale kraj studije, u odnosu na prisustvo invazije krvnih sudova.



Slika 34. Kaplan-Meier-ove krive dužine preživljavanja pacijentica koje nisu dočekale kraj studije, u odnosu na prisustvo invazije krvnih sudova.

4.2.9. Analiza regionalnih limfnih čvorova, prisustvo metastaza u limfne čvorove i uticaj na preživljavanje pacijentica

U ispitivanom materijalu regionalni limfni čvorovi su bili prisutni u analiziranom materijalu kod 97 (96,04%) pacijentica.

U četiri slučaja nije rađena limfonodektomija regionalnih limfnih čvorova (stadijum tumora je bio FIGO IB1, odnosno pT1b1 - mikroinvazivni karcinom grlića materice). U svim ostalim slučajevima rađena je ekstirpacija regionalnih limfnih čvorova.
Broj analiziranih limfnih čvorova se kretao od 0 do 56. Prosječan broj analiziranih limfnih čvorova je 25 (tabela 36).

Tabela 36. Prikaz ukupnog broja limfnih čvorova u analiziranom materijalu.

N	Minimum	Maximum	Median	Mean	Std. Deviation
97	0	56	25.00	25.97	11.660

Analiziran je uticaj broja hirurški odstranjenih limfnih čvorova na preživljavanje pacijentica oboljelih od karcinoma grlića materice. Utvrđeno je da je prosječno nešto veći broj limfnih čvorova kod pacijentica koje su preživjele i doživjele kraj studije (25,22) u odnosu na pacijentice koje su umrle u periodu praćenja (24,87) (tabela 37). Primjenom Independent Sample t testa nije dobijena statistički značajna razlika ($t = 0.123$, $p = 0.902$) ukupnog broja limfnih čvorova između pacijentica koje su preživjele i pacijentica koje nisu preživjele.

Možemo zaključiti da broj limfnih čvorova koji je odstranjen u operativnom materijalu sličan i kod pacijentica koje su preživjele tokom trajanja studije i koje nisu.

Tabela 37. Prikaz ukupnog broja analiziranih limfnih čvorova i njihov uticaj na preživljavanje pacijentica.

Preživljavanje	N	Minimum	Maximum	Median	Mean	Std. Deviation
Da	63	0	53	26.00	25.22	11.316
Ne	23	2	56	23.00	24.87	12.913
Ukupno	86	0	56	25.00	25.13	11.687

Analizirali smo uticaj broja metastatskih limfnh čvorova na ukupno preživljavanje pacijentica, a rezultati su prikazani na tabeli 38.

Tabela 38. Prikaz ukupnog broja metastatskih izmjenjenih limfnih čvorova i preživljavanja.

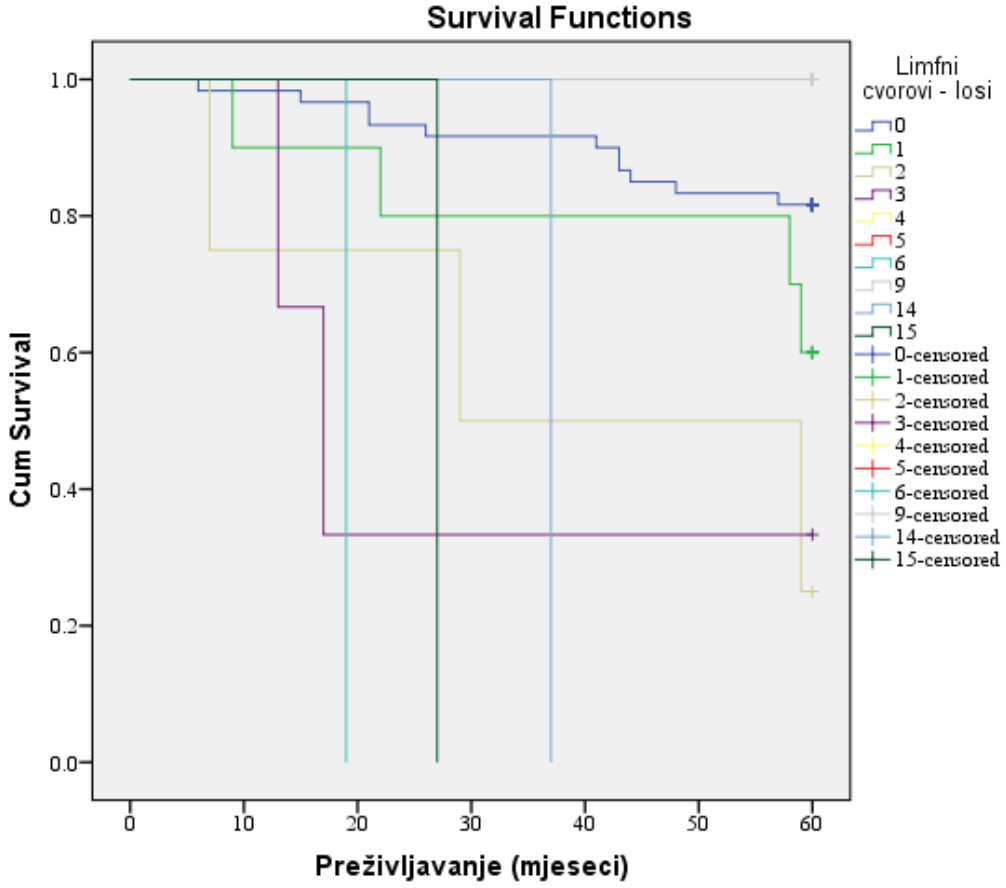
Preživljavanje	N	Minimum	Maximum	Median	Mean	Std. Deviation
Da	63	0	9	.00	.75	1.917
Ne	23	0	15	1.00	2.22	4.145
Ukupno	86	0	15	.00	1.14	2.749

Primjenom Mann-Whitney-evog testa dobijena je visoko statistički značajna razlika (z = -2.639, p = 0.008) broja metastatski izmjenjenih limfnih čvorova između pacijentica koje su preživjele (N = 63, Md = 0.00) i pacijentica koje nisu preživjele (N = 26, Md = 1.00).
Na osnovu iznesenih rezultata može se sa sigurnošću zaključiti da broj metastatski izmjenjenih limfnih čvorova značajno utiče na prognozu i preživljavanje pacijentica oboljelih od CC.

Dobijena je visoko statistički značajna razlika (Log Rank test = 35.740; p= 0.000) kada smo testirali broj metastatski izmjenjenih limfnih čvorova između pacijentica koje su preživjele i koje nisu.
Visoko statistički značajno se razlikuje preživljavanje između pacijentica koje su imale broj metastatskih limfnih čvorova 0 i 2 (Log Rank test = 9.305, p = 0.002); 0 i 3 (Log Rank test = 8.916, p = 0.003); 0 i 6 (Log Rank test = 18.352, p = 0.000); 0 i 14 (Log Rank test = 8.055, p = 0.005); 0 i 15 (Log Rank test = 9.305, p = 0.005); 2 i 3 (Log Rank test = 1.235, p = 0.007);

U ostalim slučajevima nije dobijena statistički značajna razlika.

Na slici 35 predstavljene su Kaplan-Meier-ova krive dužine preživljavanja pacijentica u odnosu na broj metastatskih izmjenjenih limfnih čvorova.



Slika 35. Kaplan-Meier-ova krive dužine preživljavanja pacijentica u odnosu na broj metastatskih izmjenjenih limfnih čvorova.

Prosječno najkraće vrijeme preživljavanja su imale pacijentice kod kojih su evidentirana tri metastatska limfna čvora (15 mjeseci), zatim pacijentice sa dva metastatska limfna čvora (31.67 mjeseci), bez ijednog limfnog čvora (33.18 mjeseci), a sa jednim limfnim čvorom – 37 mjeseci. Po jedna pacijentica koje su imale šest, 14 ili 15 metastatskih limfnih čvorova su preživjele 19, 37 ili 27 mjeseci, respektivno.

Grupa pacijentica kod kojih nije registrovan ni jedan metaststski limfni čvor je imala medijanu 41.00 mjesec, a grupa pacijentica kod kojih je registrovan jedan metastatski limfni čvor medijana je 22 mjeseca, grupa sa dva metastatska limfna čvora je imala medijanu 29, a sa tri metastatska limfna čvora 13 medijana je bila 13 mjeseci (tabela 39).

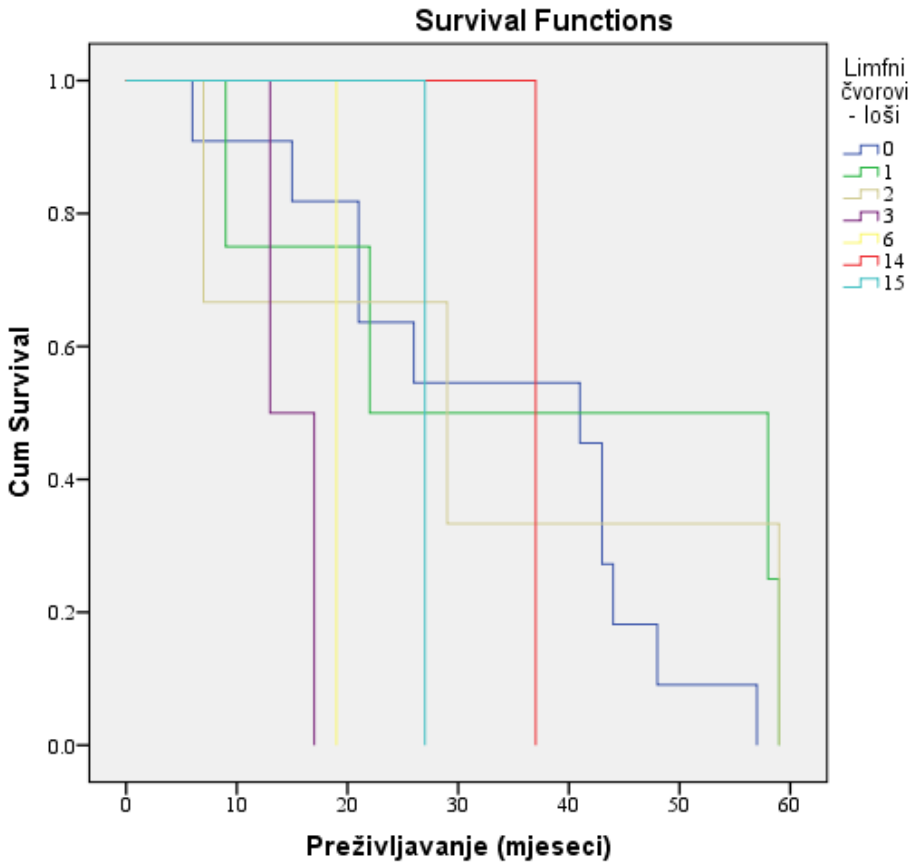
Tabela 39. Prosječna dužina preživljavanja i medijana preživljavanja pacijentica koje nisu preživjele u odnosu na broj metastatskih limfnih čvorova

Limfni čvorovi - loši	Prosječna dužina preživljavanja				Medijana			
	Prosječna vrijednost	Standardna greška	95% Interval povjerenja		Medijana	Standardna greška	95% Interval povjerenja	
			Donja granica	Gornja granica			Donja granica	Gornja granica
0	33.182	4.839	23.698	42.666	41.000	9.083	23.197	58.803
1	37.000	12.695	12.118	61.882	22.000	24.500	.000	70.020
2	31.667	15.070	2.129	61.204	29.000	17.963	.000	64.207
3	15.000	2.000	11.080	18.920	13.000	.	.	.
6	19.000	.000	19.000	19.000	19.000	.	.	.
14	37.000	.000	37.000	37.000	37.000	.	.	.
15	27.000	.000	27.000	27.000	27.000	.	.	.
Ukupno	31.348	3.661	24.172	38.524	27.000	5.590	16.044	37.956

Nije dobijena statistički značajna razlika (Log Rank test = 8.467; p= 0.206) testirajući broj metastatskih limfnih čvorova između pacijentica koje nisu (preživjele) dočekale kraj studije.

Testirajući samo umrle pacijentice statistički se značajno razlikuje (Log Rank test = 5.017, p = 0.025) dužina preživljavanja između pacijentica koje su imale tri metastatska limfna čvora u odnosu na one koji nisu imali metastaze u limfnim čvorovima.

Na slici 36 prikazane su Kaplan-Meier-ove krive dužine preživljavanja pacijentica koje nisu dočekale kraj studije, u odnosu na broj metastatskih limfnih čvorova.



Slika 36. Kaplan-Meier-ove krive dužine preživljavanja pacijentica koje nisu dočekale kraj studije, u odnosu na broj metastatskih limfnih čvorova.

4.2.10. Analiza uticaja rubova resekcije na preživljavanje pacijentica

Pozitivni rubovi resekcije su verifikovani kod četiri pacijentice (4,5%). Primjenom Fisher-ovog testa nije dobijena statistički značajna razlika (p = 1.000) statusa rubova resekcije i preživljavanja pacijentica oboljelih od carcinoma grlića materice (tabela 40).

Tabela 40. Prikaz statusa rubova resekcije i njihov uticaj na preživljavanja pacijentica.

Resekcioni rubovi		Preživljavanje		Ukupno
		Da	Ne	
Negativni	N	**59**	**25**	**84**
	%	70.2%	29.8%	95.5%
		95.2%	96.2%	
Pozitivni	N	**3**	**1**	**4**
	%	75.0%	25.0%	4.5%
		4.8%	3.8%	
Ukupno	N	**62**	**26**	**88**
	%	70.5%	29.5%	100.0%

4.3. Ekspresija faktora rasta u karcinomu grlića materice i njihov uticaj na preživljavanje

4.3.1. Analiza ekspresije FLOT 2 u uzorcima karcinoma grlića materice i uticaj na na preživljavanje

Analizom je utvrđeno da je ekspresija FLOT2 u tumorskim ćelijama CC bila prisutna i najčešće umjerenog (44,6%) ili visokog (36,65) intenziteta (tabela 41).

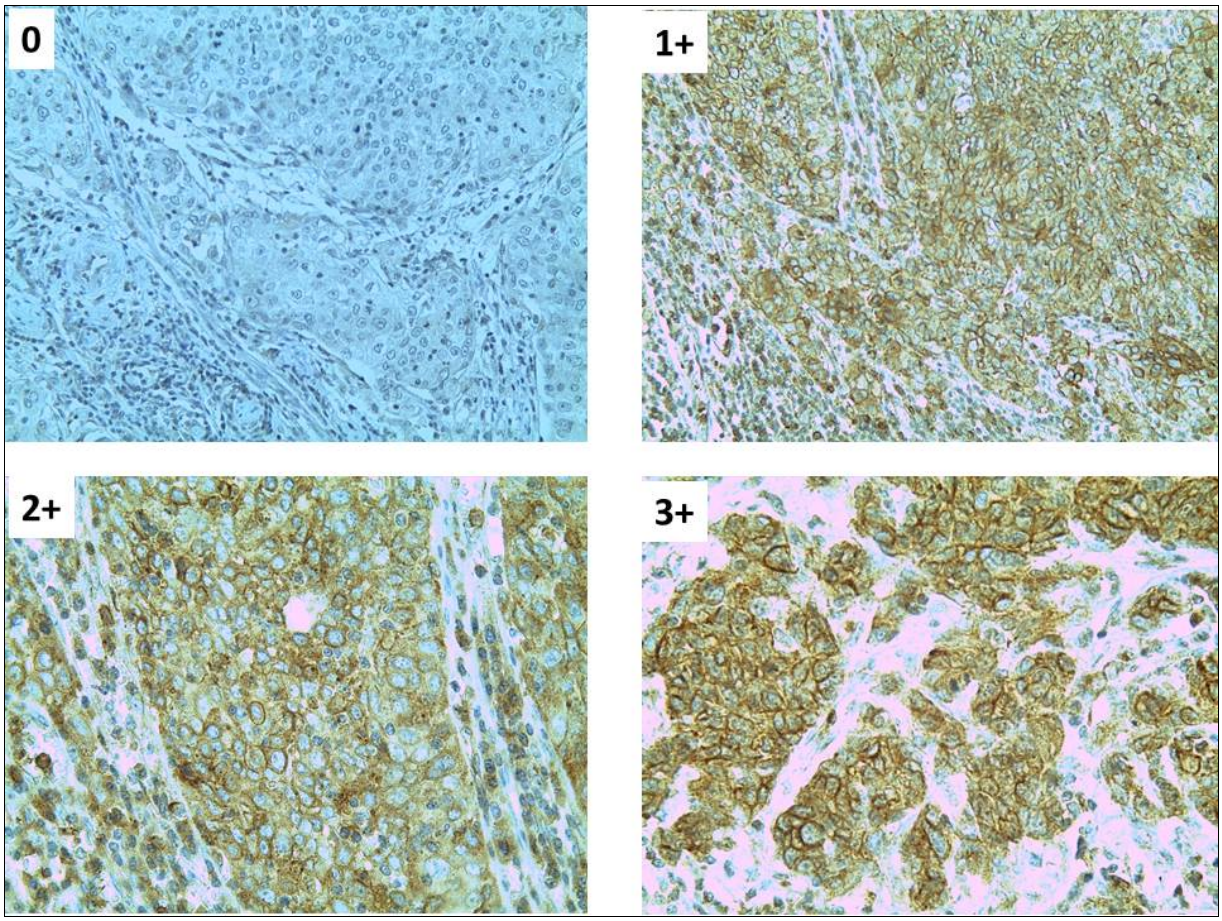
Tabela 41. Prikaz prisustva i stepena ekspresije FLOT 2 u tumorskim ćelijama CC.

Prisustvo i stepen ekspresije FLOT2 u tumorskim ćelijama	N	%
negativan (0)	1	1.0
slabo pozitivan (1+)	15	14.9
umjereno pozitivan (2+)	45	44.6
jako pozitivan (3+)	37	36.6
Ukupno	98	97.0
nedostajući podaci	3	3.0
Ukupno	101	100.0

U konačnoj analizi odsustvo ekspresije (score 0) i nisku pozitivnu imunološku reakciju (1+) smatrali smo negativnim rezultatom. Takođe, umjerenu (2+) i jako pozitivnu reakciju smo smatrali pozitivnom imunološkom reakcijom. Shodno navedenom, smo načinili podjelu na negativne (0 i 1+) i pozitivne (2+ i 3+) (slika 37). Dalje statističke obrade će se izvoditi na osnovu ove podjele. Na osnovu navedneog, 81,2% slučajeva kod naših ispitanica pokazuje pozitivnu imunološku reakciju na FLOT 2 (tabela 42).

Tabela 42. Prikaz prisustva i stepena ekspresije FLOT 2 u tumorskim ćelijama CC.

Prisustvo i stepen ekspresije FLOT2 u tumorskim ćelijama	N	%
negativna	16	15.8
pozitivna	82	81.2
Ukupno	98	97.0
nedostajući podaci	3	3.0
Ukupno	101	100.0



Slika 37. Karcinom grlića materice. Prikaz ekspresije FLOT 2 u tumorskim ćelijama (različit nivo ekspresije, od odsustva ekspresije – 0 do visokog nivoa ekspresije – 3+), anti-FLOT 2x400.

Pregrupisavanjem podataka 13 pacijentica je imalo negativnu interpretaciju, od kojih je šest preživjelo, a sedam nije, a od 73 pacijentice koje su imale pozitivnu interpretaciju tumorskih ćelija (2+ i 3+) FLOT2, njih 56 (76.7%) je preživjelo, a 17 (23.3%) nije preživjelo (tabela 43).

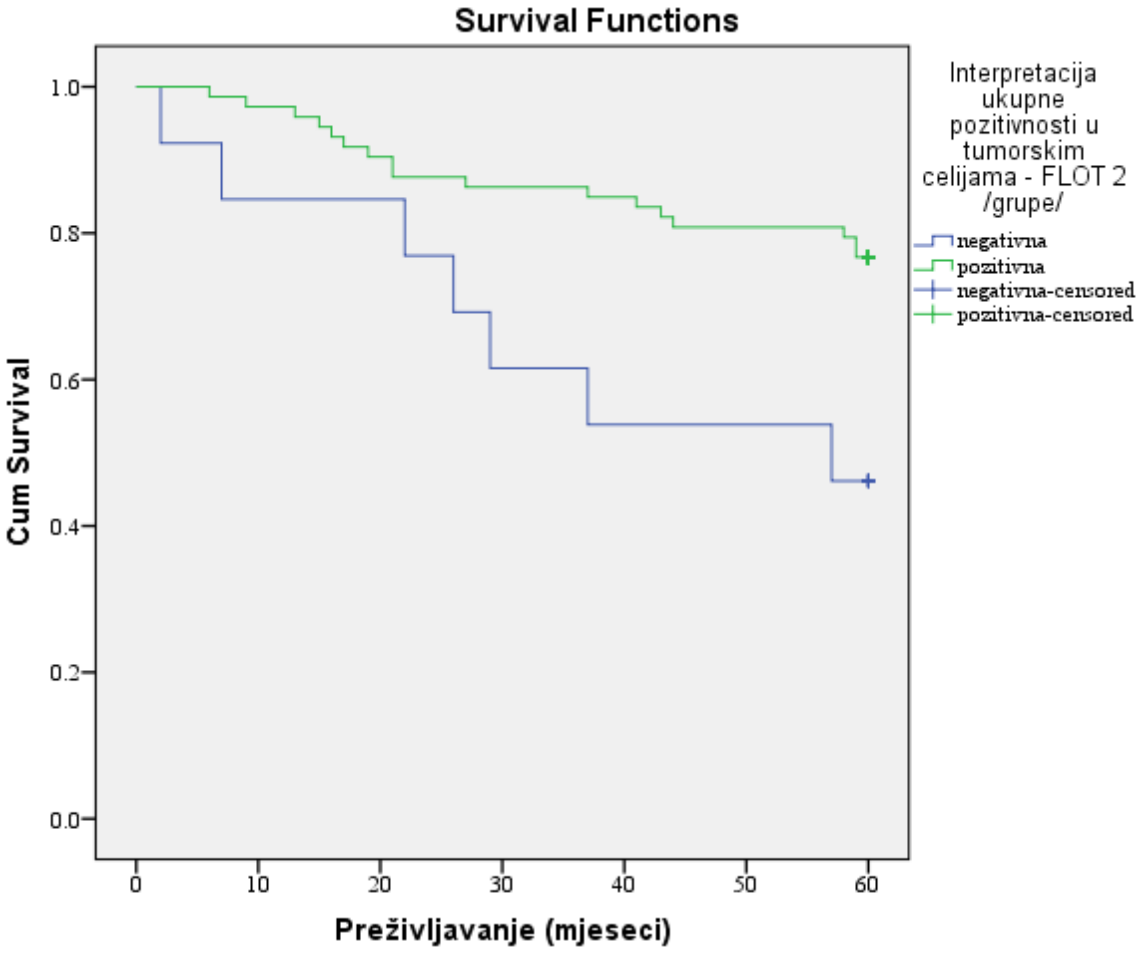
Tabela 43. Interpretacija ukupne pozitivnosti u tumorskim ćelijama FLOT2 /grupe/ i preživljavanje

Interpretacija - Tumorske ćelije FLOT2 /grupe/		Preživljavanje Da	Preživljavanje Ne	Ukupno
negativna	N	**6**	**7**	**13**
	%	46.2 %	53.8 %	100.0%
		9.7 %	29.2 %	15.1%
pozitivna	N	**56**	**17**	**73**
	%	76.7 %	23.3 %	100.0%
		90.3 %	70.8 %	84.9%
Ukupno	N	**62**	**24**	**86**
	%	72.1 %	27.9 %	100.0%

Preživljavanje pacijentica kod kojih je interpretacija ukupne pozitivnosti u tumorskim ćelijama FLOT2 /grupe/ bila negativna (0) statistički se značajno razlikuje (Log Rank test = 6.178; p = 0.013) od preživljavanja pacijentica kod kojih je interpretacija ukupne pozitivnosti u tumorskim ćelijama FLOT2 /grupe/ bila pozitivna.

Ekspresija FLOT 2 utiče značajno na preživljavanje pacijentica sa CC. Veća ekspresija ukazuje na povoljnu prognozu pacijentica sa karcinomom cerviksa.

Na slici 38. predstavljene su Kaplan-Meier-ove krive preživljavanja pacijentica u odnosu na stepen ekspresije FLOT2 u tumorskim ćelijama.



Slika 38. Kaplan-Meier-ove krive dužine preživljavanja pacijentica oboljelih od CC u odnosu na stepen ekspresije FLOT 2 u tumorskim ćelijama.

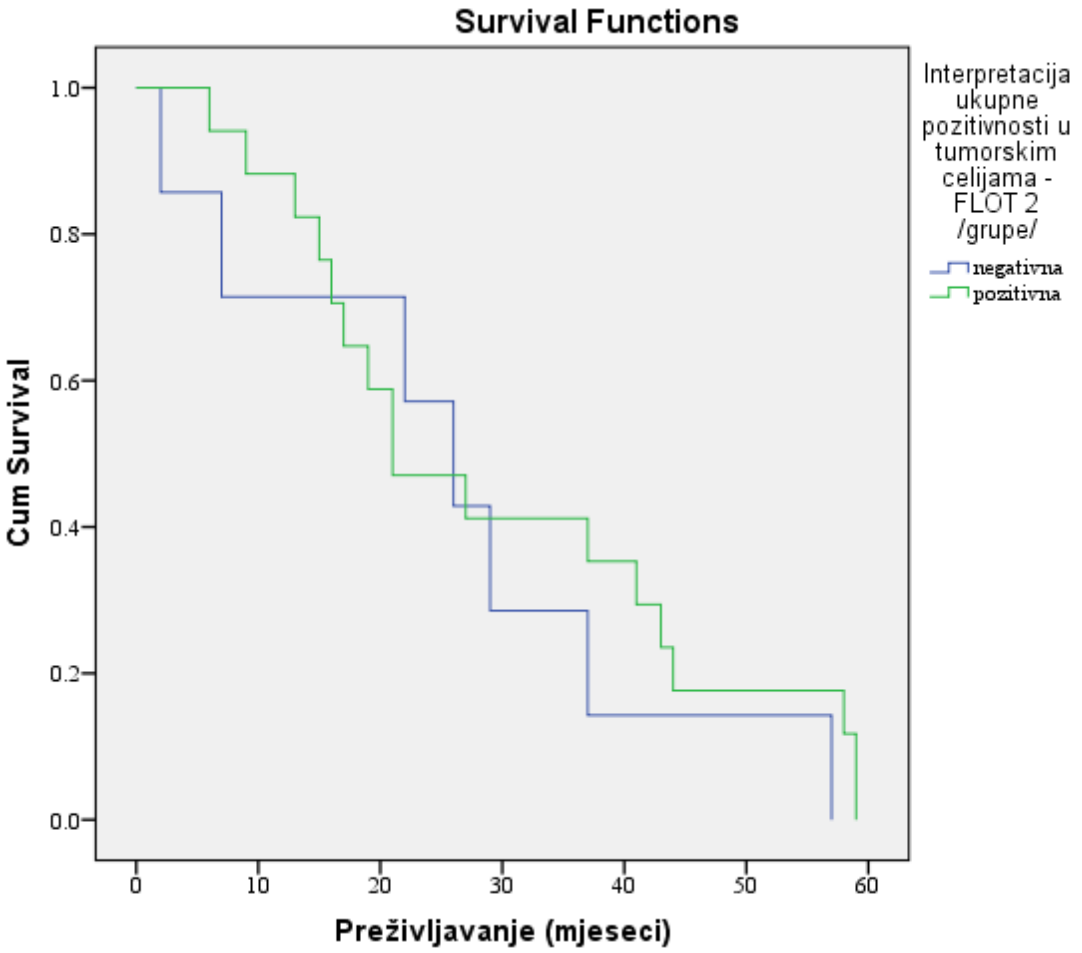
Pacijentice koje nisu preživjele, a imale su pozitivnu interpretaciju ukupne pozitivnosti u tumorskim ćelijama FLOT2 /grupe/ su prosječno preživjele 29.71 mjeseci (medijana je 21 mjesec), a pacijentice koje nisu preživjele a imale su negativnu interpretaciju ukupne pozitivnosti u tumorskim ćelijama FLOT2 /grupe/ su prosječno preživjele 25.71 mjeseci (medijana je 26 mjeseci) – tabela 44.

Tabela 44. Prosječna dužina preživljavanja i medijana preživljavanja pacijentica koje nisu preživjele, u odnosu na ukupnu interpretaciju pozitivnosti FLOT2 u tumorskim ćelijama.

Interpretacija ukupne pozitivnosti u tumorskim ćelijama - FLOT 2 /grupe/	Prosječna dužina preživljavanja				Medijana			
	Prosječna vrijednost	Standardna greška	95% Interval povjerenja		Medijana	Standardna greška	95% Interval povjerenja	
			Donja granica	Gornja granica			Donja granica	Gornja granica
negativna	25.714	6.975	12.043	39.386	26.000	5.237	15.735	36.265
pozitivna	29.706	4.367	21.146	38.265	21.000	5.488	10.244	31.756
Ukupno	28.542	3.639	21.409	35.674	22.000	3.919	14.318	29.682

Dužina preživljavanja umrlih pacijentica kod kojih je interpretacija ukupne pozitivnosti u tumorskim ćelijama FLOT2 bila negativna (0) statistički se ne razlikuje (Log Rank test = 0.478; p = 0.490) od preživljavanja pacijentica kod kojih je interpretacija ukupne pozitivnosti u tumorskim ćelijama FLOT2 bila pozitivna.

Na slici 39 predstavljene su Kaplan-Meier-ove krive preživljavanja pacijentica u odnosu na stepen ekspresije FLOT2 u tumorskim ćelijama za pacijentice koje nisu doživjele kraj studije.



Slika 39. Kaplan-Meier-ove krive dužine preživljavanja pacijentica oboljelih od CC u odnosu na stepen ekspresije FLOT 2 u tumorskim ćelijama za pacijentice koje su preminule tokom praćenja.

4.3.2. Analiza ekspresije Wnt5A u uzorcima karcinoma grlića materice i uticaj na na preživljavanje

Analizom je utvrđeno da je ekspresija Wnt5A u tumorskim ćelijama CC bila prisutna i najčešće umjerenog (38,6%) ili visokog (31,7%) intenziteta (tabela 45, slika 40).

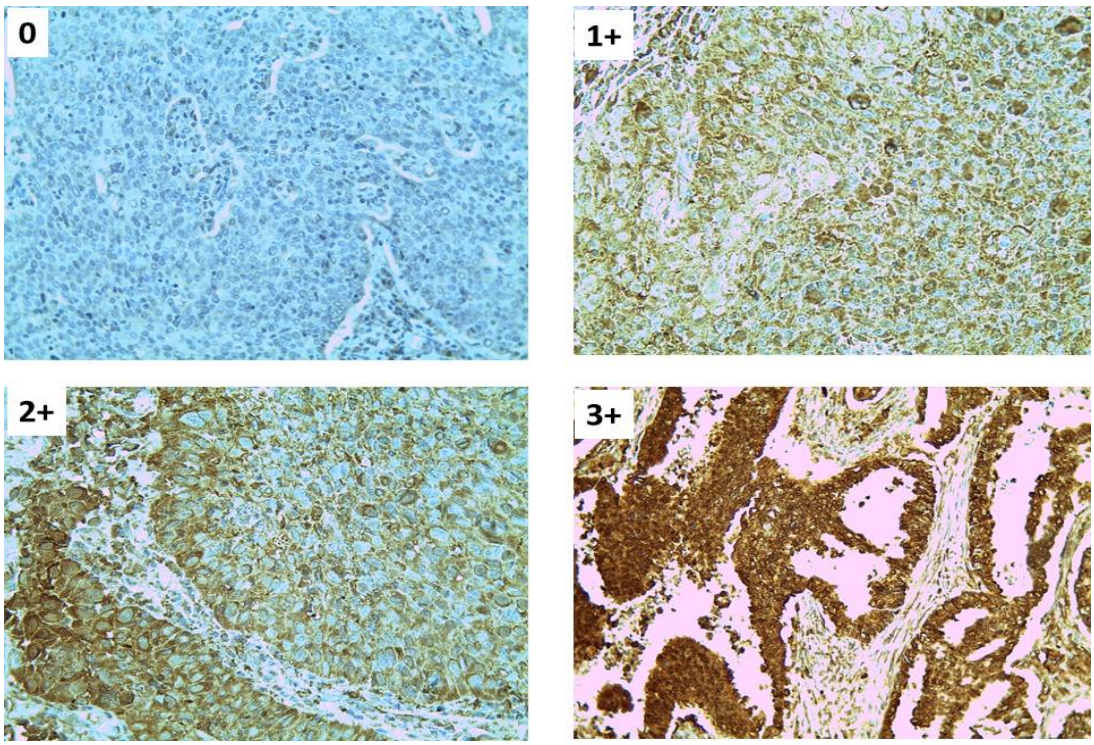
Tabela 45. Prikaz prisustva i stepena ekspresije Wnt5A u tumorskim ćelijama CC.

Prisustvo i stepen ekspresije Wnt5A u tumorskim ćelijama	N	%
slabo pozitivan (1+)	27	26.7
umjereno pozitivan (2+)	39	38.6
jako pozitivan (3+)	32	31.7
Ukupno	98	97.0
nedostajući podaci	3	3.0
Ukupno	101	100.0

Rezultate smo interpretirali na isti način kao i u prethodnom za ekspresiju FLOT 2, pri čemu smo negativnu ekspresiju shvatili rezultate 0 i 1+, a pozitivne 2+ i 3+, tabela 46.

Tabela 46. Prikaz prisustva i stepena ekspresije Wnt5A u tumorskim ćelijama CC.

Prisustvo i stepen ekspresije Wnt5A u tumorskim ćelijama	N	%
negativna	27	26.7
pozitivna	71	70.3
Ukupno	98	97.0
nedostajući podaci	3	3.0
Ukupno	101	100.0



Slika 40. Karcinom grlića materice. Prikaz ekspresija Wnt5A u tumorskim ćelijama, (različit nivo ekspresije, od odsustva ekspresije – 0 do visokog nivoa ekspresije – 3+) anti-Wnt5A x400.

U tabeli 47 prikazan je odnos stepena ekspresije Wnt5A u tumorskim ćelijama CC i uticaj na preživljavanje pacijentica. Uočava se da je veća vjerovatnoća smrtnog ishoda kod pacijentica sa tumorima koji pokazuju ekspresiju Wnt5A (30,8%) u odnosu na pacijentice sa odsustvom imunološke reakcije, verovatnoća smrtnog ishoda je manja (19%).

Tabela 47. Prikaz ekspresije Wnt5A i uticaj na preživljavanja pacijentica.

Prisustvo i stepen ekspresije Wnt5A u tumorskim ćelijama		Preživljavanje		Ukupno
		Da	Ne	
negativna	N	**17**	**4**	**21**
	%	81.0%	19.0%	24.4%
		27.4%	16.7%	
pozitivna	N	**45**	**20**	**65**
	%	69.2%	30.8%	75.6%
		72.6%	83.3%	
Ukupno	N	**62**	**24**	**86**
	%	72.1%	27.9%	100.0%

Primjenom Fisher-ovog testa nije dobijena statistički značajna razlika (p = 0.405) s obzirom na prisustvo i stepen ekspresije Wnt5A u tumorskim ćelijama i preživljavanja.

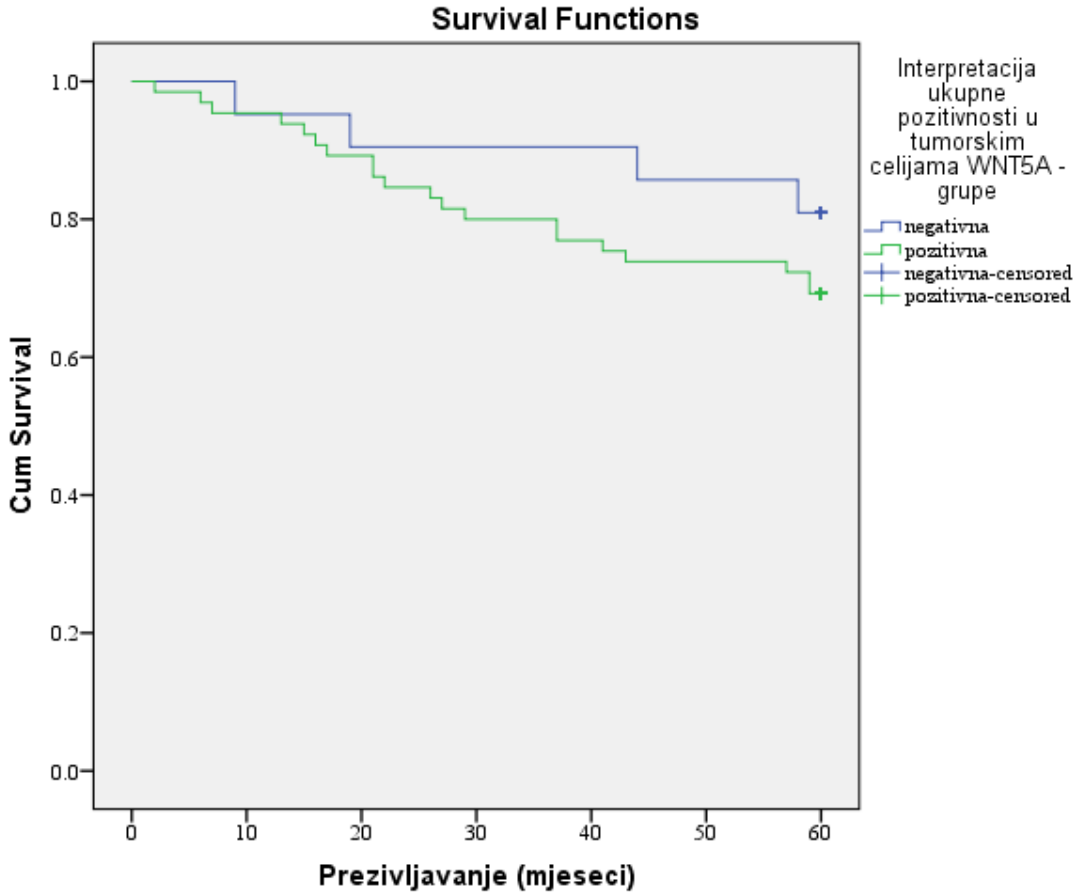
Pregrupisavanjem podataka, 21 pacijentica je imala negativnu interpretaciju od kojih je 17 (81%) preživjelo, a četiri nije, a od 65 pacijentica koje su imale pozitivnu interpretaciju tumorskih ćelija Wnt5A 45 (69.2%) je preživjelo, a 20 (30.8%) nije preživjelo (tabela 48). Na osnovu rezultata deskriptivne statistike može se reći da veću vjerovatnoću smrtnog ishoda i lošiju prognozu imaju pacijentice čiji tumori pokazuju visoku ekspresiju Wnt5A (od 65 pacijentica, kraj studije nije dočekalo 20 pacijentica čiji tumori su imali visoku ekspresiju), ali statistički nije dobijena značajna razlika.

Tabela 48. Interpretacija ukupne pozitivnosti u tumorskim ćelijama Wnt5A i uticaja na preživljavanje pacijentica

Interpretacija - Tumorske ćelije WNT5A /grupe/		Preživljavanje		Ukupno
		Da	Ne	
negativna	N	**17**	**4**	**21**
	%	81.0%	19.0%	24.4%
		27.4%	16.7%	
pozitivna	N	**45**	**20**	**65**
	%	69.2%	30.8%	75.6%
		72.6%	83.3%	
Ukupno	N	**62**	**24**	**86**
	%	72.1%	27.9%	100.0%

Preživljavanje pacijentica kod kojih je interpretacija ukupne pozitivnosti u tumorskim ćelijama Wnt5A bila negativna, statistički se ne razlikuje (Log Rank test = 1.080; p = 0.299) od preživljavanja pacijentica kod kojih je interpretacija ukupne pozitivnosti u tumorskim ćelijama Wnt5A bila pozitivna.

Na slici 41 predstavljene su Kaplan-Meier-ove krive preživljavanja pacijentica u odnosu na stepen ekspresije Wnt5A u tumorskim ćelijama.



Slika 41. Kaplan-Meier-ove krive dužine preživljavanja pacijentica oboljelih od CC u odnosu na stepen ekspresije Wnt5A u tumorskim ćelijama.

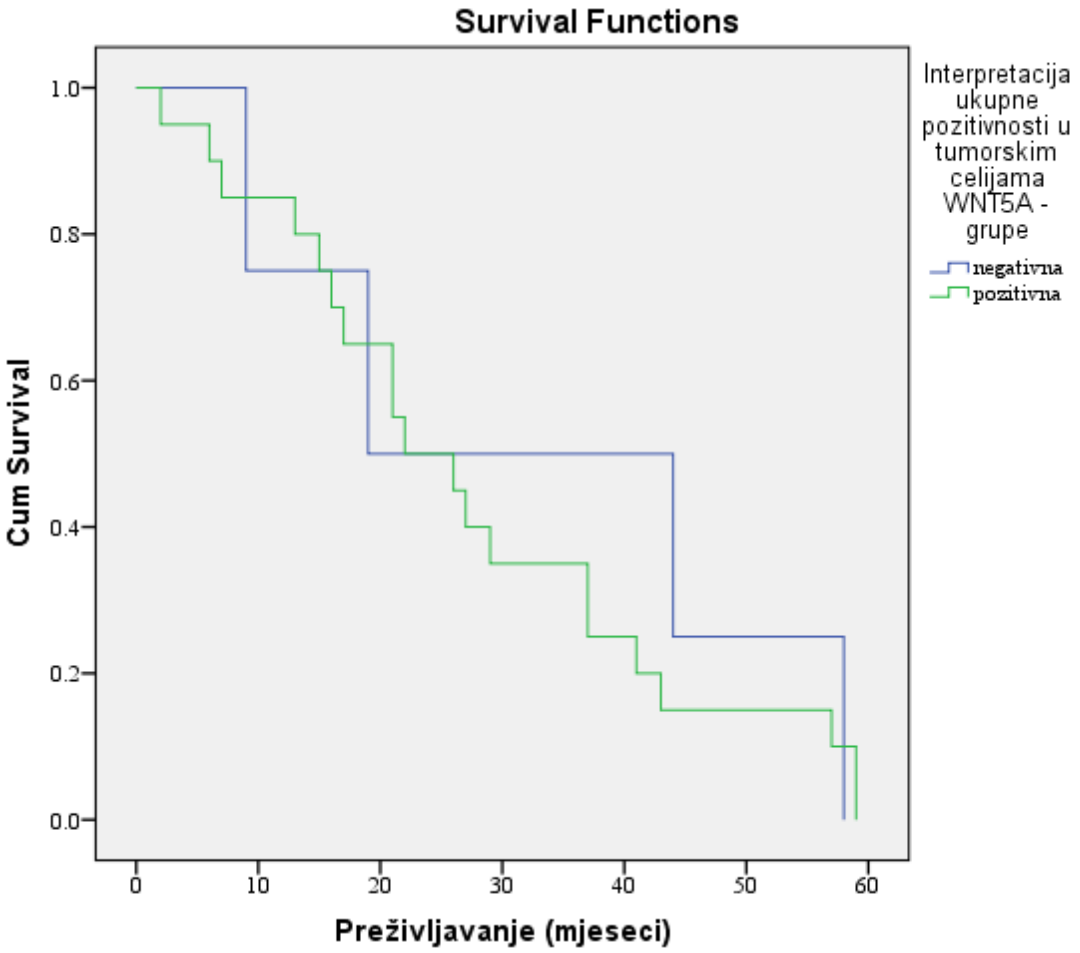
Pacijentice koje nisu preživjele, a imale su negativnu interpretaciju ukupne pozitivnosti u tumorskim ćelijama Wnt5A su prosječno preživjele 32.5 mjeseci (medijana je 19 mjesec), a pacijentice koje nisu preživjele, a imale su pozitivnu interpretaciju ukupne pozitivnosti u tumorskim ćelijama Wnt5A su prosječno preživjele 27.75 mjeseci (medijana je 22 mjeseca) – tabela 49.

Tabela 49. Prosječna dužina preživljavanja i medijana preživljavanja pacijentica koje nisu preživjele u odnosu na ukupnu interpretacija pozitivnosti u tumorskim ćelijama Wnt5A

Interpretacija ukupne pozitivnosti u tumorskim ćelijama Wnt5A - grupe	Prosječna dužina preživljavanja				Medijana			
	Prosječna vrijednost	Standardna greška	95% Interval povjerenja		Medijana	Standardna greška	95% Interval povjerenja	
			Donja granica	Gornja granica			Donja granica	Gornja granica
negativna	32.500	11.244	10.463	54.537	19.000	17.500	.000	53.300
pozitivna	27.750	3.879	20.147	35.353	22.000	5.590	11.043	32.957
Ukupno	28.542	3.639	21.409	35.674	22.000	3.919	14.318	29.682

Dužina preživljavanja umrlih pacijentica kod kojih je interpretacija ukupne pozitivnosti u tumorskim ćelijama Wnt5A bila negativna (0) statistički se ne razlikuje (Log Rank test = 0.093; p = 0.760) od preživljavanja pacijentica kod kojih je interpretacija ukupne pozitivnosti u tumorskim ćelijama Wnt5A bila pozitivna.

Na slici 42 predstavljene su Kaplan-Meier-ove krive preživljavanja pacijentica u odnosu na stepen ekspresije Wnt5A u tumorskim ćelijama za pacijentice koje nisu dočekale kraj studije.



Slika 42. Kaplan-Meier-ove krive dužine preživljavanja pacijentica oboljelih od CC u odnosu na stepen ekspresije Wnt5A u tumorskim ćelijama za pacijentice koje su preminule tokom praćenja.

4.3.3. Analiza ekspresije ROR2 u uzorcima karcinoma grlića materice i uticaj na na preživljavanje

Analizom je utvrđeno da je ekspresija ROR2 u tumorskim ćelijama CC bila prisutna i najčešće umjerenog (41,6%) ili niskog stepena (31,7%) intenziteta (tabela 50, slika 43).

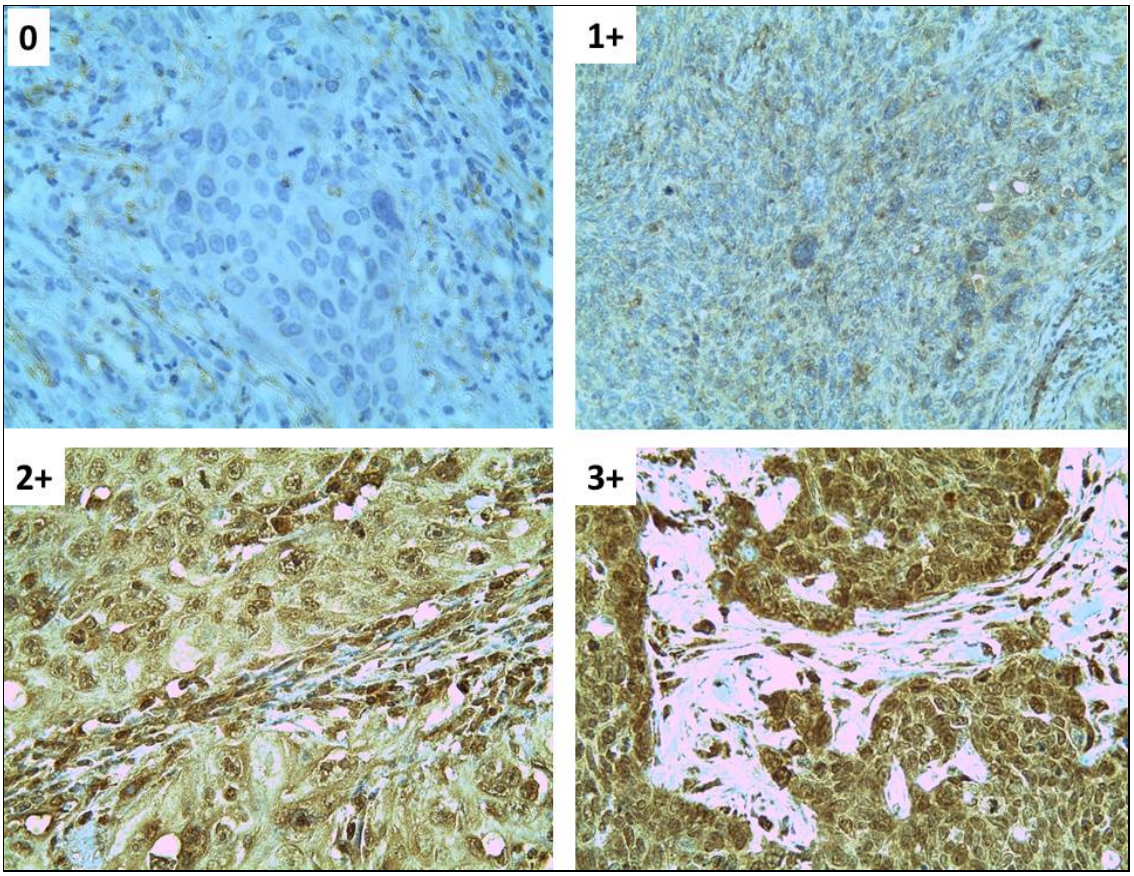
Tabela 50. Prikaz prisustva i stepena ekspresije ROR2 u tumorskim ćelijama CC.

Interpretacija - Tumorske ćelije ROR2	N	%
negativan (0)	3	3.0
slabo pozitivan (1+)	32	31.7
umjereno pozitivan (2+)	42	41.6
jako pozitivan (3+)	21	20.8
Ukupno	98	97.0
nedostajući podaci	3	3.0
Ukupno	101	100.0

Rezultate smo interpretirali na isti način kao i u prethodnom za ekspresiju FLOT 2 i Wnt5A, pri čemu smo negative ekspresiju shvatili rezultete 0 i 1+, a pozitivne 2+ i 3+ (tabela 51).

Tabela 51. Prikaz prisustva i stepena ekspresije ROR2 u tumorskim ćelijama CC.

Interpretacija - Tumorske ćelije ROR2 /grupe/	N	%
negativna	35	34.7
pozitivna	63	62.4
Ukupno	98	97.0
nedostajući podaci	3	3.0
Ukupno	101	100.0



Slika 43. Skvamocelularni karcinom grlića materice. Prikaz ekspresija ROR2 u tumorskim ćelijama, (različit nivo ekspresije, od odsustva ekspresije – 0 do visokog nivoa ekspresije – 3+) anti- ROR2 x400.

U tabeli 52 prikazan je odnos stepena ekspresije ROR2 u tumorskim ćelijama CC i uticaj na preživljavanje pacijentica. I na deskriptivnom prikazu vidljivo je da ekspresija nema značajan uticaj na preživljavanje, a što je potvrđeno i statističkim testiranjem.

Tabela 52. Prikaz ekspresije ROR2 i uticaj na preživljavanja pacijentica.

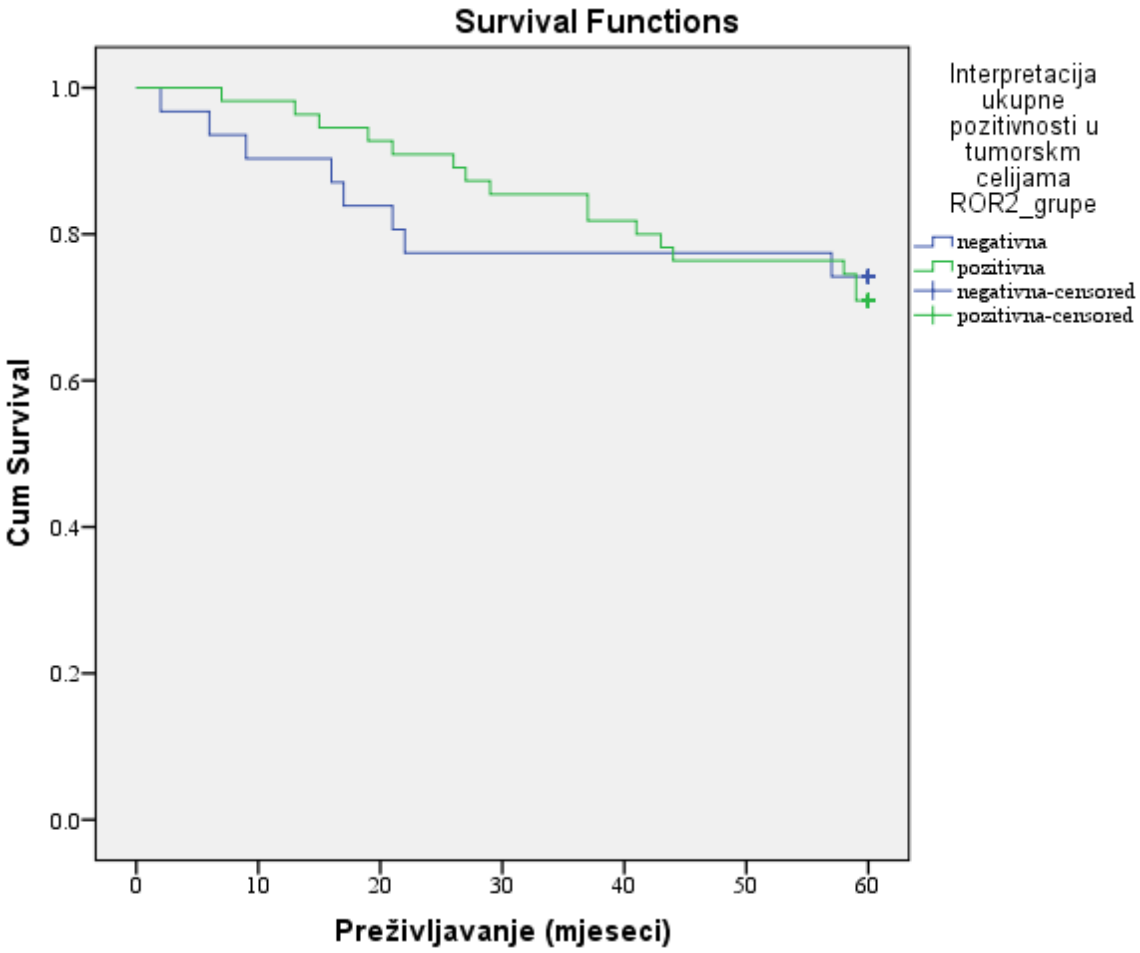
Interpretacija - Tumorske ćelije ROR2 /grupe/		Preživljavanje Da	Preživljavanje Ne	Ukupno
negativna	N	**23**	**8**	**31**
	%	74.2%	25.8%	36.0%
		37.1%	33.3%	
pozitivna	N	**39**	**16**	**55**
	%	70.9%	29.1%	64.0%
		62.9%	66.7%	
Ukupno	N	**62**	**24**	**86**
	%	72.1%	27.9%	100.0%

Primjenom χ^2 testa, uz korekciju prema Yates-u, nije dobijena statistički značajna razlika (χ^2 = 0.006, p = 0.940) interpretacije ukupne pozitivnosti u tumorskim ćelijama ROR2 /grupe/ i preživljavanja.

Preživljavanje pacijentica kod kojih je interpretacija ukupne pozitivnosti u tumorskim ćelijama ROR2 bila negativna (0) statistički se ne razlikuje (Log Rank test = 0.015; p = 0.902) od preživljavanja pacijentica kod kojih je interpretacija ukupne pozitivnosti u tumorskim ćelijama ROR2 bila pozitivna.

Na osnovu rezultata može se zaključiti da ekspresija ROR2 u tumorskim ćelijama ne utiče na prognozu i preživljavanje pacijentica oboljelih od CC.

Na slici 44 predstavljene su Kaplan-Meier-ove krive preživljavanja pacijentica u odnosu na stepen ekspresije ROR2 u tumorskim ćelijama.



Slika 44. Kaplan-Meier-ove krive dužine preživljavanja pacijentica oboljelih od CC u odnosu na stepen ekspresije ROR2 u tumorskim ćelijama.

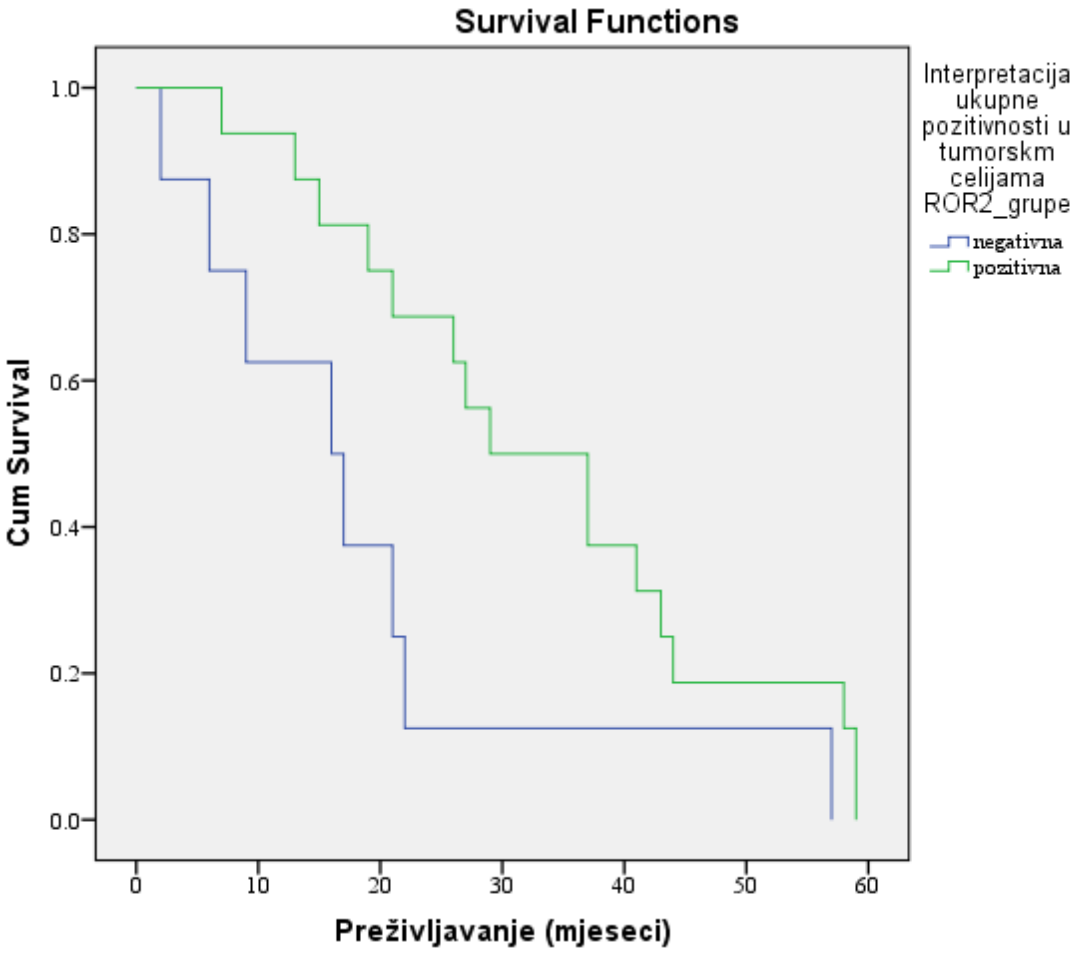
Pacijentice koje nisu preživjele a imale su negativnu interpretaciju ukupne pozitivnosti u tumorskim ćelijama ROR2 su prosječno preživjele 18.75 mjeseci (medijana je 16 mjeseci), a pacijentice koje nisu preživjele a imale su pozitivnu interpretaciju ukupne pozitivnosti u tumorskim ćelijama ROR2 su prosječno preživjele 33.44 mjeseca (medijana je 29 mjeseci) – tabela 53.

Tabela 53. Prosječna dužina preživljavanja i medijana preživljavanja pacijentica koje nisu preživjele u odnosu na ukupnu interpretacija pozitivnosti ROR2u tumorskim ćelijama

Interpretacija ukupne pozitivnosti u tumorskm ćelijama ROR2 (grupe)	Prosječna dužina preživljavanja[a]				Medijana			
	Prosječna vrijednost	Standardna greška	95% Interval povjerenja		Medijana	Standardna greška	95% Interval povjerenja	
			Donja granica	Gornja granica			Donja granica	Gornja granica
negativna	18.750	6.017	6.957	30.543	16.000	5.657	4.913	27.087
pozitivna	33.438	4.149	25.305	41.570	29.000	6.667	15.933	42.067
Ukupno	28.542	3.639	21.409	35.674	22.000	3.919	14.318	29.682

Dužina preživljavanja umrlih pacijentica kod kojih je interpretacija ukupne pozitivnosti u tumorskim ćelijama ROR2 bila negativna (0) statistički se razlikuje (Log Rank test = 4.454; p = 0.035) od preživljavanja pacijentica kod kojih je interpretacija ukupne pozitivnosti u tumorskim ćelijama ROR2 bila pozitivna. Ovdje se može zaključiti da su u prosjeku duže živjele pacijentice koje su imale pozitivnu reakciju na ROR2 u tumorskim ćelijama.

Na slici 45 predstavljene su Kaplan-Meier-ove krive preživljavanja pacijentica u odnosu na stepen ekspresije ROR2 u tumorskim ćelijama za pacijentice koje nisu doživjele kraj studije.

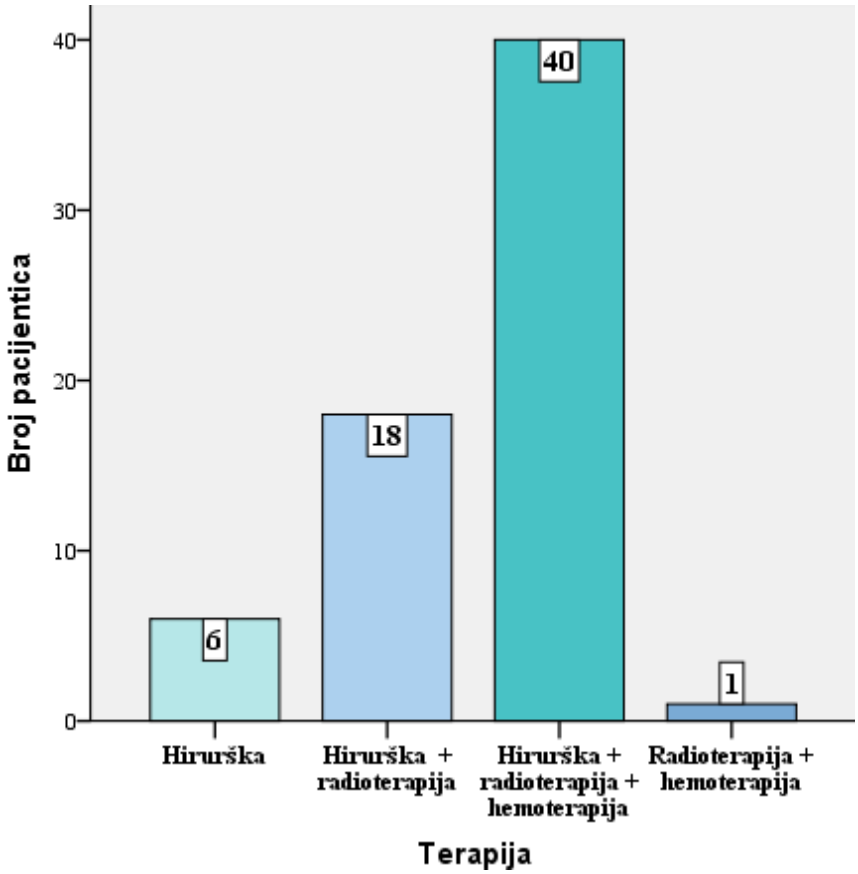


Slika 45. Kaplan-Meier-ove krive dužine preživljavanja pacijentica oboljelih od CC u odnosu na stepen ekspresije ROR2 u tumorskim ćelijama za pacijentice koje su preminule tokom praćenja.

4.4. Terapijske procedure koje su korišćene u liječenju pacijentica oboljelih od karcinoma grlića materice i uticaj na preživljavanje

Na slici 46 prikazane su terapijske procedure koje su korišćene u liječenju pacijentica koje su oboljele od karcinoma cerviksa, a uključene su u ovo istraživanje. Treba napomenuti da precizne podatke o vrstama terapije koje su korišćene nismo uspjeli pronaći za 36 pacijentica, i one su isključene iz ovog dijela statističke obrade.

Za njih se zna da je korišćena hirurška terapija, ali se ne zna da li je dodatno korišćena hemioterapija i/ili radioterapija. Kod većine pacijentica korišćena je kombinovana terapija hirurška + radio + hemoterapija.



Slika 46. Prikaz vrste primjenjene terapije kod pacijentica oboljelih od CC.

U tabeli 54 prikazan je odnos vrste primjenjene terapije i preživljavanja. Uočava se da je prilikom primjene kombinacije hirurška + radioterapija + hemoterapija, preživljavanje bilo najkraće (38,2%). Svakako ova vrsta terapije je namijenjena za karcinome cerviksa koji su u odmaklom stadijumu bolesti i lošije su diferentovani.

Svih pet pacijentica kod kojih su primijenjene hirurške terapije su preživjele. Najveći broj pacijentica (34 ili 60.7%, tj, tri od pet) su imale hirušku + radioterapiju + hemoterapiju od kojih je 21 (61.8%) preživjela. Hirušku + radioterapiju je koristilo 16 (28.6%) pacijentica od kojih su tri od četiri (12 ili 75%) preživjele. Jedna (1.8%) od pacijentica je imala radioterapiju + hemoterapiju i nije preživjela (tabela 54).

Tabela 54. Prikaz primjenjenih terapijskih procedura u liječenju CC i uticaj na preživljavanje pacijentica.

Terapija		Preživljavanje		Ukupno
		Da	Ne	
Hirurška	N	**5**	**0**	**5**
	%	100.0%	0.0%	8.9%
		13.2%	0.0%	
Hirurška + radioterapija	N	**12**	**4**	**16**
	%	75.0%	25.0%	28.6%
		31.6%	22.2%	
Hirurška + radioterapija + hemoterapija	N	**21**	**13**	**34**
	%	61.8%	38.2%	60.7%
		55.3%	72.2%	
Radioterapija + hemoterapija	N	**0**	**1**	**1**
	%	0.0%	100.0%	1.8%
		0.0%	5.6%	
Ukupno	N	**38**	**18**	**56**
	%	67.9%	32.1%	100.0%

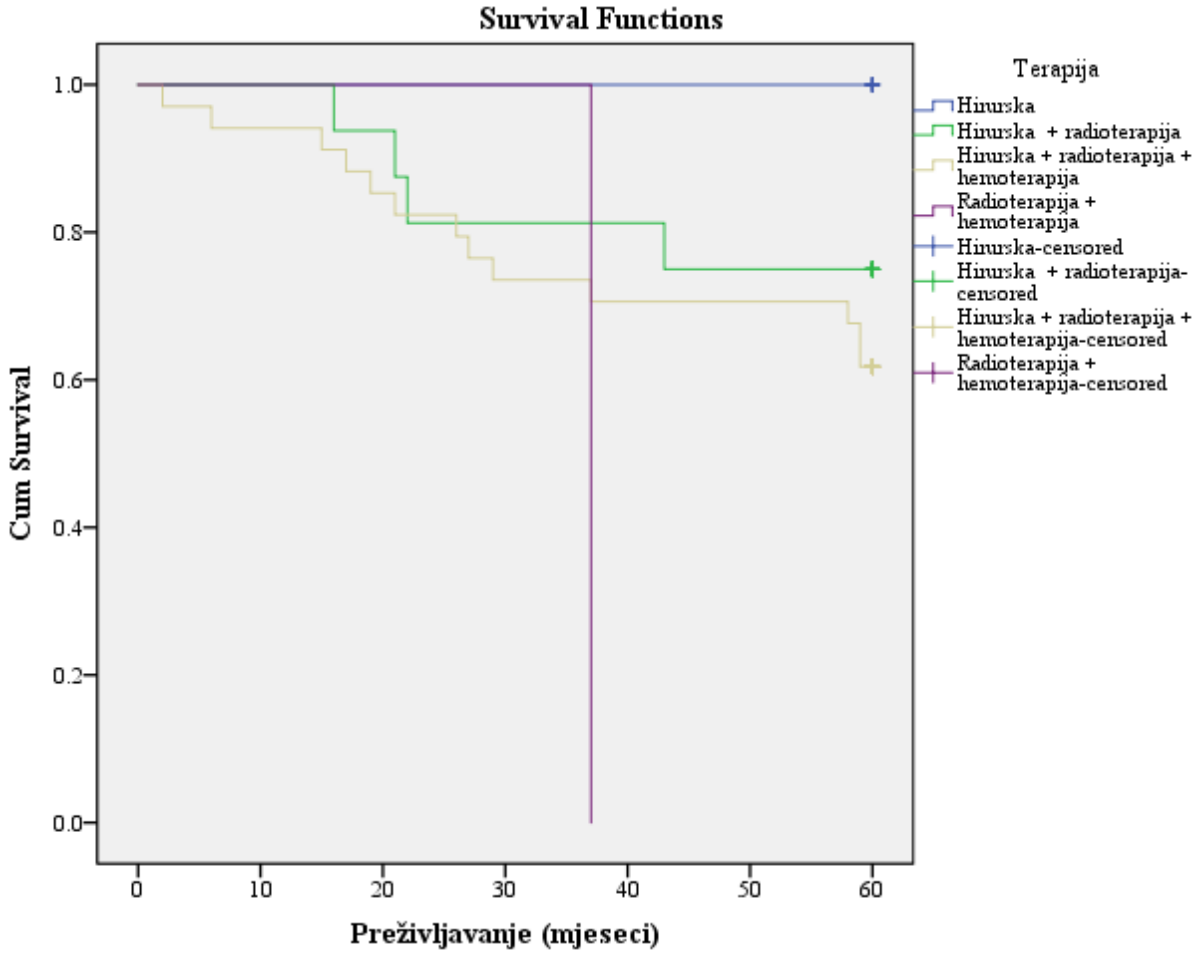
Nije dobijena statistički značajna razlika (Log Rank test = 4.673; p= 0.197) u primijenjenoj terapiji između pacijentica koje su preživjele i koje nisu.

Jedino je dobijena stistički značajna razlika preživljavanja (LogRank test=5.000; p = 0.025) pacijentica kod kojih je primjenjivana hirurška (svih pet pacijentica su preživjele) i pacijentice kod koje je primijenjena radioterapija + hemoterapija, a koja nije preživjela.

U svim ostalim slučajevima nije postojala statistički značajna razlika u preživljavanju pacijentica pri primjeni različitih tipova terapija:

- Hirurška i hirurška + radioterapija (LogRank test=1.387; p = 0.239),
- Hirurška i hirurška + radioterapija + hemoterapija (LogRank test=2.369; p = 0.124),
- Hirurška + radioterapija i hirurška + radioterapija + hemoterapija (LogRank test=0.754; p = 0.385),
- Hirurška + radioterapija i radioterapija + hemoterapija (LogRank test=2.262; p = 0.133) i
- Hirurška + radioterapija + hemoterapija i radioterapija + hemoterapija (LogRank test=1.124; p = 0.289).

Na slici 47 predstavljena je Kaplan-Meier-ova kriva preživljavanja u odnosu na terapiju.



Slika 47. Kaplan-Meier-ova kriva preživljavanja pacijentica obiljelih od CC u odnosu na primjenjenu terapiju

Pacijentice kod kojih je primijenjena radioterapija + hemoterapija imale su najduže prosječno preživljavanje (37 mjeseci). Prosječna dužina preživljavanja od 28.846 mjeseci je bila kod pacijentica koje su imale hiruršku + radioterapiju + hemoterapiju, a najkraće preživljavanje (25.5 mjeseci) su imale pacijentice sa hirurškom + radioterapijom.

Medijanu od 36 mjeseci su imale pacijentice koje se tretirane hirurškom + radioterapijom + hemoterapijom, a pacijentice koje se tretirane hirurškom + radioterapijom imale su medijanu od 21 mjesec (tabela 55, slika 48).

Tabela 55. Prosječna dužina preživljavanja i medijana preživljavanja pacijentica koje nisu dočekale kraj studije u odnosu na primjenjenu terapiju

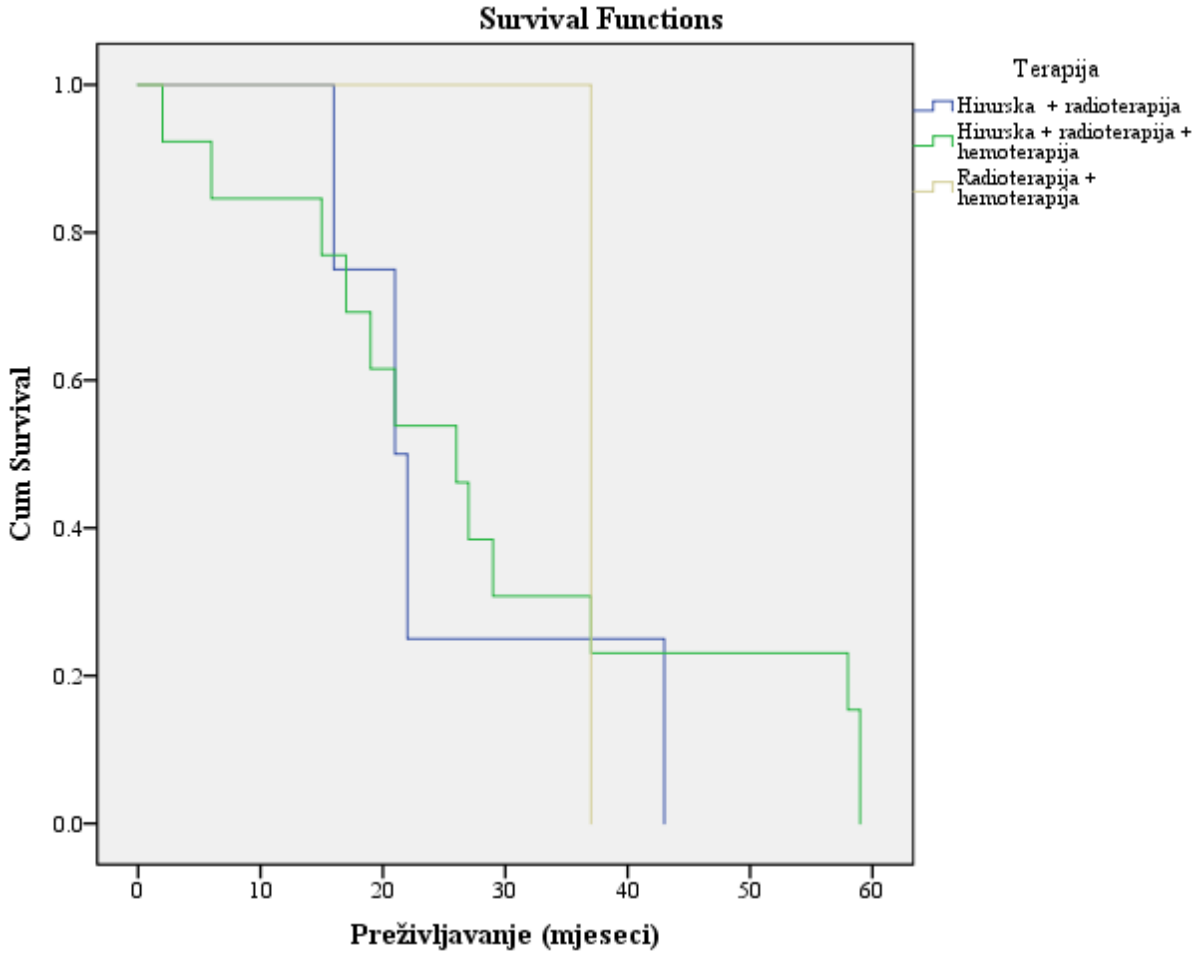
Terapija	Prosječna dužina preživljavanja				Medijana			
	Prosječna vrijednost	Standardna greška	95% Interval povjerenja		Medijana	Standardna greška	95% Interval povjerenja	
			Donja granica	Gornja granica			Donja granica	Gornja granica
Hirurška + radioterapija	25.500	5.979	13.781	37.219	21.000	3.000	15.120	26.880
Hirurška + radioterapija + hemoterapija	28.846	5.359	18.343	39.349	26.000	4.793	16.605	35.395
Radioterapija + hemoterapija	37.000	.000	37.000	37.000	37.000	.	.	.
Ukupno	28.556	4.050	20.618	36.493	22.000	5.303	11.606	32.394

Nije dobijena statistički značajna razlika (Log Rank test = 0.430; p= 0.806) u dužini preživljavanju pacijentica koje nisu preživjele u odnosu na primjenjenu terapiju.

Poredeći međusobno primjenjivane terapije nije postojala statistički značajna razlika u dužini preživljavanju umrlih pacijentica između:

- Hirurške + radioterapije i hirurške + radioterapije + hemoterapije (LogRank test=0.2891; p = 0.591),
- Hirurške + radioterapije i radioterapije + hemoterapije (LogRank test=0.098; p = 0.754) i
- Hirurške + radioterapije + hemoterapije i radioterapije + hemoterapije (LogRank test=0.124; p = 0.725).

Na slici 48 prikazane su Kaplan-Meier-ove krive preživljavanja umrlih pacijenata u odnosu na terapiju.



Slika 48. Kaplan-Meier-ove krive preživljavanja umrlih pacijenata u odnosu na primjenjenu terapiju

4.5. Relaps maligne bolesti kod pacijentica oboljelih od karcinoma grlića materice i uticaj na preživljavanje

Relaps bolesti je evidentiran kod 15 pacijentica, od kojih su samo dvije preživjele, a od 39 pacijentica kod kojih nije zabilježen relaps bolesti, pet nije preživjelo (tabela 56). Precizne podatke o postojanju relapsa nismo imali za 47 pacijentica.

Tabela 56. Prikaz povrata (relaps) bolesti i uticaja na preživljavanje pacijentica oboljelih od CC.

Relaps bolesti		Preživljavanje		Ukupno
		Da	Ne	
Ne	N	**34**	**5**	**39**
	%	87.2%	12.8%	72.2%
		94.4%	27.8%	
Da	N	**2**	**13**	**15**
	%	13.3%	86.7%	27.8%
		5.6%	72.2%	
Ukupno	N	**36**	**18**	**54**
	%	66.7%	33.3%	100.0%

Primjenom χ^2 testa, uz korekciju prema Yates-u, dobijena je visoko statistički značajna razlika (χ^2 = 23.365, p = 0.000) u preživljavanju pacijentica u odnosu na prisustvo relapsa bolesti.

Prosječno vrijeme preživljavanja pacijentica koje nisu imale relaps bolesti je 54.82 mjeseca, a kod pacijentica kod kojih je bio prisutan relaps bolesti je 32.27 mjeseca.
Kod pacijentica koje su imale relaps bolesti medijana preživljavanja je 27 mjeseci (tabela 57).

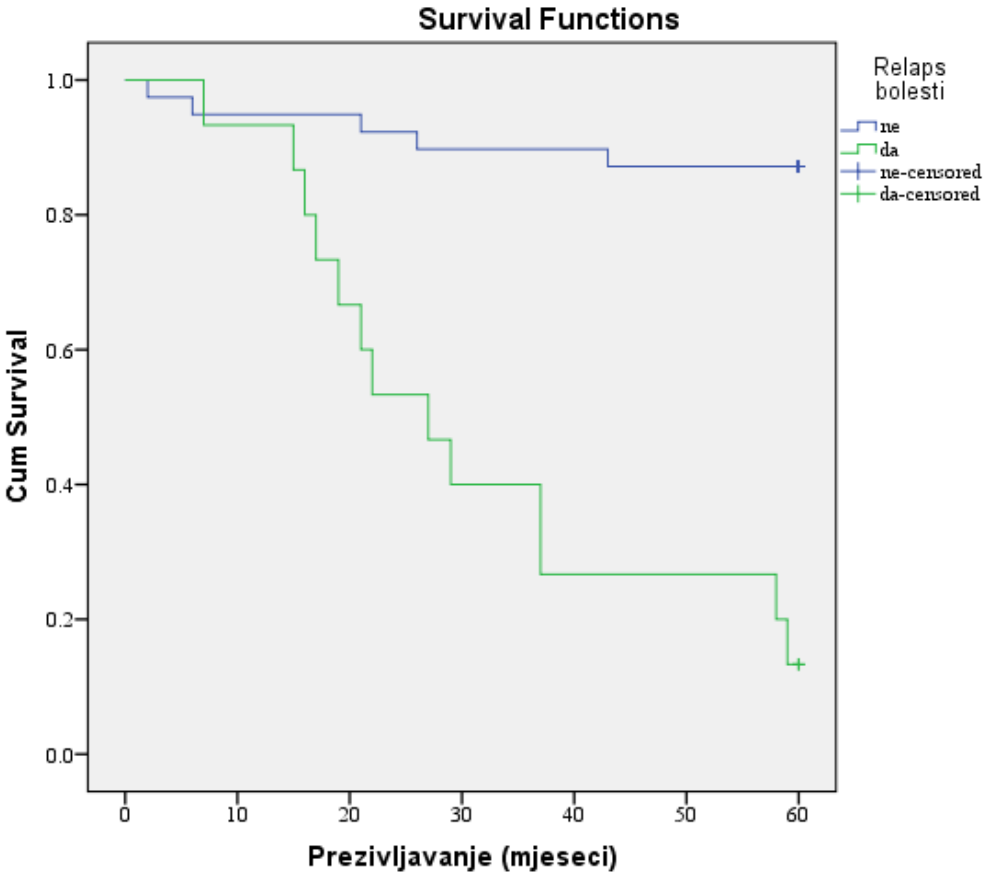
Tabela 57. Prosječna dužina i medijana preživljavanja pacijentica u odnosu na prisustvo relapsa bolesti

Relaps bolesti	Mean				Median			
	PV	SG	95% Interval povjerenja		M	SG	95% Interval povjerenja	
			DG	GG			DG	GG
Ne	54.821	2.322	50.270	59.371	.	.	.	.
Da	32.267	4.638	23.175	41.358	27.000	5.152	16.901	37.099
Ukupno	48.556	2.522	43.612	53.499	.	.	.	.

Legenda: PV- Prosječna vrijednost; SG- Standardna greška; DG- Donja granica; GG-Gornja granica; M-Medijana

Pri testiranju jednakosti distribucije preživljavanja u slučaju prisustva ili odsustva relapsa bolesti dobijena je visoko statistički značajna razlika (Log Rank test = 31.639; p= 0.000) dužine preživljavanja pacijentica.

Na slici 49. prikazana je Kaplan-Meier-ova kriva preživljavanja pacijentica u odnosu na prisustvo relapsa bolesti.



Slika 49. Kaplan-Meier-ova kriva preživljavanja pacijentica oboljelih od CC u odnosu na prisustvo relapsa bolesti.

U tabeli 58 prikazana su mjesta na kojima je verifikovan povrat (relaps) bolesti.

Tabela 58. Mjesto na kojem se desio relaps bolesti.

Mjesto relapsa bolesti	N	Percent
Bez relapsa	36	35.6
Prisutan relaps (mjesto nije poznato)	5	5.0
Limfni čvorovi	1	1.0
Pulmo	2	2.0
Hepar	1	1.0
Limfni cvorovi + Hepar	1	1.0
Pulmo + Hepar	1	1.0
Pulmo + Cerebri	1	1.0
Recidiv + Limfni čvorovi + Hepar	1	1.0
Limfni čvorovi + Pulmo + Hepar	1	1.0
Ukupno	50	49.5
Nedostajući podaci	51	50.5
Ukupno	101	100.0

Tokom perioda praćenja verifikovane su komplikacije u 24% slučajeva. Podatke o statusu (postojanju ili ne postojanju) komplikacija nismo uspjeli saznati za 42,6% pacijentica.

U tabeli 59 su prikazane komplikacije koje su verifikovane u toku praćenja pacijentica.

Tabela 59. Komplikacije kod pacijenata liječenih od CC verifikovane u periodu praćenja bolesti.

Komplikacije	N	%
Bez komplikacija	34	33.7
Stenoza uretre ili uretera	1	1.0
Limfedem	3	3.0
Fistula rekto, colo, ileo vaginalis	5	5.0
Adhezije i ileus	3	3.0
Proktitis, colitis post irradiationem	4	4.0
Hidronefroza	4	4.0
Leukopenia protrahens	1	1.0
Stenoza uretre ili uretera i Hidronefroza	2	2.0
Adhezije i ileus i Proktitis, colitis post irradiationem	1	1.0
Ukupno	58	57.4
Nedostajući podaci	43	42.6
Ukupno	101	100.0

4.6. Preživljavanje pacijentica koje su oboljele od karcinoma cerviksa

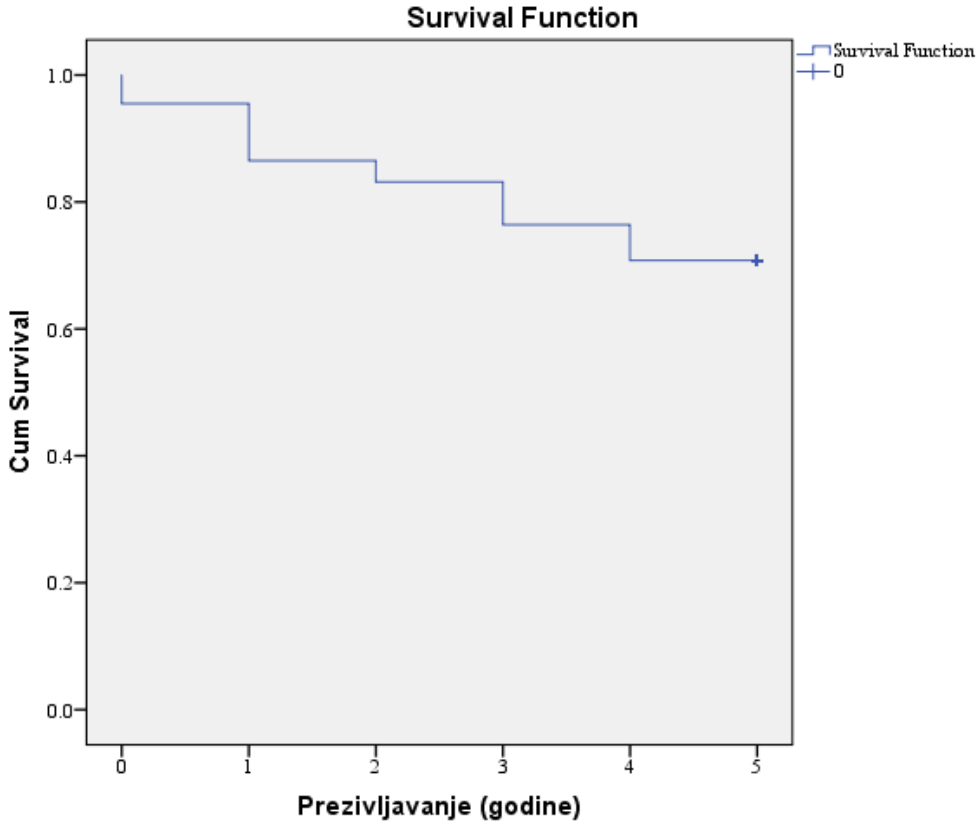
U našem istraživanju tokom perioda praćenja kraj studije je dočekalo ukupno 63 (70,8%) pacijentice, a preminulo je u toku praćenja ukupno 26 (29,2) pacijentica. Za 12 pacijentica nismo uspjeli pronaći pouzdane podatke, a koji se odnose na preživljavanje (tabela 60).

Tabela 60. Prikaz preživljavanja pacijentica oboljelih od CC.

Preživljavanje pacijentica	N	%	Validan %
Da	63	62.4	70.8
Ne	26	25.7	29.2
Ukupno	89	88.1	100.0
Nedostajući podaci	12	11.9	
Ukupno	101	100.0	

Praćenje je bilo minimalno 60 mjeseci (5 godina). Prosječno vrijeme praćenja pacijentica koje nisu preživjele je bilo 29,85 ± 17,724 mjeseca. Preživljavanje pacijentica u ispitivanom uzorku je 70.8%, a nakon: 12 mjeseci bilo je 95.5%; 24 mjeseca - 86.5%: 36 mjeseci - 83,1%; 48 mjeseci – 75.3% (slika 50). Kraj studije je dočekalo 63 pacijentice (70,8%).

Na slici 50 prikazana je Kaplan-Meier-ove kriva preživljavanja u cijelom uzorku u godinama (pacijentice su prosječno preživjele 4.124 godine).



Slika 50. Kaplan-Meier-ova kriva preživljavanja u cijelom uzorku u godinama

4.7. Prikaz Cox-ovog modela proporcionalnog rizika dejstva različitih parametara u analizi preživljavanja pacijentica sa karcinomom cerviksa

Cox-ov model proporcionalnog rizika dejstva različitih parametara u analizi preživljavanja pacijentica sa karcinomom cerviksa.

Multivarijantnom analizom Cox-ovim modelom proporcionalnih rizika ispitivani su modeli sastavljeni od varijabli koje su u univarijantnoj analizi pokazale značajan uticaj na preživljavanje pacijenatica.

Prvi model uključuje sljedeće varijable: invazija u limfne sudove, invazija u krvne sudove, limfni čvorovi metastatski izmjenjeni, interpretacija ukupne pozitivnosti u epitelnim ćelijama Wnt5A, i relaps bolesti.

Dobijena statistička značajnost ukazuje da je model koji uključuje izabrane varijable prihvatljiv, $\chi^2 = 39.944$ (6), $p = 0.000$.

Primjenom Cox-ove regresione analize na navedene varijable dobijene su pojedinačne statističke vrijednosti od kojih su se izdvojile dvije pojedinačne varijable:

Relaps bolesti (N = 53, Exp (B) = 108.834, CI = 11.139 – 1063.373) kao visoko statistički značajna na nivou $p < 0.01$ i

Relaps bolesti /mjesec/ (N = 53, Exp (B) = 0.926, CI = 0.866 – 0.990) kao statistički značajna na nivou $p < 0.05$.

B koeficijent kod varijable Relaps bolesti je pozitivan i ukazuje da prisustvo relapsa bolesti znači da je rizik od smrti veći, tj. prognoza preživljavanja za pacijente je lošija.

Kod varijable Relaps bolesti /mjesec/ je negativan i ukazuje da ranija pojava relapsa bolesti znači da je rizik od smrti veći, tj. prognoza preživljavanja za pacijente je lošija (tabela 61).

Tabela 61. Cox-ov model proporcionalnih rizika /model 1/

Ispitivane varijable	Koeficijent B (regresioni koeficijent)	Standardna greška (SE)	Statistička značajnost (p vrijednost)	Relativni rizik /Exp(B)/	95.0% interval povjerenja (CI) za Exp(B)	
					Donja granica	Gornja granica
Invazija u limfne sudove	.715	.853	.402	2.044	.384	10.866
Invazija u krvne sudove	.643	.631	.309	1.902	.552	6.556
Limfni čvorovi – loši	-.068	.068	.323	.935	.817	1.069
Interpretacija ukupne pozitivnosti u epitelnim ćelijama Wnt5A /grupe/	15.371	760.524	.984	4739567.164	.000	.
Relaps bolesti	4.690	1.163	.000	108.834	11.139	1063.373
Relaps bolesti /mjesec/	-.077	.034	.023	.926	.866	.990

Drugi model uključuje sljedeće varijable: invazija u limfne sudove, invazija u krvne sudove, limfni čvorovi – metastatski izmijenjeni, interpretacija ukupne pozitivnosti u epitelnim ćelijama Wnt5A i relaps bolesti.

Dobijena statistička značajnost ukazuje da je model koji uključuje izabrane varijable prihvatljiv, $\chi^2 = 29.997$ (5), $p = 0.000$.

Primjenom Cox-ove regresione analize na navedene varijable dobijene su pojedinačne statističke vrijednosti od kojih su se izdvojila pojedinačna varijabla: Relaps bolesti (N = 53, Exp (B) = 12.973, CI = 2.937 – 57.313) kao visoko statistički značajne na nivou $p < 0.01$. B koeficijent kod varijable Relaps bolesti je pozitivan i ukazuje da prisustvo relapsa bolesti znači da je rizik od smrti veći, tj. prognoza preživljavanja za pacijente je lošija (tabela 62).

Tabela 62. Cox-ov model proporcionalnih rizika /model 2/

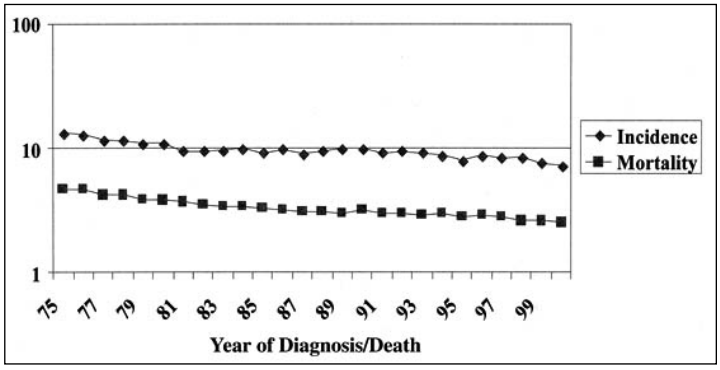
Ispitivane varijable	Koeficijent B (regresioni koeficijent)	Standardna greška (SE)	Statistička značajnost (p vrijednost)	Relativni rizik /Exp(B)/	95.0% interval povjerenja (CI) za Exp(B)	
					Donja granica	Gornja granica
Invazija u limfne sudove	.236	.883	.790	1.266	.224	7.150
Invazija u krvne sudove	.649	.603	.282	1.914	.587	6.237
Limfni čvorovi – loši	-.048	.063	.448	.953	.842	1.079
Interpretacija ukupne pozitivnosti u epitelnim ćelijama Wnt5A /grupe/	14.613	889.179	.987	2218937.924	.000	.
Relaps bolesti	2.563	.758	.001	12.973	2.937	57.313

5. DISKUSIJA

Naše istraživanje je obavljeno u periodu od januara 2006. do septembra 2018. godine i obuhvatilo je bioptičke materijale 101 pacijentice oboljelih od karcinoma grlića materice, a koje su operisane u Univerzitetskom Kliničkom centru Republike Srpske, Klinika za ginekologiju i akušerstvo. Analiza je urađena u Zavodu za patologiju i utvrđena je definitivna patohistološka dijagnoza bolesti, određeni su prognostički parametri i imunohistohemijskom analizom je utvrđena ekspresija faktora rasta.

Prosječna starost pacijentica je 51,11 godina. Najmlađa pacijentica kod koje je dijagnostikovan invazivni skvamozni karcinom je stara 29 godina, a najstarija je imala 76 godine. Prosječna starost žena kod kojih se dijagnostikuje invazivni karcinom u SAD-u iznosi 47 godina. Kod gotovo polovine slučajeva bolest se dijagnostikuje prije 35. godine života [90,91].

Karcinom grlića materice je po učestalostu četvrti zloćudni tumor kod žena u svijetu. Procjenjuje se da u svijetu 555 100 žena oboli od karcinoma grlića materice i 309 800 žena umre od ove bolesti svake godine. U SAD-u karcinom grlića materice je na trećem mjestu po učestalosti ginekoloških malignteta. Procjene su da je u 2008. godini u SAD-u oboljelo 11 070, a umrlo 3870 žena od karcinoma cerviksa [90]. Ovaj tumor je vodeći uzrok smrtnosti u zemljama u razvoju širom svijeta. Stope karcinoma grlića materice su ostale nepromijenjene godinama u mnogim siromašnim zemljama bez organizovanog screening programa, a u razvijenim zemljama, uključujući i SAD, broj slučajeva i broj smrtnih ishoda se permanentno smanjuje i nalazi se ispod 10 na 100 000 žena (slika 51). Razlog pada smrtnosti i obolijevanja od ovog karcinoma u drugoj polovini prošlog vijeka se pripisuje organizovanom screening programu u većini razvijenih zemalja [91,92].



Slika 51. Incidenca i smrtnost od karcinoma cerviksa u SAD-u

U SAD u 2018. godini dijagnostikovano je 13 000 novih slučajeva karcinoma grlića materice svih histoloških tipova, što odgovara stopi obolijevanja od 7,5 na 100 000 žena [5]. Stopa obolijevanja u SAD-u (Califoria) je 7,7 na 100 000, u Švedskoj 7,0 a u Hrvatskoj 11,5 i Srbiji 25,7 [91,92,93]. Stopa obolijevanja u Republici Srpskoj, prema podacima Instituta za javno zdravstvo iznosi 19,1 [9]. Incidenca karcinoma cerviksa se kreće od 4 do 14 u razvijenim zemljama, gdje je program skrininga razvijen i finansiran od strane država, a u nerazvijenim zemljama incidenca je i do 10 puta veća. Najviša incidenca dijagnostikovanja invazivnog karcinoma cerviksa je u Africi (subsaharska regija Afrike), Južna i Centralna Azija i dijelovi Južne Amerike [94].

Perzistentne HPV infekcje su odavno potvrđene kao osnovni uzrok i faktor rizika za nastanak invazivnog karcinoma cerviksa. Organizovani programi prevencije u razvijenim zemljama koji su usmjereni na otkrivanje promjena koje prethode nastanku invazivnog karcinoma (promjene u epitelu koje su povezane sa HPV infekcijom, displazije) su doveli do značajnog pada morbiditeta i mortaliteta od karcinoma cerviksa. Osnovna dijagnostička metoda je citološka tehnika ("PAPA TEST"). Ovaj način dijagnostikovanja je uspješan, s obzirom da je evolucija promjena od normalnog epitela do nastanka invazivnog karcinoma duga i traje nekoliko godina [95,96].

Ipak, poteškoće postoje zbog troškova povezanih sa screening programima, ograničene tačnosti citologije i komplikacija koje su povezane sa nepotrebnim tretmanima, što je podstaklo istraživanja i razvijanje novih, efikasnijih preventivnih testova za karcinom grlića materice. Tokom posljednjie dvije decenije postignut je značajan napredak u razumijevanju HPV infekcije i napredak u molekularnoj tehnologiji (dijagnostici). Razvijene su nove metode (tehnike) koje se koriste u screeningu samostalno ili zajedno sa citološkim tehnikama. Jedan od testova su HPV DNK testovi screeninga koji se uspješno koriste za trijažu i pouzdaniji su od citoloških tehnika [97].

Karcinom grlića materice se može dijagnostikovati u starosti od druge do desete decnije, sa najvećom incidencijom u dobi od 50 godina života [5,98]. Prosječna starost žena sa karcinomom cerviksa je između 49 i 51 godine [5,98]. Pacijentkinje sa invazivnim karcinomom grlića materice su u prosjeku starije 15 godina od pacijentica sa displastičnim lezijama u epitelu grlića materice [5].

U 2018. godini u svijetu je dijagnostikovano 570 000 slučajeva novih slučajeva i 311 000 smrtnih slučajeva. Četvrti je najčešći uzrok kancerske smrti poslije karcinoma kolorektuma, dojke i pluća.

Prosječna učestalost karcinoma grlića materice u svijetu je 13 na 100 000 žena. Značajne su varijacije među zemljama od 2 – 75 na 100 000 žena. Rak grlića materice je vodeći uzrok tumorske smrti u istočnoj, zapadnoj i srednjoj Africi. Kina i Indija čine jednu trećinu oboljelih od karcinoma grlića materice. U Kini je na godišnjem nivou dijagnostikuje 106 000 slučajeva i 48000 smrti na godišnjem nivou, a u Indiji 97 000 novodijagnotikovanih slučajeva i 60 000 smrti. Prosječna starost žena u vrijeme postavljanja dijagnoze je 53 godine, a kretala se od 44 do 68 godina. Prosječna starost žena u trenutku smrti u svijetu je 59 godina, a kreće se od 15 godina do 76 godina [99,100,101].

U našem istraživanju prosječna starost žena u trenutku smrti je bila 54,27 godina. Nešto je niža u odnosu na podatke iz dostupne svjetske literature o prosječnoj starosti pacijentica u trenutku smrti [5,99,100,101]. Ovo se može obrazložiti i selekcioniranim uzorkom (pacijentice koje su liječene operativnom tehnikom) i neki od stadijuma nisu uključeni u ovo istraživanje.

Prosječno vrijeme praćenja pacijentica u našoj studiji je 69,73 mjeseci. Prosječno vrijeme praćenja pacijentica koje su preživjele je bilo 86,19 mjesecci, a žena koje nisu dočekale kraj studije je bilo 29,85 mjeseci.

Za ukupno 89 pacijentica u vrijeme zaključivanja studije (20.09.2018. godine) imali smo podatak o ishodu, tj. da li su žive na dan provjere. Od ukupnog broja (89 pacijenticca) zaključivanje studije je dočekalo njih 63 (70,78%). U našem istraživanju, nešto veći prosjek je starosti kod pacijentica koje nisu doživjele kraj studije (54,27 godina), u odnosu na pacijentice koje su preživjele (50,33 godine).

Testirajući statističku značajnost nismo dobili razliku u godinama starosti za pacijentice koje su preživjele u odnos na one koje nisu ($t = -1.596$, $p = 0.114$).

Prosječno vrijeme u kome se dijagnostikuje CC je prilično niska u odnosu na druge vodeće malignitete, a što utiče na proporcionalno značajniji gubitak godina života [100,101,102]. Karcinom se u većini država dijagnostikuje kod žena u godinama kada su potpuno ekonomski aktivne i odgovorne za brigu o porodici [100,101,102].

Pored značajne razlike u incidenciji CC u različitim dijelovima svijeta i različitim zemljama, prisutna je razlika i u smrtnosti [103]. Rak grlića materice je i dalje vodeći uzrok smrti žena u 42 zemlje sa niskim standardom [101]. Najnižu stopu smrtnosti u evropskim zemljama ima Finska.

Ovakve rezlike u stopi smrtnosti su posljedica izloženosti različitim faktorima rizika, neujednačenom i neadekvatnom skriningu i efikasnom liječenju [104,105].

Prosjek godina u vrijeme smrti u svijetu je 59 a kreće se od 45 godina do 76 godina [101]. Karcinom grlića materice najčešće se dijagnostikuje u dobi od 35 do 44 godine. Oko 20% karcinoma se dijagnostikuje kod žena koje su starije od 65 godina. Obično se ovakvi slučajevi javljaju kod žena koje nisu bile redovne na ginekološkom pregledu. CC se rijetko dijagnostikuje kod žena mlađih od 20 godina [106].

Stopa petogodišnjeg preživljavanja žena koje boluju od CC u svijetu je oko 66%. Međutim, stope preživljavanja zavise od mnogo faktora kao što su rasa, nacionalnost, starost.

Za žene koje su bjelkinje petogodišnje preživljavanje iznosi 71% , a za crnkinje 58%. Za bjelkinje koje su mlađe od 50 godina petogodišnje preživljavanje iznosi 78%, a za crnkinje 46%. Stope preživljavanja zavise i od stadijuma u kome je dijagnostikovan karcinom grlića materice. Kada se karcinom dijagnostikuje u ranom stadijumu petogodišnje preživljavanje iznosi i do 92%. Ako se karcinom proširio na okolne organe i metastazirao u regionelne limfne čvorove (uznapredovali stadijum bolesti) stopa preživljavanja je 56%. Ako su prisutne metastaze u druge organe petogodišnje preživljavanje iznosi 17% [106].

U našem istraživanju petogodišnje preživljavanje je iznosilo 70,78%. Ovakvi podaci su ohrabrujući i bolji su od svjetskog prosjeka. Razlika u odnosu na prosjek u svijetu je posljedica veličine uzorka i selekcije pacijentica (pacijentice koje su uključene u studiju su bile operabilne u vrijeme dijagnoze tj. niži stadijum bolesti).

Prosječno vrijeme praćenja pacijentica je bilo 69.73 mjeseci sa minimalnim periodom praćenja od dva mjeseca i maksimalnim periodom praćenja od 144 mjeseca.

Za sve pacijentice koje su preživjele na dan zatvaranja studije (20. 9. 2018. god) prosječno vrijeme praćenja je bilo 86.19 mjeseci sa medijanom 85 mjeseci, a prosječno vrijeme praćenja pacijentica koje nisu preživjele je bilo 29,85 mjeseca (minimalni period praćenja je bio dva mjeseca, a maksimalni period praćenja je bio 59 mjeseci) sa medijanom 26.5 mjeseci.

Većina istraživača koja analizira različite faktore i njihov uticaj na prognozu i preživljavanje prate pacijentice u prosjeku 5 godina (60 mjeseci).

U našem istraživanju dijagnoza skvamocelularnog karcinoma je bila u 92,1% slučajeva, u 5,9% slučajeva utvrđena je dijagnoza adenoskvamoznog karcinoma, a u 2% slučajeva utvrđena je dijagnoza adenokarcinoma – endocervikalni tip.

Svjetska zdravstvena organizacija prema klasifikaciji iz 2014. godne diferencira tri kategorije invazivnog CC: skvamocelularni, adenokarcinom i „drugi epitelni tumori". „Drugi epitelni tumori" uključuju adenoskvamozni karcinom, adenoidno-bazalni karcinom, adenoidni cistični karcinom, nediferentovani karcinom, kao i neuroendokrine tumore [4]. Relativna učestalost pojedinih histoloških tipova varira i zavisi od zemlje do zemlje. Skvamocelularni karcinom je najčešći, a učestalost mu se kreće od 76% do 89%, adenokarcinom i adenoskvamozni karcinom su sa učestalosti između 10% i 24%, a svi ostali maligni epitelni tumori čine manje od 5% karcinoma grlića materice [4,5].

Naši rezultati se uklapaju u rezultate što se tiče histološkog tipa i njihove učestalosti. I u našem istraživanju najučestaliji histološki tip karcinoma je bio skvamocelularni karcinom.

U našem istraživanju kao jedan od značajnih prognostičkih parametrara smatrali smo da je gradus tumora. Najčešći je bio umjereni stepen diferentovanosti tumora u 74,3% slučajeva, loše diferentovan (gradus III) u 17,8% slučajeva i dobro diferentovan (gradus I) u 7,9 % slučajeva.

Prema rezultatima deskrpitivne statistike, lošiji ishod i preživljavanje su imale pacijentice sa gradusom III i gradusom II tumora, u odnosu na pacijentice sa gradusom I, ali primjenom statističkih testova nije dobijena statistički značajna razlika u preživljavanju.

Do sličnih rezultata su došli i brojni drugi istraživači. Većina studija nije dokazala povezanost histološkog gradusa tumora i dužine preživljavanja pacijentica oboljelih od CC [5,107]. Brojne studije su istraživale i druge parametre kao što su nuklearni gradus, stepen keratinizacije, mitotska aktivnost, način infiltracije, stepen infiltracije limfocitima, ali nisu dokazali prognostički značaj i uticaj na preživljavanje [5,107].

Našem istraživanju pratili smo maksimalnu dubinu invazije strome grlića materice. Dubina invazije u analiziranom materijalu se kretala od 1 mm do 66 mm. Prosječna dubina invazije kod svih ispitanica je iznosila 15,4 mm. Statističkom analizom utvrdili smo da je prosječna dubina invazije strome manja kod pacijentica koje su preživjele tokom perioda praćenja. Kod preživjelih pacijentica prosječna dubina invazije je iznosila 14,05 mm, a kod preminulih pacijentica 17,4mm. Statističkim testiranjem nismo dobili značajnu razliku u dužini preživljavanja, tj. dubina invazije u našem istraživanju nije uticala na dužinu preživljavanja pacijentica.

Nakon toga smo izvršili stratifikaciju pacijentica prema maksimalnoj dubini invazije, a što utiče na patološki stadijum bolesti. U radu smo izvršili podjelu prema dubini invazije na tri grupe.

Prvu grupu su čiile pacijentice sa invazijom do 3mm (FIGO IA1), drugu od 3,01 mm do 5 mm (FIGO IA2), i treću grupu su činile pacijentice sa invazijom većom od 5mm (sve pacijentice čiji je stadijum veći od FIGO IA2, a koje su hirurški tretirane). Našim istraživanjem je utvrđeno da je najveći broj pacijentica imao karcinom sa invazijom strome većom od 5 mm (91 pacijentica ili 90%).

Ovaj rezultat upućuje da se karcinom grlića materice kod nas dijagnostikuje u kasnijim stadijumima bolesti. Pacijentice koje su bile sa invazijom strome manjom od 3 mm, su sve preživjele okončanje studije, kao i većina pacijentica koje su imale invaziju strome do 5 mm (80%). Međutim, pacijentice kod kojih je invazija strome bila veća od 5 mm imale su stopu preživljavanja od 70,8%. Stratifikacija ni na ovaj način, nije uticala na rezultat statističkog testiranja, odnosno nije dobijena statistički značajna razlika u preživljavanju pacijentica, s obzirom na dubinu invazije strome grlića materice.

Klinička istraživanja ukazuju da karcinomi sa maksimalnom dubinom invazije do 3 mm i horizontalnim širenjem do 7 mm (superficijalni invazivni skvamocelularni karcinom - SISCC), bez invazije limfnih i krvnih sudova imaju dobru prognozu. U ovoj kategoriji tumori imaju jako nisku stopu metastatskih limfnih čvorova, recidivi su rijetki i rizik od smrti je mali. Ovakvim pacijenticama se obično predlaže konzervativni tretman kao što je konizacija ili trahelektomija. S druge strane, pacijentice sa invazijom strome preko 3 mm ili invazijom limfnih sudova treba tretirati radikalnom histerektomijom [1,3,5].

Dubina stromalne invazije je osnovni faktor za predviđanje ishoda bolesti kod pacijentica sa SISCC, s obzirom na rizik od pojave metastaza u limfne čvorove, rizika za pojavu recidiva i smrti (tabela 63). Metastaze u regionalne limfne čvorove su rijetke, kod pacijenata sa stromalnom invazijom do 3 mm, sa stopom manjom od 1%. Međutim, kod invazije od 3 mm do 5 mm, prosječna stopa prisustva metastaza u limfne čvorove iznosi 6%. Recidivi ili smrt od CC kod žena sa invazijom strome do 3 mm, a koje su liječene konizacijom ili običnom histerektomijom je izuzetno rijetko. Međutim, recidivi se pojavljuju u oko 4% slučajeva kod pacijentica čija je invazija strome od 3,1 mm do 5 mm, a manje od 2% bolesnica umre [3,5].

Tabela 63. Procenat metastaza u karlične limfne čvorove, recidiva i smrti u zavisnosti od dubine invazije strome grlića materice kod ranog invazivnog CC.

	Dubina invazije strome grlića materice		
	< 1mm	1mm - 3mm	3,1mm – 5mm
Metastaze u limfne čvorove	0.16%	0.75%	6.38%
Recidiv	0.45%	1.12%	4.09%
Smrt od CC	0.12%	0.50%	1.88%

Operisane pacijentice u našem materijalu su bile najčešće u stadijumu FIGO IB1. U stadijumu FIGO IB1 je bilo 53,5% pacijentica. Primjenom Kruskal Wallis-ovog testa dobijena je statistički značajna razlika (χ^2 = 8.144, p = 0.017) dužine preživljavanja pacijentica u odnosu na Figo stadijum tumora. Pacijentice koje su imale viši stadijum bolesti su kraće živjele u našem istraživanju.

Stopa preživljavanja pacijentica oboljelih od CC zavisi od mnogo faktora. Jedan od značajnih je stadijum bolesti u kojem je dijagnostikovan karcinom. Kada se dijagnostikuje u ranoj fazi, petogodišnje preživljavanje žena sa CC je 92%. Oko 44% karcinoma grlića materice se dijagnostikuje u ranoj fazi u SAD-u. Ako se karcinom dijagnostikuje u fazi kada su zahvaćeni okolni organi i/ili regionalni limfni čvorovi petogodišnje preživljavanje iznosi oko 56%. Ako su prisutne metastaze u udaljene organe petogodišnje preživljavanje je svega 17% [5,108].

U našem istraživanju invazija u limfne sudove bila je prisutna 57,4% slučajeva.

U analizi je utvrđeno da pacijentice kod kojih je verifikovana invazija limfnih sudova imaju lošiju prognozu, odnosno 80% pacijentica nisu doživjele kraj studije. Primjenom χ^2 testa uz korekciju prema Yates-u dobijena je visoko statistički značajna razlika (χ^2 = 7.665, p = 0.006) invazije u limfne sudove i preživljavanja pacijentica.

U našem istraživanju invazija krvnih sudova je bila prisutna 15,8% slučajeva.

Utvrđena je statistički značajna razlika u preživljavanju pacijentica kod kojih je verifikovana invazija krvnih sudova, u odnosu na pacijentice kod kojih invazija nije bila prisutna. Primjenom χ^2 testa uz korekciju prema Yates-u dobijena je statistički značajna razlika (χ^2 = 5.223, p = 0.022) invazije u krvne sudove i preživljavanja pacijentica.

Invazija limfnih i krvnih sudova (LVI) u literaturnim podacima je od 20% do 60% slučajeva.

Yoneda i saradnici u svom istraživanju su verifikovali limfovaskularnu invaziju kod 30% pacijentica [109]. Učestalost invazije raste sa dubinom invazije strome cerviksa [110]. Odnos između LVI i ishoda je manje poznat u odnosu na dubinu invazije i ishoda. Međutim, utvrđeno je da je LVI povezana sa pojavom recidiva, rezidualnom bolesti i prisustvom metastaza u limfne čvorove [5,110].

Zbog navedenog je potrebno pacijentice kod kojih je verifikovana LVI tretirati uz radikalnu histerektomiju i radikalnu karličnu limfonodektomiju [5,108,110] (tabela 64).

Tabela 64. Preporuke za tretman pacijentica u FIGO IA stadijumu karcinoma cerviksa.

Stadijum	Standardni tretman	Tretman predviđen za očuvanje fertilnosti
IA1, LVSI -, Margine i ECC negativni	Ekstrafascijalna histerektomija	Cervikalna konična resekcija
IA1, LVSI +, Margine i ECC negativni	Ekstrafascijalna histerektomija sa disekcijom pelvičnih limfnih čvorova	Cervikalna konična resekcija sa laparoskopskom disekcijom pelvičnih limfnih čvorova
IA2, LVSI -, Margine i ECC negativni	Modifikovana radikalna histerektomija sa disekcijom pelvičnih limfnih čvorova	Radikalna trahelektomija sa disekcijom pelvičnih limfnih čvorova
IA1 i IA2, Margine ili ECC pozitivni na H-SIL ili invaziju	Modifikovana radikalna histerektomija sa disekcijom pelvičnih limfnih čvorova, ako konična resekcija nije moguća	Ponovna cervikalna konična resekcija (rekonizacija)

U našem istraživanju regionalni limfni čvorovi su bili prisutni u analiziranom materijalu kod 96,04% pacijentica. U četiri slučaja nije rađena limfonodektomija regionalnih limfnih čvorova (stadijum tumora je bio FIGO IB1, odnosno pT1b1 - mikroinvazivni karcinom grlića materice). U svim ostalim slučajevima rađena je ekstirpacija regionalnih limfnih čvorova. Broj analiziranih limfnih čvorova se kretao od 0 do 56. Prosječan broj analiziranih limfnih čvorova je 25. Statističkim testiranjem, nije dobijena razlika u preživljavanju pacijentica s obzirom na broj odstranjenih limfnih čvorova.

Analizirali smo uticaj metastatski izmjenjenih limfnih čvorova na dužinu preživljavanja. Primjenom Mann-Whitney-evog testa dobijena je visoko statistički značajna razlika

(z = -2.639, p = 0.008) broja metastatski izmjenjenih limfnih čvorova između pacijentica koje su preživjele (N = 63, Md = 0.00) i pacijentica koje nisu preživjele (N = 26, Md = 1.00). Dakle, broj metastatski izmjenjenih limfnih ćvorova utiče na dužinu preživljavanja pacijentica sa CC.

Stadijum bolesti je najvažniji prognostički factor u CC. Histološki tip i histološki gradus imaju mali uticaj na prognozu i preživljavanje u većini studija.

Najznačajniji prognostički faktor kod žena sa IB i IIIA stadijem bolesti su veličina tumora, dubina invazije, prisustvo LVI i status limfnih čvorova [3,5,108]. Ovakvu tvrdnju smo i mi potvrdili našim istraživanjem.

Desetogodišnji period bez bolesti je bio prisutan kod 90% pacijentica IB stadijuma promjera <2 cm, 76% za tumore promjera 2,1 – 4 cm, 61% za tumore promjera od 4,1 – 5 cm i 47% za tumore >5cm. Slični rezultati su i sa tumorima koji su bili u stadijum IIA sa stopom preživljavanja 93%, 63%, 39% i 59% [5,111]. U GOG seriji pacijentice u stadijumu IB SCC koje su liječene hirurški, a čiji su tumori infiltrovali unutrašnju trećinu zida cerviksa petogodišnje preživljavanje bez progresije je bilo 98%, dok za one čiji su tumori infiltrovali vanjsku trećinu zida cerviksa preživljavanje bez progresije je bilo samo 63% slučajeva [107]. U istoj seriji GOG petogodišnje preživljavanje bez progresije bilo je kod 70% pacijentica koje su imale tumore sa LVI u poređenju sa 83% sa tumorima bez LVI [107]. Većina istraživača se slaže da je LVI nešto manje značajan prognostički faktor u poređenju sa veličinom tumora i dubinom invazije strome cerviksa. U seriji od 978 pacijentica sa tumorima u stadijumu IB – IIA, bez metastatskih limfnih čvorova medijana preživljavanja je bila 5,3 godine. Kod pacijentica koje su imale pozitivne karlične limfne čvorove medijana je bila 3,2 godine, a paraaortalne svega 1,3 godine [112]. Infiltracija parametrija je u korelaciji sa pojavom recidiva bolesti i kraćeg preživljavanja. U 69 slučajeva radikalne histerektomije koje su izvedene zbog CC u stadijumu IB i IIA invazija je verifikovana kod 31% kod tumora IB, odnosno 63% kod IB2, a 58% kod tumora IIA stadijuma. Preživljavanje je bilo značajno veće kod pacijentica bez invazije parametrija u odnosu na one pacijentice kod kojih je verifikovana infiltracija parametrija (100% u odnosu na 78%) [113].

Pozitivni rubovi resekcije su verifikovani u našem istraživanju kod četiri pacijentice (4,5%).

Primjenom Fisher-ovog testa nije dobijena statistički značajna razlika (p = 1.000) statusa rubova resekcije i preživljavanja pacijentica oboljelih od karcinoma grlića materice.

Status rubova resekcije u koničnim resekcijama je jako značajan u odlučivanju tretmana ranih invazivnih karcinoma cerviksa. U većini studija žene sa pozitivnim rubovima na koničnom resekatu (prisustvo SIL ili invazivnu bolesti) imaju značajno veću stopu rezidualne bolesti u histerektomijama koje su naknadno urađenje (od 36 – 54%) , u odnosu na žene sa negativnim marginama konusa (od 4% do 10%) [5,109,113].

Pozitivne margine su indikacija za reeksciziju ili histerektomiju, zbog mogućeg zaostajanja tumora koji može biti i sa većom invazijm u odnosu na dobijeni koničan isječak [5].

Terapija za karcinom grlića materice u stadijumu IA je zasnovana na izvještaju konične resekcije koji uključuje dubinu invazije, horizontalnu ekstenziju, prisustvo LVI, status margina i nalaz u kiretmanu endocervikalnog kanala. Terapija je dodatno individualizovana s obzirom na želju pacijentice za očuvanjem fertilne funkcije i mogućnosti za redovno praćenje. Podaci o riziku pojave nodalnih metastaza, recidiva i smrtnog ishoda za lezije sa infiltracijom strome do 3 mm, bez LVI su minimalne. U takvim slučajevima većina centara preporučuje jednostavnu histerektomiju. Međutim, žene koje žele da ostanu fertilne, tretman može biti konizacija, pod uslovom da prihvate minimalan rizik od recidiva bolesti i da se obavežu za dugotrajno praćenje [1,3,5].

Za tumore u stadijumu IA1, sa invazijom limfnih sudova indikovano je učiniti i disekciju limfnih čvorova uz histerektomiju ili koničnu resekciju. Histerektomija sa karličnom limfonodektomijom se trenutno smatra optimalnim tretmanom pacijentica sa IA2 stadijem skvamoznog karcinoma grlića materice. Kod žena koje žele da se očuvaju fertilnost preporučena je radikalna trahelektomija (amputacija grlića materice) i laparoskopska bilateralna karlična limfadektomija [14].

Ekspresija FLOT 2 u tumorskim ćelijama u našem istraživanju je bila prisutna u 81,2% slučajeva. Ekspresija je bila umjerenog ili visokog stepena (2+ i 3+). Analizirali smo uticaj ekspresije FLOT 2 na preživljavanje pacijentica oboljelih od CC.

Preživljavanje pacijentica kod kojih je interpretacija ukupne pozitivnosti u tumorskim ćelijama FLOT2 bila negativna (0) statistički se značajno razlikuje (Log Rank test = 6.178; p = 0.013) od preživljavanja pacijentica kod kojih je interpretacija ukupne pozitivnosti u tumorskim ćelijama FLOT2 bila pozitivna.

Ekspresija FLOT 2 utiče značajno na preživljavanje pacijentica sa CC. Veća ekspresija ukazuje na povoljnu prognozu i duže preživljavanje pacijentica sa karcinomom cerviksa.

Analizirali smo uticaj FLOT 2 ekspresije na dužinu preživljavanja pacijentica koje su umrle u toku studije.

Dužina preživljavanja pacijentica koje su umrle tokom trajanja studije kod kojih je interpretacija ukupne pozitivnosti u tumorskim ćelijama FLOT2 bila negativna (0) statistički se ne razlikuje (Log Rank test = 0.478; p = 0.490) od prosječnog preživljavanja pacijentica kod kojih je interpretacija ukupne pozitivnosti u tumorskim ćelijama FLOT2 bila pozitivna.

Dakle, možemo zaključiti da ekspresija FLOT 2 u tumorskim ćelijama ukazuje da žene imaju veću vjerovatnoću da prežive duže od 5 godina. Ekspresija FLOT 2 nije imala značajnijeg uticaja na dužinu preživljavanja kod pacijentica koje su umrle u periodu praćenja (5 godina).

Liu i saradnici (2015) su istraživali klinički značaj ekspresije FLOT 2 u karcinomu grlića materice. Utvrdili su da je veća ekspresija FLOT 2 prisutna u tumorskim ćelijama u odnosu na netumorske ćelije u okolini. Takođe su utvrdili da je povećana ekspresija povezana sa stadijem tumora, diferencijacjacijom tumora, te prisustvom metastaza u limfnim čvorovima. Dokazali su da je visoka ekspresija FLOT 2 povezana sa lošijim ishodom (preživljavanjem) pacijentica sa karcinomom grlića materice [48].

Hazarika i saradnici su zaključili da je povećana ekspresija FLOT2 povezana sa progresijom melanoma i transformacijom ćelija SB2 melanoma u visoko metastatsku ćelijsku liniju [51]. Doherty i saradnici su prikazali da je visoka ekspresija FLOT2 povezana sa metastazama u limfne čvorove i Breslow debljinom u melanomu [115]. Međutim, uloga FLOT2 u raku grlića materice ostaje nepoznata [48].

Liu i saradnici smatraju da FLOT 2 može da reguliše rast, diferencijaciju i sklonost metastaziranju tumorskih ćelija karcinoma grlića materice, što podržavaju i dokazi Wang-a i saradnika koji su dokazali da je prekomjerna ekspresija FLOT 2 povezana sa kliničkim stadijumom, histološkom diferencijacijom i ekspresijom tirozin kinaznog receptora ErbB2 u karcinomu dojke [48,116].

Prema tome, FLOT2 može regulisati rast, diferencijaciju i metastazu ćelija karcinoma grlića materice, što podržavaju Wang i sar., koji su dokazali da je prekomjerna ekspresija FLOT2 povezana sa kliničkim stadijumom, histološkom diferencijacijom i tirozin kinazom ekspresijom receptora ErbB2 kod karcinoma dojke [116].

Istraživanje Liu i saradnika ukazuje da FLOT 2 u karcinomu grlića materice ima prognostički značaj. Utvrdili su da FLOT 2 ekspresija je povezana sa lošijim ishodom (preživljavanjem) i preživljavanjem bez recidiva [48].

Lin i saradnici su utvrdili da FLOT 1 stimuliše ćelijsku proliferaciju tumorogenost te korelira sa lošim preživljavanjem bolesnika sa karcinomom dojke [117].

Song i saradnici su dokazali da FLOT 1 stimuliše proliferaciju tumorskih ćelija i povezan je sa stadijumom bolesti i vremenom preživljavanja kod skvamocelularnog karcinoma jednjaka [118]. Ova istraživanja ukazuju da se FLOT 2 može upotrijebiti kao prognostički marker u karcinomu grlića materice [48].

FLOT2 je široko rasprostranjen u organizmu i uključen je u progresiju tumora, endocitozu i interreakciju raznih proteinskih molekula. FLOT2 inhibira ćelijsku proliferaciju, migraciju i invaziju karcinoma želuca [56]. FLOT2 pokazuje visoku ekspresiju u skvamocelularnom kracinomu usne šupljine [87], nazofaringealnom karcinomu [119], i nemikrocelularnom karcinomu pluća [120].

Blokada FLOT2 inhibira proliferaciju, migraciju i invaziju kod karcinoma bubrežnih ćelija [53]. Hiperekspresija FLOT2 stimuliše rast i metastaze hepatocelularnog karcinoma regulacijom ćelijskog ciklusa i indukujući epitelno-mezenhimalni prelaz [121]. Blokiranje FLOT2 inhibira rast i invaziju skvamocelularnog karcinoma jednjaka [122]. Targetiranje FLOT2 sa Akt signalnim putem, miR-133 i miR-485 inhibira metastaze u plućima [123,124].

miR-34 inhibira ćelijsku proliferaciju u melanomu i metastaze direktnim targetiranjem FLOT2 gena [125]. Rezultati studije Wang-a i saradnika ukazuju da je nivo ekspresije FLOT2 u ćelijama osteosarkoma značajno prisutan [126]. Proliferacija, migracija i invazija tumorskih ćelija osteosarkoma mogu se inhibirati smanjenjem ekspresije FLOT2. Za target regulisanje preko miR-34-5p i FLOT2 u studiji su utvrdili da miR-34-5p inhibira proliferaciju, migraciju i invaziju ćelija osteosarkoma i možda je povezano smanjenjem ekspresije FLOT2, te može biti meta za dijagnozu i liječenje osteosarkoma [126].

Li i saradnici su ispitivali značaj ekspresije FLOT2 u karcinomu debelog crijeva.

Utvrdili su da je povećana ekspresija FLOT2 povezana sa dubinom invazije, metastazama u limfne čvorove, prisustvom udaljenih metastaza. Takođe su statističkom analizom utvrdili da je hiperekspresija FLOT2 nezavisan prognostički faktor u karcinomu debelog crijeva. Zaključili su da povećana ekspresija FLOT2 doprinosi progresiji karcinoma debelog crijeva i pojavi metastaza [127]. Utvrdili su da stepen ekspresije FLOT2 zavisi i

od histološkog tipa karcinoma debelog crijeva. Ekspresija je bila visoka u većini mucinoznih karcinoma debelog crijeva (25/28) sa metastazama [127].

Huang i saradnici u svom istraživanju su dokazali da je povećana ekspresija FLOT2 u gliomima povezana sa stepenom malignosti i veličinom tumora, te da je povezana sa lošom prognozom. Ukazali su da FLOT2 može predstavljati novi prognostički biomarker i terapijski cilj kod pacijenata oboljelih od glioma [128].

U našem istraživanju ekspresija Wnt5A u tumorskim ćelijama je bila prisutna u 70,3% slučajeva. Ekspesija je najčešće umjerenog (38,6%) ili visokog (31,7%) intenziteta. Ispitivali smo uticaj ekspresije Wnt5A u tumorskim ćelijama CC na preživljavanje pacijentica. Uočili smo da je veća vjerovatnoća smrtnog ishoda kod pacijentica sa tumorima koji pokazuju ekspresiju Wnt5A (30,8%) u odnosu na pacijentice sa odsustvom imunološke reakcije, a verovatnoća smrtnog ishoda je manja (19%).

Negativnu interpretaciju ekspresije Wnt5A je imala 21 pacijentica, od kojih je 17 (81%) preživjelo, a četiri nije, a od 65 pacijentica koje su imale pozitivnu interpretaciju ekspresije Wnt5A tumorskih ćelija njih 45 (69.2%) je preživjelo, a 20 (30.8%) nije preživjelo. Na osnovu rezultata deskriptivne statistike može se reći da veću vjerovatnoću smrtnog ishoda i lošiju prognozu imaju pacijentice čiji tumori pokazuju visoku ekspresiju Wnt5A (od 65 pacijentica, kraj studije nije dočekalo 20 pacijentica čiji tumori su imali visoku ekspresiju), ali statistički nije dobijena značajna razlika. Primjenom Fisher-ovog testa nije dobijena statistički značajna razlika ($p = 0.405$) s obzirom na prisustvo i stepen ekspresije Wnt5A u tumorskim ćelijama i preživljavanja.

Lin i saradnici u svom istraživanju su dokazali da postoji povećana ekspresija Wnt5A u tumorskom tkivu karcinoma grlića materice u odnosu na okolna normalna tkiva. Ekspresija Wnt5A je usko povezana sa metastazama u limfne čvorove. Statistička analiza je ukazala da je povećana ekspresija Wnt5A povezana sa kraćim preživljavanjem i češćom rekurencijom (povratom bolesti) kod pacijentica sa karcinomom grlića materice.

Takođe, dokazali su da je ekspresija Wnt5A nezavisni prognostički parameter kod pacijenata sa karcinomom grlića materice [37].

Wnt signalni put igra značajnu ulogu u embrionalnom razvoju i homeostazi tkiva, a put Wnt/Ca2+ uključen je u adheziju i migraciju ćelija tokom gastrulacije [129]. Takođe istraživanja pokazuju da su Wnt/Ca2+ put uključeni u pojavu matičnih ćelija tumora i karcinogenezu [130]. Wnt5A je identifikovan kao Wnt/Ca2+ signalni protein.

Nekoliko studija je opisalo značajnu ulogu Wnt5A u nastanku i metastaziranju tumora, doprinoseći invaziji i migraciji tumorskih ćelija [131]. Međutim, tačna uloga Wnt signalnih puteva u nastanku karcinoma nisu dovoljno jasne.

Rezultati studija i brojnih autora ukazuju na onkogenu ulogu Wnt signalizacije u karcinomu grlića materice [37]. Peng i saradnici su dokazali da ekspresija Wnt5A predviđa loš klinički ishod bolesnica sa karcinomom jajnika, te da ima značajnu ulogu u uticaju na hemosenzitivnost na antikancerske lijekove u ćelijama karcinoma jajnika [132].

Da Forno i saradnici su dokazali da citoplazmatska ekspresija Wnt5A je bila povezana sa progresijom melanoma. Visoka citoplazmatska ekspresija predstavlja nezavisni faktor rizika za smanjenje perioda do pojave metastaza u melanomu i ukupno preživljavanje pacijenata [133]. Hang i saradnici su ukazali da ekspresija gena Wnt5A korelira sa proliferacijom i angiogenezom u nemikrocelularnom karcinomu pluća, te da je status Wnt5A značajan prognostički faktor u ovim karcinomima [134].

Syed Khaja i saradnici, nasuprot većini drugih autora, opisali su da hiperekspresija Wnt5A povezana sa boljim kliničkim ishodom u slučajevima lokalizovanog karcinoma prostate [135].

Kurayoshi i saradnici su dokazali da je ekspresija Wnt5A povezana sa agresivnošću karcinoma želuca, time što stimulišu migraciju i invaziju strome tumorskim ćelijama [136].

Naši rezultati su uglavnom u saglasnosti sa rezultatima drugih autora kada je u pitanju citoplazmatska hiperekspresija Wnt5A. Značajan je faktor koji ukazuje na lošiju prognozu i kraće preživljavanje pacijentica sa karcinomom cerviksa. Svakako, potrebne su dalje studije i na tumorima drugih lokalizacija kako bi se u cjelosti razjasnio molekularni mehanizam Wnt5A u nastanku i progresiji tumora.

U istraživanju smo vršili analizu ekspresije ROR2 u tumorskim ćelijama. Ekspresija je bila prisutna u 62,4% slučajeva. Ekspresija ROR2 u našem istraživanju ne utiče na preživljavanje pacijentica sa CC. Primjenom χ^2 testa, uz korekciju prema Yates-u, nije dobijena statistički značajna razlika (χ^2 = 0.006, p = 0.940) interpretacije ukupne pozitivnosti u tumorskim ćelijama ROR2 i preživljavanja.

Sun i saradnici su prikazali povećanu ekspresiju ROR2 u tumorskim ćelijama karcinoma grlića materice u poređenju sa ekspresijom u okolnim normalnim tkivima grlića materice.

Dokazali su da postoji korelacija između stepena ekspresije ROR2 i stadijuma tumora i prisustva metastaza u limfnim čvorovima.

Uz navedeno, utvrdili su da visoka ekspresija ROR2 predviđa lošu prognozu kod pacijentica sa CC. Takođe, dokazali su da ROR2 predstavlja nezavisni prognostički faktor za oboljele od CC i ukazali da ovakvi rezultati mogu poboljšati dijagnostiku i liječenje CC [72].

Brojna istraživanja su ukazala da ROR2 kao receptorski protin kinaza uključen u nekoliko karcinoma uključujući karcinom debelog crijeva, melanom, karcinom želuca, dojke i bubrega [77,137]. Novija istraživanja ukazuju da je ROR2 receptor za Wnt5A [138]. Imunohistohemijskom metodom dokazano je da je ROR2 uglavnom lokalizovan u citoplazmi tumorskih ćelija grlića materice, dok su jedra i membrana uglavnom pokazivala nisku ekspresiju. Dokazali su da je visoka ekspresija ROR2 bila u korelaciji sa lošijim ukupnim preživljavanjem i pojavom recidiva bolesti [72].

Mei i saradnici ukazuju da je ekspresija ROR2 povezana sa malignim atributima kolorektalnog karcinoma i može poslužiti kao pokazatelj loše prognoze kod bolesnika sa kolorektalnim karcinomom [138]. Wright i saradnici su prikazali da je ekspresija ROR2 povezana sa ekspresijom gena koji su uključeni u proizvodnju ekstracelularnog matriksa i da ROR2 može uticati na potencijal rasta karcinoma bubrežnih ćelija [75]. Edris i saradnici su dokazali da je ROR2 novi prognostički parametar u kliničkom liječenju lejomiosarkoma i gastrointestinalnog stromalnog tumora i može predstavljati novi terapijski cilj u tretmanu ovih tumora [78]. Međutim, Ford i saradnici su ukazali da ROR2 ima dvostruku ulogu, ili kao tumor supresor ili kao aktivator, zavisno o vrsti tumora [139]. Isto su potvrdili Gegn i saradnici koji su utvrdili da Wnt5A i ROR2 mogu služiti kao tumor supresorski geni u hepatocelularnom karcinomu. Ova istraživanja ukazuju na specifične i različite uloge ROR2 u različitim malignitetima [83]. Lu i saradnici su objavili da ekspresija Wnt5A i ROR2 korelira sa težinom i ishodom kod bolesnika sa osteosarkomom [140].

U liječenju skvamocelularnog karcinoma cerviksa primjenjuju se tri osnovna modaliteta liječenja, a to su: hirurški, radioterapija i hemoterapija ili kombinovana terapija (kombinacija naprijed navedenih modaliteta). U novije vrijeme ciljane terapijske procedure se pokazuju uspješnim u tretmanu bolesti [5].

U našem istraživanju u liječenju CC su korišćene hirurške terapijske procedure kod svih pacijentica, a vrsta hirurške intervencije je zavisila od stadijuma bolesti,

te od želje paijentice da sačuva fertilnost. Uz hiruršku terapiju kod nekih je dodatno korišćena radioterapija i/ili hemoterapija, takođe zavisno od stadijuma bolesti.

Najčešća terapijska procedura koja je korišćena u našem istraživanju je bila kombinovana terapija hirurška + radioterapija + hemoterapija kod 40 pacijentica (61,5%). Podatke o dodatno korišćenoj terapiji nismo mogli dobiti za 36 pacijentica, te one nisu uključene u statističku obradu u ovom dijelu istraživanja.

Analizirali smo odnos primjenjenih terapijskih procedura i preživljavanja. Najlošiji ishod su imale pacijentice kod kojih je korišćena kombinovana terapija hirurška + radio + hemoterapija. Procenat preživjelih pacijentica u periodu praćenja je bio 61,8%.

Nije dobijena statistički značajna razlika u preživljavanju s obzirom na primjenjenu terapiji (Log Rank test = 4.673; p= 0.197) u primijenjenoj terapiji između pacijentica koje su preživjele i koje nisu.

Opcije liječenja za tumore u stadijumu IA su već ranije prikazane u diskusiji (tabela 64). Pacijentice u stadijumu IB i IIA koje su tretirane radioterapijom ili radikalnom hirurškom terapijom (radikalna histerektomija + bilateralna pelvična limfadenektomija) + hemoterapija imale su iste rezultate, a s obzirom na relaps bolesti i preživljavanje [5]. Za stadijume od IIB do IVA u tretmanu je predviđena hemoiradijacija brahiterapijom, a za stadijum IVB tretman podrazumjeva primjenu hemoterapije. Hemoterapija u karcinomu grlića materice podrazumjeva primjenu različitih režima. Većina koristi ili cisplatin samostalno ili u kombinaciji sa drugim lijekovima [1,3,5].

Za pacijentice koje žele da sačuvaju fertilitet, a koje boluju od karcinoma u stadijumu IA2 i IB1, naročito onih koji su promjera <2cm, radikalna trahelektomija u kombinaciji sa laparoskopskom pelvičnom limfonodektomijeom je široko prihvaćena opcija liječenja. Petogodišnje preživljavanje žena kod kojih je učinjena radikalna trahelektomija u odnosu na histerektomiju je 92%, odnosno 91%. Trudnoća, nakon radikalne trahelektomije je verifikovana kod 88%, a u 66% rezultirale su uspješnim porodom žive bebe [141].

Recidivi bolesti se obično pojavljuju nakon 2 godine od početne terapije. Hemoterapija se koristi za bolesnike sa metastatskim ili recidivirajućim karcinomom koji su ranije liječeni hirurški ili radioterapijom.

Stope odgovora na hemoterapiju koja je bazirana na primjeni cisplatina u tretmanu recidiva ili kasnog stadijuma tumora se kreću od 20% do 30%, a ukupno preživljavanje je manje od 10 mjeseci. U ovoj fazi bolesti umre 85% pacijentica i to u roku od 3 godine od postavljene dijagnoze. Efektivne metode liječenja su ograničene za karcinome u odmaklom stadijumu: ciljane terapijske procedure se trenutno istražuju, a do sad nisu našle širu primjenu [1,3,5].

Petogodišnje preživljavanje za pacijentice koje su liječene prema prihvaćenim protokolima u zavisnosti od stadijuma bolesti je za stadijum I 95%, za stadijum II 60 – 80%, za stadijum III 37% i za stadijum IV manje od 20%. Stope preživljavanja su manje ukoliko su prisutne metastaze u limfne čvorove i preživljavanje zavisi od broja metastatski izmjenjenih limfnih čvorova [142].

Brojne studije su ispitivale imunohistohemijsku ekspresiju potencijalnih terapijskih ciljeva u skvamocelularnom karcinomu grlića materice, kao što su ekspresija ciklooksigenaze 2 (COX-2), EGFR (HER1) i vaskularog endotelnog faktora rasta (VEGF) [5].

Uprkos obećavajućim biološkim mehanizmima, u drugoj fazi kliničkog ispitivanja specifičnih inhibitora COX-2 kao radiosenzibilizatora u lokalno uznapredovalom karcinomu grlića materice, pokazalo se da je veća toksičnost, a terapijski efekat nije promijenjen u odnosu na dosadašnje primjenjene modalitete [143].

EGFR inhibitori poput cetuksimaba (monoklonalnog antitijela koje se veže za EGFR), takođe se nisu pokazali kao značajni u kliničkim ispitivanjima [144]. Intratumorski nivo VEGF proteina je veći u odnosu na normalna tkiva grlića materice u okolini tumora i u II fazi kliničkog ispitivanja bevacizumab (Avastin®), rekombinantno, humanizovano anti-VEGF monoklonalno antitijelo pokazalo se kao dobra opcija u drugoj ili trećoj liniji kod pacijentica sa recidivirajućim karcinomom grlića materice [145].

Najnoviji pristup je usmjeren na T ćelijske inhibitore. Blokiranjem inhibitornih molekula ovi agensi utiču na povećavanje T ćelijskog antikancerskog odgovora. Nekoliko kliničkih ispitivanja je u toku, uključujući i studije faze II za pacijente sa karcinomom grlića materice, vulve i analne regije primjenom pembrolizumaba (Keytruda®),

koje predstavlja PD-1 antitijelo. Takođe i studija faze I/II za pacijente sa karcinomom grlića materice, vulve i vagine koji je povezan sa virusnom infekcijom koristi se novolumab (Opdivo®), takođe PD-1 antitijelo.

Studija faze I uključuje pacijente sa lokalno uznapredovalim karcinomom grlića materice uz primjenu hemoiradijacije uz ipilimumab (Yervoy®), anti-CTLA 4 antitijela [146].

U našem istraživanju smo utvrđivali imunohistohemijskim tehnikama ekspresiju receptora FLOT2, Vnt5A, i ROR2. U istraživanju nismo utvrdili značaj u prognozi i preživljavanju pacijentica koje su imale visoku ekspresiju u odnosu na one koje nisu imali ekspresiju ovih receptora.

Rezultate istraživanja treba interpretirati sa oprezom, s obzirom da se radi o istraživanju u okviru jedne institucije, kao i o tome da se radi o malom, selektovanom uzorku (uzorak su činile pacijentice koje su bile operabilne u vrijeme dijagnostikovanja bolesti). Napore za utvrđivanje specifičnih "meta" na koje bi djelovala terapijska sredstva treba nastaviti i intenzivirati, s obzirom na značaj u morbiditetu i mortalitetu od CC.

Relaps bolesti u našem istraživanju je evidentiran kod 27,8% (15) pacijentica. Samo dvije pacijentice su preživjele i doživjele kraj studije. Primjenom χ^2 testa, uz korekciju prema Yates-u, dobijena je visoko statistički značajna razlika (χ^2 = 23.365, p = 0.000) u preživljavanju pacijentica u odnosu na prisustvo relapsa bolesti.

Prosječno vrijeme preživljavanja pacijentica koje nisu imale relaps bolesti je 54.82 mjeseca, a kod pacijentica kod kojih je bio prisutan relaps bolesti je 32.27 mjeseca. Kod pacijentica koje su imale relaps bolesti medijana preživljavanja je 27 mjeseci.

Brojna druga istraživanja ukazuju na veliki značaj povrata (relapsa) bolesti na prognozu pacijentica sa CC [5]. Hanprasertpong i Jiamset su u svom istraživanju koje je bilo provedeno na 307 pacijentica koje su bile u ranom stadijumu CC utvrdili da je relaps bolesti bio prisutan u 5,9 % slučajeva. Takođe, utvrdili su da je pojava kasnog relapsa bolesti bila povezana sa statusom limfnih čvorova i dubinom stromalne invazije [147].

Relaps bolesti zavisi od stadijuma. Okvirno relaps u stadijumu IA1 je prosječno oko 1%, nešto je veći u slučaju limfovaskularne invazije i iznosi 3,1%, a bez svega 0,6%. Smrtnost u ovom stadijumu iznosi 0,5%. U stadijumu IA2 relaps bolesti se javlja kod pacijentica u 4% do 6%. Rizik od pojave relapsa je mnogo veći ukoliko postoji LVI i iznosi 15,7%, a ukoliko LVI nije prisutna relaps se pojavljuje u 1,7% slučajeva [148].

6. ZAKLJUČCI

1. Karcinom cerviksa najčešće se dijagnostikuje kod žena starosti od 40 do 60 godina.

2. Najčešći tip operacije je bio radikalna histerektomija sa pelvičnom limfadektomijom (97% slučajeva).

3. Invazivni skvamocelularni karcinom je dijagnostikovan u 92% slučajeva, umjerenog stepena diferencijacije u 74,3%, sa dubinom invazije strome cerviksa >5mm kod 90% pacijentica, u stadijumu FIGO IB1 kod 53,5% pacijentica. Invazija u limfne sudove je utvrđena kod 57,4% pacijentica, u krvne sudove kod 15,8%, sa metastazama u limfne čvorove kod 37% ispitanica, a pozitivni rubovi resekcije su uočeni kod 4,5 % pacijentica.

4. Ekspresija faktora rasta u tumorskim ćelijama je najčešće je bila prisutna i visokog intenziteta: FLOT2 u 81,2% slučajeva, Wnt5A u 70,3% slučajeva, ROR2 u 62,4% slučajeva.

5. Preživljavanje pacijentica oboljelih od karcinoma grlića materice nakon pet godina praćenja u našoj studiji je bilo 70,8%.

6. Na dužinu preživljavanja u našem istraživanju su uticali: tip hirurške intervencije, FIGO stadijum bolestu, pTNM stadijum bolesti, invazija limfnih sudova, invazija krvnih sudova, broj metastatskih limrnih čvorova, ekspresija FLOT2 u tumorskim ćelijama, primjenjene vrste terapije i povrat (relaps) bolesti.

7. Kao nezavisni prognostički faktori u našem istraživanju su se pokazali: invazija u limfne sudove, invazija u krvne sudove, metastatski izmjenjeni limfni čvorovi i ekspresije FLOT2 u tumorskim ćelijama.

7. LITERATURA

1. Hoffman B, Schorge JO, KD, Halvorson KD, Schaffer JI, Corton MM. Williams gynecology. Third edition. New York: McGraw-Hill Education, 2016.
2. Berek JS. Berek & Novak' s Gynecology. 14th edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007.
3. Berek JS, Hacker NF. Berek & Hacker's Gynecologic Oncology. Sixth Edition. Philadelphia: Wolters Kluver, 2015.
4. Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS, Young RH. WHO classification of tumors of female reproductive organs. 4th Edition. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2014.
5. Kurman RJ, Hedrich Elleson L, Ronnett BM. Blaustein's Pathology of female genital tract. Seventh edition. New York: Springer, 2019.
6. Abed Z, O'Leary M, Hand K. Cervical screening history in patients with early stage carcinoma o the cervix. Ir Med J 2006 may; 99 (5):140 – 2.
7. Jones EE, Wells SI. Cervical cancer and human papillomaviruses: inactivation o retinoblastoma and other tumor suppressor pathways. Curr Mol Med 2006; 6(7):795 – 808.
8. Clement PB, Yung R. Atlas of gynecologic surgical pathology. Third edition. London: Elsevier Saunders, 2014.
9. Stanić S, Bojanić J, Stojisavljević D, Danojević D, Gavrić Ž, Kvaternik M. i sar. Publikacija o zdravstvenom stanju stanovništva za 2009. godinu. Banja Luka: Institut za zaštitu zdravlja Republike Srpske, 2010.
10. DeCherney AH, Nathan L, Goodwin M, Laufer N. Current Diagnosis & Treatment Obstetrics & Gynecology. Tenth Edition. California: McGraw-Hill´s Access Medicine, 2007.
11. DiSaia PJ, Creasman WT. Clinical Gynecologic Oncology. Seventh edition. Philadelphia: Mosby Elsevier, 2007.
12. Amin MB. AJCC Cancer Staging Manual. Eighth Edition. New York: Springer, 2017.
13. Lester SC. Manual of surgical pathology. Third edition. London: Elsevier Saunders, 2010.

14. Sobin LH, Gospodarovicz MK, Wittekind C. TNM classification of malignant tumours. Seventh edition. Oxford: Wiley-Blackwell, 2010.
15. Edge SB, Frity AG, Byrd DR, Greene FL, Trotti A, Compton C. Cancer staging manual. Seventh edition. New York: Springer, 2010.
16. Ault KA. Vaccines for the prevention of human papillomavirus and associated gynecologic diseases: a review. Obstet Gynecol Surv 2006;61(6 Suppl 1):S26.
17. Gajanin Ž. Ekspresija $p16^{INK4a}$ u inflamacijskim, preneoplastičnim i eoplastičnim promjenama cerviksa uterusa – klinički značaj [Magistarski rad]. Banja Luka: Univerzitet u Banjoj Luci, Medicinski fakultet, 2013.
18. Hricak H, Gatsonis C, Chi DS, Amendola MA, Brandt K, Schwartz LH, et al: Role of imaging in pretreatment evaluation of early invasive cervical cancer: results of the intergroup study American College of Radiology Imaging Network 6651-Gynecologic Oncology Group 183. J Clin Oncol 2005;23:9329.
19. Landoni F, Maneo A, Cormio G, Perego P, Milani R, Caruso O, Mangioni C. Class II versus class III radical hysterectomy in stage IB–IIA cervical cancer: A prospective randomized study. Gynecol Oncol 2001;80:3.
20. Slavchev B, Markov P, Slavov S. Laterally extended parametrectomy in cases with cervical carcinoma. Akush Ginekol (Sofiia) 2011; 50(5):24-30.
21. Rotman M, Sedlis A, Piedmonte MR, Bundy B, Lentz SS, Muderspach LI, Zaino RJ. A phase III randomized trial of postoperative pelvic irradiation in stage IB cervical carcinoma with poor prognostic features: follow-up of a gynecologic oncology group study. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2006;65:169.
22. Cui RR, Chen L, Tergas AI, Hou Jy, St Clair CM, Neugut AI, Ananth CV, Hershman DI, Wright JD. Trends in Use and Survival Associated With Fertility-Sparing Trachelectomy for Young Women With Early-Stage Cervical Cancer. Obstet Gynecol 2018 June; 131(6): 1085–1094.
23. Costales A, Michener C , Escobar-Rodriguez PF. Radical Trachelectomy for Early Stage Cervical Cancer. Curr Treat Options Oncol. 2018 Nov;19(12):75.
24. Plante M, Renaud MC, Hoskins IA, Roy M. Vaginal radical trachelectomy: A valuable fertility-preserving option in the management of early-stage cervical cancer. A series of 50 pregnancies and review of the literature. Gynecol Oncol 2005;98(1):3.

25. Chen Y, Xu H, Zhang Q, Li Y, Wang D, Liang Z. A fertility-preserving option in early cervical carcinoma: laparoscopy-assisted vaginal radical trachelectomy and pelvic lymphadenectomy. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2008; 136(1):90-3.
26. Plante M. Vaginal radical trachelectomy: an update. Gynecol Oncol 2008; 111(2 Suppl):S105-10.
27. Zou W, Hu C, Feng Y, Wang J. Treatment Protocols for Patients With Stage IB2, IIA, or IIB Squamous Cervical Cancer. J Clin Oncol 2018 Sep; 36 (27), 2811-2812.
28. Gupta S, Maheshwari A, Parab P, Mahantshetty U, Hawaldar R, Sastri Chopra S, et all. Neoadjuvant Chemotherapy Followed by Radical Surgery Versus Concomitant Chemotherapy and Radiotherapy in Patients With Stage IB2, IIA, or IIB Squamous Cervical Cancer: A Randomized Controlled Trial. J Clin Oncol 2018 Jun; 36 (16), 1548-1555.
29. Long HJ, Bundy BN, Grendys EC, Benda JA, McMeekin DS, Sorosky J, Miller DS, Eaton LA, Fiorica JV. Randomized phase III trial of cisplatin with or without topotecan in carcinoma of the uterine cervix: A Gynecologic Oncology Group Study. J Clin Oncol 2005;23(21):4626.
30. Moore DH, Blessing JA, McQuellon RP, Thaler HT, Cella D, Benda J, Miller DS, Olt G, King S, Boggess JF, Rocereto TF. Phase III study of cisplatin with or without paclitaxel in stage IVB, recurrent, or persistent squamous cell carcinoma of the cervix: A gynecologic oncology group study. J Clin Oncol 2004;22(15):3113.
31. DiSaia PJ, Creasman WT. Clinical Gynecologic Oncology. Seventh edition. Philadelphia: Mosby Elsevier, 2007.
32. Hopkins MP, Lavin JP: Cervical cancer in pregnancy. Gynecol Oncol 1996;63:293.
33. Hecking T, Abramian A, Domro¨se C, Engeln T, Thiesler T, Leutner C, Gembruch U, Keyver-Paik MD, Kuhn W, Ku¨bler K. Individual management of cervical cancer in pregnancy. Arch Gynecol Obstet 2016; 293:931–939
34. Tavassoli FA, Devilee P. Pathology and genetics of tumrs of the breast and female genital organs. Lyon: IARCPress, 2003.

35. Zagouri F, Sergentanis TN, Chrysikos D, Filipits M and Bartsch R. Molecularly targeted therapies in cervical cancer. A systematic review. Gynecol Oncol 2012; 126: 291-303.
36. Lyuksyutova AI, Lu CC, Milanesio N, King LA, Guo N, Wang Y, Nathans J, Tessier-Lavigne M and Zou Y. Anterior-posterior guidance of commissural axons by Wnt-frizzled signaling. Science 2003; 302: 1984-1988.
37. Lin L, Liu Y, Zha W, Sun B, Chen Q. Wnt5A expression is associated with the tumor metastasis and clinical survival in cervical cancer. Int J Clin Exp Pathol 2014;7(9):6072-6078.
38. Ramachandran I, Ganapathy V, Gillies E, Fonseca I, Sureban SM, Houchen CW, Reis A and Queimado L. Wnt inhibitory factor 1 suppresses cancer stemness and induces cellular senescence. Cell Death Dis 2014; 5: 1246.
39. Lu W, and Li Y. Salinomycin suppresses LRP6 expression and inhibits both Wnt/beta-catenin and mTORC1 signaling in breast and prostate cancer cells. J Cell Biochem 2014; 115: 1799-807.
40. Kim Y, Kim KH, Lee J, Lee YA, Kim M, Lee SJ, Park K, Yang H, Jin J, Joo KM and Nam DH. Wnt activation is implicated in glioblastoma radioresistance. Lab Invest 2012; 92: 466-473.
41. Hu T and Li C. Convergence between Wnt-beta-catenin and EGFR signaling in cancer. Mol Cancer 2010; 9: 236.
42. Stakheev D, Taborska P, Strizova Z, et al. The WNT/b-catenin signaling inhibitor XAV939 enhances the elimination of LNCaP and PC-3 prostate cancer cells by prostate cancer patient lymphocytes in vitro. Sci Rep. 2019;9(1):4761.
43. Guo W, Shen F, Xiao W, et al. Wnt inhibitor XAV939 suppresses the viability of small cell lung cancer NCI-H446 cells and induces apoptosis. Oncol Lett 2017;14:6585–6591.
44. Perez-Plasencia C, Duenas-Gonzalez A, Alatorre-Tavera B. Second hit in cervical carcinogenesis process: involvement of Wnt/beta catenin pathway. Int Arch Med 2008;1(1):10.
45. Afifi MM, Austin LA, Mackey MA, et al. XAV939: from a small inhibitor to a potent drug bioconjugate when delivered by gold nanoparticles. Bioconjug Chem 2014;25(2):207–215.

46. Pan F, Shen F, Yang L, et al. Inhibitory effects of XAV939 on the proliferation of small-cell lung cancer H446 cells and Wnt/b-catenin signaling pathway in vitro. Oncol Lett 2018;16:1953–1958.
47. Zhang J, Si J, Gan L, Guo M, Yan J, Chen Y, Wang F, Xie Y, Wang Y, Zhang H. Inhibition of Wnt signalling pathway by XAV939 enhances radiosensitivity in human cervical cancer HeLa cells. Artificial cells nanomedicine and biotechnology 2020; 48(1): 479–487
48. Liu Y, Lin L, Huang Z, Ji B, Mei S, Lin Y, Shen Z. High expression of flotillin-2 is associated with poor clinical survival in cervical carcinoma. Int J Clin Exp Pathol 2015;8(1):622-628.
49. Banning A, Ockenga W, Finger F, Siebrasse P and Tikkanen R. Transcriptional regulation of flotillins by the extracellularly regulated kinases and retinoid X receptor complexes. PLoS One 2012; 7:45514.
50. Rickman DS, Millon R, De Reynies A, Thomas E, Wasylyk C, Muller D, Abecassis J and Wasylyk B. Prediction of future metastasis and molecular characterization of head and neck squamous-cell carcinoma based on transcriptome and genome analysis by microarrays. Oncogene 2008; 27: 6607-6622.
51. Hazarika P, McCarty MF, Prieto VG, George S, Babu D, Koul D, Bar-Eli M, Duvic M. Up-regulation of Flotillin-2 is associated with melanoma progression and modulates expression of the thrombin receptor protease activated receptor 1. Cancer Res 2004; 64: 7361-7369.
52. Zhu Z, Wang J, Sun Z, Sun X, Wang Z and Xu H. Flotillin2 expression correlates with HER2 levels and poor prognosis in gastric cancer. PLoS One 2013; 8: 62365.
53. Yan Y, Yang FQ, Zhang HM, Che J and Zheng JH. Up-regulation of flotillin-2 is associated with renal cell carcinoma progression. Tumour Biol 2014; 35: 10479-10486.
54. Wen Q, Li J, Wang W, Xie G, Xu L, Luo J, Chu S, She L, Li D, Huang D, et al. Increased expression of flotillin-2 protein as a novel biomarker for lymph node metastasis in nasopharyngeal carcinoma. PLoS One 2014; 9: 101676.
55. Liu J, Huang W, Ren C, Wen Q, Liu W, Yang X, Wang L, Zhu B, Zeng L, Feng X, et al: Flotillin-2 promotes metastasis of nasopharyngeal carcinoma by activating NF-κB and PI3K/Akt3 signaling pathways. Sci Rep 2015;5: 11614.

56. Cao K, Xie D, Cao P, Zou Q, Lu C, Xiao S, Zhou J and Peng X. SiRNA-mediated flotillin-2 (Flot2) downregulation inhibits cell proliferation, migration, and invasion in gastric carcinoma cells. Oncol Res 2014;.21: 271-279.
57. Rhee SG: Reflections on the days of phospholipase C. Adv Biol Regul 2013;53: 223-231.
58. García del Caño G, Montaña M, Aretxabala X, González-Burguera I, López de Jesús M, Barrondo S and Sallés J: Nuclear phospholipase C-β1 and diacylglycerol LIPASE-α in brain cortical neurons. Adv Biol Regul 2014;54: 12-23.
59. Manzoli L, Mongiorgi S, Clissa C, Finelli C, Billi AM, Poli A, Quaranta M, Cocco L and Follo MY: Strategic role of nuclear inositide signalling in myelodysplastic syndromes therapy. Mini Rev Med Chem 2014;14: 873-883.
60. Zaidi SK, Trombly DJ, Dowdy CR, Lian JB, Stein JL, van Wijnen AJ and Stein GS: Epigenetic mechanisms in leukemia. Adv Biol Regul 2012;52: 369-376.
61. Barker CJ, Li L, Köhler M and Berggren PO: β-Cell Ca2+ dynamics and function are compromised in aging. Adv Biol Regul 2015;57: 112-119.
62. Jang HJ, Yang YR, Kim JK, Choi JH, Seo YK, Lee YH, Lee JE, Ryu SH and Suh PG: Phospholipase C-γ1 involved in brain disorders. Adv Biol Regul 2013;53: 51-62.
63. Lattanzio R, Piantelli M and Falasca M: Role of phospholipase C in cell invasion and metastasis. Adv Biol Regul 2013;53: 309-318.
64. Arteaga CL, Johnson MD, Todderud G, Coffey RJ, Carpenter G and Page DL: Elevated content of the tyrosine kinase substrate phospholipase C-gamma 1 in primary human breast carcinomas. Proc Natl Acad Sci 1991; 88: 10435-10439.
65. Nakamura Y, Kanemarum K and Fukami K: Physiological functions of phospholipase Cδ1 and phospholipase Cδ3. Adv Biol Regul 2013;53: 356-362.
66. Shimohama S, Perry G, Richey P, Takenawa T, Whitehouse PJ, Miyoshi K, Suenaga T, Matsumoto S, Nishimura M and Kimura J: Abnormal accumulation of phospholipase C-delta in filamentous inclusions of human neurodegenerative diseases. Neurosci Lett 1993;162: 183-186.
67. Shimohama S, Homma Y, Suenaga T, Fujimoto S, Taniguchi T, Araki W, Yamaoka Y, Takenawa T and Kimura J: Aberrant accumulation of phospholipase C-delta in Alzheimer brains. Am J Pathol 1991;139: 737-742.

68. Chan JJ and Katan M: PLCε and the RASSF family in tumour suppression and other functions. Adv Biol Regul 2013;53: 258-279.
69. Amdani SN, Jones C and Coward K: Phospholipase C zeta (PLCζ): Oocyte activation and clinical links to male factor infertility. Adv Biol Regul 2013;53: 292-308.
70. Xiao W, Hong H, Kawakami Y, Kato Y, Wu D, Yasudo H, Kimura A, Kubagawa H, Bertoli LF, Davis RS, et al: Tumor suppression by phospholipase C-beta3 via SHP-1-mediated dephosphorylation of Stat5. Cancer Cell 2009;16: 161-171.
71. Liu W, Liu X*, Wan L, Zhu B, Zhang C, Jia W. PLCD3, a flotillin2-interacting protein, is involved in proliferation, migration and invasion of nasopharyngeal carcinoma cells. Oncology reports, 2018;39: 45-52.
72. Sun B, Ye X, Lin L, Shen M, Jiang T. Up-regulation of ROR2 is associated with unfavorable prognosis and tumor progression in cervical cancer. Int J Clin Exp Pathol 2015;8(1):856-861.
73. Masiakowski P , Carroll RD. A novel family of cell surface receptors with tyrosine kinase-like domain. J Biol Chem 1992; 267: 26181-26190.
74. Oldridge M, Fortuna AM, Maringa M, Propping P, Mansour S, Pollitt C, DeChiara TM, Kimble RB, Valenzuela DM, Yancopoulos GD, Wilkie AO. Dominant mutations in ROR2, encoding an orphan receptor tyrosine kinase, cause brachydactyly type B. Nat Genet 2000; 24: 275-278.
75. Wright TM, Brannon AR, Gordan JD, Mikels AJ, Mitchell C, Chen S, Espinosa I, van de Rijn M, Pruthi R, Wallen E, Edwards L, Nusse R, Rathmell WK. Ror2, a developmentally regulated kinase, promotes tumor growth potential in renal cell carcinoma. Oncogene 2009; 28: 2513-2523.
76. Rasmussen NR, Wright TM, Brooks SA, Hacker KE, Debebe Z, Sendor AB, Walker MP, Major MB, Green J, Wahl GM, Rathmell WK. Receptor tyrosine kinase-like orphan receptor 2 (Ror2) expression creates a poised state of Wnt signaling in renal cancer. J Biol Chem 2013; 288: 26301-26310.
77. Lara E, Calvanese V, Huidobro C, Fernandez AF, Moncada-Pazos A, Obaya AJ, Aguilera O, Gonzalez-Sancho JM, Sanchez L, Astudillo A, Munoz A, Lopez-Otin C, Esteller M, Fraga MF. Epigenetic repression of ROR2 has a Wnt-mediated, protumourigenic role in colon cancer. Mol Cancer 2010; 9: 170.

78. Edris B, Espinosa I, Muhlenberg T, Mikels A, Lee CH, Steigen SE, Zhu S, Montgomery KD, Lazar AJ, Lev D, Fletcher JA, Beck AH, West RB, Nusse R, van nde Rijn M. ROR2 is a novel prognostic biomarker and a potential therapeutic target in leiomyosarcoma and gastrointestinal stromal tumour. J Pathol 2012; 227: 223- 233.
79. Forrester WC: The Ror receptor tyrosine kinase family. Cell Mol Life Sci 2002;59: 83-96.
80. Mikels AJ and Nusse R: Purified Wnt5a protein activates or inhibits beta-catenin-TCF signaling depending on receptor context. PLoS Biol 2006:4: e115.
81. Kobayashi M, Shibuya Y, Takeuchi J, Murata M, Suzuki H, Yokoo S, Umeda M, Minami Y, Komori T. Ror2 expression in squamous cell carcinoma and epithelial dysplasia of the oral cavity. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2009;107:398–406.
82. O'Connell MP, Fiori JL, Xu M, Carter AD, Frank BP, Camilli TC, French AD, Dissanayake SK, Indig FE, Bernier M, et al. The orphan tyrosine kinase receptor, ROR2, mediates Wnt5A signaling in metastatic melanoma. Oncogene. 2010;29:34–44.
83. Geng M, Cao YC, Chen YJ, Jiang H, Bi LQ, Liu XH. Loss of Wnt5a and Ror2 protein in hepatocellular carcinoma associated with poor prognosis. World J Gastroenterol 2012;18:1328–1338.
84. Lee SE, Lim SD, Kang SY, Suh SB, Suh YL. Prognostic significance of Ror2 and Wnt5a expression in medulloblastoma. Brain Pathol. 2013;23:445–453.
85. Zhang W, Yan Y. Gu M, Wang X, Zhu H, Zhang S, Wang W. High expression levels of Wnt5a and Ror2 in laryngeal squamous cell carcinoma are associated with poor prognosis. Oncol Lett. 2017 Aug; 14(2): 2232–2238.
86. Lu C, Wang X, Zhu H, Feng J, Ni S, Huang J. Over-expression of ROR2 and Wnt5a cooperatively correlates with unfavorable prognosis in patients with non-small cell lung cancer. Oncotarget 2015; 6 (28):24912 – 24921.
87. Wen Q, Ma Alnemah M, Luo J, Wang W, Chu S, Chen L, Li J, Xu L, Li M, Zhou J, Fan S. FLOT-2 is an independent prognostic marker in oral squamous cell carcinoma. Int J Clin Exp Pathol 2015;8(7):8236-8243

88. Lovrić M, Komić J, Stević S. Statistička analiza – metodi i primjena. II izdanje. Banja Luka: Univerzitet u Banjoj Luci, 2017.
89. Erić-Marinković J, Dotlić R, Janošević S, Kocev N, Gajić M, Ille T, Stanisavljević D, Babić D. Statistika za istraživače u oblasti medicinskih nauka. Prvo izdanje. Beograd: Univerzitet u Beogradu Medicinski fakultet Beograd, 2001.
90. Lentz SE, Axtell AE, Vasilev SA. Gynecologic Oncology Evidence Based Perioperative and Supportive Care. Second Edition. New Jersey: Wiley Blackwell, 2011.
91. Hoskins WJ, Perez CA, Young RC, Barakat R, Markman M, Randal M. Principles and practice of gynecologic oncology. Fourth edition. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2005.
92. Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, Teppo L, Thomas DB. Cancer incidence in five continets vol VIII. Lyon: IARC scientific publication, 2002.
93. Curado MP, Edwards B, Shin HR, Storm H, Ferlay J, Heanue M, Boyle P. Cancer incidence in five continets vol IX. Lyon: IARC scientific publication, 2007.
94. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int. J. Cancer* 127(12), 2893–2917
95. Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S *et al.* Epidemiologic classification of human papillomavirus types ssociated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; 348(6), 518–527.
96. Ferenczy A, Franco E. Cervical-cancer screening beyond the year 2000. *Lancet Oncol.* 2001;2(1), 27–32.
97. Sahasrabuddhe VV, Luhn P, Wentzensen N. Human Papillomavirus and Cervical Cancer: Biomarkers for Improved Prevention Efforts. Future Microbiology 2011;6(9):1083-1098
98. Tjalma WA, Fiander A, Reich O, Powell N, Nowakowski AM, Kirschner B, et all. Differences in human papillomavirus type distribution in high-grade cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical cancer in Europe. Int J Cancer 2013;132(4):854–867
99. NCI 2019, https://seer.cancer.gov/statfacts/html/cervix.html

100. Globocan 2012 http://globocan.iarc.fr/old/FactSheets/cancers/cervix-new.asp

101. Arbyn A, Weiderpass E, Bruni L, de Sanjosé S, Saraiya M, Ferlay J. Bray F. Estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2018: a worldwide analysis. Lancet Glob Health 2020; 8: e191–203.

102. Yang BH, Bray FI, Parkin DM, Sellors JW, Zhang Z-F. Cervical cancer as a priority for prevention in different world regions: an evaluation using years of life lost. Int J Cancer 2004; 109: 418–24.

103. Fitzmaurice C, Allen C, Barber RM, Barregard L, Bhutta ZA, Brenner H, et al. Global, regional, and national cancer incidence, mortality, years of life lost, years lived with disability, and disability-adjusted life-years for 32 cancer groups, 1990 to 2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study. JAMA Oncol 2016; 3: 524–48.

104. Knaul MF, Gralow JR, Atun R, Bhadelia A. Closing the cancer divide: an equity imperative. Cambridge: Harvard University Press, 2012.

105. Vaccarella S, Lortet-Tieulent J, Saracci R, Conway DI, Straif K, Wild CP. Reducing social inequalities in cancer: evidence and priorities for research. CA Cancer J Clin 2019; 68: 324–26.

106. Arbyn M, Castellsagué X, de Sanjosé S, et al. Worldwide burden of cervical cancer in 2008. Ann Oncol 2011; 22: 2675–86.

107. Zaino RJ, Ward S, Delgado G, Bundy B, Gore H, Fetter G, Ganjei P, Frauenhoffer E. Histopathologic predictors of the behavior of surgically treated stage IB squamous cell carcinoma of the cervix. A Gynecologic Oncology Group study. Cancer 1992; 69(7):1750–1758.

108. Berek JS, Hacker NF. Berek & Hacker's gynecologic oncology. Sixt edition. Philadelphia: Wolters Kluwer, 2015.

109. Yoneda JY, Braganca JF, Sarian LO, Borba PP, Conceição,JKJ Luiz, Zeferino LC. Surgical treatment of microinvasive cervical cancer: analysis of pathologic features with implications on radicality. Int J Gynecol Cancer 2015;25(4): 694–698.

110. Lee KB, Lee JM, Park CY, Lee KB, Cho HY, Ha SY. Lymph node metastasis and lymph vascular space invasion in microinvasive squamous cell carcinoma of the uterine cervix. Int J Gynecol Cancer 2006;16(3):1184–1187.

111. Perez CA, Grigsby PW, Chao KS, Mutch DG, Lockett MA. Tumor size, irradiation dose, and long-term outcome of carcinoma of uterine cervix. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1998;41(2):307–317.

112. Averette HE, Nguyen HN, Donato DM, Penalver MA, Sevin BU, Estape R, Little WA. Radical hysterectomy for invasive cervical cancer. A 25-year prospective experience with the Miami technique. Cancer 1993;71(4 Suppl):1422–1437.

113. Benedetti-Panici P, Maneschi F, D'Andrea G, Cutillo G, Rabitti C, Congiu M, Coronetta F, Capelli A. Early cervical carcinoma: the natural history of lymph node involvement redefined on the basis of thorough parametrectomy and giant section study. Cancer 2000;88(10):2267–2274.

114. Eskander RN, Bristow RE, SpringerLink (Online Service) Gynecologic oncology a pocketbook. New York: Springer, 2015.

115. Doherty SD, Prieto VG, George S, Hazarika P and Duvic M. High flotillin-2 expression is associated with lymph node metastasis and Breslow depth in melanoma. Melanoma Res 2006; 16: 461-463.

116. Wang X, Yang Q, Guo L, Li XH, Zhao XH, Song LB and Lin HX. Flotillin-2 is associated with breast cancer progression and poor survival outcomes. J Transl Med 2013; 11: 190.

117. Lin C, Wu Z, Lin X, Yu C, Shi T, Zeng Y, Wang X, Li J and Song L. Knockdown of FLOT1 impairs cell proliferation and tumorigenicity in breast cancer through upregulation of FOXO3a. Clin Cancer Res 2011; 17: 3089-3099.

118. Song L, Gong H, Lin C, Wang C, Liu L, Wu J, Li M and Li J. Flotillin-1 promotes tumor necrosis factor-alpha receptor signaling and activation of NF-kappaB in esophageal squamous cell carcinoma cells. Gastroenterology 2012; 143: 995-1005, e1012.

119. Zhao L, Lin L, Pan C, et al. Flotillin-2 promotes nasopharyngeal carcinoma metastasis and is necessary for the epithelialmesenchymal transition induced by transforming growth factor-b. Oncotarget. 2015;6:9781–9793.

120. Wen Q, Wang W, Chu S, et al. Flot-2 expression correlates with EGFR levels and poor prognosis in surgically resected non-small cell lung cancer. PLoS One. 2015;10:e0132190.

121. Wang CH, Zhu XD, Ma DN, et al. Flot2 promotes tumor growth and metastasis through modulating cell cycle and inducing epithelial-mesenchymal transition of hepatocellular carcinoma. Am J Cancer Res. 2017;7:1068–1083.

122. Li L, Peng X, Wang Y, et al. High expression of Flot-2 promotes the development and invasion of esophageal squamous cell carcinoma. Chinese J Histochem Cytochem. 2017;2:66–70.

123. Wei G, Xu Y, Peng T, et al. miR-133 involves in lung adenocarcinoma cell metastasis by targeting FLOT2. Artif Cells Nanomed Biotechnol. 2018;46:224–230.

124. Mou X, Liu S. MiR-485 inhibits metastasis and EMT of lung adenocarcinoma by targeting Flot2. Biochem Biophys Res Commun. 2016;477:521–526.

125. Liu R, Xie H, Luo C, et al. Identification of FLOT2 as a novel target for microRNA-34a in melanoma. J Cancer Res Clin Oncol. 2015; 141:993–1006.

126. Wang Y, Wang X, Tang J, Su X & Miao Y. The study of mechanism of miR-34c-5p targeting FLOT2 to regulate proliferation, migration and invasion of osteosarcoma cells. Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology An International Journal 2019;47(1): 3559–3568.

127. Li T, Cao C, Xiong Q, Liu D. FLOT2 overexpression is associated with the progression and prognosis of human colorectal cancer. Oncology Letters 2019;17: 2802-2808.

128. Huang S, Zheng S, Huang S, Cheng H, Lin Y, Wen Y, Lin W. Flot2 targeted by miR-449 acts as a prognostic biomarker in glioma. Artificial cells nanomedicine and biotechnology, 2019;47(1): 250–255.

129. Kuhl M. Non-canonical Wnt signaling in Xenopus: regulation of axis formation and gastrulation. Semin Cell Dev Biol 2002; 13: 243-249.

130. Habas R and Dawid IB. Dishevelled and Wnt signaling: is the nucleus the final frontier? J Biol 2005; 4: 2.

131. Ren D, Minami Y and Nishita M. Critical role of Wnt5a-Ror2 signaling in motility and invasiveness of carcinoma cells following Snail-mediated epithelial-mesenchymal transition. Genes Cells 2011; 16: 304-315.

132. Peng C, Zhang X, Yu H, Wu D and Zheng J. Wnt5a as a predictor in poor clinical outcome of patients and a mediator in chemoresistance of ovarian cancer. Int J Gynecol Cancer 2011; 21: 280-288.

133. Da Forno PD, Pringle JH, Hutchinson P, Osborn J, Huang Q, Potter L, Hancox RA, Fletcher A and Saldanha GS. WNT5A expression increases during melanoma progression and correlates with outcome. Clin Cancer Res 2008; 14: 5825-5832.

134. Huang CL, Liu D, Nakano J, Ishikawa S, Kontani K, Yokomise H and Ueno M. Wnt5a expression is associated with the tumor proliferation and the stromal vascular endothelial growth factor--an expression in non-small-cell lung cancer. J Clin Oncol 2005; 23: 8765-8773.

135. Syed Khaja AS, Helczynski L, Edsjo A, Ehrnstrom R, Lindgren A, Ulmert D, Andersson T and Bjartell A. Elevated level of Wnt5a protein in localized prostate cancer tissue is associated with better outcome. PLoS One 2011; 6: e26539.

136. Kurayoshi M, Oue N, Yamamoto H, Kishida M, Inoue A, Asahara T, Yasui W and Kikuchi A. Expression of Wnt-5a is correlated with aggressiveness of gastric cancer by stimulating cell migration and invasion. Cancer Res 2006; 66: 10439-10448.

137. Rebagay G, Yan S, Liu C, Cheung NK. ROR1 and ROR2 in Human Malignancies: Potentials for Targeted Therapy. Front Oncol 2012; 2: 34.

138. Mei H, Lian S, Zhang S, Wang W, Mao Q, Wang H. High expression of ROR2 in cancer cell correlates with unfavorable prognosis in colorectal cancer. Biochem Biophys Res Commun 2014 Oct 31;453(4):703-9.

139. Ford CE, Qian Ma SS, Quadir A, Ward RL. The dual role of the novel Wnt receptor tyrosine kinase, ROR2, in human carcinogenesis. Int J Cancer 2013; 133: 779-787.

140. Lu BJ, Wang YQ, Wei XJ, Rong LQ, Wei D, Yan CM, Wang DJ, Sun JY. Expression of WNT-5a and ROR2 correlates with disease severity in osteosarcoma. Mol Med Rep 2012; 5: 1033-1036.

141. Diaz JP, Sonoda Y, Leitao MM, Zivanovic O, Brown CL, Chi DS, Barakat RR, Abu-Rustum NR. Oncologic outcome of fertility-sparing radical trachelectomy versus radical hysterectomy for stage IB1 cervical carcinoma. Gynecol Oncol 2008;111(2): 255–260.

142. Jessup JM, McGinnis LS, Winchester DP, Eyre H, Fremgen A, Murphy GP, Menck HR. Clinical highlights from the National Cancer Data Base: 1996. CA Cancer J Clin 1996;46(3):185–192.

143. Gaffney DK, Winter K, Dicker AP, Miller B, Eifel PJ, Ryu J, Avizonis V, Fromm M, Greven K. A phase II study of acute toxicity for Celebrex (celecoxib) and chemoradiation in patients with locally advanced cervical cancer: primary endpoint analysis of RTOG 0128. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2007;67(1):104–109.

144. de la Rochefordiere A, Kamal M, Floquet A, Thomas L, Petrow P, Thierry Petit T, et al. PIK3CA pathway mutations predictive of poor response following standard radiochemotherapy +/_ cetuximab in cervical cancer patients. Clin Cancer Res 2015;21(11):2530–2537.

145. Monk BJ, Sill MW, Burger RA, Gray HJ, Buekers TE, Roman LD. Phase II trial of bevacizumab in the treatment of persistent or recurrent squamous cell carcinoma of the cervix: a gynecologic oncology group study. J Clin Oncol 2009;27(7):1069–1074.

146. Cancer Research Institute 2019, https://www.cancerresearch. org/immunotherapy/cancer-types/cervical-cancer

147. Hanprasertpong J, Jiamset I. Late Recurrence of Early Stage Cervical Cancer More Than 3 Years After Radical Hysterectomy With Pelvic Node Dissection. Oncol Res Treat 2017; 40 (5), 270-276

148. Creasman WT, Zaino RJ, Major FJ, DiSaia PJ, Hatch KD, Homesley HD. Early invasive carcinoma of the cervix (3 to 5 mm invasion): Risk factors and prognosis. A Gynecologic Oncology Group study. Am J Obstet Gynecol 1998;178, 62–65.

BIOGRAFIJA

Živorad Gajanin je rođen 1959. godine u Kotor Varošu. Osnovnu školu završio je Grabovici, Kotor Varoš 1975. godine. Srednju medicinsku školu završio u Banjoj Luci 1979. godine. Medicinski fakultet je završio u Banja Luci 1984. godine. Zaposlen je u Domu zdravlja Kotor Varoš od 1984. godine do danas. Upisao postdiplomski studije „Biomedicinska istraživanja“ na Medicinskom fakultetu Banja Luka 1997. godine. Specijalizaciju iz ginekologije i akušerstva završio je 1997. godine na Medicinskom fakultetu u Beogradu. Zvanje primariusa je stekao 2009. godine a dodijeljeno je od strane Ministarstva zdravlja i socijalne zaštite Republike Srpske. Magistarski rad na temu "Ekspresija p16INK4a u inflamacijskim, preneoplastičnim i neoplastičnim promjenama cerviksa uterusa - klinički značaj" je odbranio 2013. godine na Medicinskom fakultetu u Banjoj Luci. Kao specijalista ginekologije i akušerstva zaposlen je u Domu zdravlja od 1997. godine do sad. Funkciju direktora Doma zdravlja Kotor Varoš je obavljao u jednom mandatu od 2009. godine od 2013. Trenutno zaposlen u Domu zdravlja Kotor Varoš na mjestu ljekara specijaliste ginekologije i akušerstva u dispanzeru za žene.

Objavio je više stručnih i naučnih radova u časopisima nacionalnog i međunarodnog značaja. Aktivni je učesnik naučnih i stručnih skupova nacionalnog i međunarodnog značaja.

Прилог 3.

Изјава 1

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем
да је докторска дисертација

Наслов рада **„Прогностички значај морфолошких карактеристика и експресије рецептора фактора раста у карциному грлића материце“.**
Наслов рада на енглеском језику **“Prognostic significance of morphological characteristics and expression of growth factor receptors in cervical cancer”.**

☒ резултат сопственог истраживачког рада,

☒ да докторска дисертација, у цјелини или у дијеловима, није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,

☒ да су резултати коректно наведени и

☒ да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

У Бањој Луци 22.06.2020.

Потпис докторанта

Живорад Гајанин

Гајанин Живорад

Изјава 2

Изјава којом се овлашћује Универзитет у Бањој Луци
да докторску дисертацију учини јавно доступном

Овлашћујем Универзитет у Бањој Луци да моју докторску дисертацију под насловом **„Прогностички значај морфолошких карактеристика и експресије рецептора фактора раста у карциному грлића материце“** која је моје ауторско дјело, учини јавно доступном.
Докторску дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.
Моју докторску дисертацију похрањену у дигитални репозиторијум Универзитета у Бањој Луци могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце
Креативне заједнице (*Creative Commons*) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство – некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – дијелити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – дијелити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

У Бањој Луци 22.06.2020.

Потпис докторанта

Живорад Гајанин

Изјава 3

Изјава о идентичности штампане и електронске верзије докторске дисертације

Име и презиме аутора: Живорад Гајанин

Наслов рада: **„Прогностички значај морфолошких карактеристика и експресије рецептора фактора раста у карциному грлића материце“**

Ментор: Проф. др Ненад Лучић

Изјављујем да је штампана верзија моје докторске дисертације идентична електронској верзији коју сам предао/ла за дигитални репозиторијум Универзитета у Бањој Луци.

У Бањој Луци 22.06.2020.

Потпис докторанта

Живорад Гајанин

Гајанин Живорад