

# UTJECAJ VASKULARNE INVAZIJE I DRUGIH PATOHISTOLOŠKIH PROGNOСТИČKIH PARAMETARA NA POJAVU RECIDIVA I PREŽIVLJAVANJE BOLESNICA S GRANULOZA-STANIČNIM TUMORIMA JAJNIKA

---

**Franin, Ivan**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2019**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:184:677610>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-13**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



SVEUČILIŠTE U RIJECI

MEDICINSKI FAKULTET

INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI

SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE

Ivan Franin

**UTJECAJ VASKULARNE INVAZIJE I DRUGIH PATOHISTOLOŠKIH  
PROGNOSTIČKIH PARAMETARA NA POJAVU RECIDIVA I PREŽIVLJAVANJE  
BOLESNICA S GRANULOZA-STANIČNIM TUMORIMA JAJNIKA**

Diplomski rad

Rijeka, 2019.

SVEUČILIŠTE U RIJECI

MEDICINSKI FAKULTET

INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI

SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE

Ivan Franin

**UTJECAJ VASKULARNE INVAZIJE I DRUGIH PATOHISTOLOŠKIH  
PROGNOSTIČKIH PARAMETARA NA POJAVU RECIDIVA I PREŽIVLJAVANJE  
BOLESNICA S GRANULOZA-STANIČNIM TUMORIMA JAJNIKA**

Diplomski rad

Rijeka, 2019.

Mentor rada: Doc.dr.sc. Emina Babarović, dr.med., docent

Komentor rada: Dr.sc. Marko Klarić, dr.med., poslijedoktorand

Diplomski rad ocijenjen je dana \_\_\_\_\_ u/na \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_, pred povjerenstvom u sastavu:

1. Prof.dr.sc. Elvira Mustać, dr.med.

2. Doc.dr.sc. Ita Hadžisejdić, dr.med.

3. Doc.dr.sc. Aleks Finderle, dr.med.

Rad sadrži 44 stranica, 3 slika, 7 tablica, 67 literaturnih navoda.

## ZAHVALA:

Zahvaljujem se svojoj obitelji, roditeljima, bratu, sestri, bakama i djedovima, koji su mi u životu, kao i kroz studij bili najvažnija potpora, podrška i oslonac. Također zahvaljujem se i Zavodu za patologiju i patološku anatomiju koji mi je omogućio provesti istraživanje, a posebno docentici Emini Babarović koja je izdvojila svoje vrijeme kako bi me vodila kroz isto.

## Sadržaj rada

1. Uvod.....	1
1.1. Klasifikacija tumora jajnika .....	1
1.2. Epidemiologija granulozna-staničnih tumora jajnika.....	1
1.3. Faktori rizika granulozna-staničnih tumora jajnika.....	2
1.4. Etiologija i patogeneza granulozna-staničnih tumora jajnika.....	3
1.5. Dijagnoza granulozna-staničnog tumora jajnika .....	4
1.5.1. Klinički znakovi i simptomi granulozna-staničnog tumora jajnika.....	4
1.5.2. Patohistologija granulozna-staničnog tumora jajnika.....	5
1.5.3. Tumorski markeri .....	6
1.5.4. Postavljanje dijagnoze .....	6
1.6. Liječenje .....	7
1.7. Prognostički parametri .....	9
1.8. Praćenje, recidiv i preživljavanje .....	10
2. Ciljevi istraživanja.....	11
2.1. Glavni cilj istraživanja.....	11
2.2. Specifični ciljevi istraživanja .....	11
3. Ispitanici materijali i postupci .....	12
3.1. Ispitanici i materijali.....	12
3.2. Postupci .....	13
3.2.1. Određivanje prognostičkih parametara.....	13
3.2.2. Imunohistokemijsko bojanje .....	13
3.2.3. Prikupljanje podataka .....	14
3.2.4. Određivanje vaskularne invazije u tumorskom tkivu .....	14
3.3. Statistička obrada podataka .....	15
4. Rezultati.....	16
4.1. Kliničkopatološka obilježja bolesnika.....	16
4.2. Usporedba kliničkopatoloških prognostičkih parametara i pojave recidiva bolesti .....	17
4.3. Utjecaj kliničkopatoloških parametara na pojavu recidiva.....	20
4.4. Analiza preživljavanja.....	21
4.4.1. Analiza ukupnog preživljavanja bolesnica .....	21
4.4.2. Analiza preživljavanja bolesnica bez povrata bolesti.....	25
5. Rasprava .....	28
6. Zaključak.....	33

7. Sažetak.....	34
8. Summary .....	35
9. Literatura .....	36
10. Životopis.....	44

## POPIS SKRAĆENICA I AKRONIMA

AMH - Anti-Müllerov hormon

AUC – površina ispod krivulje (engl. Area Under a Curve)

BEP - bleomicin, etopozid, platina

BRCA 1 - gen za karcinom dojke 1 (engl. Breast Cancer gene 1)

BRCA 2 - gen za karcinom dojke 2 (engl. Breast Cancer gene 2)

CA 125 - karcinomski antigen 125 (engl. Cancer Antigen 125)

CAP - ciklofosamid, doksorubicin, platina

CD56 - stanični diferencijacijski antigen 56 (engl. Cluster of Differentiation 56)

CI – interval pouzdanosti (engl. Confidence Interval)

CT - kompjuterizirana tomografija (engl. Computed Tomography)

DAB - diaminobenzidin

EDTA - etilendiamintetraoctena kiselina (engl. ethylenediaminetetraacetic acid)

EP - etopozid, platina

FIGO - Međunarodna federacije ginekologije i porodništva (franc. Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique)

FOXL2 - transkripcijski faktor forkhead box L2 (engl. Forkhead box L2 )

HE - hemalaun eozin



HR - omjer opasnosti (engl. Hazard Ratio)

KBC RI - Klinički Bolnički Centar Rijeka

LVSI - invazija limfo-vaskularnih prostora (engl. Lymphovascular space invasion)

MVD - gustoća malihkrvnih žila (engl. Microvessel density)

OR - omjer izgleda (engl. Odds Ratio)

SAD - Sjedinjene Američke Države

STK11 - serin/treonin kinaza 11

TAH+BSO - totalna abdominalna histerektomija s bilateralnom salpingo-oophorektomijom

USO - unilaterala salpingo-oophorektomija

VEGF - vaskularni endotelni čimbenik rasta (engl. Vascular Endothelial Growth Factor)

VVP - veliko vidno polje

WT1 - Wilmsov tumorski protein 1 (engl. Wilms tumor protein 1)

## 1. Uvod

### 1.1. Klasifikacija tumora jajnika

Tumore jajnika razlikujemo prema tipu stanica iz kojih su nastali. Razlikujemo tri osnovna tipa, a to su epitelni tumori, zatim tumori spolnih stanica i tumori specijalizirane strome jajnika. U epitelne tumore spadaju serozni tumori, mucinozni tumori, endometrioidni tumori, adenokarcinomi svijetlih stanica i tumori prijelaznog epitela. Epitelni tumori jajnika najčešći su tumori jajnika, te na njih otpada čak i do 70% svih tumora jajnika. U tumore spolnih stanica ubrajamo teratome, disgerminome, tumore žumanjčane vreće i koriokarcinome. Ovo je druga najčešća skupina tumora jajnika, na koju otpada oko 20% svih tumora jajnika. Najrjeđi tumori jajnika su tumori specijalizirane strome jajnika na koje otpada oko 10% svih tumora jajnika. U ovu skupinu spadaju raznoliki tumori nastali od specifičnih stanica koje možemo pronaći u stromi jajnika, pa tako ovdje nalazimo granulosa-stanične tumore, tekome, fibrome, tumore Sertoli-Leydigovih stanica i hilusne tumore. Ovi se tumori mogu pojaviti i u miješanim varijantama, zavisno koje stanice strome sadržavaju. Unutar skupine tumora specijalizirane strome jajnika, 90% otpada na granulosa-stanične tumore, što ih čini najčešćim unutar skupine. Granulosa-stanične tumore možemo podijeliti na adultni i juvenilni oblik. Juvenilni oblik čini samo 5% granulosa-staničnih tumora, dok je ostalih 95% adultnog oblika. Otprilike 2-5% svih tumora jajnika otpada na granulosa-stanične tumore.

(1,2)

### 1.2. Epidemiologija granulosa-staničnih tumora jajnika

Dijelovi svijeta s najvećom incidencijom tumora jajnika su sjeverna i istočna Europa, Sjeverna Amerika i Oceanija. Po novim statistikama Svjetskog izvješća o raku (engl. World Cancer Report) svake se godine pojavi otprilike 239 000 novih tumora jajnika, od čega otprilike 10 000 otpada na granulosa-stanične tumore. Točna brojka granulosa-staničnih tumora na globalnoj razini još nije poznata, a trenutno za Sjedinjene Američke Države (SAD)

iznosi oko 0.99/100 000, dok u Skandinavskim zemljama (Švedska, Finska, Danska) iznosi otprilike oko 0.5 do 1.4 / 100 000. Što se tiče raspodjele tumora kod različitih etničkih skupina, ustanovljeno je da je tumor jajnika češći kod žena Europskog ili Azijskog porijekla, a rjeđi kod žena Afričkog porijekla. Granuloza-stanični tumori češći su kod žena nebjelačkog naslijeđa, unatoč činjenici da su tumori jajnika općenito češći kod žena bijele rase. (3-6) Tumori jajnika rijetki su prije 40 godina, a nakon toga im se pojavnost povećava i doseže vrhunac u dobi od 65 do 75 godina. Granuloza-stanični tumor jajnika najčešće se javlja u rano postmenopauzalno doba između 50 i 55 godina. Karcinom jajnika najčešći je uzrok smrti od ginekoloških malignih bolesti. Međutim kada pričamo o granuloza-staničnom tumoru, valja spomenuti kako je ovaj oblik tumora jajnika u većini slučajeva izlječiv i ima dobru prognozu. U rijetkim slučajevima, nakon dugog niza godina, pojavljuju se recidivi i metastaze bolesti s mogućim smrtnim ishodom. (1, 3)

### **1.3. Faktori rizika granuloza-staničnih tumora jajnika**

Prijeвременa menarha, kasna menopauza, nuliparitet, neplodnost, pretilost i obiteljska anamneza tumora jajnika povećavaju rizik od tumora jajnika, dok visoki paritet, upotreba oralnih kontraceptiva, histerektomija i podvezivanje jajovoda smanjuju taj rizik (7,8). Adultni oblik granuloza-staničnog tumora jajnika češći je kod pretilih žena, zbog pretpostavke da na to utječe veća razina estrogena, koja je kod njih prisutna. Paritet i upotreba oralnih kontraceptiva mogući su zaštitni faktori od granuloza-staničnih tumora jajnika. (6) Povećan rizik od tumora jajnika mogle bi imati radnice u tekstilnoj i tiskarskoj industriji jer se tamo mogu pronaći karcinogene tvari (azbest, silikatna prašina, živa, benzin, organska prašina, aromatski amini). Međutim veći rizik za tumor jajnika dokazan je samo kod azbesta, koji igra važnu ulogu i kod tumora drugih organskih sustava. Neka istraživanja ukazuju na to da bi silikatna prašina također mogla povećati rizik za pojavu tumora jajnika. (9-11) Isto bi se

moglo ispitati i specifično za granulosa-stanične tumore jajnika, no u ovom trenutku ne postoji dovoljno istraživanja.

#### **1.4. Etiologija i patogeneza granulosa-staničnih tumora jajnika**

O patogenezi granulosa-staničnog tumora još nije puno otkriveno, ali poznato je kako je u tumoru prisutna mutacija transkripcijskog faktora forkhead box L2 (FOXL2). FOXL2 pripada forkhead box porodici proteina, koji su bitni u razvoju i u samoj fiziologiji jajnika. Prije rođenja i u odrasloj dobi, FOXL2 protein regulira proliferaciju, rast i diobu granulosa stanica. Također poznato je da ima i određenu ulogu u apoptozi stanica u jajniku. Stoga se smatra kako mutacija ovog gena, to jest transkripcijskog faktora vjerojatno dovodi do povećane proliferacije i smanjene apoptoze. Rezultat toga su hormonske alteracija s obzirom na to da je proizvodnja estrogena jedna od funkcija granulosa stanica. Otkrivena je i specifična mutacija FOXL2 C123W koja je prisutna samo u adultnom obliku granulosa-staničnog tumora jajnika. (12-16) Gen za karcinom dojke 1 (BRCA1) i gen za karcinom dojke 2 (BRCA2) imaju veliki utjecaj na razvoj epitelnih tumora jajnika, ali nemaju nikakvu ulogu kod granulosa-staničnih tumora jajnika. (1) U osoba s Peutz-Jeghersovim sindromom, rijetkom autosomno dominantnom poremećaju, postoji veća šansa za pojavljivanje tumora specijalizirane strome jajnika. Pronađeni tumori specijalizirane strome jajnika u ovih bolesnica imali su stanice koje su karakteristikama odgovarale dijelom i granulosa i Sertolijevim stanicama. Kod ovog sindroma dolazi do mutacije serin/treonin kinaza 11 genu (STK11) na kromosomu 19p13.3, koji kodira protein iz porodice serin/treonin kinaza, koji ima ulogu tumor supresora. STK11 Peutz-Jegher gen nije uključen u patogenezu ovih tumora specijalizirane strome jajnika, iako gubitak heterozigotnosti na 19p13.3 kromosomu u ovim tumorima postoji, što bi moglo ukazivati na neke druge mutacije. (17) Kod pacijentica sa Ollierovom bolesti i Maffuccijevim sindromom postoji genetička predispozicija za juvenilni granulosa-stanični tumor. Inače Ollierovu bolest karakterizira pojava većeg broja

enhondroma, dok Maffuccijev sindrom enhondromatoze udružene s multiplim hemangiomima. (12,18-20)

### **1.5. Dijagnoza granulosa-staničnog tumora jajnika**

Dijagnoza granulosa-staničnog tumora jajnika jedna je od najčešćih diferencijalnih dijagnoza prilikom patohistološke procjene tumora jajnika. Radi se o rijetkom tumoru s vrlo različitom histološkom slikom koja može imitirati gotovo sve druge tumore jajnika. Iz tog ga se razloga često može pronaći na popisu diferencijalnih dijagnoza. Situaciju dodatno komplicira i čest nalaz fibrotekomatozne komponente koja je često prisutna u granulosa-staničnim tumorima jajnika. (1, 18)

#### **1.5.1. Klinički znakovi i simptomi granulosa-staničnog tumora jajnika**

##### **1.5.1.1. Klinički znakovi i simptomi adultnog granulosa-staničnog tumora jajnika**

Adultni oblik granulosa-staničnog tumora jajnika zahvaća većinom žene nakon menopauze, s najvećom učestalošću između 50 i 55 godina. Najčešći je estrogen-producirajući tumor jajnika. Bolesnice se najčešće javljaju s vaginalnim krvarenjem uzrokovanim hiperplazijom endometrija kao posljedicom produljene izloženosti estrogenu proizvedenom u tumorskim stanicama. Tipični simptomi uzrokovani proizvodnjom tog hormona su menoragija, metroragija, menometroragija, postmenopauzalno krvarenje, oticanje grudi, mastodinija, neplodnost, a ponekad i virilizacija ili hirzutizam, ako tumor izlučuje i androgene, što je isto opisano u literaturi. Najčešće su prisutne i promjene endometrija koji reagira na povećane količine estrogena. Većinom se radi o jednostavnoj hiperplaziji bez atipije, a rjeđe o hiperplaziji s atipijom ili karcinomu endometrija. Većina se tumora pojavljuje jednostrano (95%). Prosječna veličina tumora iznosi oko 12 cm. Velike tumorske mase mogu biti palpabilne rektalno ili abdominalno. Veliki tumori mogu uzrokovati bolove u abdomenu. (1, 18, 21-23)

#### ***1.5.1.2. Klinički znakovi i simptomi juvenilnog granulosa-staničnog tumora jajnika***

Gotovo svi granulosa-stanični tumori koji se pojavljuju kod mlađih djevojaka, histološki spadaju u juvenilne granulosa-stanične tumore. Kao i u adultnom obliku, granulosa stanice hormonski su aktivne, te proizvode estrogene, a izuzetno rijetko androgene. Najčešći znak koji se javlja zbog izlučivanja estrogena je preuranjeni pubertet. Ako tumor izlučuje androgene može se u rijetkim slučajevima pojaviti hipertrofija klitorisa. Osim toga, granulosa-stanični tumor je dobro vaskulariziran tumor koji povremeno može rupturirati i rezultirati bolovima u trbuhu i hematoperitoneumom, oponašajući tako izvanmaterničnu trudnoću. Tumor se skoro uvijek pojavljuje isključivo jednostrano. (1, 18, 24-26)

#### ***1.5.2. Patohistologija granulosa-staničnog tumora jajnika***

##### ***1.5.2.1. Patohistologija adultnog granulosa-staničnog tumora jajnika***

Tumor je na makroskopskom presjeku većinom žute do smeđe boje, solidan, a ponekad i cističan. Česta je prisutnost fibrotekomatozne komponentne, koja mu može dati čvršću konzistenciju. Mikroskopski u tumoru raspoznavamo proliferirajuće granulosa stanice. Za ovaj je tumor karakterističan nalaz Call-Exnerovih tjelešca koja su građena od malih cističnih šupljina s eozinofilnim sadržajem, oko kojih su zrakasto raspoređene granulosa stanice. (1, 18, 23, 24, 27) Način na koji tumorske stanice mogu rasti jesu mikrofolikularni (Call-Exnerova tjelešca), makrofolikularni, trabekularni, inzularni i difuzni. Stanice su siromašne citoplazmom, koja može biti vakuolizirana (luteinizacija). Jezgre su velike i imaju karakterističan oblik zrna kave. Mitoze su rijetke. Nekroza i krvarenje također mogu biti prisutni. Tumor će na imunohistokemijskom bojenju biti pozitivan na inhibin- $\alpha$ , kalretinin, Wilmsov tumorski protein (WT1) i stanični diferencijacijski antigen 56 (CD56) (1, 18, 23, 27-29).

##### ***1.5.2.2. Patohistologija juvenilnog granulosa-staničnog tumora jajnika***

Na makroskopskom presjeku, tumor je većinom solidno-cistične strukture, a rjeđe samo solidan ili samo cističan. Sadržaj cističnih tvorbi često je hemoragičan i nekrotičan. Solidan

dio tumora žućkasto je smeđe boje. Najčešći način rasta je solidan i folikularan. Folikuli su kod juvenilnog oblika znatno veći. Za razliku od adultnog oblika, stanice su veće imaju okruglaste i hiperkromatske jezgre. Mitotička aktivnost je značajno veća nego kod adultnog oblika. Citoplazma može biti luteinizirana. (1, 18, 31)

### 1.5.3. Tumorski markeri

Granuloza stanice su hormonski vrlo aktivne. Proizvode niz tvari koje se koriste ili bi se mogle koristiti prilikom dijagnosticanja ili praćenja tumora. Jedna od njih je estradiol. Granuloza stanice pomoću enzima aromataze pretvaraju androstendion u estradiol. Estradiol je estrogeni steroidni hormon, koji je djelomično odgovoran i za simptome granuloza-staničnog tumora. Estradiol je povezan s aktivnom bolešću samo u 50% bolesnica. (1, 31)

Granuloza stanice proizvode i inhibin. Inhibin je polipeptidni hormon. Po građi je dimer sa  $\alpha$  i  $\beta$  podjedinicom. S obzirom na to razlikujemo inhibin A i B, oba sadržavaju  $\alpha$  podjedinicu, dok je razlika u  $\beta_A$  i  $\beta_B$  podjedinici. Inhibin ima regulacijsku ulogu u menstrualnom ciklusu. U postmenopauzalnih bi žena inhibin trebao biti nizak. Međutim inhibin je povišen u postmenopauzalnih žena s granuloza-staničnim tumorom. Granuloza stanice proizvode sve podjedinice tog hormona, tako da sve mogu biti povišene, no najčešće je najviše povišen inhibin B. (1, 31-34)

U folikulima jajnika koji se razvijaju tijekom reproduktivne dobi žena, granuloza stanice proizvode Anti-Müllerov hormon (AMH). U postmenopauzalnih žena razina AMH-a je nemjerljiva. Kod većine postmenopauzalnih žena s granuloza-staničnim tumorima AMH je povišen. (1, 34-36)

### 1.5.4. Postavljanje dijagnoze

Nakon što se bolesnica javi svom ginekologu zbog nekog od simptoma, najčešće slijedi ultrazvučni pregled. Na ultrazvuku se granuloza-stanični tumori pojavljuju kao čvrste ili cistične jednostrane mase s hemoragičnom tekućinom. Može se vidjeti i zadebljanje endometrija. Bolesnici se može učiniti i kompjuterizirana tomografija (CT), ako ultrazvuk nije dao jasan nalaz. (37,38)

Bolesnici se vade i tumorski markeri, inhibin B i AMH koji su u

kombinaciji dobar pokazatelj za adultni oblik granulosa-staničnog tumora, posebno kod postmenopauzalnih žena. Karcinomski antigen 125 (CA125) koji je dobar marker za epitelne tumore jajnika, ovdje nije od velike vrijednosti. Estradiol bi također mogao biti korišten kao marker, no ne postoji još dobra metodologija i standardizacija istog, kao ni dovoljno istraživanja koja bi ukazivala na njegovu učinkovitost. (13) U konačnici će patohistološki nalaz potvrditi dijagnozu.

### **1.6. Liječenje**

Kirurgija je zlatni standard u liječenju granulosa-staničnih tumora jajnika. Kada se tumor dijagnosticira slijedi totalna abdominalna histerektomija s bilateralnom salpingo-oophorektomijom (TAH+BSO) ili unilateralna salpingo-oophorektomija (USO), ako se radi o mlađoj bolesnici. USO se naziva i operacija očuvanja plodnosti, jer nakon nje mlade bolesnice ne ostaju sterilne. Određivanje stadija bolesti naziva se „staging“. Kako bi se odredio stadij bolesti abdomen se otvara središnjom linijom, zbog bolje vizualizacije. Zatim se radi ispirak peritoneuma, biopsija peritoneuma, infrakolična omentektomija, te paraaortalna i zdjelična limfadenektomija. Prema dobivenom nalazu tumor se gradira po klasifikaciji Međunarodne federacije ginekologije i porodništva (FIGO). U Tablici 1. nalazi se detaljno opisana FIGO klasifikacija prema Svjetskoj Zdravstvenoj organizaciji. (14) Kada se nakon operacije prema FIGO klasifikaciji odredi stadij u kojem se tumor nalazi, slijedi postoperativno liječenje. Na Slici 1. Prikazan je detaljan opis postupaka i smjernica postoperativnog liječenja granulosa-staničnih tumora jajnika. (1, 13)



## Tablica 1: FIGO klasifikacija za stupnjevanje tumora jajnika

Preuzeto i modificirano od: Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS, Young RH. WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs. 4th edition. Lyon. IARC. 2014.

---

### FIGO klasifikacija tumora jajnika

**Stadij I:** Tumor ograničen na jajnike

**IA** Tumor ograničen na jedan jajnik; bez zloćudnih stanica u ascitesu; bez tumora na vanjskoj površini jajnika; intaktna kapsula jajnika

**IB** Tumor na oba jajnika; bez zloćudnih stanica u ascitesu; intaktna kapsula jajnika

**IC** Tumor jajnika stadija IA ili IB ali s tumorom na površini jednog ili oba jajnika ili puknute kapsule jajnika, ili zloćudnim stanicama u ascitesu ili pozitivnim peritonealnim ispirkom

**IC1** Kirurški rasap tumorskih stanica po peritoneumu

**IC2** Puknuće kapsule prije početka operacije ili prisustvo tumora na površini jajnika

**IC3** Zloćudne stanice prisutne u peritonealnom ispirku ili ascitesu

**Stadij II:** Tumor zahvaća jedan ili oba jajnika sa širenjem na tkivo zdjelice

**IIA** Širenje na i/ili presadnice u maternicu i/ili jajovode

**IIB** Širenje tumora na drugo zdjelično tkivo

**Stadij III:** Tumor ograničen na jedan ili oba jajnika s histološki potvrđenim peritonealnim implantatima izvan zdjelice i/ili pozitivnim regionalnim limfnim čvorovima. Površinske jetrene presadnice su stadij III. Tumor ograničen na zdjelicu, ali s histološki potvrđenim širenjem na tanko crijevo ili omentum

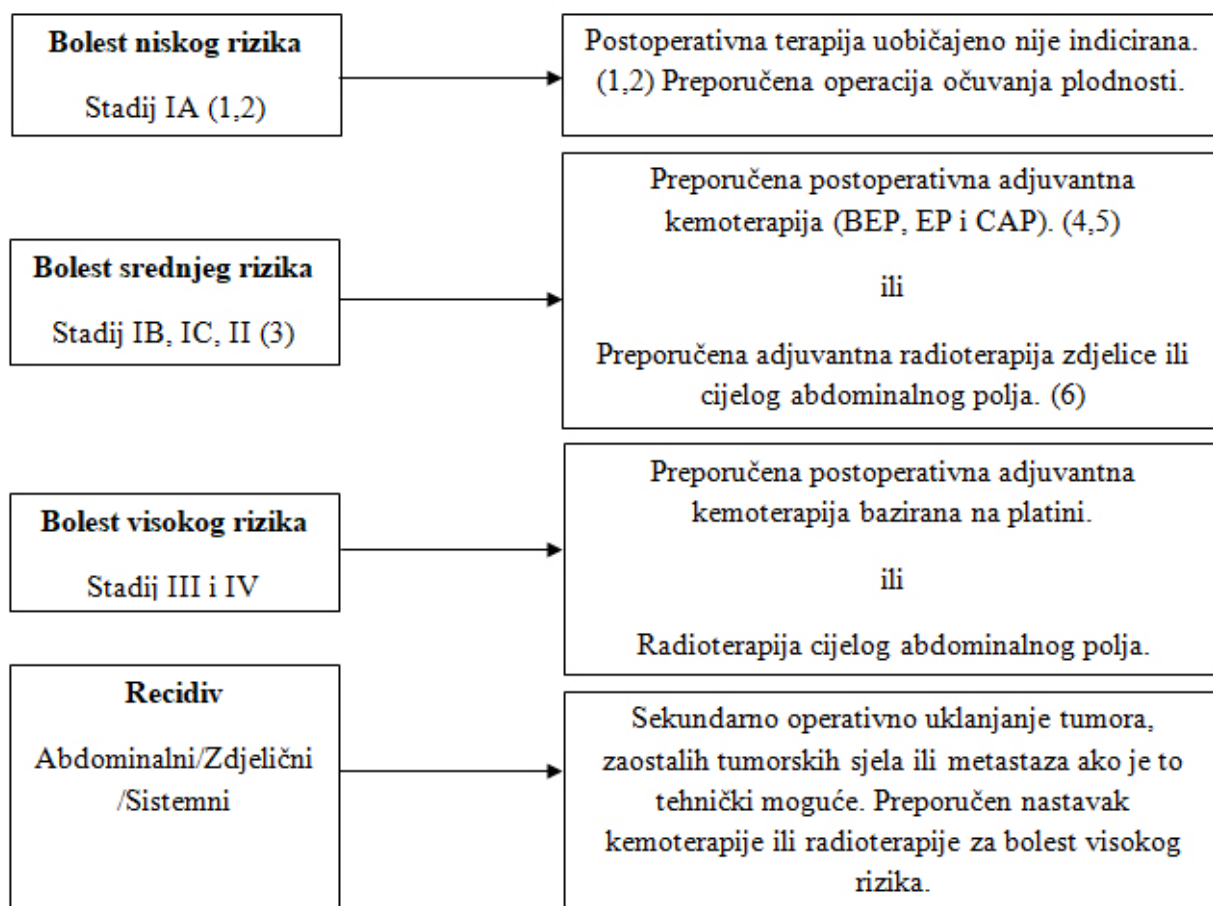
**IIIA** Mikroskopske peritonealne presadnice izvan zdjelice

**IIIB** Peritonealni implantati izvan zdjelice veličine do 2 cm u najvećem promjeru

**IIIC** Peritonealne presadnice izvan zdjelice promjera većeg od 2 cm i/ili zahvaćeni regionalni limfni čvorovi

**Stadij IV:** Prisustvo udaljenih presadnica (isključujući peritonealne presadnice). Ako postoji pleuralni izljev, mora postojati citološka potvrda zloćudnih stanica da bi se pridijelio stadij IV

---



**Slika 1. Postoperativno liječenje bolesnica s granulosa-staničnim tumorom jajnika**

(1) Uz pretpostavku da je kirurški „staging“ po stadijima adekvatno odrađeno. (2) Ukoliko bolesti u stadiju IA sadrži visoki mitotički indeks  $\geq 4$  na 10 velikih vidnih polja (VVP-a) ili je promjer tumora  $>10-15$  cm, može se razmotriti uvođenje postoperativne adjuvantne kemoterapije. (3) Rupturirani tumori, veliki tumori i tumori visokog mitotičkog indeksa u tumorima stadija IB, IC i II, mogu se svrstati u bolest visokog rizika. (4) BEP: Bleomicin, etopozid, cisplatina; EP: etopozid, cisplatina; CAP: ciklofosamid, doksorubicin, cisplatina. (5) Nije poznato djeluju li kombinacije kemoterapeutika bolje od izoliranog korištenja platine. (6) Uloga radioterapije u liječenju ovog tumora još nije sasvim razjašnjena. Preuzeto i modificirano od: Schumer ST, Cannistra SA. Granulosa cell tumor of the ovary. *Journal of clinical oncology* : official journal of the American Society of Clinical Oncology. 2003;21(6):1180-9.

### 1.7. Prognostički parametri

Razna su istraživanja pokazala kako je najbitniji prognostički faktor granulosa-staničnih tumora FIGO stadij, a ostali mogući su dob, veličina tumora, ruptura tumora, mitotički indeks i atipija jezgre. FIGO stadij je najvažniji prognostički parametar granulosa-staničnih tumora. Petogodišnje preživljenje kod tumora u stadiju I iznosi 90-100%, u stadiju II 55-75%, dok u stadijima III i IV iznosi 22-50%. (1,11, 23, 27-29, 39-51) U nekim istraživanjima postoji veća vjerojatnost za pojavu recidiva kod bolesnica niže dobi koje su u premenopauzi, dok neki

opisuju visoku dob kao faktor rizika. (1, 23, 41, 42, 43, 51) U nekim su istraživanjima veći tumori povezani s pojavom recidiva i lošijom prognozom. (1, 23, 24, 27, 28, 39, 42, 45, 48-50, 52) Ruptura tumora vjerojatno povećava rizik od pojave recidiva. (1, 23, 46, 53). U nekim istraživanjima visoki mitotički indeks pridonosi lošijoj prognozi kod pacijentica s granulozastaničnim tumorom. (1, 23, 27, 39, 46, 49, 54) Pacijentice s visokim stupnjem atipije također imaju lošiju prognozu i veću smrtnost prema nekim izvorima. (1, 23, 27, 42) Mnoga se istraživanja slažu po pitanju prognostičkih parametara koji su gore navedeni, međutim postoje i mnoga gdje ti isti parametri nisu statistički dokazani. Jedino je FIGO stadij u svim istraživanjima do sada bio dokazan kao značajan prognostički parametar. Ostale prognostičke parametre potrebno je dodatno istražiti. (1)

### **1.8. Praćenje, recidiv i preživljavanje**

Nakon liječenja, praćenje bolesnice uključuje rutinske preglede kod ginekologa s transvaginalnim ultrazvukom i vađenjem tumorskih markera. Kao najspecifičniji i najsenzibilniji tumorski markeri pokazali su se inhibin B i AMH. Preporuka je da se bolesnice prate 5 godina, svaka 3 mjeseca u prve 3 godine, a zatim svakih 6 mjeseci. U slučaju pojave recidiva bolesti, tumor se može kirurški odstraniti, ako je to tehnički izvedivo, a zatim se natrag uvodi BEP protokol kemoterapije ili radioterapija. (1, 13)

Granuloza-stanični tumori jajnika poznati su po svojoj dobroj prognozi, ali i po tendenciji pojave kasnih recidiva. Medijan pojave recidiva iznosi od 3,6 do 12 godina, a zabilježeni su slučajevi pojave recidiva i nakon 40 godina. Pojava recidiva varira od 5% do 64% slučajeva u raznim istraživanjima. (1, 15, 46, 49, 53, 55, 56) Preživljavanje također varira kroz razna istraživanja. Petogodišnje preživljavanje kreće se od 93% do 97%, a desetogodišnje preživljavanje od 87% do 94%. (1, 23, 27-29, 42, 43, 45, 46, 48, 49, 52, 53, 55) .

## **2. Ciljevi istraživanja**

### **2.1. Glavni cilj istraživanja**

Glavni cilj istraživanja bio je procijeniti patohistološke prognostičke parametre te detaljno i objektivno utvrditi vaskularnu invaziju i analizirati njihov utjecaj na pojavu recidiva i preživljavanje bolesnica s granulosa-staničnim tumorima jajnika

### **2.2. Specifični ciljevi istraživanja**

1. Procijeniti patohistološke prognostičke parametre u uzorcima tumorskog tkiva (veličina tumora, način rasta, stupanj atipije tumorskih stanica, mitotska aktivnost, prisutnost nekroze i krvarenja, prisutnost fibrotekamotozne komponente u tumoru).
2. Imunohistokemijskom metodom prikazati vaskularne prostore kako bi uočili vaskularna invaziju u granulosa-staničnim tumorima jajnika.
3. Usporediti prisutnost analiziranih patohistoloških parametara i vaskularne invazije u tumorima bolesnica s recidivom i u bolesnica bez recidiva bolesti
4. Analizirati utjecaj patohistoloških prognostičkih parametara i vaskularne invazije na pojavu recidiva.
5. Analizirati utjecaj patohistoloških prognostičkih parametara i vaskularne invazije na ukupno preživljavanje i preživljavanje bez povrata bolesti.

### **3. Ispitanici materijali i postupci**

#### **3.1. Ispitanici i materijali**

Istraživanje je retrospektivno. Ispitanici su bolesnice s dijagnozom granulozastaničnog tumora jajnika koje su operirane na Odjelu za ginekologiju Kliničkog bolničkog centra u Rijeci (KBC RI), između 1994. i 2012. godine. U istraživanje su uključene sve bolesnice redom kod kojih postoje svi potrebni klinički podatci te dovoljna količina očuvanog bioptičkog materijala, a čije se primarno liječenje sastojalo od TAH + BSO ili USO. Zdjelična i/ili paraaortalna limfadenektomija učinjene su ovisno o vremenu postavljene dijagnoze, komorbiditetima i stanju bolesnice, te tehničkoj mogućnosti. Operacijski materijal analiziranih bolesnica fiksiran je u 10% puferiranom formalinu, uklopljen u parafin, rezan i bojen standardnom rutinskom patohistološkom metodom hemalaun-eozin (HE) kako bi se svjetlosnim mikroskopom postavila patohistološka dijagnoza.

U istraživanju je korišten bioptički materijal te podatci iz medicinske dokumentacije bolesnica. Patohistološki podatci prikupljeni su iz računalne baze podataka Zavoda za patologiju Medicinskog fakulteta u Rijeci, a klinički podatci iz medicinske dokumentacije bolesnika na Klinici za ginekologiju i porodništvo, KBC RI. Uključene su samo bolesnice koje su imale potpuno praćenje u najmanje 5 godina od postavljene dijagnoze s poznatim ishodom bolesti u tom razdoblju. U konačnici je u istraživanje uključeno ukupno 43 bolesnice s granulozastaničnim tumorima jajnika. Na temelju patohistoloških kriterija bolesnice su dodatno podijeljene u dvije skupine: prvu skupinu činilo je 38 bolesnica s adultnim oblikom granulozastaničnog tumora, a drugu 5 bolesnica s juvenilnim oblikom granulozastaničnog tumora. Sve su pacijentice klasificirane prema FIGO klasifikaciji za tumore jajnika iz 2014.

## **3.2. Postupci**

### **3.2.1. Određivanje prognostičkih parametara**

Bioptički materijali tumorskog tkiva fiksirani su u 10%-tnom neutralnom puferiranom formalinu nakon čega su uklopljeni u parafin i narezani na 3 do 4 µm debljine te su nakon deparafinacije i rehidracije bojane rutinskom patohistološkom HE metodom. Cjelokupni materijal je bio pregledan i reklasificiran, a patohistološka obrada uključivala je sljedeće patohistološke parametre: veličina tumora, makroskopski opis tumora, histološki oblik tumora (adultni ili juvenilni), mikroskopski načina rasta tumora, stupanj atipije, mitotska aktivnost izražena kao broj mitozna na 10 VVP-a, prisutnost nekroze, prisutnost krvarenja, prisustvo fibrotekomatozne komponentne u tumoru i na kraju vaskularna invazija. Prisustvo fibrotekomatozne komponente klasificirali smo tako da je prisutnost najmanje 30% komponente fibroma / tekoma u tumorskom tkivu bilo potrebno da ih svrstamo u kategoriju granulosa-staničnih tumora s istaknutom fibrotekomatoznom komponentom. Prema drugim istraživanjima u literaturi, prijelomnu vrijednost za mitotički indeks uzeli smo 4 mitoze na 10 VVP. S obzirom na to tumore smanje od 4 mitozna na 10 VVP kategorizirali smo kao tumore s niskim mitotičkim indeksom, dok smo one s 4 ili više kategorizirali kao tumore s visokim mitotičkim indeksom. Uzorci su pregledani na malom povećanju radi pronalaženja područja s najvećom gustoćom mitozna, a tada su mitoze prebrojene kao tri skupine od deset slučajno odabranih susjednih VVP-a.

### **3.2.2. Imunohistokemijsko bojanje**

Za imunohistokemijsku analizu iz reprezentativnih tkivnih uzoraka granulosa-staničnih tumora napravili su se tkivni rezovi. Parafinski rezovi debljine 3 do 5 µm sušili su se preko noći na 55°C, te potom deparafinizirani i dehidrirani standardnim postupkom. Rezovi su bili tretirani vizualizacijskim sistemom temeljenim na EnVision metodi. Vizualizacijski sistem (DAKO EnVision FLEX, High pH KIT K801021, Glostrup, Danska) korišten je u automatskom imunobojaču (DAKO Autostainer plus). Diaminobenzidin (DAB) je bio

korišten kao kromogen. Za otkrivanje antigenskih epitopa molekula od interesa primijenili smo toplinom inducirani predtretman. Rezovi su bili uronjeni u Tris-etilendiamintetraoctenu kiselinu (EDTA) pufer, pH 9 (10 mM Tris baze, 1 mM EDTA otopine) i zatim u vodenu kupelj tijekom 15 minuta na temperaturi od 97 °C. Koristili smo primarno monoklonalno protutijelo anti CD34 Class II (m7165 klon QBEnd10, DAKO, Glostrup, Danska) za prikazivanja endotela krvnih žila te time dobili objektivniju i točniju procjenu prodora tumorskog tkiva u vaskularne prostore. Korištenjem svjetlosnog mikroskopa i pregledavanjem cijelog uzorka utvrdili smo postojanje vaskularne invazije u tumorskom tkivu.

### **3.2.3. Prikupljanje podataka**

Patohistološki podaci prikupljeni su iz računalne baze podataka Zavoda za patologiju i patološku anatomiju Medicinskog fakulteta u Rijeci, a klinički podaci iz medicinske dokumentacije bolesnica na Klinici za ginekologiju i porodništvo, Odjela ginekologije Kliničkog bolničkog centra Rijeka. Pregledani su svi dostupni kompjutorizirani i papirnati medicinski zapisi, uključujući bolničke i ambulantne posjete ustanovi. Prikupljeni su podaci o karakteristikama bolesnica, kliničkim nalazima i cjelokupnom liječenju primarne ili recidivirajuće bolesti. Promatrani parametri bili su dob, FIGO stadij, tip operacije, limfadenektomija, primjena adjuvantne terapije, prisustvo patologije u endometriju, pojava recidiva bolesti, vrijeme pojave recidiva i dužina preživljavanja bolesnica.

### **3.2.4. Određivanje vaskularne invazije u tumorskom tkivu**

Imunohistokemijsko bojanje s anti-CD34 protutijelom upotrijebljeno je da se istaknu endotelne stanice krvnih žila, a preparati su pregledani na prisutnost ili odsutnost vaskularne invazije. Invazija vaskularnog prostora dijagnosticirana je samo kada su pronađene nakupine tumorskih stanica unutar područja okruženih endotelnim stanicama, s ili bez intraluminalnih eritrocita. Područja potencijalnog artefakta ili kontaminacija tumorskim stanicama (poderano tkivo, slobodni fragmenti tumorskih stanica duž ruba tkiva) isključena su iz istraživanja.

Tumore smo s obzirom na prisutnost vaskularne invazije podijelili u dihotome: pozitivni (prisutna vaskularna invazija) i negativni (odsutna vaskularna invazija).

### **3.3. Statistička obrada podataka**

Statistička analiza provedena je pomoću MedCalc za Windows, verzija 18 (MedCalc Statistical Software bvba, Ostende, Belgija). Korištene su klasične deskriptivne metode kao i Fisherov točan test i  $\chi^2$ -test za usporedbu proporcija. Mann-Whitneyev test korišten je za usporedbu medijana. Korelacija je proučavana Kendall tauovom korelacijom. Metoda logističke regresije korištena je kako bi se izračunao omjer izgleda (OR) za prediktore recidiva u univarijatom i multivarijatom načinu. Povezanost analiziranih parametara s ukupnim preživljenjem bolesnica i preživljavanjem bez povrata bolesti ocijenjena je pomoću Kaplan-Meierove metode, a razlike između krivulja preživljavanja testirane su na statističku značajnost korištenjem log-rank testa. Parametri s prognostičkim značenjem uključeni su u multivarijatan Coxov regresijski model. Rezultati s vrijednostima  $p < 0,05$  označeni su kao statistički značajni u svim testovima.

Istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo KBC RI i Etički odbor Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci za biomedicinska istraživanja.



## 4. Rezultati

### 4.1. Kliničkopatološka obilježja bolesnika

Kliničkopatološka obilježja 43 bolesnica s granuloza-staničnim tumorom jajnika uključenih u istraživanje prikazuje Tablica 2.

**Tablica 2. Kliničkopatološka obilježja bolesnica s granuloza-staničnim tumorom jajnika**

<b>Klinička obilježja ( N = 43)</b>	
<b>Dob (godine)</b>	
Medijan	53
Raspon	17-84
<b>FIGO stadij</b>	<b>Slučajevi (%)</b>
IA	32 (74)
IC1	5 (11)
IC2	2 (5)
IC3	2 (5)
III	2 (5)
<b>Inicijalni kirurški postupak</b>	<b>Slučajevi (%)</b>
TAH+BSO	16 (37)
TAH+BSO+ “staging operacija”	16 (37)
USO (očuvanje plodnosti)	11 (26)
<b>Limfadenektomija</b>	<b>Slučajevi (%)</b>
Nije izvođena	34 (79)
Izvođena	9 (21)
<b>Adjuvantna kemoterapija</b>	<b>Slučajevi (%)</b>
Samo kirurgija	37 (88)
kirurgija + kemoterapija	5 (12)
<b>Patologija endometrija</b>	<b>Slučajevi (%)</b>
Nema	18 (50)
Hiperplazija bez atipije	13 (36)
Hiperplazija s atipijom	4 (11)
Karcinom	1 (3)
<b>Pojava recidiva</b>	<b>Slučajevi (%)</b>
Ne	34 (83)
Da	7 (17)
<b>Broj mjeseci do recidiva</b>	
Srednja vrijednost (Raspon)	38 (6-120)
<b>Praćenje (mjeseci)</b>	
Srednja vrijednost (Raspon)	96 (7-276)
<b>Umrle od bolesti [N (%)]</b>	<b>4 (10)</b>

Medijan dobi prilikom dijagnoze bio je 53, s rasponom od 17 do 84 godine, pri čemu je 18 (42%) bolesnica bilo starije od 55 godina. Trideset i dvije bolesnice (74%) bile su u FIGO stadiju IA, dok je 5 bolesnica (11%) bilo u stadiju IC1, 2 (5%) u stadiju IC2, 2 (5%) u stadiju

IC3 i 2(5%) u stadiju III. Niti jedna bolesnica nije bila u stadiju bolesti FIGO IB. Trideset i dvije bolesnice liječene su TAH + BSO sa (16) ili bez (16) potpunog „staginga“, dok je u preostalih 11 pacijentica bila učinjena USO sa „stagingom“. Ovakav operativni pristup učinjen je kod mlađih bolesnica u generativnoj dobi s ciljem očuvanja plodnosti i reproduktivne sposobnosti ili kod bolesnica kojima je prethodno bila uklonjena maternica i druga adneksa zbog druge benigne patologije. Potpuni „staging“ uključivao je peritonealnu lavažu, peritonealne biopsije, apendektomiju i omentektomiju, sili bez zdjeličnih i paraaortalnih limfnih čvorova. Limfadenektomija je provedena u 9 bolesnica. Postoperativna adjuvantna kemoterapija s BEP protokolom primijenjena je u 5 bolesnica koje su bile u kliničkom stadiju bolesti IC ili više. U 18 bolesnica (50%) nije pronađena nikakva patologija endometrija, dok je u 13 (56%) nađena hiperplazija endometrija bez atipije, a kod 4 (11%) hiperplazija endometrija s atipijom. Kod jedne je bolesnice uz granuloza-stanični tumor jajnika pronađen sinkroni karcinom endometrija.

#### **4.2. Usporedba kliničkopatoloških prognostičkih parametara i pojave recidiva bolesti**

Ova statistička analiza prikazuje razliku pojedinih parametara u dvije skupine bolesnica (one s recidivom bolesti i one bez recidiva bolesti). Najviše je bolesnica (59%) imalo 55 godina ili manje prilikom dijagnoze. Većina bolesnica bez recidiva (59%) imala je 55 godina ili manje prilikom dijagnoze, dok je većina bolesnica s recidivom (57%) bila starija od 55 godina. Nije bilo statistički značajne razlike u dobi bolesnica između dvije promatrane skupine ( $p=0.678$ ). Najčešći FIGO stadij u bolesnica bez recidiva bio je IA (82%), dok je kod bolesnica s recidivom to bio stadij IC i III (71%). Uočena je značajno viša frekvencija FIGO stadija IC i III u skupini bolesnica koje su razvile recidiv bolesti ( $p = 0.009$ ). Bolesnice bez recidiva većinom su imale radikalnu operaciju (79%), dok su pacijentice s recidivom imale više operacija očuvanja plodnosti (57%). Dvadeset i dvije bolesnice (58%) imale su makroskopski potpuno solidnu tumorsku masu, žutu do sivu na reznoj površini, 9 bolesnica (21%) imalo je

cistični tumor, a 12 (28%) kombiniranu, cističnu i solidnu tumorsku masu. Nisu zabilježene statistički značajne razlike između dvije skupine bolesnica u vrsti operacije ( $p = 0,069$ ) veličini tumora ( $p = 0,344$ ) i makroskopskom izgledu ( $p = 0,863$ ). Adultnih granuloza-staničnih tumora bilo je 38 (88%), a juvenilnih 5 (12%). U našem su istraživanju načini rasta bili raspoređeni na sljedeći način: 18 (47,4%) uzoraka imalo je difuzni način rasta, 9 (23,7%) mikrofolikularni, 5 (13,2%) inzularni, 4 (10,5%) trabekularni i 2 (5,3%) uzorka makrofolikularni. Većina tumora, 21 (52%) imala je tri i više mikroskopskih načina rasta granuloza-staničnih tumora, 12 (30%) dva načina rasta, a 7 (18%) samo jedan način rasta. Nije bilo statistički značajne razlike u broju načina rasta između bolesnica bez i bolesnica s recidivom ( $p = 0,403$ ). Dominantni način rasta kod bolesnica s recidivom bio je difuzni ( $p = 0,011$ ). Većina tumora imala je blagu (19) (45%) ili umjerenu (19) (45%) atipiju. U tabličnom prikazu, s brojem 1 označena je blaga, s brojem 2 umjerena, a s brojem 3 teška atipija. Dvadeset i dva tumora (51%) imala su manje od 4 mitoze na 10 VVP-a, dok je njih 21 (49%) imalo 4 ili više. Mitotički indeks statistički se ne razlikuje između bolesnica bez i bolesnica s recidivom ( $p = 0,685$ ). U 15 uzoraka tumora (35%) otkrivena je pozitivna vaskularna invazija. Uočena je značajno veća prisutnost vaskularne invazije ( $p = 0,006$ ) kod bolesnica s recidivom, nego kod bolesnica bez recidiva. Nekroza je bila prisutna kod 34 bolesnice (79%), kod 29 bolesnica bez recidiva (85%) i kod 5 bolesnica s recidivom (71%). Nema značajne razlike između prisutnosti nekroze između dvije skupine bolesnica ( $p = 0,581$ ). Uočena je veća učestalost krvarenja u tumorskom tkivu bolesnica s recidivom ( $p = 0,002$ ). U 30 bolesnica (70%) bila je prisutna istaknuta fibrotekomatozna komponenta. Kod bolesnica bez recidiva i kod bolesnica s recidivom ona iznosi 71%, tako da ne postoji značajna razlika u ovom parametru između dvije skupine bolesnica ( $p = 1,00$ ). Rezultati statističke analize usporedbe kliničkopatoloških prognostičkih parametara i pojave recidiva bolesti sumirani su i prikazani u Tablici 3.

**Tablica 3. Kliničkopatološka obilježja u usporedbi spojavom recidiva bolesti**

Obilježja	Svi tumori (N=43)	Recidiv		P vrijednosti
		Ne (N=34)	Da (N=7)	
<b>Dob (godine)</b>				
≤ 55g	25 (59%)	20 (59%)	3 (43%)	0.678 <sup>±</sup>
>55g	18 (42%)	14 (41%)	4 (57%)	
<b>FIGO stadij</b>				
IA	32 (74%)	28 (82%)	2 (29%)	<b>0.009<sup>±</sup></b>
IC i III	11 (26%)	6 (18%)	5 (71%)	
<b>Kirurgija</b>				
Radikalna operacija	32 (74%)	27 (79%)	3 (43%)	0.069 <sup>±</sup>
Operacija očuvanja plodnosti	11 (26%)	7 (21%)	4 (57%)	
<b>Veličina tumora (cm)</b>				
<10 cm	31 (76%)	25 (78%)	4 (57%)	0.344 <sup>±</sup>
≥10 cm	10 (24%)	7 (22%)	3 (43%)	
<b>Makroskopski izgled tumora</b>				
solidan	22 (51%)	18 (53%)	3 (42%)	0.863 <sup>¶</sup>
cističan	9 (21%)	7 (21%)	2 (29%)	
Cistično-solidan	12 (28%)	9 (26%)	2 (29%)	
<b>Tip tumora</b>				
Adultni	38 (88%)	31 (91%)	5 (71%)	0.195 <sup>±</sup>
Juvenilni	5 (12%)	3 (9%)	2 (29%)	
<b>Načini rasta granuloza stanica</b>				
1 vrsta	7 (18%)	5 (15%)	2 (40%)	0.403 <sup>¶</sup>
2 vrste	12 (30%)	11 (33%)	1 (20%)	
3 ili više vrste	21 (52%)	17 (52%)	2 (40%)	
<b>Dominantni način rasta</b>				
Difuzni	18 (47%)	11 (35%)	5 (100%)	<b>0.011<sup>±</sup></b>
Ostali	20 (53%)	20 (65%)	0	

<b>Stupanj atipije stanica</b>				
1	19 (45%)	19 (58%)	0	<b>0.019<sup>¶</sup></b>
2	19 (45%)	11 (33%)	6 (86%)	
3	4 (10%)	3 (9%)	1 (14%)	
<b>Mitotički indeks</b>				
<4	22 (51%)	19 (56%)	3 (43%)	0.685 <sup>±</sup>
≥4	21 (49%)	15 (44%)	4 (57%)	
<b>Vaskularna invazija</b>				
Negativna	28 (65%)	25 (74%)	1 (14%)	<b>0.006<sup>±</sup></b>
Pozitivna	15 (35%)	9 (26%)	6 (86%)	
<b>Nekroza</b>				
Prisutna	34 (79%)	29 (85%)	5 (71%)	0.581 <sup>±</sup>
Odsutna	9 (21%)	5 (15%)	2 (29%)	
<b>Krvarenje</b>				
Prisutno	29 (67%)	27 (79%)	1 (14%)	<b>0.002<sup>±</sup></b>
Odsutno	14 (33%)	7 (21%)	6 (86%)	
<b>Prisutnost istaknute fibrotekomatozne komponente</b>				
Prisutna	30 (70%)	24 (71%)	5 (71%)	1.00 <sup>±</sup>
Odsutna	13 (30%)	10 (29%)	2 (29%)	

<sup>±</sup>Fischerov točan test; <sup>¶</sup>χ<sup>2</sup>-test; \*Mann-Whitney U-test

Uočena je slaba, ali statistički značajna korelacija između krvarenja u tumorskom tkivu i vaskularne invazije ( $r = 0,220$ ,  $p = 0,0394$ ). Nije nađena statistički značajna povezanost između veličine tumora, načina rasta, atipije, broja mitozna i vaskularne invazije.

#### 4.3. Utjecaj kliničko patoloških parametara na pojavu recidiva

U ovoj analizi za svaki pojedini prediktor uzorci su podijeljeni u dihotome, odnosno one s visokim ili niskim vrijednostima dobi, veličine tumora, mitotičkog indeksa ili na pozitivne i negativne s obzirom na prisutnost ili odsutnost određenih ispitivanih čimbenika. Potom se metodom logističke regresije izračunao OR za prediktore pojave recidiva. U univarijatnoj

analizi FIGO stadij bolesti, vaskularna invazija, atipija i prisutnost krvarenja u tumoru pokazali su se kao značajni prognostički pokazatelji pojave recidiva. Rezultati univarijantne analize prikazani su u Tablici 4.

**Tablica 4. Prediktori recidiva: univarijantna analiza**

Prediktori	OR	95% CI	P vrijednost	AUC
Dob >55g	1.90	0.37-9.87	0.440	0.580
FIGO IC i III	<b>11.67</b>	<b>1.81-75.08</b>	<b>0.009</b>	<b>0.769</b>
Operacija očuvanja plodnosti	5.14	0.93-28.50	0.061	0.683
Tumor veličine $\geq 10$ cm	2.68	0.48-14.89	0.260	0.605
Vaskularna invazija	<b>16.67</b>	<b>1.76-158.12</b>	<b>0.014</b>	<b>0.796</b>
Atipija	<b>4.25</b>	<b>1.09-16.53</b>	<b>0.037</b>	<b>0.773</b>
Nekroza	2.32	0.35-15.43	0.384	0.569
Krvarenje	<b>23.14</b>	<b>2.38-224.99</b>	<b>0.007</b>	<b>0.826</b>
Mitotički indeks $\geq 4$	1.69	0.33-8.73	0.531	0.565

Prognostički značajni pokazatelji pojave recidiva uvršteni su u multivarijantnu analizu čiji rezultati su prikazani u Tablici 5. Iz modela su kao ne značajni izbačeni FIGO stadij i atipija, a kao nezavisni prediktori pojave recidiva pokazali su se vaskularna invazija i krvarenje u tumorskom tkivu.

**Tablica 5. Prediktori recidiva: multivarijantna analiza**

Prediktor	OR	95% CI	P vrijednost	AUC
Vaskularna invazija	<b>14.03</b>	<b>1.10-178.60</b>	<b>0.042</b>	<b>0.885</b>
Krvarenje	<b>24.14</b>	<b>1.97-294.39</b>	<b>0.013</b>	

#### 4.4. Analiza preživljavanja

##### 4.4.1. Analiza ukupnog preživljavanja bolesnica

Prilikom analize preživljavanja prvo je određen utjecaj parametara na ukupno preživljavanje Kaplan-Meier-ovom metodom, a razlika između krivulja preživljavanja utvrđena je pomoću log-rank testa. Ovakvom analizom dokazana je statistički značajna razlika u preživljavanju

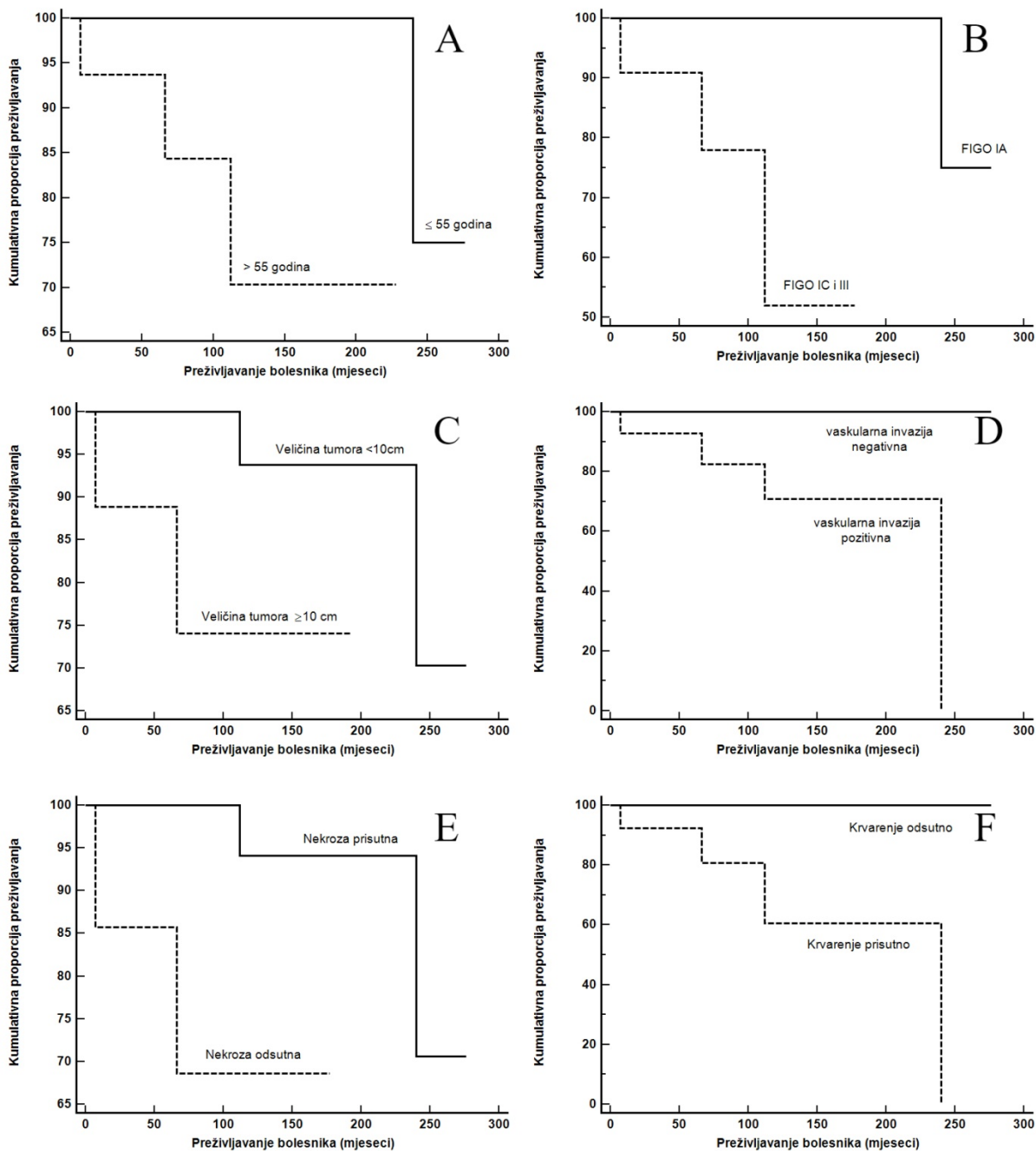
bolesnica s obzirom na neke analizirane parametre, pa tako podskupina starijih bolesnica (starije od 55 godina), bolesnica s višim kliničkim stadijem bolesti, tumorom većim od 10 cm, s prisutnom vaskularnom invazijom u tumoru, s prisutnom nekrozom u tumoru i s prisutnim krvarenjem u tumorskom tkivu značajno kraće živi u odnosu na podskupinu bolesnica bez tih obilježja. Nije utvrđena razlika u dužini preživljavanja između skupina bolesnica s obzirom na kirurški pristup, način rasta tumora, atipiju, mitotički indeks i prisustvo fibrotekomatozne komponente u tumoru. Svi rezultati ove analize preživljavanja prikazani su u Tablici 6, a krivulje preživljavanja za statistički značajne rezultate na Slici 2. U multivarijantnoj analizi niti jedan od parametara nije zadržao utjecaj na ukupno preživljavanje bolesnica.

**Tablica 6. Univarijantna analiza ukupnog preživljavanja kod bolesnica s granulostaničnim tumorima jajnika**

Obilježja	N	Umrle od bolesti	% petogodišnjeg preživljavanja	Log-rank test ( $\chi^2$ -test) p vrijednost
<b>Dob (godine)</b>				
≤ 55	23	1	100%	<b>0.021</b>
>55	16	3	84%	
<b>FIGO stadij</b>				
IA	28	1	100%	<b>0.001</b>
IC i III	11	3	77%	
<b>Kirurgija</b>				
Radikalna operacija	28	3	92%	0.801
Operacija očuvanja plodnosti	11	1	100%	
<b>Veličina tumora</b>				
<10 cm	28	2	100%	<b>0.035</b>
≥10 cm	9	2	74%	
<b>Dominantni način rasta</b>				

Difuzni	15	3	91%	0.075
Ostali	19	0	100%	
<b>Stupanj atipije stanica</b>				
1	18	0	100%	0.089
2	16	3	92%	
3	4	1	75%	
<b>Mitotički indeks</b>				
<4	20	1	100%	0.148
≥4	19	3	88%	
<b>Vaskularna invazija</b>				
Negativna	25	0	100%	<b>0.004</b>
Pozitivna	11	4	81%	
<b>Nekroza</b>				
Prisutna	32	2	100%	<b>0.007</b>
Odsutna	7	2	68%	
<b>Krvarenje</b>				
Odsutno	26	0	100%	<b>0.001</b>
Prisutno	13	4	80%	
<b>Prisutnost istaknute fibrotekomatozne komponente</b>				
Prisutna	29	3	96%	0.915
Odsutna	10	1	88%	





**Slika 2. Kaplan-Meierove krivulje ukupnog preživljavanja s obzirom na kliničkopatološke parametre u bolesnica s granulosa staničnim tumorom.** Pokazuju značajno kraće preživljavanje u bolesnica starijih od 55 godina ( $p=0.021$ , log-rank test)(A), u bolesnica višeg FIGO stadija bolesti ( $p=0.001$ , log-rank test)(B), u bolesnica s većim tumorom od 10 cm ( $p=0.035$ , log-rank test)(C), s pozitivnom vaskularnom invazijom ( $p=0.004$ , log-rank test)(D), s prisutnom nekrozom u tumoru ( $p=0.007$ , log-rank test)(E) i s prisutnim krvarenjima u tumoru ( $p=0.001$ , log-rank test)(F).

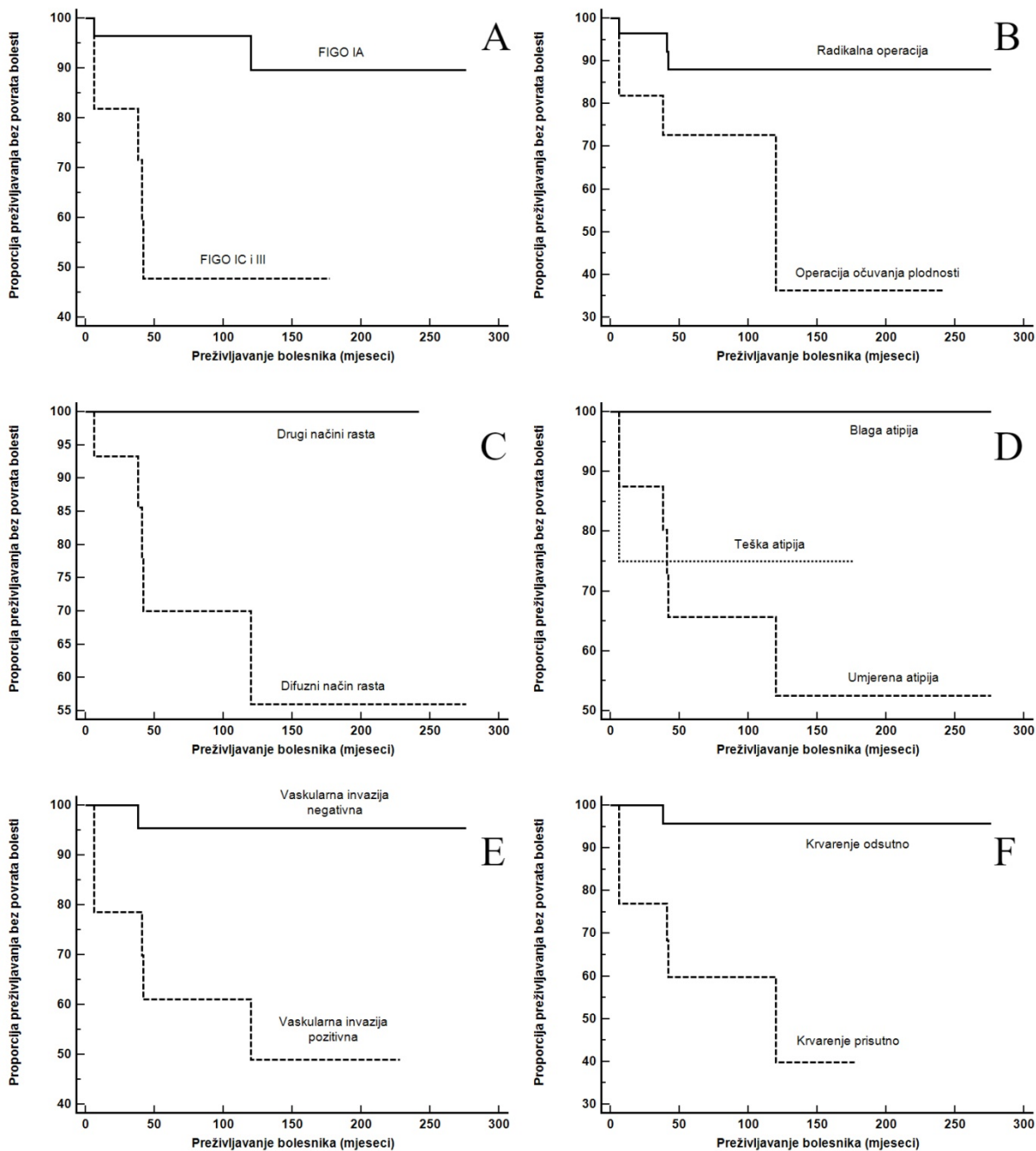
#### 4.4.2. Analiza preživljavanja bolesnica bez povrata bolesti

Prilikom analize preživljavanja bez povrata bolesti ponovno je prvo određen utjecaj parametara na ukupno preživljavanje Kaplan-Meier-ovom metodom, a razlika između krivulja preživljavanja utvrđena je pomoću log-rank testa. Ovakvom analizom dokazana je statistički značajna razlika u preživljavanju bez povrata bolesti bolesnica s obzirom na neke analizirane parametre, pa tako podskupina bolesnica s višim kliničkim stadijem bolesti, liječenih samo USO-om, s dominantnim difuznim načinom rasta, s umjerenom i teškom atipijom, s prisutnom vaskularnom invazijom u tumoru i s prisutnim krvarenjem u tumorskom tkivu imaju značajno kraću stopu preživljavanja bez povrata bolesti u odnosu na podskupinu bolesnica bez tih obilježja. Nije utvrđena razlika u dužini preživljavanja bez povrata bolesti između skupina bolesnica s obzirom na dob, veličinu, način rasta tumora, mitotički indeks i prisustvo fibrotekomatozne komponente u tumoru. Svi rezultati ove analize preživljavanja prikazani su u Tablici 7., a krivulje preživljavanja za statistički značajne rezultate na Slici 3. U multivarijantnoj analizi samo je FIGO stadij zadržao utjecaj na preživljavanje bolesnica bez povrata bolesti (HR 25.95; CI 2.75-244.56; p = 0.004), te se pokazao kao važan nezavisni prognostički faktor.

**Tablica 7. Univarijantna analiza preživljavanja bez povrata bolesti u bolesnica s granuloza-staničnim tumorom jajnika**

Obilježja	N	N dokumentiranih recidiva	% petogodišnjeg preživljavanja bez bolesti	Log-rank test ( $\chi^2$ -test) p vrijednost
<b>Dob (godine)</b>				
≤ 55g	23	3	91%	0.274
>55g	16	4	73%	
<b>FIGO stadij</b>				
IA	28	2	96%	<b>0.001</b>
IC i III	11	5	47%	

<b>Kirurgija</b>				
Radikalna operacija	28	3	88%	<b>0.043</b>
Operacija očuvanja plodnosti	11	4	72%	
<b>Veličina tumora</b>				
<10 cm	28	4	87%	0.159
≥10 cm	9	3	65%	
<b>Dominantni način rasta</b>				
Difuzni	15	0	100%	<b>0.006</b>
Ostali	19	5	70%	
<b>Stupanj atipije stanica</b>				
1	18	0	100%	<b>0.017</b>
2	16	6	65%	
3	4	1	75%	
<b>Mitotički indeks</b>				
<4	20	3	90%	0.526
≥4	19	4	76%	
<b>Vaskularna invazija</b>				
Negativna	25	1	96%	<b>0.002</b>
Pozitivna	14	6	61%	
<b>Nekroza</b>				
Prisutna	32	5	87%	0.342
Odsutna	7	2	68%	
<b>Krvarenje</b>				
Prisutno	26	1	96%	<b>0.0009</b>
Odsutno	13	6	60%	
<b>Prisutnost istaknute fibrotekomatozne komponente</b>				
Prisutna	29		86%	0.903
Odsutna	10	2	77%	



**Slika 3. Kaplan-Meierove krivulje preživljavanja bez povrata bolesti s obzirom na kliničkopatološke parametre u bolesnica s granulozna staničnim tumorom.** Pokazuju značajno kraće preživljavanje u bolesnica višeg FIGO stadija bolesti ( $p=0.001$ , log-rank test)(A), u bolesnica s operacijom očuvanja plodnosti ( $p=0.043$ , log-rank test)(B), u bolesnica s dominantnim difuznim načinom rasta ( $p=0.006$ , log-rank test)(C), s umjerenom i teškom atipijom ( $p=0.017$ , log-rank test)(D), s prisutnom vaskularnom invazijom u tumoru ( $p=0.002$ , log-rank test)(E) i s prisutnim krvarenjima u tumoru ( $p=0.0009$ , log-rank test)(F).

## 5. Rasprava

Fox i suradnici zaključili su još 1975. kako na lošiju prognozu preživljavanja kod granulozastaničnih tumora utječe dob iznad 40 godina. (24) U velikom istraživanju sa 172 slučaja granulozastaničnih tumora jajnika, Ohel i suradnici pokazali su kako je jedan od parametra povezanih s lošijom prognozom starija dob pacijentica. (43) U nekim je istraživanjima u univarijantnoj analizi starija dob utjecala na lošiju prognozu bolesti, dok u multivarijantnim analizama nije zadržala taj utjecaj. (44, 46) Međutim u nekim je istraživanjima u multivarijantnim analizama zadržala taj utjecaj. (45) Sehouli i suradnici pokazuju kako značajna razlika u preživljavanju između pacijentica mlađih od 50 godina i starijih od 50 godina ne postoji. (57) U istraživanjima koja su uključivala samo juvenilne granulozastanične tumore, parametri koji utječu na bolju prognozu bili su dob manja od 10 godina i pojava preuranjenog puberteta. (25) U našem istraživanju dob nije prognostički značajni pokazatelj pojave recidiva. Međutim pokazali smo kako je dob veća od 55 godina utjecala na kraće ukupno preživljavanje u univarijantnoj analizi. Medijan dobi prilikom dijagnoze u našem je istraživanju bio 53. Kod drugih istraživanja medijan dobi prilikom dijagnoze granulozastaničnog tumora jajnika uglavnom se kreće od 47,6 do 54,3. (44, 46, 48, 53, 56, 58, 59) Dob prilikom koje se dijagnosticira bolest otprilike je slična kod svih istraživanja. Utjecaj dobi na prognozu, pojavu recidiva i preživljavanje razlikuje se od istraživanja do istraživanja, te ovaj parametar treba i dalje istraživati.

Evans i suradnici pokazali su kako viši stadij tumora utječe na kraće preživljavanje. (28) Na pojavu recidiva značajno je utjecao viši FIGO stadij bolesti, a on se pokazao i kao neovisni prediktor pojave recidiva, te je utjecao na ukupno preživljavanje i preživljavanje bez povrata bolesti kod raznih autora. (42, 46, 49, 52, 54, 58, 60, 61) Malmström je sa suradnicima otkrio kako su stope preživljavanja u stadiju I iznosile 94%, a u stadijima II i III 44%. (39) U velikoj studiji sa 172 slučaja granulozastaničnih tumora jajnika, Ohel i suradnici pokazali su kako je od parametara koji su povezani s prognozom bio i stadij bolesti prilikom dijagnoze.

(43) Ajhan i suradnici imali su u istraživanju 70% posto pacijentica u FIGO stadiju I. U univarijantnoj analizi viši stadij bolesti utjecao je na višu smrtnost od bolesti, a utjecaj je zadržan i u multivarijantnoj analizi. Također viši stadij utjecao je i na češću pojavu recidiva.

(44) U još većem istraživanju s 376 bolesnica, ukupno preživljavanje iznosilo je kod bolesnica u stadijima I i II 95%, dok je kod bolesnica u stadijima III i IV ukupno preživljavanje iznosilo 59%. Bolesnice u stadijima I i II mlađe od 50 godina imale su bolju prognozu od onih s više od 50 godina. (45) Viši FIGO stadij i u našem se istraživanju pokazao kao značajni prognostički pokazatelj pojave recidiva. U univarijantnoj je analizi viši FIGO stadij utjecao na kraće ukupno preživljavanje, a u multivarijantnoj analizi nije zadržao taj utjecaj. Viši stadij bolesti također je utjecao na kraće preživljavanje bez povrata bolesti, a taj je utjecaj zadržao i u multivarijantnoj analizi. Naši se rezultati većinom poklapaju s ostalim autorima. FIGO stadij bolesti najvažniji je do sada dokazani prognostički parametar (1).

Lauszus i suradnici TAH + BSO povezuju sa znatno duljim preživljavanjem. Desetogodišnje preživljavanje je u tih pacijentica iznosilo 90%, dok je kod žena koje su bile operirane konzervativno iznosilo samo 40%. (29) Suprotno tome, kod drugih istraživanja nije zamijećena razlika u preživljavanju kod pacijentica koju su bile podvrgnute konzervativnoj operaciji i onih podvrgnutih radikalnoj operaciji. (45, 48) U našem istraživanju USO je utjecala na kraće preživljavanje bez povrata bolesti u univarijantnoj analizi, no nije zadržala utjecaj u multivarijantnoj analizi. Nije bilo značajne razlike u vrsti operacije (TAH + BSO ili USO) između skupine bolesnica bez recidiva ili s recidivom, te vrsta operacije nije utjecala na pojavu recidiva, niti na ukupno preživljavanje. Utjecaj poštednih operacija s ciljem održavanja fertiliteta mlađih pacijentica na prognozu granulozno-staničnih tumora potrebno je dodatno razjasniti i provesti dodatna veća istraživanja koja bi odgovorila na pitanje optimalnog dugotrajnog praćenja takvih pacijentica.

Ayhan i suradnici prikazuju kako primjena adjuvantne kemoterapije značajno utječe na manju smrtnost povezanu s bolesti u univarijantnoj analizi, dok u multivarijantnoj analizi adjuvantna terapija nije zadržala utjecaj na smrtnost. (44) Sun i suradnici prikazuju utjecaj primjene adjuvantne kemoterapije na smanjenu pojavu recidiva u univarijantnoj analizi, no primjena adjuvantne kemoterapije nije utjecala na ishod bolesti. (48) Kod istraživanja koje je proveo Auranen sa suradnicima ukupno preživljavanje i preživljavanje bez povrata bolesti nije bilo značajno različito kod pacijentica koje su primale adjuvantnu kemoterapiju i kod onih koje nisu. (60) Tao i suradnici proveli su istraživanje s bevacizumabom, lijekom koji djeluje anti-angiogenetski. Bevacizumab usporava rast novih krvnih žila kroz inhibiciju vaskularnog endotelnog čimbenika rasta (VEGF). Sve bolesnice imali su recidiv i prije toga dobivale adjuvantnu kemoterapiju. U istraživanju je sudjelovalo 8 bolesnica. Jednoj se bolesnici recidiv skroz povukao, dvije su bolesnice imale djelomičnu reakciju na lijek, dvije bolesnice stabilnu bolest, a kod tri bolesnice se stanje pogoršalo. Stopa odgovora na terapiju iznosila je 38%, a stopa kliničke koristi 63%, što znači da je anti-VEGF terapija izuzetno korisna kod bolesnica s granulosa-staničnim tumorima jajnika. Također zamijetili su povećanu ekspresiju VEGF-a u tumoru, kao i povećanu gustoću malih krvnih žila (MVD), što je utjecalo na lošiju prognozu, no uzorak je bio premalen kako bi se to statistički dokazalo. (62) Također Färkkilä je sa suradnicima pronašla VEGF receptore na tumorskim stanicama, a njihova je ekspresija bila znatno veća nego kod normalnih granulosa stanica. (63) Jurić i suradnici pokušali su dovesti u vezu MVD i prognozu granulosa-staničnog tumora, međutim nije bilo statistički značajnih rezultata. (64) Postoje dokazi da primjena anti-VEGF terapije pomaže u liječenju granulosa-staničnog tumora, no još uvijek nema dovoljno istraživanja, tako da je uvođenje bevacizumaba prema trenutnim smjernicama prepušteno slobodnoj procjeni liječnika. (1)

Ajhan i suradnici pronašli su patologiju endometrija kod 51,2% bolesnica. (44) Ud Din i suradnici pronalaze jednostavnu hiperplaziju endometrija kod 5,8% pacijentica, složenu hiperplaziju kod 1,3 % pacijentica i karcinom kod 1,9 % pacijentica, a Ottolina sa suradnicima hiperplaziju kod 29,2% bolesnica i sinkroni karcinom endometrija kod 7,5% bolesnica. (55, 65) Naši se rezultati većinom poklapaju s rezultatima drugih autora.

Veći tumori u nekim istraživanjima utječu na lošiju prognozu bolesti. (1, 24, 55) U multivarijantnim analizama veličina tumora bila je značajno povezana s pojavom recidiva kod nekih autora. (48, 50) U istraživanju gdje su promatrani samo tumori u ranom stadiju, veličina tumora pokazala se kao nezavisni prediktori pojave recidiva. (58) Van Meuers i suradnici navode veću veličinu tumora kao utjecajan parametar na kraće preživljavanje bez povrata bolesti. Nasuprot tim spoznajama, Auranen i suradnici pokazuju u svom istraživanju kako nema značajne razlike u veličini tumora, između bolesnica s recidivom i bolesnica bez recidiva. (49, 60) Naše istraživanje pokazuje da su skupine bolesnica s tumorom većim od 10 cm imale kraće ukupno preživljavanje, što se poklapa s dijelom drugih istraživanja.

Neki autori tvrde da nema značajne razlike prisustva Call-Exnerovih tjelešca između bolesnica s recidivom i bolesnica bez recidiva, dok drugi prikazuju kako je prisustvo Call-Exnerovih tjelešca češće kod bolesnica bez recidiva. (54, 60) Kod nekih je autora difuzni način širenja utjecao na češću pojavu recidiva. (55) U našem je istraživanju dominantni difuzni način rasta tumorskih stanica utjecao na kraće preživljavanje bolesnica bez povrata bolesti. Rezultati istraživanja o načinu rasta oprečni su, te ovaj parametar treba dodatno istražiti.

Visoki mitotički indeks utječe na lošiju prognozu preživljavanja. (25, 66) Malmström je sa suradnicima otkrio kako je kod tumora s 4 mitoze na 10 VVP-a petogodišnje preživljavanje iznosilo 100%, s 5-9 mitozama 80%, prilikom čega je medijan vremena preživljavanja iznosio 9



godina, dok je kod tumora s više od 10 mitozna na 10 VVP-a iznosio samo 4 godine.(39) Kod nekih je autora viši mitotički indeks utjecao na kraće preživljavanje bez povrata bolesti, dok je kod drugih bio značajno češći kod pacijentica s recidivom, nego kod onih bez recidiva. (49, 54, 66) Thomakos i suradnici navode kako je viši mitotički indeks nezavisni prediktor pojave recidiva. (58) U istraživanju koje su proveli Sehouli i suradnici, postoji značajna razlika u preživljavanju kod bolesnica s manje od 5 mitozna na 10 VVP-a i bolesnica s više od 5 mitozna na 10 VVP-a. (57) U našem istraživanju mitotički indeks nije utjecao na pojavu recidiva, niti na preživljavanje.

Istraživanja pokazuju kako veći stupanj atipije utječe na lošiju prognozu bolesti. (27) Neki autori tvrde da nema razlike u stupnju atipije kod bolesnica s recidivom i bez recidiva, dok druga pokazuju kako je viši stupanj atipije češći kod bolesnica s recidivom. (27, 54) U našem istraživanju viši stupanj atipije utječe na kraće preživljavanje bez povrata bolesti. Utjecaj atipije na prognozu mora se dodatno istražiti.

Fujimoto i suradnici dokazali su kako invazija limfo-vaskularnih prostora (LVSI) utječe na lošiju prognozu bolesti, te da je LVSI nezavisni prognostički faktor u multivarijantnoj analizi za preživljavanje bez povrata bolesti. (66) Naši rezultati pokazuju kako je pozitivna vaskularna invazija također utjecala na kraće preživljavanje bez bolesti, ali nije zadržala taj utjecaj u multivarijantnoj analizi. Iz naših rezultata proizlazi da je pozitivna vaskularna invazija utjecala i na kraće ukupno preživljavanje, te je zajedno s prisutnim krvarenjem u tumoru bila nezavisni prediktor pojave recidiva. Prisutno krvarenje u tumorskom tkivu također je utjecalo na kraće ukupno preživljavanje i kraće preživljavanje bez bolesti. Također uočili smo slabu, ali statistički značajnu korelaciju između prisutnog krvarenja u tumorskom tkivu i pozitivne vaskularne invazije. Slične rezultate u svom istraživanju po pitanju LVSI i krvarenja u tumoru prikazuju Babarović i suradnici. (67) Međutim ne možemo biti sigurni, niti točno usporediti naše rezultate s rezultatima ostalih autora jer LVSI, po definiciji

uključuje i limfne i vaskularne prostore, dok smo mi u našem radu imunohistokemijskim metodama istaknuli isključivo vaskularne prostore. Također Babarović i suradnici promatrali su samo pacijentice u FIGO stadiju I, dok smo mi promatrali pacijentice svih stadija bolesti, a što se tiče metodologije, Fujimoto i suradnici kategoriziraju LVSI u 4 različita stupnja, dok smo u našem radu vaskularnu invaziju promatrali samo kao pozitivan ili negativan parameter na dihotomizirani način. (66, 67) Za daljnje proučavanje utjecaja vaskularne invazije na prognozu potrebno je napraviti mnogo više istraživanja, kao i usklađivanja metodologije. Također bilo bi zanimljivo istražiti utjecaj vaskularne invazije, MVD, krvarenja i anti-angiogenetske terapije na prognozu kod bolesnica s granulosa-staničnim tumorima jajnika, kao i njihovu međusobnu korelaciju, čime bi se objedinili ciljeve nekih novijih radova. (1, 62-64, 66, 67)

## **6. Zaključak**

Ključni nalaz našeg istraživanja je da se vaskularna invazija pokazala kao nezavisni prediktor pojave recidiva kod bolesnica s granulosa-staničnim tumorima jajnika. Vaskularna invazija bila je značajno češća kod bolesnica s recidivom. Postoji i statistički slaba, ali značajna korelacija između krvarenja u tumorskom tkivu i vaskularne invazije. Dokazana je statistički značajna razlika u ukupnom preživljavanju i preživljavanju bez povrata bolesti s obzirom na vaskularnu invaziju. Nismo dokazali vaskularnu invaziju kao nezavisni prediktor ukupnog preživljavanja i preživljanje bez povrata bolesti.

## 7. Sažetak

Granuloza-stanični tumori jajnika predstavljaju 2%-5% svih tumora jajnika. Cilj ovog istraživanja bio je analizirati vaskularnu invaziju i ostale patohistološke parametre i njihov utjecaj na pojavu recidiva, ukupno preživljavanje i preživljavanje bez povrata bolesti kod bolesnica s granuloza-staničnim tumorima jajnika. Uzorci tumora analizirani u ovom retrospektivnom istraživanju dobiveni su od ukupno 43 bolesnice s dijagnozom granuloza-staničnog tumora jajnika, kirurški liječenih na Odjelu za ginekologiju Kliničkog bolničkog centra Rijeka, prikupljeni između 1994. i 2012. godine. Patohistološki podaci prikupljeni su iz računalne baze podataka Zavoda za patologiju i patološku anatomiju Medicinskog fakulteta u Rijeci. Imunohistokemijsko bojanje s anti-CD34 protutijelom upotrijebljeno je da se istaknu endotelne stanice krvnih žila, a preparati su pregledani na prisutnost ili odsutnost vaskularne invazije. Prosječna dob prilikom postavljanja dijagnoze bila je 53 godine s rasponom od 17 do 84 godina. Većina bolesnica, 32 (74%) su bili u FIGO stadiju IA, 5 (11%) u stadiju IC1, 2 (5%) u stadiju IC2, 2 (5%) u stadiju IC3 i 2 (5%) u stadiju III. Tijekom perioda praćenja (medijan 96 mjeseci, raspon 7-276), recidiv se pojavio u 7 bolesnica (17%), a zabilježeno je 4 smrti. U multivarijatnoj analizi prediktori recidiva bili su vaskularna invazija ( $p = 0.042$ , OR = 14.03) i krvarenje ( $p = 0.013$ , OR = 24.14), dok se FIGO stadij pokazao kao nezavisni prediktor preživljavanja bez povrata bolesti kod bolesnica s granuloza-staničnim tumorom jajnika ( $p = 0.004$ , HR = 25.95).

Ključne riječi: tumor jajnika, granuloza-stanični tumor jajnika, prognostički parametri, vaskularna invazija, recidiv, ukupno preživljavanje, preživljenje bez povrata bolesti

## 8. Summary

Granulosa cell tumors represent 2% -5% of all ovarian tumors. The aim of this study was to analyze vascular space invasion and other pathohistological parameters and their impact on recurrent disease, overall survival and disease-free survival in patients with granulosa cell tumors of the ovary. Tumor samples analyzed in this retrospective study were obtained from a total of 43 patients diagnosed with granulosa cell tumors of the ovary, surgically treated at the Department of Gynecology of the Rijeka Clinical Hospital Center, collected between 1994 and 2012. Pathohistological data were collected from the computer database of the Department of Pathology and Pathological Anatomy of the Faculty of Medicine in Rijeka. Immunohistochemical staining with anti-CD34 antibody was used to highlight endothelial blood vessel cells, and slides were screened for the presence or absence of vascular invasion. The average age at diagnosis was 53 years with a range of 17 to 84 years. The majority of patients, 32 (74%), were in FIGO stage IA, 5 (11%) in stage IC1, 2 (5%) in IC2, 2 (5%) in stage IC3 and 2 (5%) in stage III . During the follow-up period (median 96 months, range 7-276), recurrence occurred in 7 patients (17%), and 4 deaths were recorded. In the multivariate analysis, independent predictors of recurrence were vascular invasion ( $p = 0.042$ , OR = 14.03) and tumor bleeding ( $p = 0.013$ , OR = 24.14), while FIGO stage came out as an independent predictor of disease-free survival in patients with granulosa cell tumors of the ovary ( $p = 0.004$ , HR = 25.95).

Keywords: ovarian tumor, granulosa cell tumor of the ovary, prognostic parameters, vascular space invasion, recurrence, overall survival, disease-free survival

## 9. Literatura

- (1) Schumer ST, Cannistra SA. Granulosa cell tumor of the ovary. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2003;21(6):1180-9.
- (2) Chen VW, Ruiz B, Killeen JL, Cote TR, Wu XC, Correa CN. Pathology and classification of ovarian tumors. *Cancer*. 2003;97(10):2631-42.
- (3) McGuire S. *World Cancer Report 2014*. Geneva, Switzerland: World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, WHO Press, 2015. *Adv Nutr*. 2016;7(2):418-9.
- (4) Boyce EA, Costaggini I, Vitonis A, Feltmate C, Muto M, Berkowitz R, et al. The epidemiology of ovarian granulosa cell tumors: a case-control study. *Gynecol Oncol*. 2009;115(2):221-5.
- (5) Tortolero-Luna G, Mitchell MF. The epidemiology of ovarian cancer. *J Cell Biochem Suppl*. 1995;23:200-7.
- (6) Mink PJ, Sherman ME, Devesa SS. Incidence patterns of invasive and borderline ovarian tumors among white women and black women in the United States. Results from the SEER Program, 1978-1998. *Cancer*. 2002;95(11):2380-9.
- (7) Adami HO, Hsieh CC, Lambe M, Trichopoulos D, Leon D, Persson I, et al. Parity, age at first childbirth, and risk of ovarian cancer. *Lancet*. 1994;344(8932):1250-4.
- (8) Collaborative Group on Epidemiological Studies of Ovarian C, Beral V, Doll R, Hermon C, Peto R, Reeves G. Ovarian cancer and oral contraceptives: collaborative reanalysis of data from 45 epidemiological studies including 23,257 women with ovarian cancer and 87,303 controls. *Lancet*. 2008;371(9609):303-14.

- (9) Vasama-Neuvonen K, Pukkala E, Paakkulainen H, Mutanen P, Weiderpass E, Boffetta P, et al. Ovarian cancer and occupational exposures in Finland. *Am J Ind Med.* 1999;36(1):83-9.
- (10) Shields T, Gridley G, Moradi T, Adami J, Plato N, Dosemeci M. Occupational exposures and the risk of ovarian cancer in Sweden. *Am J Ind Med.* 2002;42(3):200-13.
- (11) Wernli KJ, Ray RM, Gao DL, Fitzgibbons ED, Camp JE, Astrakianakis G, et al. Occupational exposures and ovarian cancer in textile workers. *Epidemiology.* 2008;19(2):244-50.
- (12) Fuller PJ, Leung D, Chu S. Genetics and genomics of ovarian sex cordstromal tumors. *Clin Genet.* 2017;91(2):285-91.
- (13) Färkkilä A, Haltia UM, Tapper J, McConechy MK, Huntsman DG, Heikinheimo M. Pathogenesis and treatment of adult-type granulosa cell tumor of the ovary. *Ann Med.* 2017:1-13.
- (14) Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS, Young RH. WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs. 4th edition. Lyon. IARC. 2014.
- (15) Jamieson S, Butzow R, Andersson N, Alexiadis M, Unkila-Kallio L, Heikinheimo M, et al. The FOXL2 C134W mutation is characteristic of adult granulosa cell tumors of the ovary. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.* 2010;23(11):1477-85.
- (16) Rosario R, Cohen PA, Shelling AN. The role of FOXL2 in the pathogenesis of adult ovarian granulosa cell tumours. *Gynecol Oncol.* 2014;133(2):382-7.
- (17) Kato N, Romero M, Catusus L, Prat J. The STK11/LKB1 Peutz-Jegher gene is not involved in the pathogenesis of sporadic sex cord-stromal tumors, although loss of

heterozygosity at 19p13.3 indicates other gene alteration in these tumors. *Hum Pathol.* 2004;35:1101-1104.

(18) Schmidt D, Kommos F. Diagnose und Differenzialdiagnose des Granulosazelltumors. *Der Pathologe.* 2007;28(3):195-202.

(19) Yuan JQ, Lin XN, Xu JY, Zhu J, Zheng WL. Ovarian juvenile granulosa cell tumor associated with Maffucci's syndrome: Case report. *Chin Med J (Engl)* 2004;117:1592–4.

(20) Tamimi HK, Bolen JW. Enchondromatosis (Ollier's disease) and ovarian juvenile granulosa cell tumor. *Cancer.* 1984;53:1605–8.

(21) Nakashima N, Young RH, Scully RE. Androgenic granulosa cell tumors of the ovary. A clinicopathologic analysis of 17 cases and review of the literature. *Arch Pathol Lab Med.* 1984;108:786-791.

(22) Antolic ZN, Kovacic J, Rainer S. Theca and granulosa cell tumors and endometrial adenocarcinoma. *Gynecol Oncol.* 1980;10(3):273-8.

(23) Björkholm E, Silfversward C. Prognostic factors in granulosa-cell tumors . *Gynecol Oncol.* 1981;11:261-274.

(24) Fox H, Agrawal K, Langley FA. A clinicopathologic study of 92 cases of granulosa cell tumor of the ovary with special reference to the factors influencing prognosis. *Cancer.*1975;35:231-241.

(25) Plantaz D, Flamant F, Vassal G, Chappuis JP, Baranzelli MC, Bouffet E, et al. Granulosa cell tumors of the ovary in children and adolescents. Multicenter retrospective study in 40 patients aged 7 months to 22 years. *Arch Fr Pediatr.* 1992;49:793–8.

- (26) Vassal G, Flamant F, Caillaud JM, Demeocq F, Nihoul-Fekete C, Lemerle J. Juvenile granulosa cell tumor of the ovary in children: a clinical study of 15 cases. *J Clin Oncol.* 1988;6:990-995.
- (27) Stenwig JT, Hazekamp JT, Beecham JB: Granulosa cell tumors of the ovary: A clinicopathological study of 118 cases with long-term follow up. *Gynecol Oncol.* 1979;7:136-152.
- (28) Evans AT, Gaffey TA, Malkasian GD, Annegers JF. Clinicopathologic review of 118 granulosa and 82 theca cell tumors. *Obstet Gynecol.* 1980;55:231-238.
- (29) Lauszus FF, Peterson AC, Greisen J, Jakobsen A. Granulosa cell tumor of the ovary: A population based study of 37 women with stage I disease. *Gynecol Oncol* 2001;81:456-460.
- (30) Young RH, Dickersin GR, Scully RE. Juvenile granulosa cell tumor of the ovary. A clinicopathological analysis of 125 cases. *Am J Surg Pathol.* 1984;8:575-596.
- (31) Lappöhn RE, Burger HG, Bouma J, Bangah M, Krans M, de Bruijn HW. Inhibin as a marker for granulosa-cell tumors. *N Engl J Med.* 1989;321:790-793.
- (32) Petraglia F, Luisi S, Pautier P, Sabourin JC, Rey R, Lhomme C, et al. Inhibin B is the major form of inhibin/activin family secreted by granulosa cell tumors. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:1029-1032
- (33) Robertson DM, Cahir N, Burger HG, Mamers P, Groome N. Inhibin forms in serum from postmenopausal women with ovarian cancers. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1999;50:381-386.
- (34) Yamashita K, Yamoto M, Shikone T, Minami S, Imai M, Nishimori K, et al. Production of inhibin A and inhibin B in human ovarian sex cord stromal tumors. *Am J Obstet Gynecol.* 1997;177:1450-1457.



- (35) Rey RA, Lhomme C, Marcillac I, Lahlou N, Duvillard P, Josso N, et al. Antimullerian hormone as a serum marker of granulosa cell tumors of the ovary: Comparative study with serum alpha inhibin and estradiol. *Am J Obstet Gynecol.* 1996;174:958-965.
- (36) Lane AH, Lee MM, Fuller AF Jr, Kehas DJ, Donahoe PK, MacLaughlin DT, et al. Diagnostic utility of mullerian inhibiting substance determination in patients with primary and recurrent granulosa cell tumors. *Gynecol Oncol* 1999;73:51-55.
- (37) Stine JE, Suri A, Gehrig PA, Chiu M, Erickson BK, Huh WK, et al. Preoperative imaging with CA125 is a poor predictor for granulosa cell tumors. *Gynecol Oncol.* 2013;131(1):59-62.
- (38) Kim JA, Chun YK, Moon MH, Lee YH, Cho HC, Lee MS, et al. Highresolution sonographic findings of ovarian granulosa cell tumors: correlation with pathologic findings. *J Ultrasound Med.* 2010;29(2):187-93.
- (39) Malmström H, Hogberg T, Risberg B, Simonsen E. Granulosa cell tumors of the ovary: Prognostic factors and outcome. *Gynecol Oncol.* 1994;52:50-55.
- (40) Savage P, Constenla D, Fisher C, Shepherd JH, Barton DP, Blake P. Granulosa cell tumors of the ovary: Demographics, survival and the management of advanced disease. *Clin Oncol (R Coll Radiol).* 1998;10:242-245.
- (41) Pankratz E, Boyes DA, White GW, Galliford BW, Fairey RN, Benedet JL. Granulosa cell tumors: A clinical review of 61 cases. *Obstet Gynecol.* 1978;52:718-723.
- (42) Lee IH, Choi CH, Hong DG, Song JY, Kim YJ, Kim KT, et al. Clinicopathologic characteristics of granulosa cell tumors of the ovary: a multicenter retrospective study. *J Gynecol Oncol.* 2011;22(3):188-95.
- (43) Ohel G, Kaneti H, Schenker JG. Granulosa cell tumors in Israel: a study of 172 cases. *Gynecol Oncol.* 1983;15(2):278-86.

- (44) Ayhan A, Salman MC, Velipasaoglu M, Sakinci M, Yuce K. Prognostic factors in adult granulosa cell tumors of the ovary: a retrospective analysis of 80 cases. *J Gynecol Oncol.* 2009;20(3):158-63.
- (45) Zhang M, Cheung MK, Shin JY, Kapp DS, Husain A, Teng NN, et al. Prognostic factors responsible for survival in sex cord stromal tumors of the ovary—an analysis of 376 women. *Gynecol Oncol.* 2007;104(2):396-400.
- (46) Karalok A, Turan T, Ureyen I, Tasci T, Basaran D, Koc S, et al. Prognostic Factors in Adult Granulosa Cell Tumor: A Long Follow-Up at a Single Center. *Int J Gynecol Cancer.* 2016;26(4):619-25.
- (47) Hölscher G, Anthuber C, Bastert G, Burges A, Mayr D, Oberlechner E, et al. Improvement of survival in sex cord stromal tumors - an observational study with more than 25 years follow-up. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2009;88(4):440-8.
- (48) Sun HD, Lin H, Jao MS, Wang KL, Liou WS, Hung YC, et al. A long-term follow-up study of 176 cases with adult-type ovarian granulosa cell tumors. *Gynecol Oncol.* 2012;124(2):244-9.
- (49) van Meurs HS, Schuit E, Horlings HM, van der Velden J, van Driel WJ, Mol BW, et al. Development and internal validation of a prognostic model to predict recurrence free survival in patients with adult granulosa cell tumors of the ovary. *Gynecol Oncol.* 2014;134(3):498-504.
- (50) Shim SH, Lee SJ, Kim DY, Kim J, Kim SN, Kang SB, et al. A Long-term follow-up study of 91 cases with ovarian granulosa cell tumors. *Anticancer research.* 2014;34(2):1001-10.
- (51) Diddle AW. Granulosa and theca-cell ovarian tumors: Prognosis. *Cancer.* 1952;5:215-223.

- (52) Ertas IE, Gungorduk K, Taskin S, Akman L, Ozdemir A, Goklu R, et al. Prognostic predictors and spread patterns in adult ovarian granulosa cell tumors: a multicenter long-term follow-up study of 108 patients. *International journal of clinical oncology*. 2014;19(5):912-20.
- (53) Wilson MK, Fong P, Mesnage S, Chrystal K, Shelling A, Payne K, et al. Stage I granulosa cell tumours: A management conundrum? Results of long-term follow up. *Gynecol Oncol*. 2015;138(2):285-91.
- (54) Miller BE, Barron BA, Wan JY, Delmore JE, Silva EG, Gershenson DM. Prognostic factors in adult granulosa cell tumor of the ovary. *Cancer*. 1997;79(10):1951-5.
- (55) Ud Din N, Kayani N. Recurrence of adult granulosa cell tumor of the ovary: experience at a tertiary care center. *Annals of diagnostic pathology*. 2014;18(3):125-8.
- (56) Hines JF, Khalifa MA, Moore JL, Fine KP, Lage JM, Barnes WA. Recurrent granulosa cell tumor of the ovary 37 years after initial diagnosis: a case report and review of the literature. *Gynecol Oncol*. 1996;60(3):484-8.
- (57) Sehouli J, Drescher FS, Mustea A, Elling D, Friedmann W, Kühn W, et al. Granulosa Cell Tumor of the Ovary: 10 Years Follow-up Data of 65 Patients. *Anticancer research*. 2004;24:1223-1230.
- (58) Thomakos N, Biliatis I, Koutroumpa I, Sotiropoulou M, Bamias A, Liontos M, et al. Prognostic factors for recurrence in early stage adult granulosa cell tumor of the ovary. *Arch Gynecol Obstet*. 2016;294(5):1031-1036.
- (59) Abu-Rustum NR, Restivo A, Ivy J, Soslow R, Sabbatini P, Sonoda Y, et al. Retroperitoneal nodal metastasis in primary and recurrent granulosa cell tumors of the ovary. *Gynecol Oncol*. 2006;103(1):31-4.

- (60) Auranen A1, Sundström J, Ijäs J, Grénman S. Prognostic factors of ovarian granulosa cell tumor: a study of 35 patients and review of the literature. *Int J Gynecol Cancer*. 2007;17(5):1011-8.
- (61) Ertas IE, Gungorduk K, Taskin S, Akman L, Ozdemir A, Goklu R, et al. Prognostic predictors and spread patterns in adult ovarian granulosa cell tumors: a multicenter long-term follow-up study of 108 patients. *Int J Clin Oncol*. 2014;19(5):912-20.
- (62) Tao X, Sood AK, Deavers MT, Schmeler KM, Nick AM, Coleman RL, et al. Anti-angiogenesis therapy with bevacizumab for patients with ovarian granulosa cell tumors. *Gynecol Oncol*. 2009;114(3):431-6.
- (63) Färkkilä A, Anttonen M, Pociuviene J, Leminen A, Butzow R, Heikinheimo M, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor VEGFR-2 are highly expressed in ovarian granulosa cell tumors. *Eur J Endocrinol*. 2011;164(1):115-22.
- (64) Jurić G, Zarković N, Nola M, Tillian M, Jukić S. The value of cell proliferation and angiogenesis in the prognostic assessment of ovarian granulosa cell tumors. *Tumori*. 2001;87(1):47-53.
- (65) Ottolina J, Ferrandina G, Gadducci A, et al. Is the endometrial evaluation routinely required in patients with adult granulosa cell tumors of the ovary? *Gynecol Oncol*. 2015;136:230–234.
- (66) Fujimoto T, Sakuragi N, Okuyama K, et al. Histopathological prognostic factors of adult granulosa cell tumors of the ovary. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2001;80:1069-1074.
- (67) Babarović E, Franin I, Klarić M, Mihaljević Ferrari A, Karnjuš-Begonja R, Eminović D, Verša Ostojić D, Vrdoljak-Mozetič D. Adult Granulosa Cell Tumors of the Ovary: A Retrospective Study of 36 FIGO Stage I Cases with Emphasis on Prognostic Pathohistological Features. *Anal Cell Pathol (Amst)*. 2018;2018:9148124.

## **10. Životopis**

Ivan Franin rođen je 27.9.1994.godine u Čakovcu. Pohađao je I. Osnovnu Školu Čakovec od 2001. do 2009. godine. Srednjoškolsko obrazovanje nastavlja u Gimnaziji Josipa Slavenskog u Čakovcu od 2009. do 2013. godine, gdje smjer opće gimnazije završava s odličnim uspjehom. Godine 2013. upisuje Integrirani preddiplomski i diplomski sveučilišni studij medicine na Medicinskom fakultetu u Rijeci. Tijekom studija obavlja demonstrature na Katedri za Medicinsku biologiju i genetiku, na Zavodu za Histologiju i embriologiju, te na Katedri za opću patologiju i patološku anatomiju. Na fakultetu sudjeluje i u nekoliko znanstvenih istraživanja. Kroz studij kao član studentskih udruga sudjeluje u raznim projektima, kongresima i razmjenama.