

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Darko Tomica

PROGNOSTIČKI ZNAČAJ IZRAŽENOSTI ESTROGENSKIH I PROGESTERONSKIH
RECEPTORA U MIOMETRIJU BOLESNICA S KARCINOMOM ENDOMETRIJA

Doktorska disertacija

Osijek, 2017.

Mentor rada: doc. dr. sc.Toni Kolak, dr. med.

Rad ima: 64 stranice

Zahvale: doc. dr. sc. Toniju Kolaku, dr. med; mentoru rada
doc. dr. sc. Mariju Puljizu, dr. med; komentoru
Snježani Ramić, mag. biol. mol.
prim. dr. sc. Miroslavu Banoviću, dr. med.
dr. sc. Damiru Danoliću, dr. med.
Luciji Šušnjar, dr. med.
Meliti Perić Balja, dr. med.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1 Endometrij u menstruacijskom ciklusu i metabolizam spolnih hormona	1
1.2 Menstruacija	1
1.3 Steroidni hormoni	1
1.3.1 Spolni hormoni	2
1.3.2 Djelovanje spolnih hormona	3
1.4 Dijagnostika hiperplazije, endometrijskog polipa i odnos prema endometrijskom karcinomu	4
1.5 Endometrijski karcinom	7
1.5.1 Hormonska ovisnost endometrijskog karcinoma	9
1.5.2 Endometrij i endometrijski karcinom	9
1.5.3 Uzročni čimbenici endometrijskog karcinoma	10
1.5.3.1 Pretilost kao uzrok neravnoteže hormona	11
1.5.3.2 Hiperinzulinemija	11
1.5.3.3 Inzulinu sličan faktor rasta i pretilost	11
1.5.3.4 Adipokini	12
1.5.3.5 Tamoksifen	12
1.5.4 Tipovi i prognostička podjela endometrijskog karcinoma	13
1.5.5 Tijek kancerogeneze pri endometrijskom raku na molekularnoj razini	15
1.5.5.1 Razvoj endometrijskog karcinoma - tip I	15
1.5.5.2 Molekularne promjene pri razvoju endometrijskog raka preko metaplazije - tip II	15
1.5.5.3 Nastanak raka endometrija <i>de novo</i>	16
1.6 Prognostički čimbenici u endometrijskom karcinomu	16
1.6.1 Klinički stadij bolesnica s endometrijskim karcinomom (FIGO)	17
1.6.2 Patohistološki gradus endometrijskog karcinoma	18
1.6.3 Tip I i tip II endometrijskog karcinoma	19
1.6.4 Dubina prodora u miometrij i zahvaćenost seroze	20
1.6.5 Prodor u vrat maternice	20
1.6.6 Veličina novotvorine	20
1.6.7 Limfo-vaskularni prodor	21
1.6.8 Unutaroperacijski nalaz i ostali prognostički čimbenici	21
1.6.9 Prognostički značaj presadnica endometrijskog karcinoma	21

1.6.10 Dob i preživljenje bolesnica s endometrijskim karcinomom i rizici	22
1.6.11 Prognoza	22
2. HIPOTEZA	24
3. CILJ ISTRAŽIVANJA	25
4. ISPITANICE I METODE	27
4.1 Imunohistokemijsko određivanje statusa estrogenskih receptora	27
5. REZULTATI	29
6. RASPRAVA	47
7. ZAKLJUČCI	51
8. SAŽETAK	52
9. SUMMARY	54
10. LITERATURA	55
11. ŽIVOTOPIS	64

Popis kratica

E2	Estradiol
E1	Estriol
P4	Progesteron
PGF2 α	Prostaglandin F2 α
PGE2	Prostaglandin E2
PGI2	Prostaglandin I2
ET-1	Endotelin-1
MMP	Matriks metalproteinaza
IL-1	Interleukin-1
TNF- α	Tumor necrosis factor α
PA	Plazminogen aktivator
PAI	Plazminogen aktivator inhibitor
EBAF	(engl. Endometrial bleeding-associated factor)
COX-2	Ciklooksigenaza-2
NO	Dušikov oksid
VEGF-A	Vaskularni endotelni faktor rasta
FSH	Folikulstimulirajući hormon
LH	Luteinizirajući hormon
IGF-1	Inzulinu sličan faktor rasta - somatomedin 1 (engl. Insulin-like growth factor 1)
TGF- β	Čimbenik rasta tumora β (engl. Transforming growth factor- β)
IL6	Interleukin 6
17-HSD	17-hidroksisteroid dehidrogenaza
E	Estron

FIGO	International Federation of Gynecology and Obstetrics
CT	Kompjuterizirana tomografija (engl. Computer tomography)
MR	Magnetna rezonanca (eng. Magnetic resonance)
PET-CT	(engl. Positron emission tomography - PET scanner and x-ray computed tomography – CT)
WHO	Svjetska zdravstvena organizacija (World Health Organization)
GLOBOCAN	Međunarodna agencija za istraživanje raka i baze podataka
ASR(W)	Ponderirana stopa specifična za dob (engl. Weighted mean of the age-specific rates - world)
ASR(E)	Ponderirana stopa specifična za dob u Europi (engl. Weighted mean of the age-specific rates - European)
BMI	Indeks tjelesne mase (engl. Body mass index)
AGO Austria	Arbeitsgemeinschaft für Gynäkologische Onkologie der OEGGG (njem. Radna grupa ginekološke onkologije pri austrijskom društvu ginekologije i porodništva)
OEGGG	Österreichische Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (njem. Austrijsko društvu za ginekologiju i porodništvo)
DKG	Deutschen Krebsgesellschaft (njem. Njemačko društvo za rak)
DGGG	Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (njem. Njemačko opstetritičko i ginekološko društvo)
TAH	Totalna abdominalna histerektomija
BSO	Bilateralna salpingoovariektomija
PCOS	Sindrom policističnih ovarija (engl. Polycystic ovary syndrome)
PR	Progesteronski receptor
ER	Estrogenski receptor

IGFBP	Inzulinu sličan protein koji veže faktor rasta (engl. Insulin-like growth factor-binding protein)
IGF	Faktor rasta sličan inzulinu (engl. Insulin-like growth factor)
MMMT	Maligni tumor Müllerovih stanica (engl. Malignant Müller mixed tumor)
LVSI	Limfo-žilni prodor (engl. Lympho-vascular space invasion)
LVI	Limfo-vaskularna invazija
TVS	Transvaginalni sonogram, vaginalni ultrazvuk
AJCC	American Joint Committee On Cancer
ECM	Izvanstanični matriks (engl. Extracellular matrix)
KM	Procjena preživljenja po Kaplan-Meieru
CP	Parametar kompleksnosti (engl. Complexity parameter)
HR	Omjer ugroženosti (engl. Hazard ratio)
PTEN	Tumor-supresorski gen (engl. Phosphatase and tensin homolog)
Log rank test	Statistički test komparacije krivulja preživljenja

1. UVOD

1.1 Endometrij u menstruacijskom ciklusu i metabolizam spolnih hormona

Endometrij je tkivo spužvaste građe koje oblaže šupljinu maternice. Mijenja se mjesečno, ovisno o razini hormona estradiola (E2) i progesterona (P4). U prvom dijelu menstruacijskog ciklusa jajnici izlučuju hormon estradiol (E2), estrogenski hormon koji uzrokuje bujanje i zgušnjavanje tkiva endometrija. Sredinom ciklusa, nakon ovulacije, od 10. do 12. dana, iz žutog tijela u jajniku izlučuje se progesteron (P4) i priprema najdublje slojeve endometrija za podršku oplođenoj jajnoj stanici. Receptori za steroidne hormone su u žlijezdama i stromi endometrija, miometriju i žilama (1). Ako se začeće ne dogodi, razine hormona se naglo smanjuju. Veliki dio endometrija, sve do nutarnjeg bazalnog sloja, se ljušti i kontrakcijom maternice istiskuje kao menstrualna tekućina. Ciklus se ponavlja svaka 24 do 35 dana (1,2,3).

1.2 Menstruacija

Menstruacija traje 4 do 5 dana s varijacijom od 3 do 7 dana, a prosječni gubitak krvi iznosi 35 mL. Oko 95% žena mjesečnicom gubi <60 mL krvi. Gubitak >80 mL ne smatra se normalnim. Tijekom života mjesečnicom se izgubi oko 20 litara krvi, a ukupno vrijeme krvarenja je 4 - 6 godina. U zdrave žene se oko 70% gubitka krvi događa u prva dva dana, a 90% u prva tri dana mjesečnice. Od ukupnog volumena menstruacije 1/3 je krv. Prosječan gubitak željeza mjesečnicom je 16 mg (2,3).

1.3 Steroidni hormoni

Hormoni su jedan od glavnih oblika komunikacije između različitih tkiva i organa. Uz njihovu se pomoć specijalizirane stanice kompleksnih organizama odazivaju i koordiniraju svoje funkcije ovisno o promjenama u vanjskom i unutranjem okolišu (7).

Steroidi su skupina organskih spojeva među koje ubrajamo biljne i životinjske sterole, steroidne alkaloidne, steroidne hormone, žučne kiseline, provitamin D itd. Svi oni kao značajku imaju sistem kondenziranih prstenova, sastavljenih od tri šesteročlana prstena (7, 8, 9).

Među steroidne hormone, odnosno derivate kolesterola, ubrajamo glukokortikoide (kortizol, kortikosteron), mineralokortikoide (aldosteron), vitamin D i spolne hormone (estrogene, progestagene, androgene) (10). Sintetiziraju se u stanicama brojnih organa. Preko plazmatske membrane ulaze u stanicu ili difuzijom ili preko prenosioaca. U stanici se vežu na receptore jezgre ili citosola, usklađuju izražavanje (ekspresiju) odgovarajućih gena, a mogu djelovati i negenomski povezivanjem na membranske receptore preko interakcije s receptorima čimbenika rasta te preko interakcije s ionskim kanalima.

1.3.1 Spolni hormoni

Spolni hormoni su uža skupina steroidnih hormona. Stvaraju se u muškim i ženskim spolnim žlijezdama, kori nadbubrežne žlijezde i posteljici, a to su androgeni, estrogene i progestageni. Estrogeni i androgeni su važni za rast i morfološku diferencijaciju oba spola, za razvoj i regulaciju spolne i reproduktivne funkcije i ciklusa. Proizvodnju i izlučivanje spolnih hormona reguliraju u najvećoj mjeri folikulstimulirajući hormon (FSH) i luteinizirajući hormon (LH), uz manji utjecaj prostaglandina (11). Estrogena ima više kod ženskog spola te su estrogeni odgovorni za razvoj ženskih spolnih organa, razvoj sekundarnih spolnih osobina, tijek menstruacijskog ciklusa i trudnoće. Sintetiziraju se u jajnicima, a u trudnoći i u posteljici. Glavna uloga estrogena je bujanje endometrija, a utječu i na razvoj jajnika, dojki, stidnice itd. (12). Estrogeni se pojavljuju u više oblika. Biološko najaktivniji oblik je estradiol (E2) koji ima hidroksilne skupine na C3 i C17, zatim estron koji predstavlja oksidirani, a time i manje aktivni oblik estradiola te slabo aktivni estriol (E1) i estron sulfat (E). Progestageni se u organizmu nalaze u više oblika. Biološki aktivan je samo progesteron, a reducirani oblik 20 α -hidroksiprogesterona je manje aktivan. U organizmu se progestageni nalaze i kao 5 α -dihidroprogesteron i alopregnanolon, koji su važni neurosteroidi. Progesteron se sintetizira u žutom tijelu jajnika u drugoj fazi menstruacijskog ciklusa. Ukoliko dođe do oplodnje, progesteron štiti trudnoću (12). Progesteron je, kao posrednik signala u mozgu, odgovoran za spolno određenje osobe (11). Androgeni hormoni prevladavaju kod muških osoba. Najvažniji predstavnik tih hormona je testosteron koji se sintetizira u Leydigovim stanicama testisa. Hormone androgenog djelovanja također izlučuje kora nadbubrežne žlijezde. Odgovorni su za razvoj primarnih i sekundarnih muških spolnih obilježja te su općenito odgovorni za rast i

sintezu proteina, prvenstveno u mišićima i kostima, kao i za raspored koštanog i mišićnog tkiva specifičnog za muškarce (12).

1.3.2 Djelovanje spolnih hormona

U endometriju se između prve i druge faze menstruacijskog ciklusa (proliferacijska i sekrecijska faza) izmjenjuje delovanje estrogena i progestagena. Uravnoteženje djelovanja estrogena i progestagena protječe na predreceptorskoj razini (14,15,16). Studije su pokazale značajno veću koncentraciju estradiola (E2) u tumorskom tkivu u odnosu na normalno tkivo endometrija, kao i kod pacijentica neposredno pred menopauzu i u menopauzi, što znanstvenici objašnjavaju povećanom lokalnom sintezom (17). Povećana koncentracija estradiola utječe na povećanu proliferaciju stanica, čime se povećava vjerojatnost pogrešaka pri replikaciji DNA i razvoja raka endometrija. Prema Šimuniću, učinak estrogena na endometrij je sljedeći:

1. povisuje broj svojih receptora
2. povisuje sintezu DNK i mitoze
3. potiče aktivnost mnogih čimbenika rasta: IGF-1 (engl. Insulin-like growth factor 1), TGF- β (engl. Transforming growth factor- β)
4. inhibira interleukine (IL-1, IL-6)
5. povisuje angiogenezu i krvne protoke

Učinak progesterona na endometrij je višestruk i o njemu ovisi kontrola debljine endometrija kao i mogućnost endometrijske hiperplazije. Smatra se da progesteron:

1. smanjuje broj estrogenih (i svojih) receptora
2. inhibira aromatazu koja pretvara testosteron u estradiol i androstendion u estron
3. inducira 17-hidroksisteroid dehidrogenazu (17-HSD) koja pretvara estradiol (E2) u estron (E1)
4. inducira sulfotransferazu koja sulfonira estrogene
5. potiče pretvaranje prostaglandina F 2α

6. održava integritet lizosoma
7. regulira aktivnost MMP
8. utječe na lokalne koagulacijske mehanizme
9. utječe na aktivnost citokina i čimbenika rasta TGF- β (2,3, 6).

Transformacija endometrija uključuje i pravilnu angiogenezu pri čemu se od bazalnih arterija stvaraju spiralne arterije koje snabdijevaju funkcionalni endometrij. Svaka od njih opskrbljuje 4 - 9 mm² površine funkcionalnog endometrija. Visoko su osjetljive na steroidne hormone (13). Izostanak trudnoće uzrokuje regresiju žutog tijela i time pad produkcije progesterona i estrogena. Pad tih hormona pokreće niz vaskularnih i molekularnih promjena u funkcionalnom endometriju, što dovodi do njegove destrukcije i deskvamacije te hemostaze i obnove, bez stvaranja ožiljka. Steroidni hormoni balansiraju čimbenike koji dovode do krvarenja s čimbenicima hemostaze (18).

1.4 Dijagnostika hiperplazije, endometrijskog polipa i odnos prema endometrijskom karcinomu

Debljina endometrija važna je zbog predviđanja patologije u poslijemenopauzi i može biti znak karcinoma endometrija (18,19,20). Klinički simptomi raka endometrija su aciklička, premenstrualna, peri- i postmenopauzalna krvarenja i postoje u stadiju I kod 90% svih pacijentica. Simptomi su isti kod benigne hiperplazije, polipa i endometrijskog karcinoma. Najčešće se javljaju u pred i poslijemenopauzi. Menopauza je period nakon posljednje menstruacije nakon koje nema krvarenja iz maternice idućih godinu dana. U Hrvatskoj nastupa u prosjeku s 50 godina života (21,22). U Sjedinjenim Američkim Državama (SAD) prosječno nastupa s 51,2 godine života. Kod svih pacijentica s konstantnim atipičnim menometroragijama, ali također i kod postmenopauzalnog krvarenja, postoji rizik od endometrijskog karcinoma povećanog za 60% (23). Kako bi se utvrdilo radi li se o endometrijskom karcinomu, histološka dijagnostika obavezna je kod:

1. svih pacijentica s postmenopauzalnim vaginalnim krvarenjem
2. postojanja slobodne tekućine u kavumu maternice (muko-, pio-, hemato- i serometra)
3. asimptomatskih pacijentica s nađenim atipičnim stanicama u PAPA testu – rizik za inazivni tumor tada iznosi 3 – 17% (24)

4. perimenopausalnih žena s recidivirajućim acikličkim krvarenjima.

Dijagnostička histeroskopija i frakcionirana kiretaža su zlatni standard u histološkoj dijagnostici, a eventualno ispiranje tumorskih stanica kroz tube u trbušnu šupljinu tijekom histeroskopije nema utjecaja na progresiju eventualno dijagnosticiranog endometrijskog karcinoma (25). Predterapijska podjela između FIGO stadija I i II karcinoma endometrija nije uvijek moguća. Histeroskopija i histeroskopski pregled cervikalnog kanala s lokalizacijom i biopsijom, odnosno kiretažom cervikalnog kanala zajedno s kiretažom kavuma, može doprinijeti diferencijaciji prvog od drugog stadija karcinoma endometrija, što je važno za kasniji operativni zahvat. Metaanaliza od 4 studije navodi da je dijagnostikom uz pomoć pipele, odnosno poteznom kiretažom, pokazana senzitivnost od 99,96% kod pacijentica u postmenopauzi. Preporuča se i takozvana *Office* histeroskopija koja se može izvoditi bez opće narkoze - Betocci (26, 27, 28).

Za dijagnostiku endometrijskog karcinoma kod stadija I i II neophodno je obaviti ginekološki pregled, PAPA test, vaginalni UZV, RTG toraksa i preoperacijski rutinski laboratorijski pregled. Kod mišljenja o proširenoj bolesti treba još učiniti CT, MR, PET-CT te rektoskopiju i cistoskopiju kod mogućnosti proširenja tumora u rektum ili mokraćni mjehur (30).

Kod asimptomatskih žena ultrazvuk endometrija, nažalost, nije povezan s boljim preživljenjem pacijentica i povećan je postotak lažno pozitivnih nalaza. Treba učiniti histološku dijagnostiku tkiva endometrija, a posebno kod postmenopausalnog vaginalnog krvarenja. Kod žena s povećanim rizikom za Lynch sindrom, prijedlog je da se nakon 35. godine života radi transvaginalna UZV dijagnostika u kombinaciji s godišnjom biopsijom endometrija (pipela, potezna kiretaža). Kod tamoksifenske se terapije također preporuča endometrijska biopsija u slučaju neredovitog krvarenja.

Individualni pristup sonografski suspektnom endometriju kod premenopausalnih pacijentica je sljedeći: Endometrij debljine iznad 12 mm sa suspektnim kolor dopplerom, inhomogeni endometrij, kao i polip koji je sonografski deblji od 15 mm nose 3% rizika za karcinom i 11,4% rizika za premaligne lezije (23, 25).

Kod postmenopausalnog krvarenja i debljine endometrija od 4 mm preporuča se učiniti biopsiju (pipela ili kiretaža), kao i kod pacijentica u perimenopauzi s menometroragijom i endometrijem debljim od 8 mm (31, 32, 33). Kod debljine endometrija od 3 mm senzitivnost vaginalne sonografije za endometrijski karcinom iznosi 97%. U velikoj studiji s više od 4000

pacijentica utvrđeno je da je više od polovice abrazija endometrija nepotrebno (34). Suprotno tome, svako postmenopauzalno krvarenje mora se individualno evaluirati.

Hiperplazija endometrija događa se uglavnom kod poslijemenopauzalnih žena. Na ultrazvučnoj dijagnostici, prilikom pregleda, nije uvijek moguća jasna distinkcija prema endometrijskom polipu, a ovisi i o kvaliteti aparata kao i iskustvu pregledavača.

Polip endometrija je dobroćudna lokalizirana proliferacija žlijezda i strome endometrija pokrivena epitelom koja se izdiže nad ravninu okolne sluznice. Polip nastaje uslijed fokalne proliferacije bazalnog sloja endometrija, a u osnovi endometrijskog polipa obično se nalaze krvne žile zadebljane sluznice endometrija. Većina polipa endometrija javlja se u fundusu uterusa, a za endometrij ih vezuje široka osnova (sesilni polip) ili peteljka različite dužine i debljine (pedunkulusni polip). Polipi su različite veličine, od diskretno izraženog endometrija do velikih masa koje ispunjavaju čitavu šupljinu maternice. Distalni dio polipa endometrija može doprijeti do kanala vrata maternice i rodnice. Prema podacima, polipi endometrija su česti i obično se javljaju kod žena u perimenopauzi (17- 20). Procjenjuje se da je zastupljenost polipa endometrija u općoj populaciji žena oko 24%, a kod 20% bolesnica polipi su multipli, odnosno višestruki.

Kod simptomatskih polipa endometrija vodeći klinički simptom je patološko krvarenje iz uterusa koje nije nužno u vezi s menstrualnim krvarenjem (27, 28, 29, 30). Smatra se da polip endometrija nastaje kao posljedica estrogene stimulacije sluznice maternice i nejednake osjetljivosti pojedinih dijelova endometrija na djelovanje estrogena. Ultrazvukom ne možemo uvijek učiniti distinkciju polipa od hiperplazije endometrija. Pod djelovanjem steroidnih hormona estrogena i progesterona, funkcionalni polipi pokazuju ciklične promjene svojstvene normalnom endometriju. Atrofični polipi javljaju se kod žena u postmenopauzi i pretpostavlja se da nastaju kao rezultat regresije hiperplastičnih i funkcionalnih polipa endometrija. U polipu se mogu razviti različiti tipovi hiperplazije i karcinoma endometrija. Polip odražava sklonost endometrija k razvoju proliferativnih lezija pa se smatra da bolesnice s polipom endometrija imaju povećan rizik od nastanka karcinoma endometrija.

Prema podacima, zastupljenost polipa endometrija s malignim tumorom je 0 – 13%, a 12 – 34% bolesnica s endometrijskim karcinomom istovremeno ima i endometrijski polip (35, 36) pa se preporuča učiniti preventivske preglede u cilju ranog otkrivanja suspektnih endometrijskih tvorbi. No, govoreći o prevenciji i ranom otkrivanju endometrijskog

karcinoma ultrazvukom, kod peri- i poslijemenopauzalnih žena bez rizičnih faktora u anamnezi nije utvrđena svrha takvih postupaka (37,38).

Tablica 1.1: Endometrijska hiperplazija, endometrijalna intraepitelijalna neoplazija i rizik progresije u endometrijski karcinom

Endometrijska hiperplazija + EIN (endometrijska intraepitelna novotvorina*)	Rizik	Prijelaz u endometrijski karcinom
	Kurman 1985	Baak 2005 s EIN*
Simplex	1%	0.6%
Complex	3%	22%
Simplex atypica	8%	17%
Complex atypica	29%	38%

Iz tablice 1 prema WHO klasifikaciji iz 2002. vidi se da je značajno povećan rizik za malignu progresiju koji se povećava od jednostavne prema kompleksnoj atipiji. Kod jednostavne hiperplazije endometrija bez atipija preporuča se konzervativna terapija gestagenima, a kod jednostavne hiperplazije s atipijama preporuča se histerektomija.

Kod pacijentica kod kojih postoji želja za potomstvom i ne prihvaćaju operacijski zahvat, preporuča se gestagenska terapija i redovite biopsije.

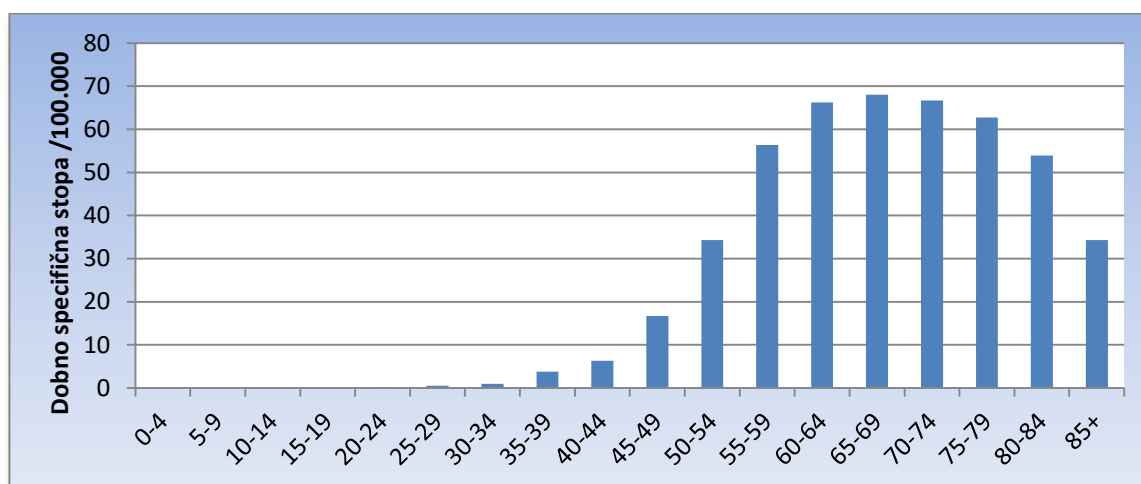
1.5 Endometrijski karcinom

Prema procjenama GLOBOCANA (40), rak endometrija nalazi se na 4. mjestu po učestalosti svih vrsta raka kod žena, odmah poslije karcinoma dojke, pluća i debelog crijeva, s gotovo 100.000 novih slučajeva u 2012. godini (6,2% od ukupnog broja slučajeva raka kod žena). Europske zemlje s najvišom dobno standardiziranom stopom incidencije (prema svjetskom standardnom stanovništvu), također prema procjenama za 2012. godinu, su Makedonija (29/100.000), Luksemburg (24/100.000) i Slovačka (19/100.000), dok su stope najniže u Grčkoj (7/100.000), Mađarskoj (7,5/100.000) i Rumunjskoj (8,5/100.000). Hrvatska se prema navedenim procjenama nalazi na 27. mjestu od ukupno 40 europskih zemalja, s dobno standardiziranom stopom incidencije (ASR-W) od 15,6/100.000. Procjene stopa mortaliteta u Europi pokazuju da su one najviše u Makedoniji (5,7/100.000), Luksemburgu (5,1/100.000) i

Latviji (4,7/100.000), a najniže na Islandu (1,3/100.000), u Mađarskoj (1,5/100.000) i Njemačkoj (1,6/100.000), dok se Hrvatska nalazi na 15. mjestu (2,9/100.000).

Posljednji službeni podaci hrvatskog Registra za rak (2) pokazuju da su u 2014. godini od raka endometrija oboljele 634 žene (gruba stopa 28,9/100.000, ASR(E) 20,3/100.000, ASR(W) 14,6/100.000).

U razdoblju 2001. - 2014. najveći broj slučajeva otkriva se u lokaliziranom stadiju (48%), 13% slučajeva je prilikom dijagnoze regionalno prošireno, a 6% slučajeva u Hrvatskoj je dijagnosticirano s udaljenim metastazama. Stadij, međutim, nije poznat kod 33% slučajeva. Dobna raspodjela novooboljelih pokazuje da su dvije trećine novooboljelih žena starije od 60 godina.



Slika 1.1: Dobna raspodjela prosječnih dobno specifičnih stopa incidencije endometrijskog karcinoma u Hrvatskoj, za razdoblje 2001. - 2014.

Podaci o mortalitetu Državnog zavoda za statistiku za 2015. godinu pokazuju da je te godine od raka endometrija umrlo 147 žena. Pritom je 84% umrlih bilo starije od 60 godina (41). Provedena *joinpoint* regresijska analiza trenda incidencije raka endometrija u Hrvatskoj, za razdoblje 2001. - 2014. godine pokazuje da je prosječni godišnji porast incidencije 2,5% (CI 1,6-3,4) (41,42). Prema podacima EURO CARE-5 istraživanja, petogodišnje preživljenje žena u Hrvatskoj kojima je rak endometrija dijagnosticiran u periodu 2000. - 2007. iznosi 75,5%, dok je prosjek petogodišnjeg preživljenja u europskim zemljama uključenih u navedeno istraživanje bio 76,2% (43). U Sjedinjenim Američkim Državama (SAD) gotovo polovica svih ginekoloških karcinoma pripada karcinomu endometrija. Karcinom endometrija sve više dobiva na značaju zbog opadanja učestalosti karcinoma vrata maternice, kao i zbog starenja

populacije i sve ranijeg javljanja bolesti (44). Incidencija ove bolesti u nerazvijenim zemljama je 4 – 5 puta niža od incidencije u razvijenim zapadnim zemljama, a najniža je u Indiji i južnoj Aziji. Smatra se da se svi solidni tumori, kako bi preživjeli, oslanjaju na iste temeljne signalne putove, stoga bi pristupi terapiji tumora trebali biti isti ili slični kao i kod istog ili sličnog tipa tumora u različitim organima, odnosno, slični pristup terapiji bi se trebao primjenjivati kod sličnih histoloških tipova tumora. Međutim, velike su razlike u stopi preživljenja od 5 godina kod tumora slične histopatologije različita porijekla pa tako u SAD-u trenutna stopa petogodišnjeg preživljenja kod endometrijskog raka iznosi 80%, kod raka dojke je iznad 90%, dok u slučaju raka prostate ona iznosi gotovo 100% (46). Cjeloživotni rizik od razvijanja karcinoma endometrija je otprilike 3%. Ove statistike naglašavaju hitnu potrebu za novim metodama prevencije i liječenja u svrhu razlikovanja karcinoma endometrija od ostalih tipova solidnih tumora (American Cancer Society, 2011.). Često je to bolest pretilih žena u postmenopauzi s ranom menarhom i kasnim nastupom menopauze (45). Prema dobi 90% oboljelih ima iznad 50 godina života, a samo 5% ispod 40 godina života, dok je 20% oboljelih predmenopauzalno (32).

1.5.1 Hormonska ovisnost endometrijskog karcinoma

Rak endometrija je ovisan o hormonima. Primjerice, kad se naruši ravnoteža između estrogena i progestagena, zbog povećane koncentracije estrogena u tkivu dolazi do stimulacije proliferacije stanica, a time i do povećanja mogućnosti za fatalne genetske pogreške. Takvo stanje dovodi do hiperplazije endometrija, kao i do raka endometrija. U usporedbi s uzorcima normalnog endometrija, dokazane su više koncentracije aktivnog estrogena u uzorcima tkiva endometrijskog karcinoma, kao i kod pacijentica u prije i poslijemenopauzalnoj dobi, o čemu će se više govoriti kasnije (47).

1.5.2 Endometrij i endometrijski karcinom

Prije puberteta je tkivo endometrija sastavljeno od tubularnih žlijezda i kompaktne strome iz fibroblasta. Kasnije se, pod utjecajem hormona, u endometriju počinju događati strukturne i morfološke promjene koje su karakteristične za pojedini dio menstruacijskog ciklusa. Opće je poznato da nakon proliferacijske faze endometrija pod utjecajem estrogena na početku ciklusa slijedi sekrecijska faza pod utjecajem progesterona (48). Cikličke promjene koncentracije

estrogena i progestagena u menstruacijskom ciklusu usmjeravaju tkivo endometrija od proliferacije preko diferencijacije do degradacije. Ako se poruši hormonska ravnoteža te se poveća koncentracija estrogena u tkivu, kao i njihovo djelovanje, zbog veće proliferacije dolazi do već spomenutih mogućnosti fatalnih genskih pogrešaka. Takvo stanje može lako dovesti do hiperplazije i raka endometrija. Prema Shermanu, zbog povećane koncentracije estrogena nastaje više metabolita estrona koji mogu oštetiti DNA preko citokroma P450, čime utječu na nastanak endometrijskog karcinoma. Visoka koncentracija estrogena u tkivu utječe na nastanak endometrijskog karcinoma preko dva dominantna mehanizma: izravnog oštećenja DNA s metaboličkim produktima estrogena i djelovanja na stimulaciju proliferacije (49).

1.5.3 Uzročni čimbenici endometrijskog karcinoma

Najvažniji rizični čimbenici su metabolički sindrom i adipozitet. Adipozno je 70% svih pacijentica. Predominira BMI 25 – 30. Relativni rizik za endometrijski karcinom je za 2,54 puta veći kod BMI iznad 30. Patološka podloga koja pridonosi povećanom riziku je povećana periferna konverzija iz androgena prema estronu (32). Nezavisni rizični faktori su tip 2 dijabetesa, hipertenzija i hipertrigliceridemija. Endogena estrogena ekspozicija kod sindroma policističnih ovarija (PCO) ranije menarhe, kasnije menopauze, tumora koji produciraju estrogene (granuloza i teka stanični tumori te nuliparitet) također povećavaju rizik za endometrijski karcinom. Na rizik od endometrijskog karcinoma utječu i hereditet, Lynch sindrom, potom nepolipozni rektalni tumori te egzogena estrogena ekspozicija, kao kod tamoksifena (48). Samo terapija estrogenom u postmenopauzi povećava rizik za 4 - 8 puta nakon 2 - 3 godine te za 10 - 30 puta nakon više od 5 godina monoterapije estrogenima. Taj rizik može neutralizirati kombinirana terapija progesteronom koja traje preko 12 dana po ciklusu. Poznato je da multiparitet, oralni kontraceptivi i pušenje, kao i tjelesne aktivnosti, kontrola tjelesne težine i adekvatnih vrijednosti šećera u krvi kod dijabetesa te dobro kontrolirana hipertenzija smanjuju rizik od raka endometrija (32). U posljednje vrijeme istražuje se imaju li geni za receptore u tkivu raka različitu ekspresiju od gena u normalnom tkivu endometrija, kao i u miometriju, i utječu li tako na razvoj bolesti, čime se bavi i naše istraživanje. Estrogen promovira rast stanica karcinoma endometrija putem izravne i neizravne regulacije transkripcije gena (50). Progesteron isporučuje proliferativni signal dojčkama, no ovaj steroidni hormon ima i mnoštvo učinaka koji inhibiraju rast u normalnom endometriju, uključujući i oponiranje proliferaciji koju pokreće estrogen i induciranju žljezdane diferencijacije (51, 52). Progesteron može biti ultimativni supresor tumora

endometrija jer kroz aktivaciju svojih receptora (PR - progesteronski receptor), progesteron inducira diferencijaciju, zastoj staničnog ciklusa i apoptozu, smanjuje upalu te se suprotstavlja invaziji povezanoj s metastatskom bolesti (51,52).

1.5.3.1 Pretilost kao uzrok neravnoteže hormona

Jedna od glavnih pokretačkih sila neravnoteže hormona estrogena/progesterona je pretilost koja uzrokuje nekoliko hormonalnih poremećaja koji potencijalno pridonose hiperplaziji i karcinogenezi u endometriju. Činjenica da se toliki broj dijagnosticiranih endometrijskih karcinoma povezuje s pretilosti vodi nas do hipoteze da bi se veliki dio tih karcinoma mogao spriječiti, a progesteron bi kao diferencirajući faktor mogao biti ključan.

1.5.3.2 Hiperinzulinemija

Neravnoteža hormona koju uzrokuje pretilost, a koja vodi do većeg rizika od endometrijske kancerogeneze, novi je cilj strategije liječenja i prevencije. Na primjer, inzulinemija i stanje inzulinske rezistencije usko su povezani s pretilosti, a nekoliko studija dokumentiralo je povezanost dijabetesa, pretilosti i karcinoma endometrija (53, 54, 55, 56). Dvije su neovisne studije identificirale vezu između inzulinske rezistencije i rizika od karcinoma endometrija, pri čemu je u jednoj studiji pronađeno da su niske razine adiponektina, surogat markera za inzulinsku rezistenciju, također povezane s rizikom od karcinoma endometrija, neovisno o indeksu tjelesne mase (BMI) (57, 58). Ove studije impliciraju inzulinsku rezistenciju kao neovisni faktor rizika za karcinom endometrija.

1.5.3.3 Inzulinu sličan faktor rasta - čimbenik rasta sličan inzulinu i pretilost

Pokazano je da su sistemske razine inzulinu sličnog faktora rasta (IGF) u pretilosti disregulirane (59). Povećana proizvodnja estrogena izravno povećava sintezu IGF-1, kontinuirana hiperinzulinemija koja je neovisna od estrogena rezultira smanjenom sintezom IGF veznih proteina (IGFBP) 1 i 2 koji moduliraju aktivnost IGF-a interferiranjem s vezanjem receptora (60).

1.5.3.4 Adipokini

Adipozno tkivo je složeni endokrini organ koji izlučuje razne anti- i proinflamatorne čimbenike koji se klasificiraju kao adipokini (61). Faktor nekroze tumora alfa (TNF α) je adipokin koji može poremetiti signaliziranje inzulinskih receptora i aktivirati receptore neovisne od inzulina (62). Leptin, IL-6 i rezistin su također adipokini koji su proinflamatorni (63, 64). Pokazano je da je koncentracija adiponektina smanjena u pretilosti i da može biti marker karcinoma endometrija (56, 65, 66). Ovo je područje aktivnog istraživanja. Povećani adipozitet (i prateća upala), kombiniran sa smanjenom sintezom adiponektina, vodi do inzulinske rezistencije koja uzrokuje hiperglikemiju i povećanu proizvodnju inzulina (61). Povišeni inzulin vodi do smanjenih koncentracija IGFBP-a, a posljedično i do povećane biodostupnosti IGF-a. Kao što je opisano u gornjemu tekstu, i inzulin i IGF induciraju proliferaciju endometrija. Simultano povećanje estrogena samo po sebi stimulira endometriju i daljnje povećanje proizvodnje IGF-a. Ovi mehanizmi signaliziranja pružaju jedno od mogućih objašnjenja zašto dijabetes, neovisno o indeksu tjelesne mase, povećava rizik od karcinoma endometrija. Kod većine pretilih žena postoji deficit progesterona, barem u odnosu na cirkulirajuće razine estrogena i povećano IGF1/inzulin signaliziranje. Većina bolesnica ne postiže uspjeh u nastojanjima da smanje tjelesnu težinu, a kod onih koje u tom uspiju, korisni učinci gubitka tjelesne težine na razine hormona mogu se realizirati nakon godine ili više dana. Te osobe trebaju pomoć u zaštiti endometrija dok prolaze kroz proces mijenjanja stila života da bi izgubile na težini. Jednostavna intervencija, odnosno spirala koja sadrži progestin u tome bi im mogla biti od pomoći. Široka uporaba spirala koje sadrže progestin bi za žene kojima prijeti rizik mogla znatno smanjiti incidenciju ove potencijalno preventabilne bolesti, po prvi put u više od 30 godina (67, 68).

1.5.3.5 Tamoksifen

Tamoksifen, lijek koji se koristi u liječenju karcinoma dojke također je čimbenik rizika za razvoj endometrijskog karcinoma. Ovaj je lijek selektivni modulator estrogenskih receptora, s antiestrogenim učinkom u tkivu dojke te estrogenim učinkom u kostima, kardiovaskularnom sustavu i uterusu. Najčešći oblik endometrijskog karcinoma u bolesnica s tamoksifenskom terapijom je tip I, premda pojedine studije upućuju i na mogućnost razvoja karcinoma tipa II. Prvi podaci o povezanosti tamoksifena s karcinomom endometrija objavljeni su 1985. godine, a naknadno su potvrđeni u nekoliko opsežnih studija u različitim zemljama (69, 70). Po nekim

radovima, kod upotrebe tamoksifena pojavljuje se 37% više endometrijskog karcinoma, a rizik je povećan kod terapije tamoksifenom koja traje više od 10 godina. Poznato je i da je kod predmenopauzalnih žena rizik veći 4 puta, dok kod postmenopauzalnih žena nema povećanog rizika (32). Iako tamoksifen višestruko povećava rizik od razvoja endometrijskog karcinoma, ne smije se zaboraviti da znatno umanjuje rizik od recidiva ili nastanka karcinoma dojke, tako da je korist od primjene toga lijeka višestruko veća od eventualne štete. Možemo zaključiti da ukoliko je neka žena rano dobila menarhu, pretela je, nije rađala te joj je menopauza nastupila s 52 godine ili kasnije, njen je relativni rizik za razvoj endometrijskog karcinoma veći 5 puta u odnosu na žene bez nabrojenih karakteristika (44).

1.5.4 Tipovi i prognostička podjela endometrijskog karcinoma

Endometrijski karcinomi se na osnovu kliničkih i molekularnih odlika mogu razvrstati u dvije osnovne skupine: tip I i tip II. Prema Bokhmanovim radovima postoje dva tipa endometrijskog karcinoma: jedan s povoljnom prognozom, to jest s prosjekom petogodišnjeg preživljenja od 85% (tip I) te drugi (tip II) s nepovoljnom dijagnozom, odnosno prosječnim petogodišnjim preživljenjem od 58% (71,72)

Tablica 1.2: Klinička i molekularna obilježja endometrijskog karcinoma tip I i tip II (73)

Čimbenici rizika	Tip I	Tip II
Kliničke odlike		
Hormonski receptori	Estrogen ovisan	Estrogen neovisan
Dob	Perimenopauzalno	Postmenopauzalno
Rasa	Bijela > Crna	Bijela = Crna
Diferencijacija (gradus)	Dobro diferenciran	Slabo diferenciran
Histologija	Endometrioidni	Neendometrioidni
Stadij kod dijagnoze	I/II	III/IV
Prognoza	Povoljna	Nepovoljna
Molekularne odlike		
Ploidija	Diploidni	Aneuploidni
K-ras ekspresija	Povišena	Povišena
HER-2/neu ekspresija	Normalna	Povišena
p53 ekspresija	Normalna	Povišena
PTEN mutacije	Da	Ne
Mikrosatelitna nestabilnost	Da	Ne

Endometrijski karcinomi tipa I su mnogo češći (80%) u odnosu na tip II (20%) (73). Kod tipa I karcinoma, 85% svih karcinoma ima takozvanu Driver-mutaciju, a u više od 65% PTEN mutacija prisutne su i pojedinačne mutacije KRAS, CTNNB1 i PIK3CA. Većinom su to endometrioidni adenokarcinomi, a rjeđe adenoskvamozni karcinomi. U praksi često postoji preklapanje kliničkih, patoloških, imunohistokemijskih i molekularnih odlika karcinoma tipa I i II. Štoviše, pokazalo se da se pojedine neendometrioidne neoplazme (tip II) mogu razviti iz prethodno postojećih endometrioidnih tumora (tip I), pri čemu nastaju takozvane mješovite neoplazme koje pokazuju patološke i molekularne odlike oba tipa karcinoma endometrija.

Približno 10% endometrijskog raka je nasljedno uvjetovano te je veća vjerojatnost da se takav oblik raka pojavi u ranijoj dobi i najčešće je povezan s obiteljskim oblikom nepolipoznoga raka debelog crijeva (Lynch sy.), pri kojem se pojavljuju nepravilnosti u genima za popravljavanje neusklađenosti parova DNA, a posljedica čega je nestabilnost mikrosatelita u DNA. U većini slučajeva je endometrijski rak (90%) nasumičan i može se, po kliničko-patološkim i molekularnim karakteristikama, podijeliti na dvije kategorije (74):

U prvu skupinu spadaju primjeri endometrijskog karcinoma (tip I) ovisnih o estrogenu (prisutni su estrogenski i progesteronski receptori) koji se javljaju kod mlađih pretilih žena te žena bez djece u prije i poslijemenopauzalnoj dobi. Gledano morfološki, većina tumora iz te skupine su endometrioidni adenokarcinomi, koji se razvijaju preko kompleksne endometrijske hiperplazije (75). Atipična endometrijska hiperplazija je nedvojbeno prekursor većini endometrioidnih karcinoma (49). Taj tip tumora možemo, po FIGO sistemu, podijeliti u više skupina prema stupnju diferencijacije. Za G1 razred značajna je visoka diferencijacija s dobro razvijenim žlijezdama i manje od 5% slabije diferenciranih dijelova, a za G2 razred značajna je umjerena diferencijacija, u kojoj 6 – 50% površine zauzimaju slabije diferencirana područja.

G3 stupanj zrelosti tumora podrazumijeva tumor pri kojem više od 50% površine zauzimaju slabo diferencirani predijeli. Pacijenti s G3 stupnjem zrelosti tumora imaju najslabiju prognozu preživljenja te im je vrijeme bez recidiva najkraće. Tumori tipa I imaju dobru prognozu. U njih spada 80% svih slučajeva raka endometrija (74, 75).

Samo 15 - 20% endometrijskog karcinoma označavamo kao tip II. To je tip tumora neovisnog o estrogenu, koji se razvija u atrofičnom endometriju, uglavnom iz različitih lezija, odnosno metaplazija, označenih kao intraepitelijski karcinom endometrija (EIC). Pojavljuje se u morfološkim oblicima seroznog, papilarnog, svijetlostaničnog adenokarcinoma, sitnostaničnog karcinoma, miješanog te nediferenciranog karcinoma. Za te tipove

endometrijskog karcinoma značajna je slabija diferencijacija s više od 50% slabo diferenciranih dijelova. Taj oblik raka je agresivan i često urasta u endometrij te se širi peritonealnim metastazama. Tumor tipa II ima slabiju prognozu (74,75).

1.5.5 Tijek kancerogeneze pri endometrijskom karcinomu na molekularnoj razini

Klasifikaciju na temelju kliničko-patoloških i morfoloških karakteristika možemo potvrditi na molekularnoj razini (74). Studije govore da je kancerogeneza endometrija višestupanjski proces koji uključuje inicijaciju, promociju i progresiju lezija iz normalnog epitela do benignih i malignih tumora. Svaki korak nadgleda niz biokemijskih i morfoloških promjena koje nastaju zbog poremećaja onkogeni, gena za popravljivanje neusklađenosti DNA parova baza i efektorskih gena, odgovornih za apoptozu stanica.

Kancerogeneza endometrija protječe na više načina. Gledajući molekularno-biološki profil, dosad su opisana tri moguća načina nastanka raka endometrija – razvoj karcinomskog tkiva preko hiperplazije, metaplazije ili *de novo* (76).

1.5.5.1 Razvoj endometrijskog karcinoma - tip I

Kod razvoja raka endometrija preko hiperplazije značajne su biološke i genske nepravilnosti koje utječu na prijenos signala na razini receptora i molekularnih kontakata (male citosolne GTP-aze) te na adheziju stanica (75). Karcinom endometrija tipa I općenito povezujemo s nepravilnosti gena za popravljivanje neusklađenosti DNA parova baza (74,75,76). Mogući uzročnik nastanka karcinoma endometrija tipa I su i promjene kod regulacije apoptoze, pri čemu važnu ulogu ima i promjena aktivnosti telomeraze (76). Najčešći oblik karcinoma endometrija u bolesnica s tamoksifenskom terapijom je tip I, premda pojedine studije upućuju i na mogućnost razvoja karcinoma tipa II.

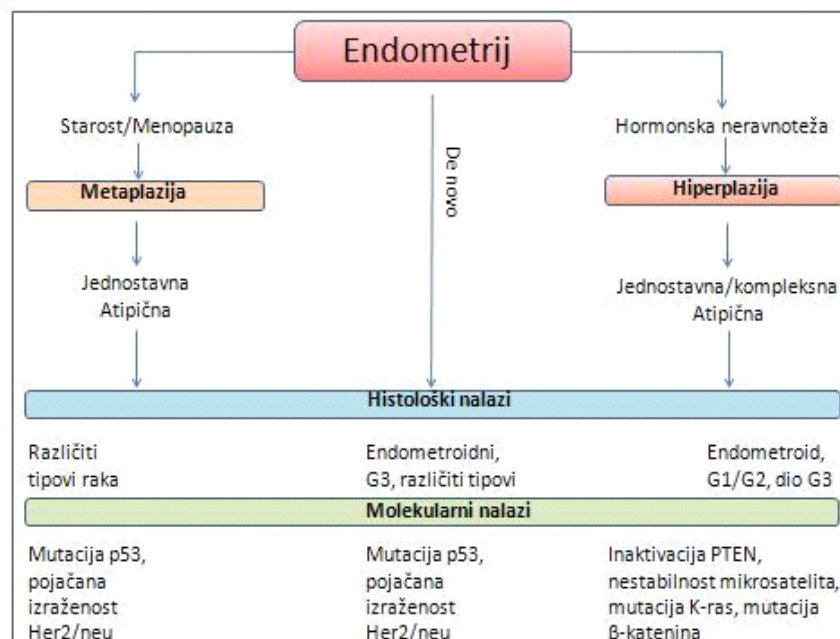
1.5.5.2 Molekularne promjene pri razvoju endometrijskog raka preko metaplazije - tip II

Kod tipa II karcinoma endometrija, 80% stanica sadrži p53-mutacije, kao što je Driver-mutacija. Ovdje spadaju nediferencirani karcinomi i karcinosarkomi (maligni tumor

Müllerovih stanica – *malignant Müller mixed tumor* - MMMT). U miješane forme karcinoma (*endometrial cancers of mixed histology*) spadaju razne forme u pravilu endometrioidnih karcinoma kod kojih su prognoza i terapija strogo specifični (78). Ovdje se radi o slabo diferenciranom tipu endometrijskog karcinoma. Rak se razvija iz atrofičnog endometrija i preko atipične metaplazije prelazi u invazivni oblik raka. Do promjena dolazi u mišićnom tkivu (76). Na molekularnoj razini, rak endometrija tipa II općenito povezujemo s nepravilnostima u genu p53 i HER/neu (74). Ostalih promjena, opisanih kod tipa I, kod ovog tipa raka ima manje ili nisu bile opažene (77).

1.5.5.3 Nastanak endometrijskog raka *de novo*

Treći način nastanka raka endometrija, *de novo*, pojavljuje se kod starijih žena kod kojih normalne stanice neposredno prelaze u maligni fenotip (76). Pretpostavlja se da je u ovom slučaju za ranu fazu nastanka tumora također odgovorna mutacija gena p53 i prekomjerna ekspresija Her2/neu onkogene (77).



Slika 1.2: Tri načina kancerogeneze i molekularne promjene značajne za svaki pojedini način nastanka raka (priređeno prema Inoue i Shermanu (49,77))

1.6 Prognostički čimbenici u endometrijskom karcinomu

Prema literaturi, prognostički se čimbenici dijele u pet skupina, a to su: kliničke, patološke, hormonalne, celularne i molekularno-genetske (79).

U praksi liječenja endometrijskog karcinoma najvažniji čimbenici su:

1. histološka diferencijacija - gradus
2. histološki tip neoplazme
3. dob bolesnice
4. veličina neoplazme
5. limfo - vaskularni prodor.

Najvažniji klinički i patološki prognostički čimbenici koji upućuju na lošu prognozu bolesti (recidiv i/ili smrt) kod endometrijskog karcinoma slični su onima kod ostalih karcinoma:

1. uznapredovali stadij bolesti
2. histološki slabo diferencirani tumori
3. neendometrioidne histološke podvrste tumora
4. duboka miometrijska invazija
5. prisutnost limfo - vaskularnog prodora
6. primarni tumor s promjerom većim od 2 centimetra
7. invazija u stromu vrata maternice i ektrauterino širenje tumora.

Molekularno-genetski čimbenici se dosada nisu pokazali značajnima u dijagnostici i prognozi endometrijskog karcinoma. Spominju se ploidnost DNA, HER-2/neu (c-erb-B2), p53, Bcl-2, PTEN, K-ras, mikrosatelitna nestabilnost, β -katenin i proteomsko profiliranje. Jedino je status estrogenskih i progesteronskih receptora dosada pokazao mogućnost doprinosa djelotvornijoj dijagnostici.

1.5.1 Klinički stadij bolesnica s endometrijskim karcinomom (FIGO)

Prognoza u bolesnica s endometrijskim karcinomom ne ovisi o samo jednom čimbeniku. Zbog toga je uvedena FIGO podjela kliničkih stadija bolesti kako bi se liječnicima praktičarima omogućilo da na osnovu većeg broja pokazatelja odaberu optimalan način liječenja za pojedinu bolesnicu. FIGO klasifikacija kliničkih stadija endometrijskog

karcinoma prošla je više revizija, a u uporabi je verzija iz 2009. godine (81). Značajan je podatak podijeljenosti tumora po stadijima: stadiju 1 pripada 72% tumora, stadij 2 – 12%, stadij 3 – 13%, stadij 4 – 3% (82). Unatoč nedostacima, FIGO klasifikacija stadija bolesti ubraja se među najpouzdanije prognostičke čimbenike što je dokazano u većem broju studija (80).

Tablica 1. 3: Klasifikacija endometrijskog karcinoma TNM i FIGO (32)

TNM	FIGO
TX	Primarni tumor ne može se pronaći
T0	Nema primarnog tumora
T1	I Tumor ograničen na tijelo maternice
T1a	Ia Bez invazije ili invazija manja od 50% debljine miometrija
T1b	Ib Invazija preko 50% debljine miometrija
T2	II Infiltracija strome vrata maternice
T3	III Širenje tumora izvan maternice, ograničen na malu zdjelicu*
T3a	IIIa Zahvaćena seroza maternice i/ili adneksi
T3b	IIIb Zahvaćena rodnic ili parametrij, direktno ili metastatski
N1	IIIc Zahvaćeni zdjelični i/ili paraaortalni limfni čvorovi
N1	IIIc1 Zahvaćeni zdjelični limfni čvorovi
N1	IIIc2 Zahvaćeni paraaortalni limfni čvorovi (sa ili bez zdjeličnih)
T4	Iva Zahvaćenost sluznice mokraćnog mjehura ili rektuma**
M1	IVb

* Pozitivna citologija mora se priopćiti u nalazu, ali ne mijenja stadij tumora

** Bulozni edem vrata mokraćnog mjehura ne spada u ovaj stadij tumora

1.6.2 Patohistološki gradus endometrijskog karcinoma

Patohistološko stupnjevanje ili graduiranje karcinoma endometrija zasniva se na strukturnoj diferencijaciji i staničnoj atipiji. Klasifikacija Svjetske zdravstvene organizacije (WHO) razlikuje tri patohistološka stupnja - gradusa čije su definicije prikazane u tablici 4.

Tablica 1.4: Patohistološko graduiranje endometrijskog karcinoma prema stupnju žljezdane diferencijacije (82)

Gradus	Diferencijacija
G1	Dobro diferencirani karcinomi s <5% solidnih područja
G2	Umjereno diferencirani karcinomi s 6–50% solidnih područja
G3	Slabo diferencirani karcinomi s >50% solidnih područja

Čimbenik koji treba uzeti u obzir u tablici 1.4 je atipija jezgara koja povećava gradus. Važno je reći da je kod stupnjevanja seroznih karcinoma, svjetlostaničnih karcinoma i karcinoma skvamoznih stanica atipija jezgara bitnija od strukturne diferencijacije.

Patohistološko stupnjevanje endometrijskog karcinoma već se dugo vremena smatra jednim od najsenzitivnijih indikatora prognoze. Kako tumor gubi svoju diferencijaciju tako opada vjerojatnost preživljenja (82).

Histološki gradus novotvorine koreliran je s drugim prognostičkim čimbenicima poput dobi bolesnica i stadija bolesti, a naročito s dubinom prodora u miometrij (81, 82). Što je tumor slabije diferenciran, to je veća vjerojatnost dubokog prodora u miometrij. Zbog korelacije s drugim čimbenicima, pojedini autori ne smatraju gradus neovisnim prognostičkim čimbenikom. Ipak i kod bolesnica s uznapredovalim neoplazmama gradus zadržava određenu prognostičku vrijednost. Određivanje histološkog gradusa značajno je i prilikom planiranja terapije (79, 81, 81, 82).

1.6.3 Tip I i tip II endometrijskog karcinoma

Različite patohistološke dijagnoze znatno se razlikuju u prognozi. Endometrioidni adenokarcinom u pravilu ima povoljniju prognozu (petogodišnje preživljenje od oko 80%, dok je prosječno petogodišnje preživljenje u seroznom i svjetlostaničnom karcinomu oko 58%) (80). Serozni endometrijski karcinom ima lošu prognozu čak i kad nema dubokog miometrijskog prodora ili metastaza u limfne čvorove, s prosječnim petogodišnjim preživljenjem 40 – 60% (80, 81). Ta novotvorina pokazuje sklonost prema metastaziranju u gornji dio abdomena, što nije u potpunosti objašnjeno. Svjetlostanični endometrijski karcinom pokazuje sklonost metastaziranju u gornji dio trbuha, jetru i pluća, s prosječnim petogodišnjim preživljenjem 30 – 50% (81, 82, 83).

1.6.4 Dubina prodora u miometriju i zahvaćenost seroze

Značaj dubine prodora kao prognostičkog čimbenika je potvrđena u većem broju studija (84). Pojedini autori tvrde da nije toliko bitna dubina prodora u miometriju, već je bitnije približavanje prodirućeg tumora serozi. Ako je tumor prodro na manje od 5 mm od seroze, petogodišnje preživljenje iznosi svega 65%, a ako je udaljenost tumora od seroze veća od 10 mm, petogodišnje preživljenje je 97% (84, 85). Dubina prodora u miometriju visoko korelira s drugim prognostičkim čimbenicima, a naročito s histološkim gradusom neoplazme. Bolesnice sa slabo diferenciranim neoplazmama i dubokim prodorom u miometriju imaju daleko slabije preživljenje od bolesnica s dobro diferenciranim neoplazmama koje nisu duboko prodrle.

1.6.5 Prodor u vrat maternice

Zahvaćenost vrata maternice kao prognostički čimbenik kod endometrijskog karcinoma uveden je po prvi put u FIGO stadije 1963. godine. Procjena zahvaćenosti se zasnivala na frakcioniranoj kiretaži, ali je uskoro uočen velik broj lažno pozitivnih rezultata (50 – 52%). Zbog toga se danas zahvaćenost vrata maternice procjenjuje isključivo na osnovu patohistološke analize maternice odstranjene tijekom operacije (86). Zahvaćenost vrata maternice se uočava u 9 – 32% bolesnica s karcinomom endometrija, a može biti rezultat kontinuiranog širenja ili limfo-vaskularnog širenja (LVI) (86). Treba naglasiti da su zaključci o prognostičkom značenju ovog parametra dosta proturječni, vjerojatno kao posljedica heterogenosti u određivanju stadija, prijeoperacijske radioterapije te uključivanja bolesnica sa stadijima III i IV. Nadalje, kod manjeg postotka bolesnica s endometrijskim karcinomom može se naći primarni adenokarcinom vrata maternice koji može otežati diferencijalnu dijagnostiku i prognostičke studije (87).

1.6.6 Veličina novotvorine

Podaci o veličini endometrijskog karcinoma kao prognostičkom čimbeniku dosta su suprotstavljeni. Studija Schinka i suradnika, u kojoj je evaluirana 91 bolesnica s kliničkim stadijem I, pokazala je da se samo kod 5,7% bolesnica s veličinom novotvorine manjom od 2 cm mogu naći presadnice u limfnim čvorovima, dok se one nalaze kod čak 21% bolesnica s veličinom novotvorine većom od 2 cm (95). Međutim, isti su autori uočili da dubina prodora u miometriju znatno mijenja ulogu veličine novotvorine kao prognostičkog čimbenika. Kod lezija većih od 2 cm, ali s dubinom prodora u miometriju manjom od ½, nisu uočene

presadnice u limfne čvorove, dok je učestalost limfatičnih presadnica bila oko 40% ako je bio zahvaćen gotovo čitav miometrij. Watanabe i suradnici nisu uspjeli potvrditi ulogu veličine karcinoma kao prediktora metastaziranja u limfne čvorove (88).

1.6.7 Limfo-vaskularna invazija (LVI)

Pod pojmom invazije limfo-vaskularnog prostora (LVSI, eng. *Lympho-vascular space invasion*) podrazumijeva se prisutstvo tumorskih stanica u prostorima strome obloženima endotelom. Vjeruje se da je LVI prognostički čimbenik neovisan o histološkom gradusu ili dubini prodora u miometrij. Ispitivanje provedeno na više od 600 bolesnica u klinici Mayo pokazalo je da rani hematogeni i limfogeni rasap ima najveću ulogu u širenju ovog karcinoma (89, 90). LVI nije česta u endometrioidnim karcinomima, a učestalost joj raste kod visokog histološkog gradusa i dubokog prodora u miometrij. U 95% unutaroperacijskih histoloških nalaza postoji velika nesigurnost kod dijagnostike prodora u limfovaskularni prostor (90).

1.6.8 Unutaroperacijski nalaz i ostali prognostički čimbenici

Unutaroperacijska histologija (eng. *Frozen section*) se provodi kod dijagnostike karcinoma niskog, srednjeg ili visokog rizika. Dijagnoza dubine prodora u više od 50% hitnih biopsija je sljedeća: senzitivitet je između 73% i 94%. Dvije trećine lažno negativnih nalaza su prisutne kod unutaroperacijske dijagnostike limfnih čvorova (91). U usporedbi s vaginalnim ultrazvukom i MR, unutaroperacijska tehnika hladne biopsije pokazala je korektnu predikciju od 92% prodora tumora u miometrij u usporedbi s 84% kod MR i 81% kod TVS (92, 93). Kad je prisutna, zahvaćenost seroze upućuje na značajan rizik povrata bolesti i lošu prognozu. Kao izolirani nalaz, zahvaćenost seroze upućuje na lošu prognozu, daleko više od izoliranog nalaza peritonealne citologije ili zahvaćenosti adneksa (94, 95).

1.6.9 Prognostički značaj presadnica endometrijskog karcinoma - metastaziranje

Presadnice u limfne čvorove su neovisan prognostički čimbenik koji naglašeno upućuje na lošu prognozu endometrijskog karcinoma. Zbog toga je analiza zahvaćenosti limfnih čvorova izuzetno važna komponenta određivanja stadija bolesti.

1.6.10 Dob i preživljenje bolesnica s endometrijskim karcinomom - stadiji tumora i rizici

Unutaroperacijska odluka o radikalitetu operacije (limfadenektomija i *Debulking*) ovisna je o hitnoj histologiji i unutaroperacijskom nalazu. Kod karcinoma niskog rizika postoji minimalni rizik za proširenje u limfne čvorove, do 3%, kao i za recidiv. U ovu grupu spadaju karcinomi tipa I, G1 i G2 do 50% dubine invazije u miometriju (FIGO-stadij Ia). Karcinomi srednjeg rizika se u suštini tretiraju unutaroperacijski kao i karcinomi visokog rizika. U ovu grupu spadaju tip I, FIGO-stadij Ib, G1 i G2 kod kojih postoji minimalna sumnja u limfovaskularnu invaziju. U karcinome srednjeg i visokog rizika spadaju tip I karcinomi, FIGO-stadij Ia s G3 zrelošću i s prodorom u limfovaskularni prostor. Karcinomi najvećeg rizika s dubinom prodora preko 50% debljine miometrija, FIGO-stadij Ib i G3, FIGO-stadij II, FIGO-stadij III i svi tipovi II karcinoma, kao i miješoviti tipovi karcinomi. Visoko su rizični i lokalno prošireni karcinomi FIGO-stadija III s nemogućnošću operativnog odstranjenja tumora i FIGO-stadij IV a te FIGO-stadij IVb kod kojeg postoje metastaze (82).

1.6.11 Prognoza

U većini slučajeva, gledajući petogodišnje preživljenje pacijentica, prognoza je dobra. Kod pacijentica srednjeg tumorskog rizika (FIGO Ia G3, Ib G1-2 LO MO) kod kojih je sprovedena samo vaginalna brahiterapija, petogodišnji period bez recidiva iznosio je 85%. Nasuprot tome, 20% pacijentica ima lošiju prognozu. To su pacijentice FIGO stadija Ib G3, FIGO stadija II, III i IV te one kod kojih postoje serozno-papilarni, klarocelularni i rijetke karcinomske forme. Nabrojani tipovi su odgovorni za 50% svih recidiva te je u njihovu slučaju neophodno sprovesti adjuvantnu kemo i brahiterapiju (104). Metaanalize su pokazale da je kemoterapija cisplatinom poboljšala period bolesti bez recidiva neovisno o iradijaciji. Isto tako je smanjila rizik metastaziranja karcinoma endometrija s ili bez primjene radioterapije (105). Metaanaliza adjuvantne kemoterapije u FIGO stadijima III i IV pokazala je poboljšanje u preživljavanju iza primarne operacije u visini od 25% u odnosu na primjenu adjuvantne radioterapije (106).

Neovisni prognostički faktori najvažniji u endometrijskom karcinomu su sljedeći:

1. Stadij u smislu primarne operacije
2. Histološke slike

3. Stupanj zrelosti tumora
4. Promjer tumora
5. Tumorski markeri i receptori
6. Etničko porijeklo – afričko porijeklo pacijentica sa sobom nosi visoki rizik za nediferencirani, nezreliji i tip II tumora
7. Limfovaskularna invazija
8. Dob pacijentice – sve pacijentice koje su starije od 60 godina imaju lošiju prognozu s porastom godina.

Većina endometrioidnih karcinoma su pozitivni i na estrogenske (ER) i na progesteronske receptore (PR). Određivanje ovih receptora najčešće se obavlja imunohistokemijski, pri čemu je za endometrioidne karcinome karakteristična heterogenost distribucije ER i PR. Prisutstvo i količina ER i PR receptora korelira s FIGO stadijem, histološkim gradusom i preživljenjem. U stadiju I i II pozitivni status ER i PR se smatra neovisnim prognostičkim čimbenikom, s time da je status PR nešto bolji prediktor od ER (107).

U posljednjih nekoliko godina intenzivno se istražuju različiti molekularno-genetski prognostički čimbenici u nadi da bi oni mogli ukazati na bolesnice s povišenim rizikom metastaziranja, a koje spadaju u niskorizične bolesnice po poznatim prognostičkim čimbenicima. Najvažniji i najviše istraženi molekularno-prognostički čimbenici su već spomenuti: DNA ploidijska, HER-2/neu (c-erb-b2) , p53, Bcl-2 , PTEN, K-ras, mikrosatelitna nestabilnost-nestabilnost dijelova DNA, β -katenin te proteogenomsko profiliranje i matriksmetalproteinaze (MMP) (6).

2. HIPOTEZA

Određivanje izraženosti hormonskih receptora u endometrijskom karcinomu i miometriju tkiva maternice bolesnica s endometrijskim karcinomom može pomoći u procjeni agresivnosti tumora.

3. CILJ ISTRAŽIVANJA

Opći cilj:

Imunohistokemijskom metodom utvrditi stupanj izraženosti estrogenskih (ER) i progesteronskih receptora (PR) u jezgrama stanica tumora i miometrija tkiva maternice kod bolesnica s karcinomom endometrija i zdrave kontrole, tkiva maternice pacijentica bez endometrijskog karcinoma.

Specifični ciljevi:

1. Utvrditi razliku izraženosti ER i PR između karcinoma endometrija i okolnog miometrija
2. Utvrditi povezanost izraženosti ER i PR u okolnom miometriju s dubinom prodora EC, limfo-kapilarnom invazijom i pojavom metastaza u regionalne limfne čvorove
3. Utvrditi povezanost izraženosti ER i PR u okolnom miometriju s histološkim gradusom karcinoma i FIGO stadijem bolesti
4. Utvrditi povezanost izraženosti ER i PR u okolnom miometriju s preživljenjem bolesnica

U skladu s postavljenom hipotezom provest će se istraživanje na minimalno 60 uzoraka tumorskog tkiva bolesnica s karcinomom endometrija koje će se preuzeti iz arhiva patologije Klinike za tumore u Zagrebu, gdje su bolesnice i operirane. Histološkim će pregledom patolog odrediti uzorak tkiva karcinoma endometrija s okolnim miometrijem. Na tako određenom uzorku će se imunohistokemijskim bojanjem, upotrebom primarnih protutijela na estrogenske i progesteronske receptore, utvrditi njihova izraženost. Prema preporuci članova Povjerenstva, određivanje izraženosti ER i PR u zdravom miometriju provest će se imunohistokemijskim bojanjem najmanje 30 uzoraka miometrija bolesnica bez karcinoma. U istraživanju će se semikvantitativno odrediti izraženost ER i PR kao postotak obojenih jezgara na 1000 pregledanih stanica kategoriziran u 3 kategorije:

1. Negativno - nema obojenja ili je izraženo u manje od 10% stanica;
2. Slabo pozitivno - obojenje u 10 - 50% stanica;
3. Jako pozitivno - obojenje u više od 50% stanica.

Kod slabo pozitivnog i jako pozitivnog obojenja zadržat će se objedinjena formulacija pozitivnog obojenja tkiva. Statističkim testovima će se analizirati razlika izraženosti ER i PR u miometriju s histološkim gradusom karcinoma, dubinom prodora karcinoma u miometriju, pojavom limfokapilarne invazije te pojavom metastaza u limfne čvorove zdjelice.

Istraživanje se zasniva se na originalnom pristupu o slabo poznatoj problematici. Tema istraživanja je važna s kliničkog aspekta. Ukoliko se dokaže da izraženost ER i PR u miometriju ima prognostički značaj, taj podatak bi se mogao iskoristiti za planiranje daljnje terapije bolesnica s karcinomom endometrija ili prilikom planiranja operacija, pri čemu bi se kod bolesnica koje nemaju proširenu bolest, a imaju dobro izražene ER i PR, izbjegla višesatna limfadenektomija. Klinička primjena ovakvog načina testiranja je vrlo prihvatljiva, jer ne iziskuje dodatne materijalne troškove.

Etički aspekti studije:

Za ispitivanje nisu bile potrebne nikakve dodatne pretrage ili uzimanje uzoraka krvi. Ispitivanje je provedeno uz informirani pristanak ispitanica te suglasnost etičkog povjerenstva ustanove u kojoj su ispitanice liječene.

4. ISPITANICE I METODE

Istraživanje je uključilo 69 pacijentica te je provedeno na parafinskim uzorcima endometrijskog karcinoma (EC) i okolnom miometriju fiksiranim u formalinu. Kontrolna skupina uključila je tkivo maternice 69 pacijentica bez EC. Svim je pacijenticama dijagnoza postavljena na Klinici za tumore Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice u Zagrebu u Hrvatskoj. Svim je pacijenticama stadij tumora određen prema FIGO klasifikaciji tumora. Kod većine je pacijentica bolest bila ograničena na maternicu, te su pacijentice bile podvrgnute operaciji, a većina njih i i adjuvantnoj radioterapiji. Nakon progresije bolesti, pet je pacijentica bilo podvrgnuto kemoterapiji prema CAP protokolu. Kliničkopatološki podaci o dobi pacijentica, veličini tumora, histološkom tipu tumora (kategoriziranim kao prvi, drugi ili treći stupanj zrelosti), dubini invazije u miometriju (invazija do pola ili više od pola prodora u miometriju), prodoru u limfovaskularni prostor (prisutan ili odsutan) te FIGO klasifikaciji su retrogradno skupljeni iz patohistoloških izvještaja nakon operacija. U svrhu statistike, FIGO klasifikacija tumora je u ovom radu grupirana u grupu 1 koja je uključivala FIGO stadije I i II te u grupu 2 koja je uključivala bolest proširenu izvan maternice, odnosno FIGO stadij III i IV. Kod 34 pacijentice (odnosno 49,3%) učinjena je standardna limfadenektomija, u skladu s preporukama NCCN-a te je samo 6 imalo tumorski pozitivne limfne čvorove (17,6% operiranih i 8,7% svih pacijentica). Povratak bolesti zabilježen je kod 25 pacijentica (36,3%), a umrlo ih je 15 (21,7%). Podaci o pacijenticama prikupljeni su 120 mjeseci završno do 1. svibnja 2015. godine. Kod pacijentica s endometrijskim karcinomom analizirana je povezanost izraženosti ER i PR u okolnom miometriju s histološkim gradusom, dubinom prodora u miometriju, pojavom limfokapilarnog prodora te pojavom presadnica u limfnim čvorovima zdjelice. Rezultati su obrađeni χ^2 testom, Fisherovim egzaktnim testom, multifaktorijalnom analizom i Kaplan-Meierovim testom na razini statističke značajnosti $P < 0,05$. Prikazani su tabelarno i grafički.

Period preživljenja bolesnica bez bolesti u odnosu na izraženost ER i PR u miometriju i endometrijskom karcinomu analiziran je Log rank testom.

4.1 Imunohistokemijsko određivanje statusa estrogenskih receptora

Estrogenski i progesteronski receptori, ER i PR, promatrani su u epitelnoj i stromalnoj komponenti tumora te u okolnom tkivu miometrija. Postupak imunohistokemijskog bojenja

proveden je u automatiziranom uređaju DakoAutostainer. Endometrijski fragmenti su uklopljeni u parafin i narezani na rezove debljine 2 - 3 μm . Nakon deparafinizacije, otkrivanje antigena je obavljeno zagrijavanjem kroz 20 minuta u vodenoj kupelji pomoću Antigen Retrieval Solutiona (Dako, Danska) na 96 °C pri pH 6,10. Aktivnost endogenih peroksidaza je dokinuta petominutnom inkubacijom u 3% H_2O_2 na sobnoj temperaturi. Potom su rezovi inkubirani preko noći na 4°C uz prisutstvo primarnog protutijela za ciljni antigen (Mo-a-hu ER α). Specifična reakcija je otkrivena naknadnom inkubacijom sa sekundarnim biotiniziranim protutijelom (LSAB kit, Dako, Danska) te upotrebom DAB kromogena. Reakcija se vizualizirala primjenom kromogena diaminobenzidina (DAB). Kontrastno bojanje napravljeno je Mayerovim hematoksilinom. Preparati su pogledani svjetlosnim Olympus BX41 mikroskopom. Kao pozitivna reakcija interpretirala se smeđa obojenost jezgre tumorskih stanica, a odsustvo smeđe reakcije kao negativna reakcija. Status estrogenskih receptora (ER α) u epitelu neoplazme je opisan kao pozitivan ili negativan. Isto je vrijedilo i za progesteronske receptore (PR). Postupak je ponovljen i u miometriju. Naime, većina radova koja promatra prognostički učinak ER i PR koristi ovakvu podjelu zbog velike heterogenosti rezultata ako se izraze kao postotak pozitivnosti u jezgrama tumorskih stanica.

5. REZULTATI

Tablica 5.1 Raspodjela ispitivanih čimbenika kod 69 bolesnica s endometrijskim karcinomom (EC)

Čimbenik	Broj slučajeva (N)	%
Dob		
≤ 60 godina	21	30,4
> 60 godina	48	69,6
Veličina tumora		
≤ 30 mm	34	49,3
> 30 mm	35	50,7
Histološki tip		
Endometrioidni	51	73,9
Serozni/papilarni*	18	26,1
Histološki gradus		
Gradus I	21	30,4
Gradus II	23	33,3
Gradus III	25	36,3
Cervikalni prodor		
Odsutan	58	84,4
Prisutan	11	15,9
Dubina prodora u miometriju		
< 50%	39	56,5
≥ 50%	30	43,5
Limfno-vaskularni prodor		
Odsutan	37	53,6
Prisutan	32	46,4
Limfni čvorovi (N=34)		
Negativan	28	82,4
Pozitivan	6	17,6
FIGO klinički stadij		
FIGO I/II	54	78,3
FIGO III/IV	15	21,7

* Tip II endometrijskog karcinoma

U ispitivanoj skupini iz tablice 5.1 više su bile zastupljene starije bolesnice, endometrioidni tip tumora, negativni nalaz cervikalnog prodora, plićeg prodora u miometriju, negativni limfovaskularni prodor, negativni limfni čvorovi i FIGO I/II. Zastupljenost veličine tumora i tumorskih gradusa bila je podjednaka.

Tablica 5.2: Izraženost estrogenskih (ER) i progesteronskih (PR) receptora u stanicama tumora i okolnom miometriju (N = 69).

Izraženost receptora	Broj slučajeva (N)	%
ER u tumoru		
Negativan	24	34,8
Pozitivan	45	65,2
PR u tumoru		
Negativan	28	40,6
Pozitivan	41	59,4
ER u miometriju		
Negativan	8	11,6
Pozitivan	61	88,4
PR u miometriju		
Negativan	11	15,9
Pozitivan	58	84,1

U ispitivanoj skupini, i u tumoru i u okolnom miometriju bilo je više ER i PR pozitivnih nego negativnih nalaza.

Tablica 5.3: Odnos čimbenika i estrogenskih te progesteronskih receptora u tumoru i okolnom miometriju (statistički znakovit odnos označen je crveno)

Čimbenik	ER u tumoru (Spearman R) P	PR u tumoru (Spearman R) P	ER u miometriju (Spearman R) P	PR u miometriju (Spearman R) P
Dob				
≤ 60 godina	0,868	0,021	0,703	0,052*
> 60 godina		(-0,282)		(-0,239)
Histološki tip				
Endometrioidni	<0,001	<0,001	0,126	0,089*
Serozni/papilarni	(-0,531)	(-0,575)		(-0,212)
Veličina tumora				
≤ 30 mm	0,777	0,288	0,111	0,429
> 30 mm				
Histološki gradus				
Gradus I	0,037	0,009	0,084*	0,444
Gradus II	(-0,261)	(-0,326)	(-0,217)	
Gradus III				
Prodor u miometriju				
< 50%	0,274	0,373	0,811	0,320
≥ 50%				
Cervikalni prodor				
Odsutan	0,377	0,588	0,075*	0,675
Prisutan			(-0,225)	
Limfovaskularni prodor				
Odsutan	0,003	0,032	0,028	0,769
Prisutan	(-0,381)	(-0,281)	(-0,291)	
Status limfnih čvorova (N=34)				
Negativan	0,457	0,525	0,482	0,586
Pozitivan				
FIGO klinički stadij				
I/II	0,111	0,029	0,213	0,143
III/IV		(-0,274)		

U tablici 5.3 izraženost ER i PR u tumoru statistički znakovito negativno korelira s histološkim tipom, histološkim gradusom i limfovaskularnim prodorom, dok PR još znakovito negativno korelira s dobi i FIGO podjelom proširenosti EC. U okolnom miometriju

pacijentica s EC se opaža statistički znakovit odnos limfovaskularnog prodora i negativnih miometrijskih ER .

Tablica 5.4: Univarijantna analiza utjecaja kliničko-patoloških čimbenika na povratak bolesti i ukupno preživljenje bolesnica s karcinomom endometrija (Log rank test) (statistički znakovit odnos označen je crveno)

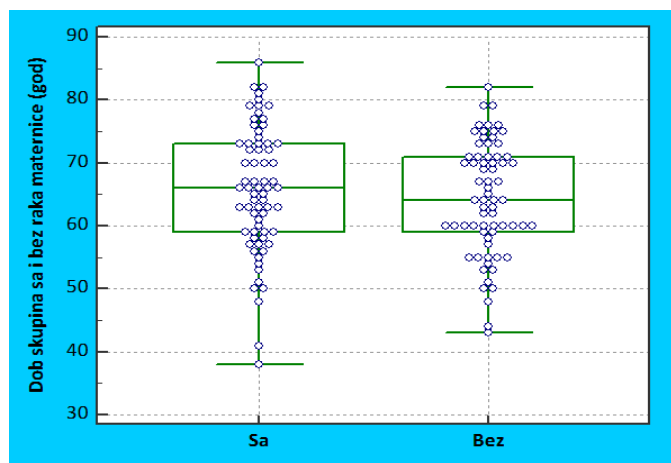
Osobine	Razdoblje do povratka bolesti P	Ukupno preživljenje P
Dob ≤ 60 years > 60 years	0.836	0.4
Histološki tip Endometrioidni Serozni/papilarni	0.002	< 0.001
Veličina tumora < 30 mm ≥ 30 mm	0.556	0.293
Histološki gradus Gradus I Gradus II Gradus III	0.003	0.008
Dubina prodora u miometriju <50% ≥50%	0.007	0.015
Cervikalni prodor Odsutan Prisutan	0.023	0.116
Limfovaskularni prodor Odsutan Prisutan	< 0.001	0.004
Limfni čvorovi (n=34) Negativan Pozitivan	0.106	0.258
FIGO klinički stadij I/II III/IV	< 0.001	0.041

Za razdoblje do povratka bolesti i ukupno preživljenje (tablica 5.4) statistički su znakoviti: histološki tip, histološki gradus, dubina prodora u miometriju, limfovaskularni prodor – FIGO klasifikacija, dok je cervikalni prodor važan samo za razdoblje do povratka bolesti.

Tablica 5.5: Univarijantna analiza utjecaja izraženosti hormonskih receptora u stanicama tumora i okolnog miometrija na povrat bolesti i ukupno preživljenje bolesnica s karcinomom endometrija (Log rank test) (statistički znakovit odnos označen je crveno)

Izraženost receptora	Razdoblje do povratka bolesti P	Ukupno preživljenje P
ER u tumoru positive negative	0.013	0.011
ER u miometriju positive negative	0.160	0.064
PR u tumoru positive negative	0.043	0.066
PR u miometriju positive negative	0.216	0.347

Za razdoblje do povratka bolesti statistički znakoviti su ER i PR u tumoru (EC), a za ukupno preživljenje samo ER u tumoru (EC).



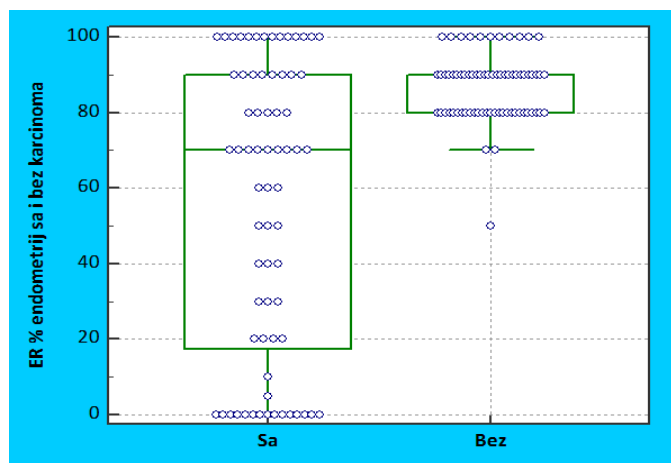
Slika 5.1: Usporedba dobi žena s endometrijskim karcinomom (EC) i kontrolne skupine - žene bez EC operirane zbog drugih razloga (ER i PR u tkivu uterusa bez EC)

Raspodjela 69 žena s karcinomom endometrija po dobi (slika 5.1)

Početna i krajnja vodoravna zelena linija predstavljaju najmanju (38 god.) i najveću vrijednost (86 god.). Srednja linija zelenog pravokutnika predstavlja medijan ($M = 66$ god.). Donja linija zelenog pravokutnika je prva kvartila ($Q1 = 59$ god.), a gornja treća kvartila ($Q3 = 73$ god.). Prosječna dob $\bar{x} = 65,7 \pm 10$ godina, malo je viša od M ($skewness = -0,333$; $P = 0,237$). Raspodjela je lagano spljoštena ($kurtosis = -0,011$; $P = 0,853$). Test za normalnu distribuciju D'Agostino-Pearson prihvaća normalnost raspodjele ($P = 0,488$).

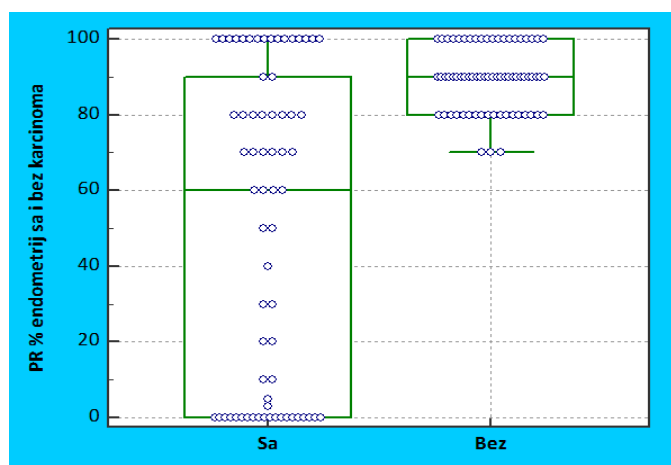
Raspodjela 69 žena kontrolne skupine bez raka maternice po dobi

Početna i krajnja vodoravna zelena linija predstavljaju najmanju (43 god.) i najveću vrijednost (82 god.). Srednja linija zelenog pravokutnika predstavlja medijan ($M = 64$ god.). Donja linija zelenog pravokutnika je prva kvartila ($Q1 = 59$ god.), a gornja treća ($Q3 = 71$ god.). Prosječna dob $\bar{x} = 64,35 \pm 8,89$ godina, malo je niže od M ($skewness = -0,276$; $P = 0,326$). Raspodjela je lagano spljoštena ($kurtosis = -0,551$; $P = 0,266$). Test za normalnu distribuciju D'Agostino-Pearson prihvaća normalnost raspodjele ($P = 0,332$). Među skupinama nema statistički znakovite razlike u dobi (t-test nezavisnih uzoraka = $-0,836$; $DF = 136$; $P = 0,404$).



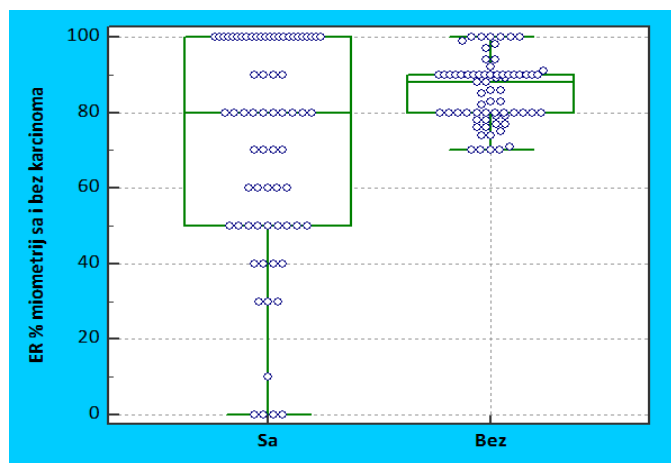
Slika 5.2: Usporedba izraženosti estrogenskih receptora u endometriju s i bez EC (kontrolna skupina)

Žene s endometrijskim karcinomom imaju prosječno manju izraženost ER ($x = 54,85 \pm 38,5\%$) nego žene bez endometrijskog karcinoma ($x = 86,52 \pm 8,88\%$). Među skupinama postoji statistički znakovita razlika izraženosti ER u endometriju; t-test nezavisnih uzoraka 6,657; DF = 75,2; $P < 0,0001$).



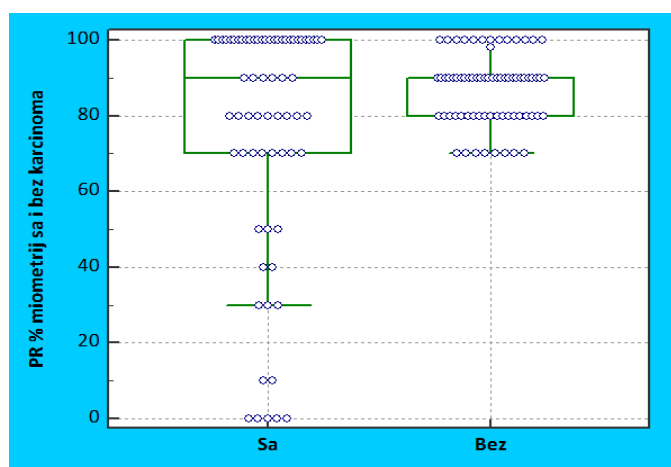
Slika 5.3: Usporedba izraženosti progesteronskih receptora u endometriju s i bez EC (kontrolna skupina)

Žene s endometrijskim karcinomom imaju prosječno manju izraženost PR ($x = 49,97 \pm 41,44\%$) nego žene bez endometrijskog karcinoma ($x = 87,36 \pm 8,55\%$). Među skupinama postoji statistički znakovita razlika izraženosti PR u endometriju (t-test nezavisnih uzoraka 7,636; DF = 71,5; $P < 0,0001$).



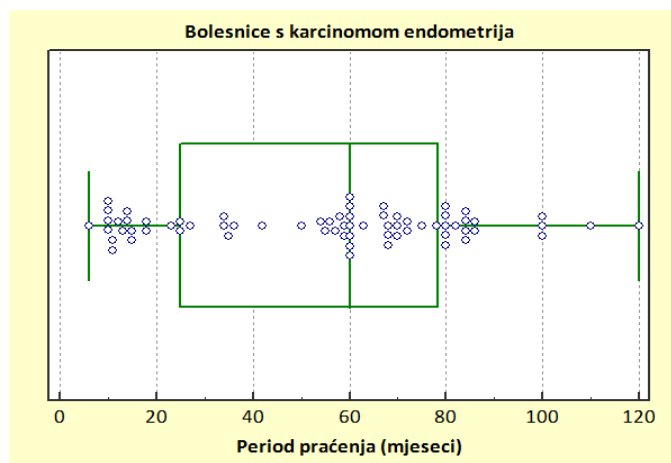
Slika 5.4: Usporedba izraženosti estrogenskih receptora u okolnom miometriju s i bez EC (kontrolna skupina)

Žene s endometrijskim karcinomom imaju prosječno manju izraženost ER u miometriju ($x = 71,32 \pm 29,87\%$) nego žene bez endometrijskog karcinoma ($x = 85,48 \pm 8,41\%$). Među skupinama postoji statistički znakovita razlika izraženosti estrogenskih receptora u okolnom miometriju (t-test nezavisnih uzoraka 7,763; DF = 77,4; $P < 0,0003$).



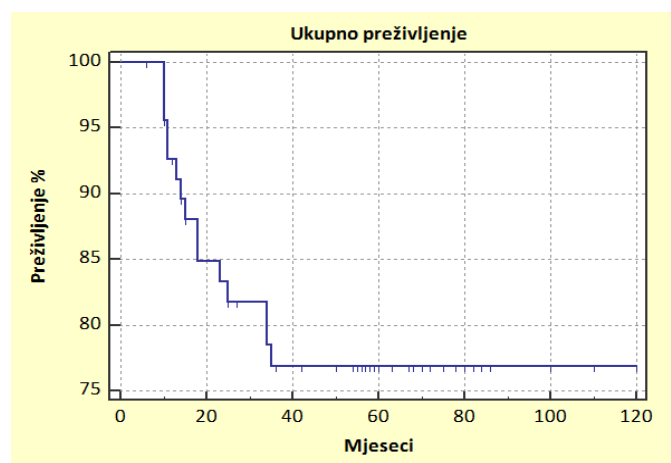
Slika 5.5: Usporedba izraženosti progesteronskih receptora u okolnom miometriju pacijentica s i bez EC (kontrolna skupina)

Žene s endometrijskim karcinomom imaju prosječno manju izraženost PR u miometriju ($x = 75,15 \pm 31,92\%$) nego žene bez endometrijskog karcinoma ($x = 86,93 \pm 9,25\%$). Među skupinama postoji statistički znakovita razlika izraženosti PR u okolnom miometriju (t-test nezavisnih uzoraka 2,88; DF = 75,4; $P < 0,0051$).



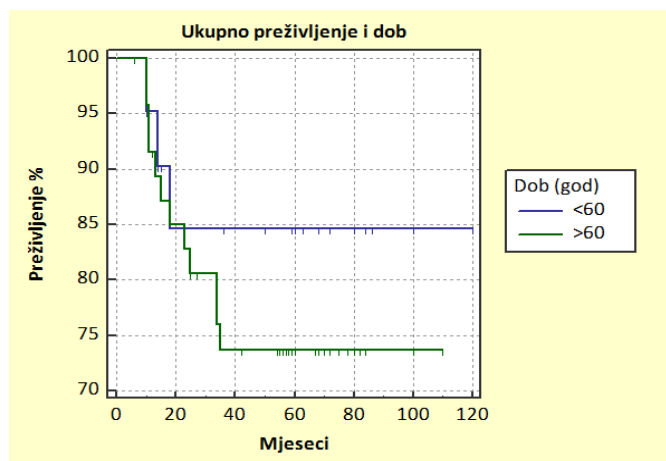
Slika 5.6: Raspodjela perioda praćenja bolesnica s karcinomom endometrija

Obrađeno je 69 vremenskih točaka. Početna i kranjnja okomita zelena linija predstavljaju najmanju (6 mjeseci) i najveću vrijednost (120 mjeseci). Srednja linija zelenog pravokutnika predstavlja medijan ($M = 60$ mjeseci). Lijeva linija zelenog pravokutnika je prva kvartila ($Q1 = 25$ mjeseci), a desna treća kvartila ($Q3 = 78,5$ mjeseci). Prosječno vrijeme $x = 54,55 \pm 29,32$ mjeseci, lijevo je od M ($skewness = -0,131$; $P = 0,637$). Raspodjela je statistički znakovito spljoštena ($kurtosis = -0,928$; $P = 0,009$). Test za normalnu distribuciju D'Agostino-Pearson ne prihvaća normalnost raspodjele ($P = 0,031$).



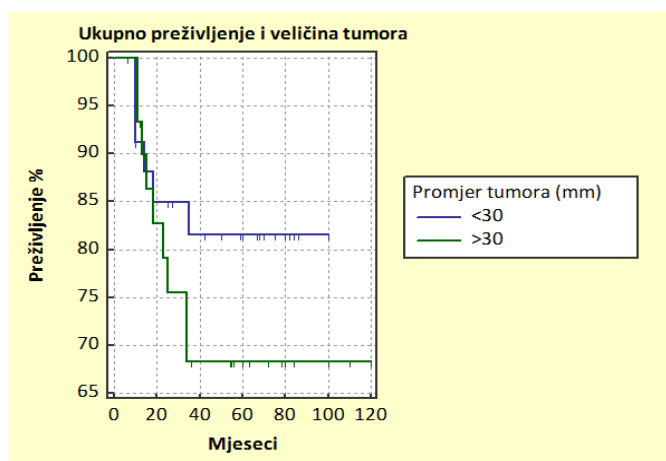
Slika 5.7: Kaplan-Meierova analiza ukupnog preživljenje bolesnica s karcinomom endometrija

Vjerojatnost ukupnog preživljenja u vremenu od 60 mjeseci (5 god.) je 76,8%.



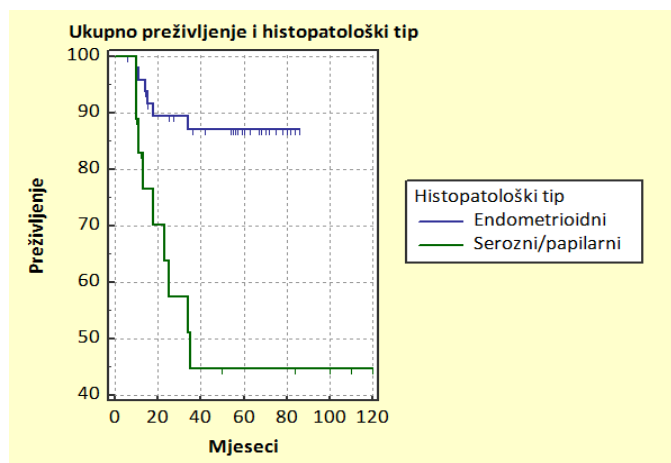
Slika 5.8: Kaplan-Meierova analiza ukupnog preživljenja i dobi kod bolesnica s endometrijskim karcinomom

Bolesnice (N = 69) su podijeljene u skupine do 60 (N = 21) i iznad 60 godina starosti (N = 48). Vjerojatnost preživljenja u vremenu od 60 mjeseci (5 god.) prve skupine je 84,6%, a druge 73,7%. Razlika među krivuljama statistički nije znakovita (Log rank test: $\chi^2 = 0,712$; DF = 1; P = 0,399). Skupina bolesnica >60 god. ima 1,7 puta manju vjerojatnost preživljenja od skupina <60 godina (omjer ugroženosti, *Hazard ratio*, HR = 1,707); 95% CI = 0,565 do 5,155).



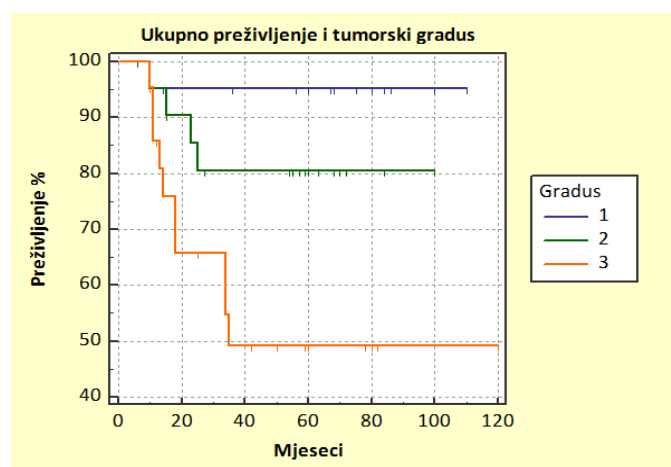
Slika 5.9: Kaplan-Meierova analiza ukupnog preživljenja i veličine tumora kod bolesnica s endometrijskim karcinomom

Vjerojatnost preživljenja u vremenu od 60 mjeseci (5 god.) skupine s tumorom <30 mm je 81,6%, a s tumorom >30 mm je 68,3%. Razlika među krivuljama statistički nije znakovita (Log rank test: $\chi^2 = 1,058$; DF = 1; P = 0,293). Skupina bolesnica s tumorom <30 mm ima 1,7 puta veću vjerojatnost preživljenja od skupine >30 mm (omjer ugroženosti HR = 1,721; 95% CI = 0,624 do 4,748).



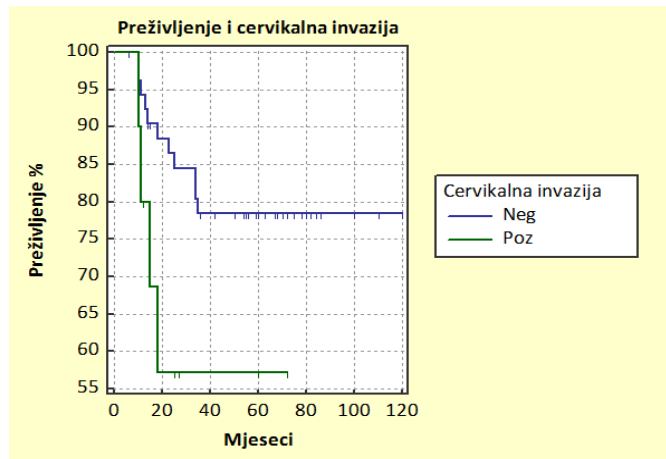
Slika 5.10: Kaplan-Meierova analiza ukupnog preživljenja i histološki tip kod bolesnica s endometrijskim karcinomom

Vjerojatnost preživljenja u vremenu od 60 mjeseci (5 god.) skupine s endometrioidnim tipom-Tip I je 87,1%, a sa seroznim/papilarnim-Tip II je 44,1%. Razlika među krivuljama statistički je znakovita (Log rank test: $\chi^2 = 12,556$; DF = 1; P = 0,0004). Skupina bolesnica s endometrioidnim tipom ima 5,23 puta veću vjerojatnost preživljenja od skupine sa seroznim/papilarnim tipom (omjer ugroženosti HR = 5,23; 95% CI = 1,55 do 17,63).



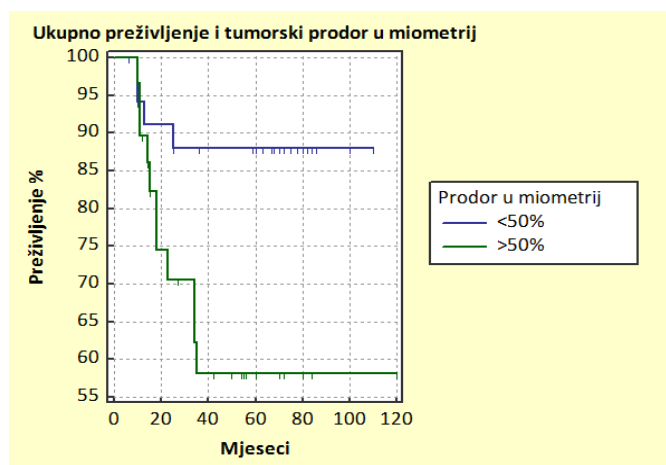
Slika 5.11: Kaplan-Meierova analiza ukupnog preživljenja i tumorskog gradusa kod bolesnica s endometrijskim karcinomom

Vjerojatnost preživljenja u vremenu od 60 mjeseci (5 god.) iznosi: G1 = 95,2 %; G2 = 80,4 %; G3 = 49,3%. Razlika među krivuljama ukupnog preživljenja statistički je znakovita (Log rank test: $\chi^2 = 11,22$; DF = 2; P = 0,0037). Skupina bolesnica G2 ima 4,27 puta manju vjerojatnost preživljenja od G1 (omjer ugroženosti HR = 4,27; 95% CI = 1,28 do 14,25), a G3 ima 12,4 od G1 (omjer ugroženosti HR = 12,40; 95% CI = 3,54 do 43,45) i 2,9 od G2 (omjer ugroženosti HR = 2,9; 95% CI = 0,81 do 10,37).



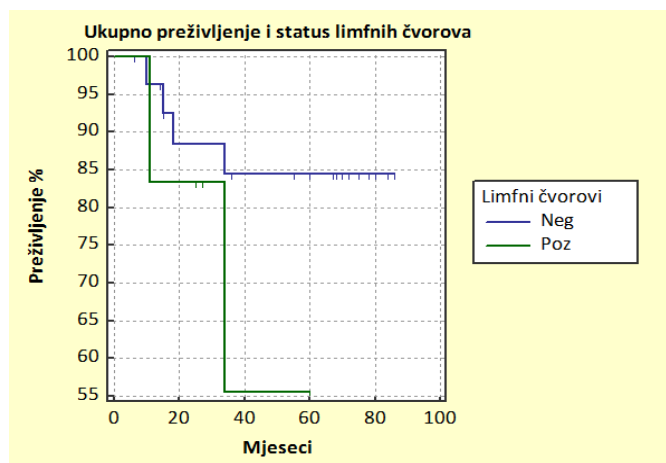
Slika 5.12: Kaplan-Meierova analiza ukupnog preživljenja u bolesnica s cervikalnom invazijom

Vjerojatnost preživljenja u vremenu od 60 mjeseci (5 god.) skupine s negativnom cervikalnom invazijom je 78,4%, a s pozitivnom 57,1%. Razlika među krivuljama ukupnog preživljenja statistički nije znakovita (Log rank test: $\chi^2 = 3,09$; DF = 1; P = 0,08). Skupina bolesnica s pozitivnom cervikalnom invazijom ima 2,65 puta manju vjerojatnost preživljenja od prve skupine (omjer ugroženosti HR = 2,65; 95 % CI = 0,56 do 12,53).



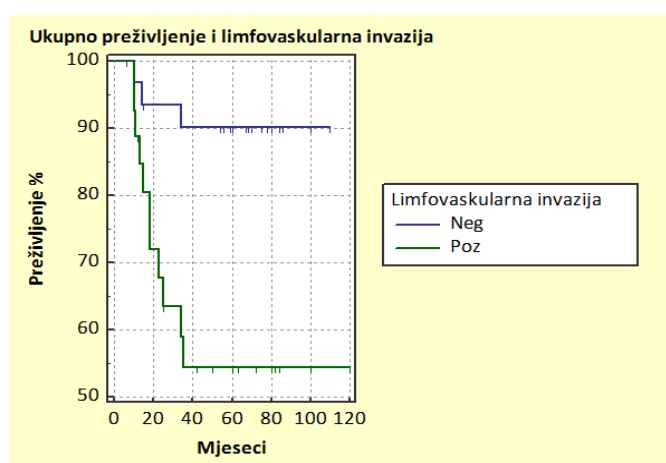
Slika 5.13: Kaplan-Meierova analiza ukupnog preživljenja kod bolesnica s endometrijskim karcinomom i tumorski prodor u miometriju

Vjerojatnost preživljenja u vremenu od 60 mjeseci (5 god.) skupine s prodorom <50% je 88 %, a kod skupine >50% je 58,1%. Razlika među krivuljama ukupnog preživljenja statistički je znakovita (Log rank test: $\chi^2 = 6,02$; DF = 1; P = 0,0142). Skupina bolesnica s prodorom >50% ima 3,74 puta manju vjerojatnost preživljenja od skupine s <50% prodora (omjer ugroženosti HR = 3,74; 95 % CI = 12,34 do 10,42).



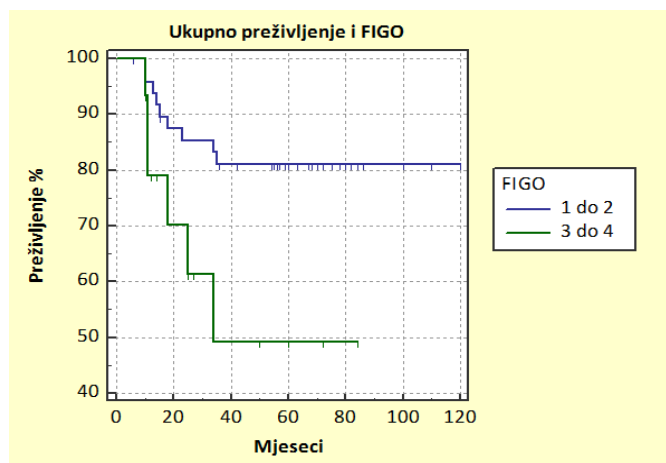
Slika 5.14: Kaplan-Meierova analiza ukupnog preživljenja kod bolesnica s endometrijskim karcinomom i status limfnih čvorova

Vjerojatnost preživljenja u vremenu od 60 mjeseci (5 god.) skupine s negativnim limfnim čvorovima je 84,4%, a s pozitivnim je 55,6%. Razlika među krivuljama ukupnog preživljenja nije statistički znakovita (Log rank test: $\chi^2 = 1,385$; DF = 1; P = 0,2392). Skupina bolesnica s pozitivnim limfnim čvorovima ima 2,64 puta manju vjerojatnost preživljenja od skupine s negativnim (omjer ugroženosti HR = 2,64; 95 % CI = 0,296 do 23,57).



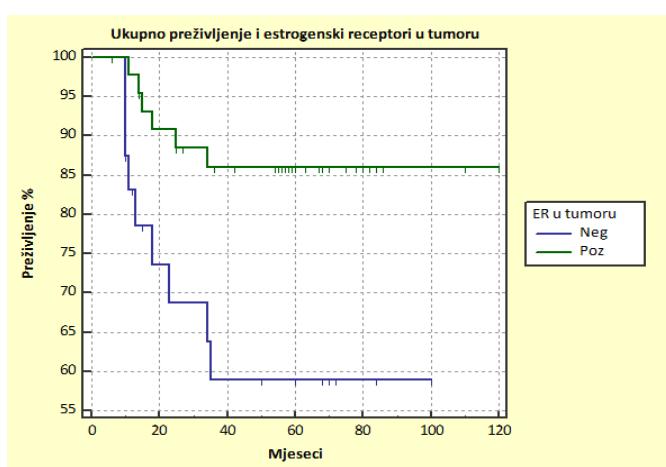
Slika 5.15: Kaplan-Meierova analiza ukupnog preživljenja kod bolesnica s endometrijskim karcinomom i limfovaskularna invazija

Vjerojatnost preživljenja u vremenu od 60 mjeseci (5 god.) skupine s negativnom limfovaskularnom invazijom je 90,2%, a s pozitivnom je 54,5%. Razlika među krivuljama ukupnog preživljenja statistički je znakovita (Log rank test: $\chi^2 = 8,791$; DF = 1; P = 0,003). Skupina bolesnica s pozitivnom limfovaskularnom invazijom ima 5,46 puta manju vjerojatnost preživljenja od negativne (omjer ugroženosti HR = 5,46; 95 % CI = 1,875 do 15,888).



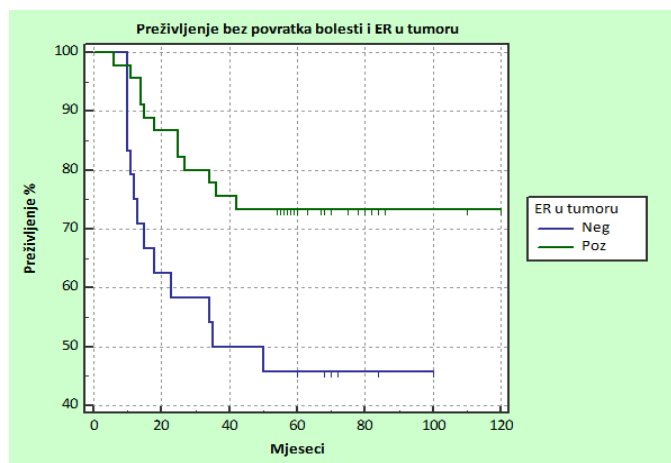
Slika 5.16: Kaplan-Meierova analiza ukupnog preživljenja u bolesnica s endometrijskim karcinomom i FIGO

Vjerojatnost preživljenja u vremenu od 60 mjeseci (5 god.) skupine FIGO 1 do 2 je 81,1%, a FIGO 3 do 4 je 49,1%. Razlika među krivuljama ukupnog preživljenja statistički je znakovita (Log rank test: $\chi^2 = 5,144$; DF = 1; P = 0,023). Skupina bolesnica s FIGO 1 do 2 ima 3,06 puta veću vjerojatnost preživljenja od FIGO 3 do 4 (omjer ugroženosti HR = 3,06; 95% CI = 0,817 do 11,46).



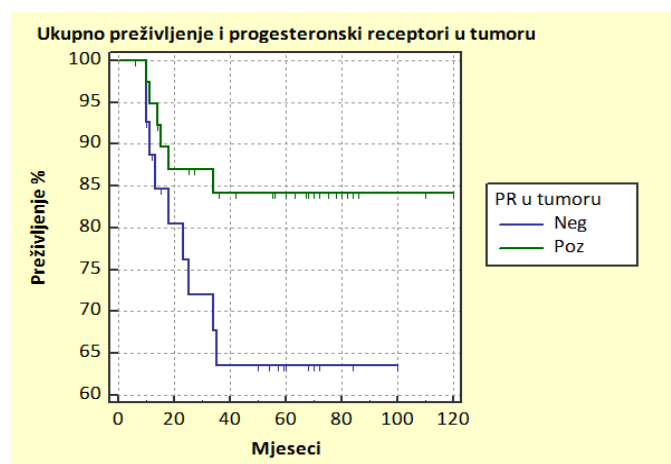
Slika 5.17: Kaplan-Meierova analiza ukupnog preživljenja kod bolesnica s endometrijskim karcinomom i estrogenski receptori u tumoru

Vjerojatnost preživljenja u vremenu od 60 mjeseci (5 god.) skupine s negativnim ER u tumoru je 58,9%, a s pozitivnim 86%. Razlika među krivuljama ukupnog preživljenja statistički je znakovita (Log rank test: $\chi^2 = 6,55$; DF = 1; P = 0,0105). Skupina bolesnica s negativnim ER ima 3,5 puta manju vjerojatnost preživljenja od pozitivne (omjer ugroženosti HR = 3,5; 95 % CI = 1,16 do 10,562).



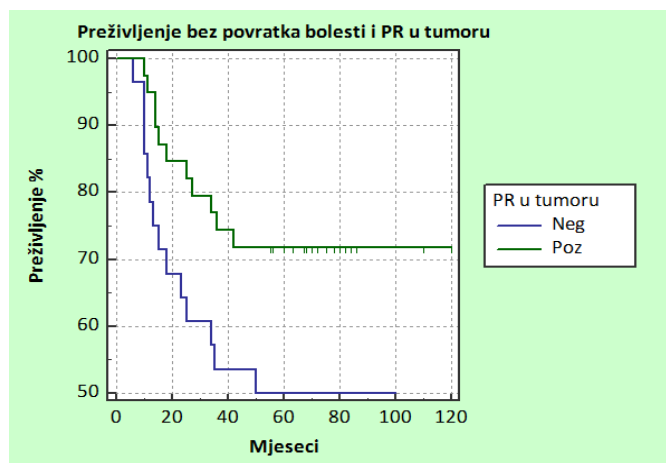
Slika 5.18: Kaplan-Meierova analiza preživljenja kod bolesnica s endometrijskim karcinomom bez povratka bolesti i estrogenski receptori u tumoru

Vjerojatnost preživljenja u vremenu od 60 mjeseci (5 god.) skupine s negativnim ER u tumoru je 45,8%, a s pozitivnim 73,3%. Razlika među krivuljama statistički je znakovita (Log rank test: $\chi^2 = 5,136$; DF = 1; P = 0,0132). Skupina bolesnica s negativnim ER ima 2,57 puta manju vjerojatnost preživljenja bez povratka bolesti od one s pozitivnim ER (omjer ugroženosti HR = 2,57; 95 % CI = 1,091 do 6,075).



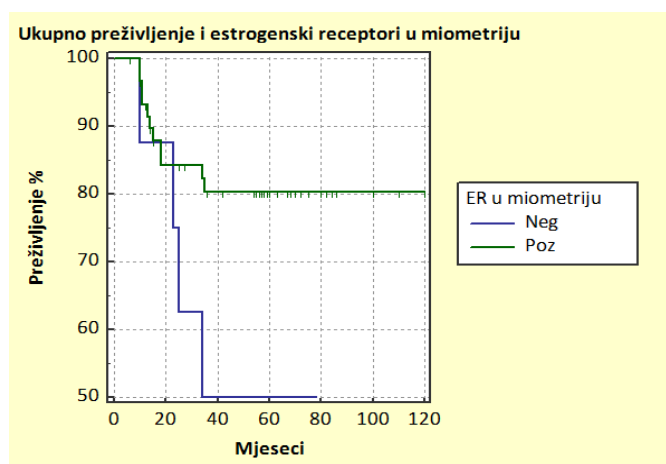
Slika 5.19: Kaplan-Meierova analiza ukupnog preživljenja kod bolesnica s endometrijskim karcinomom i progesteronski receptori u tumoru

Vjerojatnost preživljenja u vremenu od 60 mjeseci (5 god.) skupine s negativnim PR u tumoru je 63,5%, a s pozitivnim 84,2%. Razlika među krivuljama ukupnog preživljenja statistički nije znakovita (Log rank test: $\chi^2 = 3,288$; DF = 1; P = 0,07). Skupina bolesnica s negativnim PR ima 2,5 puta manju vjerojatnost preživljenja od pozitivne (omjer ugroženosti HR = 2,5; 95 % CI = 0,877 do 7,107).



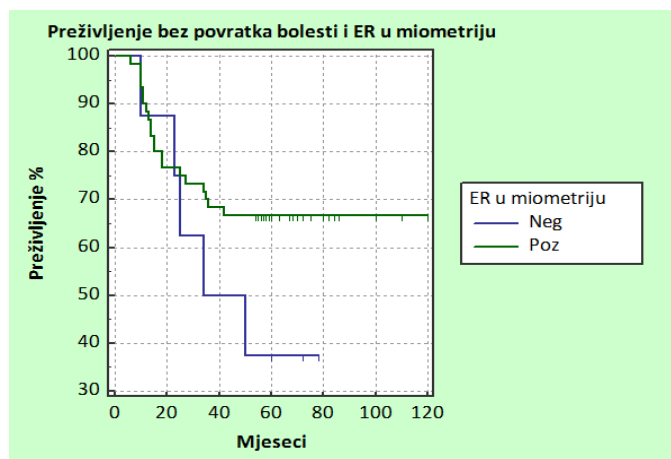
Slika 5.20: Kaplan-Meierova analiza preživljenja kod bolesnica s endometrijskim karcinomom bez povratka bolesti i progesteronski receptori u tumoru

Vjerojatnost preživljenja u vremenu od 60 mjeseci (5 god.) skupine s negativnim PR u tumoru je 50%, a s pozitivnim 71,8%. Razlika među krivuljama ukupnog preživljenja statistički je znakovita (Log rank test: $\chi^2 = 3,86$; DF = 1; P = 0,049). Skupina bolesnica s negativnim PR ima 2,15 puta manju vjerojatnost preživljenja bez povratka bolesti od one s pozitivnim PR (omjer ugroženosti HR = 2,15; 95 % CI = 0,96 do 4,84).



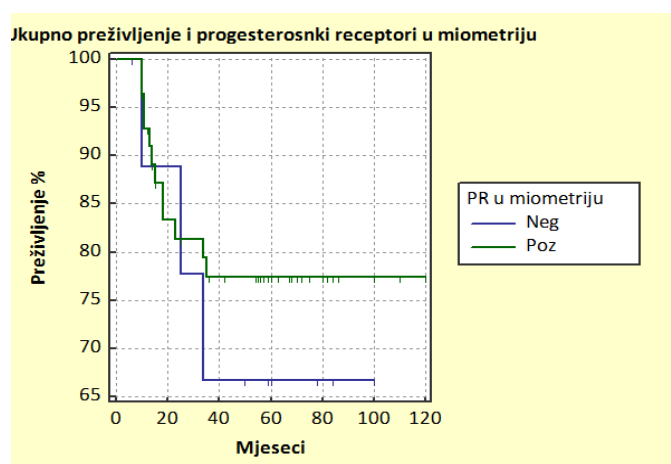
Slika 5.21: Kaplan-Meierova analiza ukupnog preživljenja kod bolesnica s endometrijskim karcinomom i estrogenski receptori u okolnom miometriju

Vjerojatnost preživljenja u vremenu od 60 mjeseci (5 god.) skupine s negativnim ER u okolnom miometriju je 50%, a s pozitivnim 80,4%. Razlika među krivuljama ukupnog preživljenja statistički nije znakovita (Log rank test: $\chi^2 = 3,42$; DF = 1; P = 0,064). Skupina bolesnica s negativnim ER ima 2,79 puta manju vjerojatnost preživljenja od pozitivne (omjer ugroženosti HR = 2,79; 95% CI = 0,56 do 13,6).



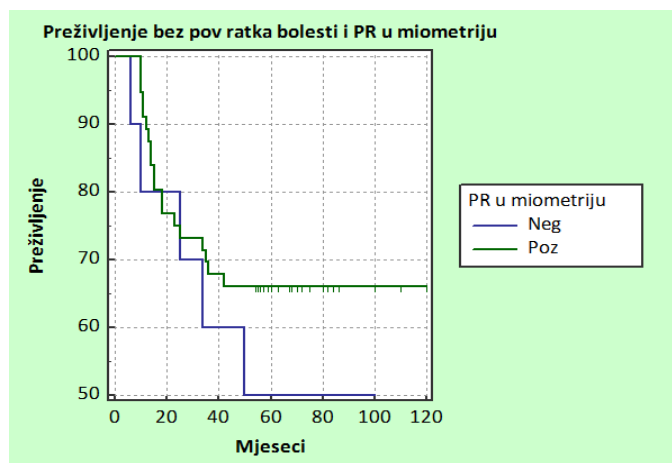
Slika 5.22: Kaplan-Meierova analiza preživljenja kod bolesnica s endometrijskim karcinomom bez povratka bolesti i estrogeni receptori u okolnom miometriju

Vjerojatnost preživljenja u vremenu od 60 mjeseci (5 god.) skupine s negativnim ER u okolnom miometriju je 37,5%, a s pozitivnim 66,7%. Razlika među krivuljama ukupnog preživljenja statistički nije znakovita (Log rank test: $\chi^2 = 1,97$; DF = 1; P = 0,160). Skupina bolesnica s negativnim ER ima 1,98 puta manju vjerojatnost preživljenja bez povratka bolesti od one s pozitivnim ER (omjer ugroženosti HR = 1,98; 95 % CI = 0,57 do 6,85).



Slika 5.23: Kaplan-Meierova analiza ukupnog preživljenja kod bolesnica s endometrijskim karcinomom i progesteronski receptori u okolnom miometriju

Vjerojatnost preživljenja u vremenu od 60 mjeseci (5 god.) skupine s negativnim PR u okolnom miometriju je 66,7%, a s pozitivnim 77,4%. Razlika među krivuljama ukupnog preživljenja statistički nije znakovita (Log rank test: $\chi^2 = 0,406$; DF = 1; P = 0,524). Skupina bolesnica s negativnim PR ima 1,5 puta manju vjerojatnost preživljenja od skupine s pozitivnim (omjer ugroženosti HR = 1,5; 95 % CI = 0,353 do 6,373).



Slika 5.24: Kaplan-Meierova analiza preživljenja kod bolesnica s endometrijskim karcinomom bez povratka bolesti i progesteronski receptori u okolnom miometriju

Vjerojatnost preživljenja u vremenu od 60 mjeseci (5 god.) skupine s negativnim PR u okolnom miometriju je 50%, a s pozitivnim 66,1%. Razlika među krivuljama ukupnog preživljenja statistički nije znakovita (Log rank test: $\chi^2 = 0,863$; DF = 1; P = 0,353). Skupina bolesnica s negativnim PR ima 1,88 puta manju vjerojatnost preživljenja bez povratka bolesti od one s pozitivnim PR (omjer ugroženosti HR = 1,88; 95 % CI = 0,5 do 4,97).

6. RASPRAVA

Jedna od karakteristika endometrijskog karcinoma je određena izraženost estrogenskih i progesteronskih receptora. Povezani su kvantitativno s histološkom diferencijacijom (48, 49), odgovorom na terapiju i metastatskim potencijalom (33). Izraženost ER smanjuje se s odmakom EC stupnjevanja (35 - 38). Gubitak ER sugerira podmaklu molekularnu patologiju tumora s deregulacijom signalnih putova. Takve epigenetske alteracije pojavljuju se u velikom broju različitih tumora (8, 40 - 44, 51, 52), uključujući i EC (36, 45). Endometrijski karcinom karakteriziran je kao bolest žena u postmenopauzi. Nasuprot tome, dob bolesnice kao neovisni prognostički faktor u karcinomu endometrija je dvojben. Postoje studije koje potvrđuju ovu tvrdnju, kao i one koje je opovrgavaju.

Studija koja je uključivala podatke 51 471 bolesnica s EC, pokazala je da žene od 40 godina i mlađe imaju bolju prognozu preživljenja od žena starijih od 40 godina, neovisno o drugim kliničkim i patološkim prognostičkim čimbenicima (80, 82, 114). U drugoj studiji analiziran je utjecaj dobi na ishod bolesti i nije nađena statistički znakovita razlika među mlađom i starijom skupinom ispitanica (114).

U našem radu nije nađena statistički znakovita razlika između bolesnica s EC starijih od 60 godina u odnosu na mlađe, iako skupina starijih od 60 godina ima 1,7 puta manju vjerojatnost petogodišnjeg preživljenja od mlađih. Norveška studija koja je pratila preko milijun žena, nakon 25 godina nije otkrila nikakvu razliku u dobi kod dijagnoze raka tipa I i tipa II (srednja dob 65 godina) (19). Medijan dobi bolesnica u našem istraživanju bio je 66 godina. U ranoj fazi endometrioidnog karcinoma pronađeno je 73,9% pacijentica, što je slično podacima iz drugih studija (116).

Operacija je zlatni standard liječenja EC (20, 21). Daljnja terapija definirana je histološkim tumorskim gradusom, vrstom, pripadnoj tumorskoj skupini kao i kirurškim stadijima prema klasifikaciji FIGO. Prema literaturi, ova tri čimbenika značajno su povezana s preživljavanjem bolesnica s EC, što je u skladu s našim rezultatima prikazanim u slici 7. (41, 42, 45, 73, 82).

Ukupno petogodišnje preživljenje ispitanica u našem istraživanju bilo je 76,8%, a kod skupine bez recidiva bolesti 63,8 %. Iako je 78,3% žena u našoj studiji imalo bolest ograničenu na

maternicu, s kirurškim stadijima, FIGO I i II, progresija bolesti ili smrtni ishod uglavnom su se pojavili unutar 24 mjeseca nakon prve dijagnoze.

Općenito, stopa petogodišnjeg preživljenja za kiruršku fazu, FIGO I bolesti je 80 do 90%, za stadij II je 70 do 80%, a za stadije III i IV 20 do 60% (22). Oko 20% bolesnica s EC ima lošu prognozu i rano otkrivanje snažnih prediktora ključno je za brzu i djelotvornu terapiju.

Bolesnice s EC u našem istraživanju imale su znakovito manju izraženost ER i PR u endometriju i okolnom miometriju u odnosu na kontrolnu, zdravu skupinu. Većina studija govori o korelaciji negativnog statusa ER i PR s lošim prognostičkim čimbenicima kao što su LVI, histološki tip, stupanj zrelosti tkiva tumora i njegova veličina te dubina invazije u miometriju (112, 113). U našoj studiji izraženost ER u EC utvrđena je kod 65,2% ispitanica, a izraženost PR kod 59,4%. Također, gubitak ekspresije ER u EC korelira s prognostički lošijim tipom tumora, slabijom diferencijacijom i pozitivnim LVI, dok negativni status PR korelira s dobi, prognostički lošijim tipom tumora (tip II), slabom diferencijacijom, pozitivnim LVI i višom kliničkom fazom bolesti. Naša studija govori da je neizraženost oba receptora u tumorskom tkivu povezana s najgorom prognozom.

Jedini statistički značajan parametar, kad govorimo o miometriju pacijentica s EC, je povezanost odsutnosti ER u okolnom miometriju i limfovaskularnog prodora. Kod limfovaskularnog prodora ER i PR u tumoru su također u statistički značajnom odnosu. Bolesnice s negativnim ER u tkivu EC imale su srednji vremenski period do recidiva od 19,3 mjeseci u usporedbi s 22,3 mjeseca kod bolesnica s pozitivnim ER u tkivu EC. Također, utvrdili smo da je prosječna ekspresija ER u pacijentica s EC koje su umrle iznosila 30,6%.

Ovo istraživanje potvrdilo je da gubitak PR u stanicama raka ima značajan utjecaj na period bez recidiva bolesti i marginalni utjecaj na preživljenje bolesnica. ER u tumoru je najosjetljiviji parametar u ovoj studiji za prognozu recidiva bolesti i ukupnog preživljenja.

ER i PR u okolom miometriju nemaju nikakav značaj za razdoblje do povratka bolesti ili za ukupno preživljenje (tablica 5.5).

U postojećim podacima postoje neslaganja. Neke studije se slažu s našim nalazima, ali Siviridis i sur. nije pronašao povezanost između ekspresije ER i razdoblja do recidiva ili ukupnog preživljenja (117). Malo drugih studija, uključujući Srijaipracharoen i sur., nije moglo dokazati povezanost pozitivne ER i PR ekspresije s recidivom bolesti, odnosno

preživljenjem (113). U istraživanju Hudgens i Mertens, PR je pronađen kao neovisni prediktor ponovnog pojavljivanja bolesti (121).

Nekoliko retrospektivnih studija procijenilo je status receptora kao značajan prediktor preživljavanja kod EC (122, 123). Trovik i sur. bili su u mogućnosti predefinirati bolesnike s niskim rizikom, s pozitivnim limfnim čvorovima, primjenom kombinacije prijeoperacijske histologije i ER/PR statusa kod kiretaže (124).

Literatura izvještava da tip I EC pokazuje izraženost oba receptora u 92% slučajeva, uz smanjenje izraženosti oba receptora u višem gradusu EC, što je samo po sebi razumljivo jer je tumor nezreliji. Serozni karcinomi (tip 2 karcinoma) sadrži ER u 31% slučajeva i PR u 12%, dok karcinomi svijetlih stanica obično ne pokazuju izraženost hormonskih receptora (125, 126).

U našim rezultatima, kao što je većina istraživača izvijestila, većina negativnih ER/PR u tkivu EC bili su karcinomi endometrija tipa II. Iako su naši rezultati pokazali da su negativni statusi ER i PR u tkivu EC prediktori slabog preživljenja, ne možemo ih smatrati neovisnim prediktorima, osim histološkog tipa.

Utjecaj miometrija, odnosno okolnog tkiva, na razvoj raka endometrija još nije istražen. Neka istraživanja o miometrijskim obilježjima učinjena su na životinjskim modelima (126). U našoj studiji miometrijske stanice su pokazale izraženost ER u 88,4% ispitanica i PR u 84,1% ispitanica. Gubitak ER izraženosti u okolnom miometriju pacijentica s EC korelira s prisutnošću LVI. Univarijantna analiza pokazala je da je niži ER status u miometriju marginalni prediktor slabije prognoze ($P = 0,064$). Pacijentice s ER negativnim miometrijem imale su najveću incidenciju ponovnog pojavljivanja tumora (62,5%) kao i smrtnog ishoda (50%). Isti rezultati zabilježeni su kod miometrijskih PR negativnih bolesnica.

Također, u ER/PR dvostruko negativnoj miometrijskoj varijanti, recidiv bolesti dogodio se u najkraćem vremenu nakon operacije (18,8 mjeseci). Još uvijek nije jasno ima li izraženost PR u miometriju zaštitnu ulogu u širenju raka ili je gubitak receptora u miometriju preduvjet za invazivnost raka. Poznato je da progesteron potiče diferencijaciju epitelnih i stromalnih stanica (127). Također, kod žena tretiranih progestagenima zapaženo je pozitivno djelovanje suprotno histološkim promjenama povezanim s karcinomom endometrija. Primijećeno je

smanjenje mitotičke aktivnosti, gubitak citološke atipije, smanjenje omjera žlijezda prema stromi (128). Prema nekim autorima, promjene ER/PR statusa u stromi EC i okolnog miometrija mogu biti alternativni pokazatelj progestinske osjetljivosti ili progresije tumora, što pomaže kliničarima kod odluke o terapiji.

U prijeoperacijskim biopsijama, histopatološka klasifikacija i status receptora poboljšavaju identifikaciju pacijentica s niskim i visokim rizikom (129). Status ER i PR još se uvijek ne koristi rutinski za definiranje tretmana EC, iako je nekoliko studija pokazalo snažnu povezanost između statusa hormonskog receptora i kliničkog fenotipa karcinoma endometrija (112, 122, 129). Hormonska terapija ima izvjesnu ulogu u uznapredovalim ili rekurentnim bolestima. Stupanj diferencijacije tumora, koji je povezan sa statusom hormonskih receptora, povezan je s odgovorom EC na hormonsku terapiju (129). Ipak, s kliničkog gledišta, procjena statusa hormonskih receptora bila bi uvjetno korisna u odabiru opcija liječenja i predviđanja tijeka bolesti. Samo ER i PR u endometrijskom karcinomu mogli bi imati praktičnu primjenu.

Bolesnice s endometrijskim karcinomom i negativnim izražajem hormonskih receptora imale su kraće vrijeme do recidiva bolesti u usporedbi s pacijenticama kod kojih su izraženi hormonski receptori u tkivu EC. Niži ER i PR statusi u stanicama EC pokazali su utjecaj na preživljenje bolesnica.

Unatoč eksploziji radova s ovog područja, praktički nijedan prognostički čimbenik iz ovog područja, uz iznimku ER i PR, nije ušao u praktičnu uporabu. Zbog toga pojedini autori ovakve radove opisuju, pomalo cinično, a pomalo rezignirano, kao statistički signifikantne, a klinički potpuno irelevantne. Status ER u stanicama EC utječe na period bez povrataka bolesti i ukupno preživljenje. Status ER i PR u miometriju nema utjecaja na promatrane parametre perioda bez recidiva kao i na ukupno preživljenje bolesnica.

Ipak se može reći da klasifikacija i status estrogenskih i progesteronskih receptora poboljšavaju identifikaciju pacijentica s niskim i visokim rizikom. Status ER u stanicama raka nezavisni je prognostički čimbenik kod bolesnica s endometrijskim karcinomom. Zaključujemo da se status ER i PR u okolnom miometriju pacijentica s EC ne može okarakterizirati kao prognostički čimbenik kod bolesnica s endometrijskim karcinomom.

7. ZAKLJUČCI

1. ER i PR u tumoru su manje izraženi (65,2/59,4%), nego u okolnom miometriju pacijentica s endometrijskim karcinomom (88,4/84,1%).
2. U okolnom tumorskom miometriju pacijentica s endometrijskim karcinomom samo ER statistički znakovito negativno koreliraju s limfovaskularnim prodorom ($P = 0,028$; $R = -0,291$), dok ostali parametri statistički znakovito ne koreliraju s ER i PR u okolnom miometriju.
3. Vjerojatnost preživljenja je veća kod bolesnica: mlađih od 60 godina, s tumorom manjim od 30 mm, s endometrioidnim histološkim tipom, manjim tumorskim gradusom, negativnim cervikalnim prodorom, prodorom u miometriju manjim od 50%, negativnim statusom limfnih čvorova, negativnom limfoinvazijom, FIGO 1 - 2 te pozitivnim ER i PR u tumoru i u okolnom miometriju.
4. Status ER i PR u miometriju pacijentica s EC nije stabilan prognostički čimbenik. Iako nije statistički značajna, postoji tendencija korelacije lošijeg preživljenja pacijentica sa slabije izraženim ER i PR u okolnom miometriju.

8. SAŽETAK

Cilj istraživanja: Istražiti prognostički značaj izraženosti estrogenskih i progesteronskih receptora u miometriju bolesnica s endometrijskim karcinomom. **Nacrt studije:** U periodu od 1. svibnja 2005. do 1. svibnja 2015. prikupljeni su podatci bolesnica s karcinomom endometrija koje su histerektomirane u Klinici za tumore KBC sestara milosrdnica u Zagrebu i bolesnica histerektomiranih zbog drugih razloga. Praćena je izraženost estrogenskih i progesteronskih receptora u tumoru i miometriju, dob ispitanica, veličina tumora, histološki tip, histološki gradus, cervikalni prodor, dubina prodora u miometriju, limfovaskularni prodor, zahvaćenost limfnih čvorova i FIGO klinički stadij. **Ispitanici i metode:** Skupina je brojala 69 bolesnica s endometrijskim karcinomom i 69 zdravih žena. Prosječna dob bolesnica bila je $65,7 \pm 10$, a zdravih $64,35 \pm 8,89$ godina. Ukupno vrijeme praćenja bilo je 120 mjeseci, a gledalo se petogodišnje preživljenje. Dobiveni podatci su obrađeni χ^2 testom, Fisherovim egzaktnim testom, multifaktorijalna analiza i Kaplan-Meierovim testom na razini statističke značajnosti $P < 0,05$. Prikazani su tabelarno i grafički. Period preživljenja bolesnica bez bolesti u odnosu na izraženost ER i PR u miometriju i endometrijskom karcinomu analiziran je Log rank testom. **Rezultati:** Žene s endometrijskim karcinomom imaju prosječno manju izraženost estrogenskih ER ($x = 54,85 \pm 38,5\%$) i progesteronskih receptora PR u tumoru endometrija ($x = 49,97 \pm 41,44\%$) nego žene bez endometrijskog karcinoma; ER i PR kontrolne (zdrave) skupine; ER ($x = 86,52 \pm 8,88\%$) i PR ($x = 87,36 \pm 8,55\%$) u endometriju. Žene s prodorom EC u miometriju imaju prosječno manju izraženost ER ($x = 71,32 \pm 29,87\%$) i PR u miometriju ($x = 75,15 \pm 31,92\%$) nego žene bez prodora EC u miometriju; ER ($x = 85,48 \pm 8,41\%$) i PR ($x = 86,93 \pm 9,25\%$) u miometriju. Vjerojatnost ukupnog petogodišnjeg preživljenja je 76,8%. Skupina bolesnica starijih od 60 ima vjerojatnost preživljenja 73,7%, mlađih od 60 godina 84,6%. Skupina bolesnica s tumorom < 30 mm ima vjerojatnost preživljenja 81,6%, a s tumorom > 30 mm 68,3%. Skupina bolesnica s Tipom I endometrijskog karcinoma ima vjerojatnost preživljenja 87,1%, a sa seroznim/papilarnim EC (Tip II) 44,1%. Vjerojatnost petogodišnjeg preživljenja za tumorski gradus je: G1 = 95,2%; G2 = 80,4%; G3 = 49,3%. Skupina bolesnica s cervikalnom invazijom ima 57,1% vjerojatnosti preživljenja, a bez 78,4%. Bolesnice s tumorskim prodorom u miometriju $< 50\%$ imaju vjerojatnost preživljenja 88%, a $> 50\%$ vjerojatnost je 58,1%. Vjerojatnost preživljenja s tumorski pozitivnim limfnim čvorovima je 55,6%, a s negativnim 84,4%. Preživljenje bolesnica bez limfovaskularnog prodora je 90,2%, a s prodorom je 54,5%. Skupina s FIGO 1 - 2 ima vjerojatnost preživljenja 81,1%, a FIGO 3 - 4 49,1%. Vjerojatnost preživljenja skupine s endometrijskim karcinomom

i negativnim ER u tumoru je 58,9%, pozitivnim ER 86%, negativnim PR 63,5%, a pozitivnim PR 84,2%. Preživljenje s negativnim ER u miometriju je 50%, a pozitivnim ER 80,4%, te negativnim PR 66,7%, a pozitivnim PR 77,4%. **Zaključak:** Status estrogenskih i progesteronskih receptora u miometriju bolesnica s endometrijskim karcinomom nije stabilan prognostički čimbenik.

Ključne riječi: endometrijski karcinom, estrogenski receptori, progesteronski receptori, miometrij, preživljenje.

9. SUMMARY

Prognostic significance of estrogen and progesterone receptors expression in myometrium of patients with endometrial cancer

Objectives: To conduct research on prognostic significance of estrogen and progesterone receptors expression in myometrium of patients with endometrial cancer. **Study Design:** Data was collected from patients from the Zagreb Cancer Clinic. The period covered was from 1st May 2005 to 1st May 2015. The following was considered: expression of estrogen and progesterone receptors in tumor and myometrium, age of examinees, tumor size, histological type, histological grade, cervical penetration, penetration depth in myometrium, lymphovascular space invasion, lymph node involvement, and FIGO stage. **Participants and Methods:** The group comprised of 69 patients with endometrial cancer and 69 healthy women. The mean age of the patients was 65.7 ± 10 and the mean age of the healthy examinees stood at 64.35 ± 8.89 years. The total monitoring period was 120 months and five year survival rate was considered. Data processing used was χ^2 test, Fisher's exact test, multi-factor analysis and log-rank test. The level of statistical significance was $p < 0.05$. **Results:** The women with endometrial cancer had on average a lower expression of estrogen ER ($x = 54.85 \pm 38.5\%$) and progesterone receptors PR in endometrial tumor ($x = 49.97 \pm 41.44\%$) than the women without endometrial cancer; ER ($x = 86.52 \pm 8.88\%$) and PR in endometrium ($x = 87.36 \pm 8.55\%$). The five-year survival rate was 76.8%. The survival rate for a group of patients over 60 years old stood at 73.7%, whilst for those under 60 years old it was 84.6%. The group of patients with a tumor < 30 mm had a survival rate of 81.6% and for those with a tumor > 30 mm it was 68.3%. A group of patients with endometrial cancer type I had a survival rate of 87.1%, while those with a serous / papillary type II EC had a survival rate of 44.1%. The rate of five-year survival for tumor grade was: G1 = 95.2%; G 2 = 80.4%; G3 = 49.3%. The group of patients with cervical invasion had 57.1% survival rate and those without it 78.4%. The patients with tumor penetration in myometrium $< 50\%$ had a survival rate of 88% and those with $> 50\%$ had the survival rate of 58.1%. The survival rate of those with tumor positive lymph nodes was 55.6%, whereas for those tumor negative it was 84.4%. The survival rate of patients with no lymphovascular invasion was 90.2% and in case of the invasion it was 54.5%. The survival rate amongst the group with FIGO stages I to II stood at 81.1% and for the group with FIGO stages III – IV it was 49.1%. The survival rate of the group with endometrial cancer and negative ER in tumor was 58.9%, for those with positive

ER it stood at 86%, for those with negative PR it was 63.5%, while for those with positive PR it was 84.2%. The survival rate for those with negative ER in myometrium was 50%, for those with positive ER it was 80.4% and for the women with negative PR it stood at 66.7%, whereas for those with positive PR it was 77.4%. **Conclusion:** ER and PR status in myometrium of patients with EC is not a stable prognostic factor.

Key words: endometrial cancer, estrogen receptors, progesterone receptors, myometrium, survival rate

10. LITERATURA:

1. Barišić D, Strelec M, Šimunić V. Operative hysteroscopy in patients with abnormal uterine bleeding caused by benign intrauterine growths. *CMJ*.1995;36(4):275-7.
2. Šimunić V. Menstrual cycle irregularities (amenorrhea, oligoamenorrhea and chronic anovulation). Naklada Ljevak; 2001.
3. Šimunić V, Barišić D, Pavičić Baldani D. Nenormalna krvarenja iz maternice. Zagreb, Fotosoft. 2014.
4. Warner PE, Critchley HO, Lumsden MA, Campbell-Brown M, Douglas A, Murray GD. Menorrhagia II: is the 80-ml blood loss criterion useful in management of complaint of menorrhagia? *Am J Obstet Gynecol*. 2004;190:1224-9.
5. Critchley HOD, Kelly RW, Baird DT, Brenner RM. Regulation of human endometrial function: mechanisms relevant to uterine bleeding. *Reprod Biol Endocrinol*. 2006;4(suppl 1):S5.
6. Puljiz M, Puljiz Z, Vučemilo T, Ramić S, Knežević F, Čulo B, i sur. Prognostic significance of matrix metalloproteinases 2 and 9 in endometrial cancer. *Coll Antropoll*. 2012;36(4):1367-72.
7. Lazar M.A. 2006. Mechanism of action of hormones that act on nuclear receptors. <http://www.intl.elsevierhealth.com/e-books/pdf/451.pdf> . Datum pristupa 04.04.2016.
8. Lecce G, Meduri G, Ancelin M, Bergeron C, Perrot-Appianat M. Presence of estrogen receptor β in the human endometrium through the cycle: expression in glandular, stromal, and vascular cells. *J Clin Endocrin & Metabol*. 2006;86(3).
9. Falkenstein E, Tillmann H-C, Christ M, Feuring M, Wehling M. Multipla actions of steroid hormones - a focus on rapid, nongenomic effects. *Pharmacol Rev*. 2000;52: 513-55 <http://pharmrev.aspectjournals.org/cgi/reprint/52/4/513>. Datum pristupa 10.04.2016.
10. Garrett RH, Grisham CM. "Biochemistry 2nd." Fort Worth: Harcourt College Publishers 30.11.27 1999; 124.
11. Dinny GJ, Clarke CJ. Physiological action of progesterone in target tissues 1. *Endocrine rev*.1997;18(4):502-19.
12. Koolman J, Röhm KH, Wirth J, Robertson M. Color atlas of biochemistry (Vol. 2). Stuttgart: Thieme 2005.
13. Mueck AO, Seeger H, Lippert TH. Estradiol metabolism and malignant disease. *Maturitas*. 2002;43(1) :1-10.
14. Penning TM. Hydroxysteroid dehydrogenases and pre-receptor regulation of steroid hormone action. *Hum Repro Up*. 2003;9(3):193-205.
15. Nobel S, Abrahmsen L, Oppermann U. Metabolic conversion as a pre-receptor control mechanism for lipophilic hormones. *Eur J Biochem*. 2001;268(15):4113-25.
16. Labrie F, Luu-The V, Lin SX, Simard J, Labrie C. Role of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenases in sex steroid formation in peripheral intracrine tissues. *Trends in Endocrin & Metabol*. 2000;11(10):421-7.
17. Berstein LM, Tchernobrovkina AE, Gamajunova VB, Kovalevskij AJ, Vasilyev DA, Chepik OF, i sur. Tumor estrogen content and clinico-morphological and endocrine features of endometrial cancer. *J Canc Res Clin Onco*. 2003;129(4):245-9.
18. Yang S, Thiel KW, Leslie KK. Progesterone: the ultimate endometrial tumor suppressor. *Trends Endocrinol & Metabol*. 2011;22(4):145-52.

19. Barakat RR, Markman M, Randall M, editors. Principles and practice of gynecologic oncology. Lippincott Williams & Wilkins; 2009.
20. Hoskins WJ, editor. Principles and practice of gynecologic oncology. Lippincott Williams & Wilkins; 2005.
21. Šimunić V, Ciglar S, Baldani DP. Summary and checklists for the third croatian consensus on hormone replacement therapy in menopause and postmenopause. U Klimakterij i postmenopauza, hormonsko nadomjesno liječenje 2002. FotoSoft.
22. Zoricic D. WS04: Menopausis WS04-01 Transvaginal sonography of the endometrium and sonohysterography in the menopause. Ultrasound in obstetrics and gynecology. 2000;16(s1):10-.
23. Ben-Arie A, Goldchmit C, Laviv Y, Levy R, Caspi B, Huszar M, i sur. The malignant potential of endometrial polyps. Eur J Obstet & Gynecol Repro Biol. 2004;115(2):206-10.
24. Danforth DN. Danforth's obstetrics and gynecology. Lippincott Williams & Wilkins; 2008.
25. Ben-Arie A, Tamir S, Dubnik S, Gemer O, Ben Shushan A, Dgani R, i sur. Does hysteroscopy affect prognosis in apparent early-stage endometrial cancer? Int J Gynecol Canc. 2008;18(4):813-9.
26. de Vries LD, Dijkhuizen FP, Mol BW, Brölmann HA, Moret E, Heintz AP. Comparison of transvaginal sonography, saline infusion sonography, and hysteroscopy in premenopausal women with abnormal uterine bleeding. J Clin Ultrasound. 2000;28(5):217-23.
27. Bettocchi S, Di Venere R, Pansini N, Pansini MV, Pellegrino A, Santamato S, i sur. Endometrial biopsies using small-diameter hysteroscopes and 5F instruments: how can we obtain enough material for a correct histologic diagnosis?. J Am Assoc Gynecol Laparoscop. 2002;9(3):290-2.
28. Daniilidis A, Pantelis A, Dinas K, Tantanasis T, Loufopoulos PD, Angioni S, i sur. Indications of diagnostic hysteroscopy, a brief review of the literature. Gynecol Surg. 2012;9(1):23-8.
29. Goldchmit R, Katz ZV, Blickstein I, Caspi B, Dgani R. The accuracy of endometrial Pipelle sampling with and without sonographic measurement of endometrial thickness. Obstet & Gynecol. 1993;82(5):727-30.
30. Karnjuš-Begonja R, Vrdoljak E, Ćorušić A, Haller H, Boraska Jelavić T, Matković V, i sur. Kliničke upute za dijagnostiku, liječenje i praćenje bolesnica oboljelih od raka maternice Hrvatskoga onkološkog društva i Hrvatskoga društva za ginekologiju i opstetriciju Hrvatskoga liječničkog zboga te Hrvatskoga ginekološkoonkološkog društva. Liječnički vjesnik. 2013;135(9-10)
31. Klein E, Beckmann MW, Bader W, Brucker C, Dobos G, Fischer D, i sur. Gynecologic oncologists' attitudes and practices relating to integrative medicine: results of a nationwide AGO survey. Arch Gynecol Obstet. 2013;1-7.
32. Köchli OR, Sevin BU, Benz J, Petru E, Haller U. Gynäkologische Onkologie: Manual für Klinik und Praxis. Springer-Verlag; 2017.
33. Younis MT, Iram S, Anwar B, Ewies AA. Women with asymptomatic cervical polyps may not need to see a gynaecologist or have them removed: an observational

- retrospective study of 1126 cases. *Eur J Obstet & Gynecol Repro Biol.* 2010;150(2):190-4.
34. Wong LF, Wilkes J, Korgenski K, Varner MW, Manuck TA. Risk factors associated with preterm birth after a prior term delivery. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology.* 2015.
 35. Savelli L, De Iaco P, Santini D, Rosati F, Ghi T, Pignotti E, i sur. Histopathologic features and risk factors for benignity, hyperplasia, and cancer in endometrial polyps. *Am J Obstet Gynecol.* 2003;188:927-31.
 36. Machtinger R, Korach J, Padoa A, Fridman E, Zolti M, Segal J, i sur. Transvaginal ultrasound and diagnostic hysteroscopy as a predictor of endometrial polyps: risk factors for premalignancy and malignancy. *Int J Gynecol Cancer.* 2005;15:325-8.
 37. Goldstein SR, Monteagudo A, Popiolek D, Mayberry P, Timor-Tritsch I. Evaluation of endometrial polyps. *Am J Obstet Gynecol.* 2002; 186:669-74.
 38. Koss LG., Schreiber K, Oberlander SG, Moussouris HF, Lesser M. Detection of endometrial carcinoma and hyperplasia in asymptomatic women. *Obstet Gynecol.* 1984; 64:1-11.
 39. Englund K, Blanck A, Gustavsson I, Lundkvist U, Sjöblom P, Norgren A, i sur. Sex steroid receptors in human myometrium and fibroids: Changes during the menstrual cycle and gonadotropin-releasing hormone treatment 1. *J Clin Endocrin & Metabol.* 1998;83(11):4092-6.
 40. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. *GLOBOCAN 2008 vl. 2, Cancer incidence and mortality worldwide: IARC Cancer Base No. 10 [Internet].* Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2010;globocan. iarc. fr. 2012.
 41. Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Registar za rak Republike Hrvatske. Incidencija raka u Hrvatskoj 2014. Bilten br. 39. Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo; 2016.
 42. Podatci dobiveni iz Registra za rak, stanje na dan 29.5.2017. godine, Mario Šekerija - osobna korespondencija. 2017.
 43. Sant M, Chirlaque Lopez MD, Agresti R, Sanchez Perez MJ, Holleczeck B, Bielska-Lasota M, i sur. Survival of women with cancers of breast and genital organs in Europe 1999-2007: results of the EURO CARE-5 study. *Eur J Cancer.* 2015;51:2191-205
 44. Memon A. Epidemiology of gynaecological cancers. In: Shafi M, Earl H, Tan L, editors. *Gynaecological oncology.* Cambridge: Cambridge University Press; 2010; 1–13.
 45. Berek JS, Hacker NF, editors. *Berek and Hacker's gynecologic oncology.* Lippincott Williams & Wilkins; 2010.
 46. Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, Allred DC, Hagerty KL, Badve S, i sur. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer (unabridged version). *Arch Pathol & Lab Med.* 2010;134(7):e48-72.
 47. Mariani A, Dowdy SC, Podratz KC. Rethinking traditional surgical–pathologic criteria for early endometrial cancer: studies of patterns of failure. *Prog Predict Fact Gynecol Canc.* 2007;15:155.

48. Deligdisch L, Kalir T, Cohen CJ, de Latour M, Le Bouedec G, Penault-Llorca F. Endometrial histopathology in 700 patients treated with tamoxifen for breast cancer. *Gynecol Oncol.* 2000 Aug 1;78(2):181-6.
49. Sherman ME. Theories of endometrial carcinogenesis: a multidisciplinary approach. *Mod Pathol.* 2000 Mar 1;13(3):295-308.
50. Acconcia F, Ascenzi P, Bocedi A, Spisni E, Tomasi V, Trentalance A, i sur. Palmitoylation-dependent estrogen receptor α membrane localization: regulation by 17 β -estradiol. *Mol Biol Cell.* 2005;16(1):231-7.
51. Liu SH, Al-Shaikh R, Panossian V, Yang RS, Nelson SD, Soleiman N, i sur. Primary immunolocalization of estrogen and progesterone target cells in the human anterior cruciate ligament. *J Orthop Res.* 1996 Jul 1;14(4):526-33.
52. Wilson EA, Yang F, Rees ED. Estradiol and progesterone binding in uterine leiomyomata and in normal uterine tissues. *Obstet & Gynecol.* 1980;55(1):20-4.
53. Shoff SM, Newcomb PA. Diabetes, body size, and risk of endometrial cancer. *Am J Epidem.* 1998;148(3):234-40.
54. Weiderpass E, Persson I, Adami HO, Magnusson C, Lindgren A, Baron JA. Body size in different periods of life, diabetes mellitus, hypertension, and risk of postmenopausal endometrial cancer (Sweden). *Canc Caus & Control.* 2000;11(2):185-92.
55. Martin JD, Hähnel R, McCartney AJ, Woodings TL. The effect of estrogen receptor status on survival in patients with endometrial cancer. *Am J Obstet Gynecol.* 1983 1;147(3):322-4.
56. Salazar-Martinez E, Willett WC, Ascherio A, Manson JE, Leitzmann MF, Stampfer MJ, i sur. Coffee consumption and risk for type 2 diabetes mellitus. *Ann Inte Med.* 2004;140(1):1-8.
57. Soliman PT, Wu D, Tortolero-Luna G, Schmeler KM, Slomovitz BM, Bray MS, i sur. Association between adiponectin, insulin resistance, and endometrial cancer. *Cancer.* 2006;106(11):2376-81.
58. Cust AE, Kaaks R, Friedenreich C, Bonnet F, Laville M, Tjønneland A, i sur. Metabolic syndrome, plasma lipid, lipoprotein and glucose levels, and endometrial cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Endo Rel Canc.* 2007;14(3):755-67.
59. Klotz DM, Hewitt SC, Ciana P, Raviscioni M, Lindzey JK, Foley J, i sur. Requirement of estrogen receptor- α in insulin-like growth factor-1 (IGF-1)-induced uterine responses and in vivo evidence for IGF-1/estrogen receptor cross-talk. *J Biol Chem.* 2002;277(10):8531-7.
60. Rutanen EM. Insulin-like growth factors in endometrial function. *Gynecol Endocrinol.* 1998;12(6):399-406.
61. Schmandt RE, Iglesias DA, Co NN, Lu KH. Understanding obesity and endometrial cancer risk: opportunities for prevention. *Am J Obstet Gynecol.* 2011;205(6):518-25.
62. Nieto-Vazquez I, Fernández-Veledo S, Krämer DK, Vila-Bedmar R, Garcia-Guerra L, Lorenzo M. Insulin resistance associated to obesity: the link TNF-alpha. *Arch Physiol Biochem.* 2008;114(3):183-94.
63. Cymbaluk A, Chudecka-Głaz A, Rzepka-Górska I. Leptin levels in serum depending on body mass index in patients with endometrial hyperplasia and cancer. *Eur J Obstet & Gynecol Repro Biol.* 2008;136(1):74-7.
64. Carlson MJ. Catch it before it kills: progesterone, obesity, and the prevention of endometrial cancer. *Discov Med.* 2012;14(76):215.
65. Soliman PT, Wu D, Tortolero-Luna G, Schmeler KM, Slomovitz BM, Bray MS, i sur. Association between adiponectin, insulin resistance, and endometrial cancer. *Cancer.* 2006;106(11):2376-81.

66. Cust AE, Kaaks R, Friedenreich C, Bonnet F, Laville M, Lukanova A, i sur. Plasma adiponectin levels and endometrial cancer risk in pre-and postmenopausal women. *J Clin Endocrin & Metabol.* 2007;92(1):255-63.
67. Dhar KK, Needhi Rajan T, Koslowski M, Woolas RP. Is levonorgestrel intrauterine system effective for treatment of early endometrial cancer? Report of four cases and review of the literature. *Gynecol Oncol.* 2005;97(3):924-7.
68. Middleton LJ, Champaneria R, Daniels JP, Bhattacharya S, Cooper KG, Hilken NH, i sur. Hysterectomy, endometrial destruction, and levonorgestrel releasing intrauterine system (Mirena) for heavy menstrual bleeding: systematic review and meta-analysis of data from individual patients. *BMJ.* 2010;341:c3929.
69. Shapiro S, Kelly JP, Rosenberg L, Kaufman DW, Helmrich SP, Rosenshein NB, i sur. Risk of localized and widespread endometrial cancer in relation to recent and discontinued use of conjugated estrogens. *N Eng J Med.* 1985;313(16):969-72.
70. Magriples U, Naftolin F, Schwartz PE, Carcangiu ML. High-grade endometrial carcinoma in tamoxifen-treated breast cancer patients. *J Clin Oncol.* 1993;11(3):485-90.
71. Bokhman JV. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol.* 1983;15(1):10-7.
72. Murali R, Soslow RA, Weigelt B. Classification of endometrial carcinoma: more than two types. *Lancet Oncol.* 2014;15(7):e268-78.
73. Barakat RR, Markman M, Randall M, editors. Principles and practice of gynecologic oncology. Lippincott Williams & Wilkins; 2009.
74. Ryan AJ, Susil B, Jobling TW, Oehler MK. Endometrial cancer. *Cell Tissue Res.* 2005;322(1):53-61.
75. Shiozawa T, Konishi I. Early endometrial carcinoma: clinicopathology, hormonal aspects, molecular genetics, diagnosis, and treatment. *Int J Clin Oncol.* 2006;11(1):13-21.
76. Inoue M. Current molecular aspects of the carcinogenesis of the uterine endometrium. *In J Gynecol Canc.* 2001;11(5):339-48.
77. Liu FS. Molecular carcinogenesis of endometrial cancer. *Taiw J Obstetr Gynecol.* 2007;46(1):26-32.
78. Kanthan R, Senger JL, Diudea D. Malignant mixed Müllerian tumors of the uterus: histopathological evaluation of cell cycle and apoptotic regulatory proteins. *W J Surg Oncol.* 2010;8(1):60.
79. Bajracharya SR, Juan FY. Prognostic factors in endometrial cancer. *J Inst Med.* 2013;35(1):9-17.
80. Creasman WT. Endometrial cancer: incidence, prognostic factors, diagnosis, and treatment. *In Seminars in oncology* 1997;(Vol. 24, No. 1 Suppl 1, pp. S1-140).
81. Pecorelli S. Revised FIGO staging for carcinoma of the vulva, cervix, and endometrium. *Int J Gynecol & Obstet.* 2009;105(2):103-4.
82. Colombo N, Creutzberg C, Amant F, Bosse T, González-Martín A, Ledermann J. C. I sur. The ESMO-ESGO-ESTRO Endometrial Consensus Conference Working Group. *Ann Oncol.* 2016;27:16-41.
83. Hamilton CA, Cheung MK, Osann K, Chen L, Teng NN, Longacre TA, i sur. Uterine papillary serous and clear cell carcinomas predict for poorer survival compared to grade 3 endometrioid corpus cancers. *Br J Canc.* 2006;94(5):642-6.
84. Frei KA, Kinkel K, Bonél HM, Lu Y, Zaloudek C, Hricak H. Prediction of deep myometrial invasion in patients with endometrial cancer: Clinical utility of contrast-enhanced MR imaging. A Meta-analysis and Bayesian analysis 1. *Radiology.* 2000;216(2):444-9.

85. Lindauer J, Fowler JM, Manolitsas TP, Copeland LJ, Eaton LA, Ramirez NC, i sur. Is there a prognostic difference between depth of myometrial invasion and the tumor-free distance from the uterine serosa in endometrial cancer? *Gynecol Oncol.* 2003;91(3):547-51.
86. Artner A, Bősze P, Gonda G. The value of ultrasound in preoperative assessment of the myometrial and cervical invasion in endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol.* 1994;54(2):147-51.
87. Tambouret R, Clement PB, Young RH. Endometrial endometrioid adenocarcinoma with a deceptive pattern of spread to the uterine cervix: a manifestation of stage IIb endometrial carcinoma liable to be misinterpreted as an independent carcinoma or a benign lesion. *Am J Surg Pathol.* 2003;27(8):1080-8.
88. Watanabe M, Aoki Y, Kase H, Fujita K, Tanaka K. Low risk endometrial cancer: a study of pelvic lymph node metastasis. *Int J Gynecol Canc.* 2003;13(1):38-41.
89. Podratz KC, Mariani A. Uterine papillary serous carcinomas: the exigency for clinical trials. 2003: 461-2.
90. Al Hilli MM, Dowdy SC. The role of lymphadenectomy in endometrial cancer: The Mayo Clinic experience. *Uterine Cancer Springer India.* 2015. 207-21.
91. Pristaug G, Bader AA, Regitnig P, Haas J, Winter R, Tamussino K. How accurate is frozen section histology of pelvic lymph nodes in patients with endometrial cancer?. *Gynecol Oncol.* 2009;115(1):12-7.
92. Savelli L, Ceccarini M, Ludovisi M, Fruscella E, De Iaco PA, Salizzoni E, i sur. Preoperative local staging of endometrial cancer: transvaginal sonography vs. magnetic resonance imaging. *Ultrasound Obstet & Gynecol.* 2008 May 1;31(5):560-6.
93. Pineda L, Alcázar JL, Caparrós M, Mínguez JA, Idoate MA, Quiceno H, i sur. Agreement between preoperative transvaginal ultrasound and intraoperative macroscopic examination for assessing myometrial infiltration in low-risk endometrioid carcinoma. *Ultrasound Obstet & Gynecol.* 2016;47(3):369-73.
94. Greven KM, Randall ME, Lanciano RM, Corn B, Case D. Pathologic stage III endometrial carcinoma. Prognostic factors and patterns of recurrence. *Cancer.* 1993;71(11):3697-702.
95. Wethington SL, Medel NI, Wright JD, Herzog TJ. Prognostic significance and treatment implications of positive peritoneal cytology in endometrial adenocarcinoma: unraveling a mystery. *Gynecol Oncol.* 2009;115(1):18-25.
96. Fader AN, Seamon LG, Escobar PF, Frasure HE, Havrilesky LA, Zanotti KM, i sur. Minimally invasive surgery versus laparotomy in women with high grade endometrial cancer: a multi-site study performed at high volume cancer centers. *Gynecol Oncol.* 2012;126(2):180-5.
97. Gala RB, Margulies R, Steinberg A, Murphy M, Lukban J, Jeppson P, i sur. Systematic review of robotic surgery in gynecology: robotic techniques compared with laparoscopy and laparotomy. *J Min Inv Gynecol.* 2014;21(3):353-61.
98. Creasman WT, Kohler MF, Odicino F, Maisonneuve P, Boyle P. Prognosis of papillary serous, clear cell, and grade 3 stage I carcinoma of the endometrium. *Gynecol Oncol.* 2004;95(3):593-6.
99. Lambrou NC, Pearson JM, Averette HE. Pelvic exenteration of gynecologic malignancy: indications, and technical and reconstructive considerations. *Surg Oncol Clin N Am.* 2005;14(2):289-300.
100. Ueda S, Bristow R. Cytoreductive surgery in endometrial cancer and uterine sarcomas. *U Cytoreductive surgery in gynecologic oncology: a multidisciplinary approach* 2010; 123-151.

101. Watanabe M, Aoki Y, Kase H, Fujita K, Tanaka K. Low risk endometrial cancer: a study of pelvic lymph node metastasis. *Int J Gynecol Canc.* 2003;13(1):38-41.
102. May K, Bryant A, Dickinson HO, Kehoe S, Morrison J. Lymphadenectomy for the management of endometrial cancer. *The Cochrane Library.* 2010.
103. Ansari M, Rad MG, Hassanzadeh M. Sentinel node biopsy in endometrial cancer: systematic review and meta-analysis of the literature. *Eur J Gynecol Oncol.* 2013;30(1):2009.
104. Bühling KJ, Intensivkurs FW. *Gynäkologie und Geburtshilfe.* Urban & Fischer; 2009.
105. Pectasides D, Pectasides E, Economopoulos T. Systemic therapy in metastatic or recurrent endometrial cancer. *Can Treat Rev.* 2007;33(2):177-90.
106. Johnson N, Bryant A, Miles T, Hogberg T, Cornes P. Adjuvant chemotherapy for endometrial cancer after hysterectomy. *The Cochrane Library.* 2011.
107. Galaal K, Al Moundhri M, Bryant A, Lopes AD, Lawrie TA. Adjuvant chemotherapy for advanced endometrial cancer. *The Cochrane Library.* 2011.
108. Schink JC, Rademaker AW, Miller DS, Lurain JR. Tumor size in endometrial cancer. *Cancer.* 1991;67(11):2791-4.
109. Creutzberg CL, van Putten WL, Koper PC, Lybeert ML, Jobsen JJ, Wárlám-Rodenhuis CC, i sur. Survival after relapse in patients with endometrial cancer: results from a randomized trial. *Gynecol Oncol.* 2003;89(2):201-9.
110. Kadkhodayan S, Shahriari S, Treglia G, Yousefi Z, Sadeghi R. Accuracy of 18-F-FDG PET imaging in the follow up of endometrial cancer patients: systematic review and meta-analysis of the literature. *Gynecol Oncol.* 2013;128(2):397-404.
111. Sfar R, Khiar A, Pocard M, Kaci R, Benada A, Duet M, i sur. Clinical Impact of 18FDG-PET/CT in the follow-up of endometrial cancer: Report of a case. *Fem Pelv Med & Reconst Surg.* 2009;15(6):463-6.
112. Banno K, Kisu I, Yanokura M. Biomarkers in endometrial cancer: Possible clinical applications (Review). *Oncol Lett.* 2012; 3(6): 1175-80.
113. Srijaipracharoen S, Tangjitgamol S, Tanvanich S. Expression of ER, PR, and HER-2/neu in endometrial cancer: a clinicopathological study. *Asian Pac J Canc Prev.* 2010; 11(1): 215-20.
114. Huvila J, Talve L, Carpén O. Progesterone receptor negativity is an independent risk factor for relapse in patients with early stage endometrioid endometrial adenocarcinoma. *Gynecol Oncol* 2013;130(3): 463-9.
115. Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Ann Surg Oncol.* 2010;17(6):1471-4.
116. Huvila J, Talve L, Carpén O. Progesterone receptor negativity is an independent risk factor for relapse in patients with early stage endometrioid endometrial adenocarcinoma. *Gynecol Oncol* 2013; 130(3): 463-9.
117. Sivridis E, Giatromanolaki A, Koukourakis M, Anastasiadis P. Endometrial carcinoma: association of steroid hormone receptor expression with low angiogenesis and bcl-2 expression. *Virchows Arch.* 2001;438(5):470-7.
118. Bryś M, Szytło K, Romanowicz-Makowska H, Dobrowolski Z, Mastowska I, i sur. Krajewska W. Expression of estrogen and progesterone receptor genes in endometrium, myometrium and vagina of postmenopausal women treated with estriol. *S Paulo Med J.* 2009;127(3):128-33.

119. Welsh T, Johnson M, Yi L, Tan H, Rahman R, Merlino A, i sur. Estrogen receptor (ER) expression and function in the pregnant human myometrium: estradiol via ER α activates ERK1/2 signaling in term myometrium. *J Endocrin.* 2012;212(2):227-38.
120. Stoian SC, Simionescu CR, Mărgăritescu C, Stepan A, Nurciu M. Endometrial carcinomas: correlation between ER, PR, Ki67 status and histopathological prognostic parameters. *Rom J Morphol Embryol.* 2011;52(2):631-8.
121. Jongen V, Briët J, de Jong R, ten Hoor K, Boezen M, van der Zee A, i sur. Expression of estrogen receptor-alpha and-beta and progesterone receptor-A and-B in a large cohort of patients with endometrioid endometrial cancer. *Gynecol Oncol.* 2009;112(3):537-42.
122. Huijgens ANJ, Mertens HJMM. Factors predicting recurrent endometrial cancer. *Facts Views Vis ObGyn* 2013; 5(3): 179–86.
123. Zhang Y, Zhao D, Gong C. Prognostic role of hormone receptors in endometrial cancer: a systematic review and meta-analysis. *World J Surg Oncol.* 2015; 13: 208.
124. Jeon YT, Park IA, Kim YB. Steroid receptor expressions in endometrial cancer: Clinical significance and epidemiological implication. *Canc Lett.* 2006; 239(2): 198-204.
125. Trovik J, Wik E, Werner HM. Hormone receptor loss in endometrial carcinoma curettage predicts lymph node metastasis and poor outcome in prospective multicentre trial. *Eur J Canc.* 2013; 49(16): 3431–41.
126. Kounelis S, Kapranos N, Kouri E, Coppola D, Papadaki H, Jones MW. Immunohistochemical profile of endometrial adenocarcinoma: a study of 61 cases and review of the literature. *Mod Pathol.* 2000;13(4):379-88.
127. Hill GD, Moore AB, Kissling GE. Effects of hormonally active agents on steroid hormone receptor expression and cell proliferation in the myometrium of ovariectomized macaques. *Toxicol Pathol.* 2011;39(3):508-15.
128. Dobrzycka B, Terlikowski SJ. Biomarkers as prognostic factors in endometrial cancer. *Folia Histochem Cyto.* 2010;48(3): 319-22.
129. Dong P, Kaneuchi M, Konno Y, Watari H, Sudo S, Sakuragi N. Emerging therapeutic biomarkers in endometrial cancer. *Bio Med Res Int.* 2013; 2013:130362.
130. Bender D, Buekers T, Leslie KK. Hormones and receptors in endometrial cancer. *Proc Obstet Gynecol.* 2011;2(1):1.

11. ŽIVOTOPIS

Rođen sam 2. listopada 1965. u Bjelovaru. Osnovnu školu sam pohađao u Ferdinandovcu, a srednju u Đurđevcu i Bjelovaru. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisujem 1984. godine. Nakon 15-omjesečnog obveznog vojnog roka, nastavljam studij (1985. - 1992. s prosječnom ocjenom 3,9). Bio sam demonstrator u „Zavodu za Histologiju i embriologiju“ (1987. - 1988.) i „Zavodu za farmakologiju“ (1988. - 1990.) „Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu“. Nakon završetka studija slijedi:

1992. - 1994.g. liječnički staž u Općoj bolnici „Dr.Tomislav Bardek“, Koprivnica;

1994. - 1995.g. ordinacija opće medicine DZ Đurđevac i postrojbe HV-a; Ratna bolnica Kiseljak, BiH, u trajanju od mjesec dana, akcije HV-a „Bljesak“ i „Oluja“ (zapovjednik saniteta 13. Protuoklopne topničko-raketne divizije). Odlikovan sam od predsjednika Republike Hrvatske dr. Franje Tuđmana medaljom „Oluja“ 1995.g.

1996. - 2001.g. specijalizacija iz ginekologije i porodništva u KB„Sveti Duh“, Zagreb (mentor prof.dr.sc.Asim Kurjak).

2001. - 2004.g. Dom zdravlja Đurđevac, Ginekološka ordinacija;

2004. - 2007.g. OB Bjelovar, Ginekološko-porođajni odjel;

2007. - 2015.g. KBC „Sestre milosrdnice - Klinika za tumore Zagreb“, Odjel ginekološke onkologije.

Od 2015.g. zaposlenik sam LK Scheibbs, Niederösterreich, 1.Oberarzt, Gyn-OB. Abteilung.

Od 1994. - 1999. pohađao sam i završio Poslijediplomski studij iz medicinskih znanosti (Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu).

2005. obranio sam magistarski rad „Značenje neinvazivnog probira u prenatalnoj dijagnostici trisomije 21 i oštećenja neuralne cijevi“ (Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu).

2009.g. stručno usavršavanje mjesec dana (Cleveland Clinic, Gyneologic Oncology).

2009.g. upisujem Poslijediplomski doktorski studij iz medicinskih znanosti (Medicinski fakultet Sveučilišta u Osijeku).

Članstvo i aktivnosti u znanstvenim i strukovnim udrugama:

Hrvatski liječnički zbor od 1992.; Hrvatska liječnička komora od 1994.;

Hrvatsko ginekološko - onkološko društvo od 2011.; Hrvatski liječnički sindikat od 2012.

Ostale aktivnosti: Pasionirani sam trkač maratona kad mi to god obaveze dopuste. Dosada imam 35 pretrčanih maratona od kojih spominjem maratone u Berlinu, Beču, Pragu, Barceloni, Davosu, Firenci, Veroni, Trevisu, Plitvicama, Međugorju, Ljubljani i Zagrebu.

Oženjen sam i otac dvoje djece. E-mail: tomicadarko@gmail.com