



UNIVERZITET U NIŠU
MEDICINSKI FAKULTET



Irena Conić

**KLINIČKI TOK KARCINOMA JAJNIKA U
ZAVISNOSTI OD PATOHISTOLOŠKIH I
IMUNOHISTOHEMIJSKIH KARAKTERISTIKA
TUMORA**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentor:
Prof. dr Zorica Stanojević

Niš, 2014. godina

I Autor

Ime i prezime:	Irena Conić
Datum i mesto rođenja:	20.05.1979. Niš
Sadašnje zaposlenje:	Specijalista interne medicine na Klinici za onkologiju KC Niš

II Doktorska disertacija

Naslov:	Klinički tok karcinoma jajnika u zavisnosti od patohistoloških i imunohistohemijskih karakteristika tumora
Broj stranica:	175
Broj šema / slika:	21
Broj tabela:	47
Ustanova i mesto gde je rad izrađen:	Klinika za onkologiju KC Niš Centar za patologiju KC Niš
Naučna oblast:	Onkologija
Mentor:	Prof. dr Zorica Stanojević

III Ocena i odbrana

Datum prijave teme:	4.11.2011.
Broj odluke i datum prihvatanja doktorske disertacije:	04-811/11 27.04.2012.
Komisija za ocenu podobnosti teme i kandidata:	1. Prof. dr Biljana Đorđević, predsednik, 2. Prof. dr Zorica Stanojević, član, 3. Prof. dr Ivica Pejčić, član
Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije:	1. Prof. dr Svetislav Vrbić, predsednik, 2. Prof. dr Zorica Stanojević, mentor i član, 3. Prof. dr Ljubinka Janković-Veličković, član, 4. Prof. dr Darjana Jovanović, član sa Medicinskog fakulteta u Novom Sadu, 5. Doc. Dr Miljan Krstić, član

Posebno zahvaljujem

- *Mentoru, Prof. dr Zorici Stanojević, na dugogodišnjoj saradnji, stručnoj i moralnoj podršci, kao i nesebičnom pružanju znanja*
- *Prof. dr Biljani Đorđević, na prijateljstvu, stručnoj i moralnoj podršci prilikom izrade doktorata*
- *Prof. dr Ljubinki Janković-Veličković, na prijateljstvu, dugogodišnjoj saradnji, stručnoj i nesebičnoj podršci prilikom izrade doktorata*
- *Prof. dr Vladisavu Stefanoviću, na vremenu, strpljenju i nesebičnom pružanju znanja, kao i ukazanoj prilici za napredovanje u naučno-istraživačkom radu*
- *Svojim kolegama Centra za patologiju Doc. dr Miljanu Krstiću, Slavici Stojnev i Ani Ristić Petrović na nesebičnoj prijateljskoj saradnji i stručnoj podršci i pomoći*
- *Svojim kolegama iz laboratorije Centra za patologiju na nesebičnoj prijateljskoj saradnji i stručnoj pomoći*
- *Svojoj porodici za ogromno strpljenje, vremenu koje su uvek imali za mene, bezuslovno razumevanje i podršku tokom mog celokupnog akademskog rada i usavršavanja*

KLINIČKI TOK KARCINOMA JAJNIKA U ZAVISNOSTI OD PATOHISTOLOŠKIH I IMUNOHISTOHEMIJSKIH KARAKTERISTIKA TUMORA

Uvod: Karcinom jajnika je osmi po učestalosti maligni tumor u svetu, peti najčešći tip karcinoma kod žena i četvrti najčešći uzrok smrti od karcinoma kod žena. Kod ranog otkrivanja i lečenja karcinoma jajnika, pre nego što se proširi van primarne lokalizacije, petogodišnja relativna stopa preživljavanja iznosi 92%. Nažalost, samo 15% svih karcinoma jajnika otkriva se u ranoj fazi. Primećeno je da je preživljavanje veće kod žena mlađih od 65 godina, nego kod starijih i varira u zavisnosti od morfološkog tipa karcinoma jajnika, opšteg zdravstvenog stanja i stadijuma raširenosti bolesti u vreme postavljanja dijagnoze. Tačan uzrok nastanka karcinoma jajnika još uvek nije nepoznat, ali mnogi faktori rizika povezani su sa nastankom ovog malignoma.

Cilj istraživanja je analiza kliničkih i patoloških karakteristika karcinoma jajnika, utvrđivanje ekspresije Nanog, Sox2, Oct3/4, Sox4, CD44, CD117, Ezh2 i Stat3 na parafinskim presecima karcinoma jajnika, kao i komparacija ekspresije Nanog, Sox2, Oct3/4, Sox4, CD44, CD117, Ezh2, Stat3 sa kliničkim i patološkim karakteristikama karcinoma jajnika.

Metode: U toku istraživanja korišćena je imunohistohemijska metoda. Korišćeni su parafinski preseki tkiva karcinoma jajnika debljine 5 μ m.

Zaključak: Nepovoljan klinički tok karcinoma jajnika bio je povezan sa pozitivnom ekspresijom Nanog, Sox2, Oct3/4, i odsustvom ili niskom ekspresijom Sox4, CD117 i CD44, dok su pokazatelji značajno dužeg preživljavanja bili gubitak ekspresije Ezh2 i Stat3 u karcinomu jajnika.

Ključne reči: karcinom jajnika, Nanog, Sox2, Oct3/4, Sox4, CD44, CD117, Ezh2, Stat3

CLINICAL COURSE OF OVARIAN CARCINOMA DEPENDING ON PATOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL CHARACTERISTICS

Introduction: According to the frequency of malignant tumours in the world, ovarian carcinoma takes the eighth place; it is also the fifth most frequent tumour in women and the fourth cause of cancer death in women. In early discovering and treatment of ovarian carcinoma, before it extends out of the primary localisation, the five-year relative survival rate is 92%. Unfortunately, only 15% of all ovarian carcinomas are discovered in the early stage. It has been noticed that the survival rate is higher in women under the age of 65 than in the older ones and it varies depending on the morphological type of ovarian carcinoma, patient's over-all health condition and the stage of the disease diffusion at the time of setting the diagnosis. The exact cause of ovarian carcinoma occurrence is still unknown, but many risk factors are related to the occurrence of this malignoma.

The **aim** of this research was to analyze the clinical and pathological characteristics of ovarian carcinoma, as well as to determine Nanog, Sox2, Oct3/4, Sox4, CD44, CD117, Ezh2 and Stat3 expressions in paraffin sections of ovarian carcinoma and to compare the Nanog, Sox2, Oct3/4, Sox4, CD44, Ezh2 and Stat3 expressions with the clinical and pathological characteristics of ovarian carcinoma.

Methods: During the research, the immunohistochemical method was applied. Paraffin sections of the tissue of ovarian carcinoma 5µm thick were used.

Conclusion: Unfavourable clinical course of ovarian carcinoma was related to the positive Nanog, Sox2 and Oct3/4 expression, as well as with the absence or low expression of Sox4, CD117 and CD44, while the loss of Ezh2 and Stat3 expressions in ovarian carcinoma, indicated significantly longer survival.

Key words: ovarian carcinoma, Nanog, Sox2, Oct3/4, Sox4, CD44, CD117, Ezh2, Stat3.

Sadržaj:

1. UVOD	8
1.1. EPIDEMIOLOGIJA KARCINOMA JAJNIKA	8
1.2. PATOLOGIJA KARCINOMA JAJNIKA	10
1.2.1. Serozni karcinom jajnika	11
1.2.2. Endometrioidni karcinom jajnika.....	11
1.2.3. Mucinozni karcinom jajnika	11
1.2.4. Svetloćelijski karcinom jajnika.....	12
1.2.5. Tranzicioćelijski (Brannerov-og i ne Brannerov-og tipa) karcinom jajnika	12
1.2.6. Ostali karcinomi jajnika	12
1.2.7. Granični (borderline)- tumori niskog malignog potencijala.....	12
1.3. MOLEKULARNA PATOGENEZA KARCINOMA JAJNIKA	13
1.4. SIMPTOMI I KLINIČKA SLIKA KARCINOMA JAJNIKA	14
1.5. DIJAGNOSTIČKI POSTUPCI ZA KARCINOM JAJNIKA	15
1.6. LEČENJE KARCINOMA JAJNIKA PO STADIJUMIMA BOLESTI.....	17
1.6.1. Terapijski plan za rane stadijume bolesti	17
1.6.2. Terapijski plan za uznapredovali karcinom jajnika.....	18
1.6.2.1. Citoreduktivna hirurgija	18
1.6.3. Tretman perzistentne ili rekurentne bolesti.....	19
1.6.4. Lečenje graničnih (borderline) tumora.....	20
1.6.5. Praćenje pacijenata u remisiji (follow-up)	20
1.6.6. Primena hemioterapije kod karcinoma jajnika	20
1.6.6.1. Indikacije za hemioterapiju	21
1.6.6.1.1. Rani stadijumi bolesti (FIGO stadijum I-IIa).....	21
1.6.6.1.2. Uznapredovali karcinom jajnika (FIGO stadijum IIb-IV).....	21
1.6.6.1.3. Recidivirajući karcinom jajnika.....	22
1.6.6.1.4. Bevacizumab u lečenju karcinoma jajnika.....	23
1.7. MARKERI	25
1.7.1. Nanog.....	25
1.7.2. Sox2.....	31
1.7.3. Oct 3/4	33
1.7.4. Sox4.....	36
1.7.5. CD44.....	38
1.7.6. CD117.....	40
1.7.7. Ezh2.....	43
1.7.8. Stat3.....	45
2. CILJ ISTRAŽIVANJA	48
3. MATERIJAL I METODOLOGIJA	49
4. REZULTATI	53
4.1. KARAKTERISTIKE BOLESNICA U ODNOSU NA PRIMENJENU TERAPIJU I ISHOD BOLESTI KOD RAZLIČITIH TIPOVA EPITELNIH MALIGNIH TUMORA JAJNIKA	53
4.2. EKSPRESIJA MOLEKULARNIH MARKERA U KARCINOMU JAJNIKA	61
4.3. KOMPARIACIJA EKSPRESIJE MOLEKULARNIH MARKERA SA KLINIČKIM I PATOLOŠKIM KARAKTERISTIKAMA KARCINOMA JAJNIKA.....	75
4.3.1. Nanog.....	75
4.3.2. Sox2	80
4.3.3. Oct 3/4	84
4.3.4. Sox4.....	88
4.3.5. CD44.....	93

4.3.6. CD117	97
4.3.7. Ezh2	101
4.3.8. Stat3	105
4.3.9. Podudarnost ispitivanih molekularnih markera.....	109
4.3.10. Uticaj kliničkih parametara i eskpresije molekularnih markera na pojavu smrtnog ishoda	110
5. DISKUSIJA	122
6. ZAKLJUČCI:	141
7. LITERATURA:	143
8. LISTA SKRAĆENICA	173
9. BIOGRAFIJA.....	175

1. UVOD

1.1. Epidemiologija karcinoma jajnika

Karcinom jajnika je osmi po učestalosti maligni tumor u svetu, peti najčešći tip karcinoma kod žena i četvrti najčešći uzrok smrti od karcinoma kod žena. Procenjeni broj novih slučajeva karcinoma jajnika u Evropi u 2012-oj godini bio je 65 538 sa 42 704 smrtnih slučajeva (1). Takođe, procenjuje se da će se do 2030. godine broj žena obolelih i umrlih od karcinoma jajnika uvećati za približno 60%, a stope mortaliteta će i dalje biti veće u razvijenim (5,1/100.000) nego u nerazvijenim (3,1/100.000) zemljama sveta (2,3). Postoje varijacije u stopi incidencije širom kontinenta sa većom učestalošću u severnim evropskim zemljama. U svetu dve trećine žena oboli i više od polovine umre od karcinoma jajnika pre svoje 65. godine života. Obolevanje i umiranje od ovog karcinoma raste sa uzrastom, a većina obolelih i umrlih ima više od 40 godina (2,4). Poslednjih godina uočeno je pomeranje u obolevanju i umiranju od karcinoma jajnika prema mlađim uzrasnim grupama.

U pogledu vodećih lokalizacija karcinoma, Srbija se ne razlikuje mnogo od ostalih zemalja u razvoju. Od karcinoma jajnika godišnje u Srbiji u proseku oboli 820 i umre oko 420 žena (2,4). Među ženama u Srbiji rak jajnika je šesti vodeći malignitet u obolevanju (5,0%) i sedmi u umiranju (4,6%). Sa standardinovanim stopama incidencije (10,5/100.000) i mortaliteta (5,5/100.000), Srbija se u 2010.godini nalazila u grupi zemalja Evrope sa visokim stopama obolevanja i smrtnosti od karcinoma jajnika. Kod ranog otkrivanja i lečenja karcinoma jajnika, pre nego što se proširi van primarne lokalizacije, petogodišnja relativna stopa preživljavanja iznosi 92%. Nažalost, samo 15% svih karcinoma jajnika otkriva se u ranoj fazi. Primećeno je da je preživljavanje veće kod žena mlađih od 65 godina, nego kod starijih i varira u zavisnosti od morfološkog tipa karcinoma jajnika, opšteg zdravstvenog stanja i stadijuma raširenosti bolesti u vreme postavljanja dijagnoze (5,6).

Tačan uzrok nastanka karcinoma jajnika još uvek nije nepoznat, ali mnogi faktori rizika povezani su sa nastankom ovog malignoma. Žene koje su imale više trudnoća imaju niži rizik od onih sa manjim brojem trudnoća, koje, takođe, imaju niži rizik od onih koje nisu rađale ili su prvi porođaj imale nakon 35.godine života. Rana menarha i kasna menopauza doprinose većem riziku za nastanak karcinoma jajnika. Primena oralnih kontraceptiva i dojenje, kao i prva trudnoća pre 25.godine života smanjuju rizik za nastanak karcinoma

jajnika. Nedavni podaci sugerišu da produžena hormonska terapija estrogenom bez progesterona može da poveća rizik za pojavu malignog tumora ovarijuma (7). Svi ovi faktori ukazuju na to da je ovulacija značajan faktor koji je u korelaciji sa razvojem karcinoma jajnika (8).

Porodična anamneza ima veoma važnu ulogu u nastanku karcinoma jajnika, iako u nedavnoj studiji (4) 44% pacijentkinja sa visokim gradusom seroznog karcinoma jajnika i BRCA mutacijom nije prijavilo porodičnu istoriju karcinoma. Žene sa porodičnom anamnezom karcinoma jajnika u prvom stepenu srodstva imaju dvostruko veći rizik od karcinoma u poređenju sa ženama bez porodične anamneze. Međutim, samo 10% slučajeva karcinoma jajnika ima identifikovanu gensku mutaciju BRCA1 i BRCA2. Nasledna mutacija BRCA1 gena daje 15-45% rizik za pojavu karcinoma jajnika i oko 85% rizik za pojavu karcinoma dojke. Mutacija BRCA2 povećava rizik od karcinoma jajnika 10-12% i oko 85% karcinoma dojke. Žene sa naslednim karcinomom jajnika imaju tendenciju da razviju bolest 10 godina ranije u odnosu na žene sa sporadičnim karcinomom ove lokalizacije. (8).

Kod žena sa visokim rizikom zbog postojanja BRCA1 i BRCA2 mutacije, ooforektomija može smanjiti rizik za nastanak karcinoma jajnika i jajovoda, ali postoji rizik za nastanak primarnog peritonealnog karcinoma, gde se preporučuje salpingo-ooforektomija (9,10). Najnoviji podaci ukazuju da karcinom jajovoda može poticati od karcinoma jajnika i primarnog peritonealnog karcinoma (11-15).

Radi blagovremenog otkrivanja i lečenja karcinoma jajnika u ranoj fazi važno je prepoznavanje simptoma bolesti kao što su loše varenje, mučnina, nadutost, nadimanje, gubitak apetita, bol u donjem delu trbuha, promene u pražnjenju creva i učestalo mokrenje koje traju više od 12 dana tokom poslednjeg meseca.

1.2. Patologija karcinoma jajnika

U jajniku se razvijaju neoplazme raznovrsne histopatološke građe koje se mogu svrstati u tri glavne podgrupe:

1. tumori jajnika porekla površnog epitela
2. tumori porekla strome jajnika i polnih traka
3. tumori porekla germinativnih ćelija

Najznačajnija i najobimnija histogenetska grupa sa stanovišta incidencije i broja histoloških tipova koje obuhvata, i sa stanovišta patološke, ginekološke i onkološke prakse je grupa epitelnih tumora jajnika. Epitelni maligni tumori jajnika čine oko 80-90% svih malignoma ovog organa.

Prema histogenetskoj klasifikaciji Svetske zdravstvene organizacije (SZO) epitelni tumori jajnika podeljeni su u nekoliko subtipova (16):

1. serozni
2. endometrioidni
3. svetloćelijski-clear cell
4. mucinozni
5. Brennerov (tranzicioćelijski tumor)
6. mešoviti epitelni tumor
7. nediferentovani
8. neklasifikovani

Epitelni tumori potiču od površnog epitela (mezotela) jajnika ili kortikalnih invaginata površnog epitela. Ovi tumori mogu da nastanu i iz epitela kortikalnih inkluzionih cista ili ognjišta endometrioze. Epitelni tumori čine 60% svih tumora jajnika, a maligni epitelni tumori čak 90% svih malignoma jajnika.

1.2.1. Serozni karcinom jajnika

Invazivni serozni karcinom je najčešći histološki tip koji čini 80-90% uznapredovalog karcinoma jajnika. Poslednjih godina, saopšteni su podaci prema kojima su serozni karcinomi jajnika visokog gradusa i serozni karcinomi jajnika niskog gradusa dva različita entiteta bolesti. (17,18). Tumori blage do umerene citološke atipije i niske stope mitozu su klasifikovani kao karcinomi niskog gradusa, dok se teška citološka atipija i visoka stopa mitozu smatraju visokim gradusom seroznog tumora. Takođe, postoje različite mutacije prisutne u svakom tipu kao i različito poreklo ćelija. Klinički, žene sa niskim gradusom seroznog tumora, koji čini oko 10% seroznog karcinoma, dobijaju tumor u mlađem životnom dobu i imaju duže preživljavanje u poređenju sa ženama sa visokim gradusom tumora (19). Postoji zapaženje da serozni tumori niskog gradusa ne reaguju na tradicionalne hemioterapijske režime (20) i da su alternativni pristupi obavezni, naročito za lečenje rekurentnih tumora.

1.2.2. Endometrioidni karcinom jajnika

Većina endometrioidnih karcinoma jajnika obično je u ranom stadijumu (stadijum I) i niskog gradusa. Prevalencija ove histološke varijante tumora je smanjena u poslednjih nekoliko godina, verovatno zbog bolje patološke dijagnoze. Oni trenutno čine 10% karcinoma jajnika. Endometrioza i endometrioidne ciste se smatraju prekusornim lezijama endometrioidnog karcinoma jajnika. Detektovana je mutacija ARID1A kod endometrioidnih cisti i endometrioidnog karcinoma jajnika, što ukazuje na ulogu u nastanku tumora (21).

1.2.3. Mucinozni karcinom jajnika

Mucinozni karcinom jajnika je relativno redak i čini 5-10% primarnih malignih neoplazmi jajnika, a većina pacijentkinja je u četvrtoj ili petoj dekadi života. Oko 5% ovih tumora je bilateralno (22). Prema definiciji Svetske zdravstvene organizacije (SZO), mucinozni maligni tumori su invazivne epitelne neoplazme jajnika sastavljene od ćelija koje su u dobro diferentovanim područjima slične intestinalnom ili endocervikalnom epitelu.

Diferencijalno dijagnostički, mucinozne karcinome jajnika treba razlikovati od metastatskih mucinoznih karcinoma koji se klinički prezentuju kao primarni tumori jajnika. U ovarijume najčešće metastaziraju mucinolni karcinomi apendiksa, kolona, pankreasa, bilijarnog trakta, želuca i cerviksa (22-24). Histološki, u prilog metastatskom mucinoznom

karcinomu govore bilateralnost, multinodularnost, vaskularna invazija i prisutvo tumora na površini jajnika. (25).

1.2.4. Svetloćelijski karcinom jajnika

Svetloćelijski karcinom jajnika čini oko 5% karcinoma jajnika, iako incidencija varira u svetu. Ovaj tip karcinoma je češće zastupljen kod žena u Japanu. Prognoza za stadijum I svetloćelijskog karcinoma je relativno dobra. Međutim, uznapredovali stadijum svetloćelijskog karcinoma ima lošiju prognozu od seroznog karcinoma jajnika, kao tumor koji ima tendenciju da daje manji odgovor na standardnu hemioterapiju koja se koristi kod karcinoma jajnika. Svetloćelijski karcinom se takođe povezuje sa endometriozom i značajnim procentom prisustva ARID1A mutacije (26).

1.2.5. Tranzicioćelijski (Branerov-og i ne Brannerov-og tipa) karcinom jajnika

Primarni tranzicioćelijski karcinom jajnika je redak, ali karcinomi sa prelaznim karakteristikama su sasvim uobičajeni. Većina ove druge varijante su nalik seroznom karcinomu visokog gradusa i pokazuju WT1 pozitivnost (8).

1.2.6. Ostali karcinomi jajnika

Mešoviti karcinomi se dijagnostikuju kada se tumor sastoji od više od jednog histološkog tipa i jedna ili više komponentni u odnosu na predominantnu obuhvataju najmanje 10% tumora pri pregledu pod miksokopom (8).

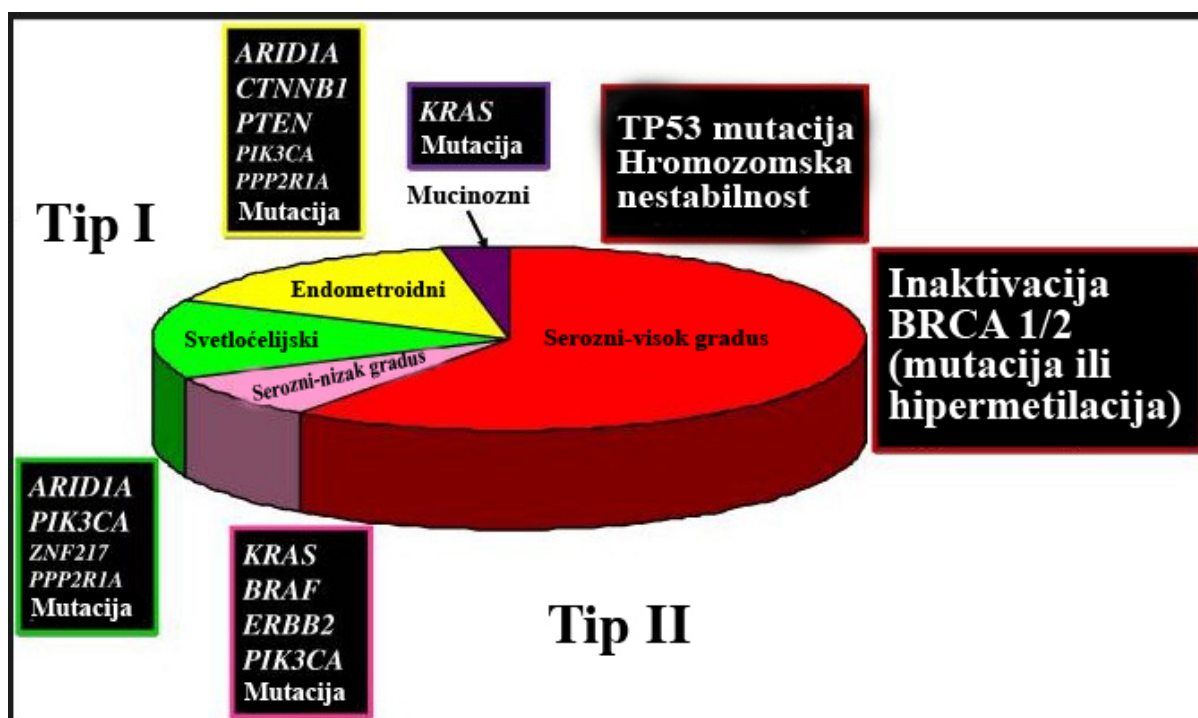
Nediferentovani karcinomi su oni koji ne pokazuju nikakvu diferentovanost ili imaju manja područja diferencijacije prema SZO. Veoma su retki i verovatno da predstavljaju jedan deo visokog gradusa seroznog karcinoma (27).

1.2.7. Granični (borderline)- tumori niskog malignog potencijala

Granične tumore jajnika čine oko 1-15% tumora ovog organa i ne uklapaju se ni u kategoriju benignih ni malignih tumora. Karakterišu se kao epitelni tumori sa stratifikovanim rastom bez destruktivne stromalne invazije. Kao i većina tumora jajnika, i oni su seroznog porekla. Granični serozni tumori su najčešći tip ali javljaju se takođe i granični mucinozni i endometrioidni tumori. Granični serozni tumori čine deo spektra niskog gradusa seroznog karcinoma. Njihovo primarno lečenje je hirurško i slabo reaguju na hemioterapiju (8).

1.3. Molekularna patogeneza karcinoma jajnika

Karcinom jajnika je prepoznat kao heterogena bolest, i u poslednjih nekoliko godina dualistički model patogeneze ove bolesti deli epitelne tumore u dva tipa: tip 1 i tip 2 karcinoma jajnika. Ova klasifikacija nije namenjana da zameni histološke podtipove ali daje paralelnu terminologiju koja se odnosi na mahanizam razvoja karcinoma (27). Tip 1 karcinoma obuhvata nizak gradus i indolentne tumore i uključuje nizak gradus seroznog, endometrioidnog, mucinoznog, svetloćelijskog i malignog Brenner-ovog tumora. Ovi tumori se karakterišu mutacijama KRAS, BRAF, ERBB2, PTEN, PIK3Ca i ARID1A i relativno su genetski stabilni. Ove mutacije se javljaju rano u evoluciji tipa 1 karcinoma jajnika i takođe su primećene u borderline tumorima i endometriozu. Razvoj tumora od benignih prekursornih lezija (borderline tumora) do malignih lezija u tipu 1 karcinoma sada je dobro poznat. Nasuprot tome, ne postoji jasan prekursor lezija za tip 2 karcinoma. U ovu grupu spadaju tumori visokog gradusa, agresivni tumori koji sadrže serozni karcinom visokog gradusa, endometrioidni karcinom visokog gradusa, maligni mešoviti mezodermalni tumori i nediferentovani tumori. Tumori tipa 2 su veoma često udruženi sa TP53 mutacijama i jedna studija je pokazala da je 97% seroznih karcinoma visokog gradusa bilo povezano sa TP53 mutacijom. Oko 20% ovih tumora takođe su nosili BRCA1/2 mutaciju zbog kombinacije germinativnih i somatskih mutacija (28). Poslednjih nekoliko godina, postoje dokazi koji pokazuju da većina seroznih karcinoma visokog gradusa i peritonealnih tumora potiče od fimbrija falopijevih tuba (serozni intraepiteni karcinom tube) (29,30). Ove maligne ćelije onda metastaziraju u jajnike i peritonealnu šupljinu.



Slika 1. Shematski prikaz prevalencije histoloških tipova epitelnog karcinoma jajnika i njihova udruženost sa molekularnim genetskim promenama. (Kurman RJ, Shih IeM. Hum Pathol 2011;42:918-31.)

1.4. Simptomi i klinička slika karcinoma jajnika

Karcinom jajnika predstavlja veliki problem u dijagnostičkom smislu jer ne postoje karakteristični simptomi bolesti. Sve tegobe koje mogu da se jave su nespecifične, a mogu i u potpunosti da nedostaju zbog čega je karcinom jajnika nazvan “tihi ubica”. Posledica toga je činjenica da se i dalje uglavnom dijagnostikuje u odmaklom stadijumu bolesti kada su mogućnosti za izlječenje u velikoj meri smanjene. Prepoznavanje simptoma u ranim stadijumima imalo bi značajnu ulogu u blagovremenom javljanju ovih pacijentkinja lekaru i nezanemarivanju najčešće nespecifičnih simptoma, što bi moglo uticati na poboljšanje ukupnog preživljavanja, obzirom da je stadijum bolesti nezavistan prognostički faktor kod karcinoma jajnika.

Najčešći simptomi koji se javljaju kod žena sa karcinomom jajnika su: bol u leđima, slabost, napetost trbuha, gubitak apetita, opstipacija, abdominalni bol i urinarni simptomi, rektoragija i retko postmenopausalno krvarenje-samo stromalni tumori.

Kod tumora manjih od 15 cm, koji su još uvek ograničeni na prostor male karlice, najčešće se javlja osećaj stranog tela i pritiska u donjem delu trbuha, nelagodnost, dizurične

tegobe, opstipacija i diskretni ili umereni bolovi zbog zatezanja ligamanata ili nekompletne torzije tumora.

Kod tumora većih od 15 cm, koji napuštaju prostor male karlice i zauzimaju veći deo trbušne šupljine, dominira digestivna simptomatologija. Bolesnice se često žale na gubitak apetita, mučninu, gađenje, povraćanje i umeren bol u trbuhu. Kod njih se dijagnoza postavlja najčešće u okviru dijagnostičkih postupaka na odeljenju za gastroenterologiju.

Biološki aktivni tumori daju simptome koji su posledica hormonskih dejstava estrogena, progesterona i testosterona. Pod uticajem hormona mogu da se jave poremećaji ciklusa, krvarenje nakon menopauze (bez prethodne primene sustitucione terapije i bez pozitivnog patohistološkog nalaza na kiretmanu), kao i pojava virilizacije.

Kod odmaklog stadijuma bolesti česta je pojava ascita i pleuralnih izliva, usled čega može da dođe do anoreksije, tahikardije i dispneje. Kod metastatskih promena na kostima javljaju se bolovi u određenoj regiji koštanog sistema.

Pratni simptomi kod karcinoma jajnika mogu da se jave u vidu povišene temperature i leukocitoze, što je posledica nekroze tumora i raspada tumorskih ćelija. Često dolazi do promena u telesnoj težini. U oko 40% slučajeva dolazi do smanjenja telesne težine zbog izražene digestivne simptomatologije, ali je moguće i povećanje telesne težine usled pojave ascita, što se uočava kod oko 20-30% pacijntkinja. Slika akutnog abdomena kod karcinoma jajnika je retka i posledica je torzije tumora, rupture, hemoragije i nekroze. Od paraneoplastičnih pojava najčešće se uočava hiperkalcemija. Zbog degeneracije Purkinjeovih ćelija retko može da dođe do pojave ataksije, vertiga, dizartrijske, nistagmusa i statičkog tremora (31).

1.5. Dijagnostički postupci za karcinom jajnika

Pacijenti sa karcinomom jajnika mogu imati nekoliko simptoma ili mogu da budu bez simptoma, što čini kliničku dijagnozu težom u ranom stadijumu bolesti. Simptomi se najčešće javljaju kod uznapredovalog stadijuma bolesti. Nakon potpune kliničke procene, merenje serumskog Ca 125 se rutinski koristi radi dopune dijagnoze. Međutim, njegova korist za rano otkrivanje bolesti je pod znakom pitanja jer je povišen samo u oko 50% pacijenata u prvom FIGO stadijumu bolesti. Kod uznapredovale bolesti, Ca 125 je povišen kod oko 85% pacijenata. Nije specifičan za karcinom jajnika jer se povećani nivoi Ca 125 mogu naći i kod drugih maligniteta (karcinoma dojke, pluća, debelog creva i karcinoma pankreasa) i benignih

bolesti (endometrioza, inflamatorne bolesti u maloj karlici i ciste jajnika). Kod mlađih žena vrši se određivanje koncentracije tumorskog markera beta-HCG i AFP u cilju isključivanja prisustva tumora porekla germinativnog epitela. Serumski karcinoembrionalni antigen (CEA) i Ca 19-9 su ponekad korisni u situacijama kada je nejasno da li je ovarijalna masa gastrointestinalnog porekla, ili se radi o primarnom mucinoznom tumoru jajnika. U ovakvim situacijama kolonoskopija i/ili gastroskopija su veoma važne dijagnostičke procedure ukoliko je Ca 125/CEA odnos ≤ 25 . Poseban značaj u neinvazivnoj dijagnostici karcinoma jajnika daje se ultrazvučnom pregledu i dopler sonografiji koje su obično prve dijagnostičke metode koje se preporučuju u slučajevima sumnjivim na karcinom jajnika. Ultrazvučnim pregledom abdomena i male karlice mogu se detaljno sagledati i svi delovi trbušne duplje (jetra, slezina, paraaortalni limfni čvorovi, prisustvo slobodne tečnosti). Transvaginalna ultrasonografija poboljšava vizualizaciju struktura karcinoma jajnika i poboljšava diferencijaciju malignih od benignih stanja (32). Brojne morfološke karakteristike su identifikovane kao veoma povezane sa karcinomom jajnika. Prisustvo velikih lezija, multilokularnih cisti, solidnih papilarnih struktura i neravnine na unutrašnjoj strani tumorskog zida, iregularnih unutrašnjih pregrada-septi, multicističnih delova unutar solidnog tumora, solidne tumore "kompleksne građe" i slobodne tečnosti-ascita su veoma sugestivni-sumnjivi na karcinom jajnika. Primenom dopler sonografije, pored morfologije, dobijaju se podaci o vaskularizaciji tumora. Karcinomi jajnika karakterišu se neovaskularizacijom i prisustvom novostvorenih arteriovenskih komunikacija, što dovodi do smanjenog otpora protoku krvi kroz krvne sudove. Index "rizika od maligniteta" može se izračunati na osnovu kliničkih faktora, ultrazvučnih parametara i vrednosti Ca 125 što može biti od znatne koristi ginekološko onkološkom timu. Kompjuterizovana tomografija (CT) se rutinski koristi za određivanje stepena proširenosti bolesti i kao pomoć kod planiranja hirurške intervencije. Za određivanje prisustva pleuralne efuzije ili bolesti iznad dijafragme koristi se kompjuterizovana tomografija (CT) grudnog koša ili rentgen snimak pluća. Pleuralni izliv ne može se smatrati malignim i ukazivati na IV FIGO stadijum bolesti bez potvrde pozitivne citologije. Magnetna rezonanca (MR) ne čini deo rutinske pretrage. Kada postoji sumnja na prisustvo metastaza može se primeniti pozitronska emisiona tomografija ili PET sken (8).

1.6. Lečenje karcinoma jajnika po stadijumima bolesti

Karcinom jajnika je maligno oboljenje čiji se stadijum može odrediti jedino hirurškim putem uz patohistološku dijagnostiku. Najčešće je dovoljna intraoperativna histopatologija smrzutog uzorka, ali je potrebno sačekati definitivne rezultate svih uzetih biopsija da bi se eventualno planirala sledeća operacija, posebno u slučaju kada je potrebno i eventualno moguće sačuvati privremeno fertilitet.

Tri najznačajnija faktora u prognozi daljeg toka i ishoda bolesti kod epitelnih karcinoma jajnika su: 1. proširenost bolesti (FIGO stadijum) u trenutku postavljanja dijagnoze; 2. volumen rezidualnog tumora posle hirurškog lečenja; i 3. histološki gradus tumora koji je značajan prognostički faktor kod pacijentkinja sa ranim stadijumom bolesti.

Faktori visokog rizika za nastanak recidiva obuhvataju: loše diferentovani tumor (G3), rupturu tumorske kapsule, pozitivan nalaz peritonealne citologije i širenje tumora izvan jajnika na okolne površine.

Bolju prognozu bolesti imaju pacijentkinje kod kojih je bolest rano otkrivena, serozna komponenta tumora i mlađe životno doba.

Prognostički faktori kod uznapredovalog stadijuma (FIGO stadijum III i IV) uključuju: volumen rezidualnog tumora posle primarnog hirurškog lečenja, godine starosti, histološki tip i stepen ćelijske diferencijacije tumora.

Lošu prognozu i ishod bolesti imaju pacijentkinje sa velikim volumenom rezidualnog tumora, starijim životnim dobom, svetloćelijskim histološkim tipom tumora (clear cell), i loše diferentovani tumori (G3).

1.6.1. Terapijski plan za rane stadijume bolesti

Inicijalna primarna hirurgija zauzima ključno mesto u lečenju karcinoma jajnika. Ona najčešće predstavlja i prvi terapijski zahvat koji omogućava istovremeno i hirurško stadiranje tumora. Za razliku od drugih malignoma genitalnog trakta (cervix), stadiranje karcinoma jajnika nije kliničko, već hirurško sa histopatološkom proverom. Od pravilnog stadiranja zavisi i prognoza bolesti.

Karcinom jajnika se širi:

1. Direktnim kontaktom po peritoneumu i susednim pelvičnim i abdominalnim organima
2. Limfatičnom diseminacijom od ilijačnih limfatika do pelvičnih limfnih nodusa

3. Od limfatika duž ovarijalnih krvnih sudova do paraaortalnih limfnih nodusa, naročito u predelu renalnih krvnih sudova
4. Hematogeno (jetra, pluća i dr.)

Određivanje stadijuma karcinoma jajnika vrši se prema kriterijumima FIGO (Federation Internationale de Gynecologie et Obstetrique) klasifikacije na osnovu rezultata dobijenih hirurškom eksploracijom, kao i na osnovu konačne histopatološke i citološke analize posle hirurškog zahvata.

Za rane stadijume bolesti početak lečenja, pored svega što je već urađeno u hirurškom stadiranju, podrazumeva totalnu adbominalnu histerektomiju i adneksotomiju još neodstranjenih adneksa.

Poseban tip hirurških intervencija kod karcinoma jajnika su konzervativne operacije kod mlađih pacijentkinja sa nezavršenom reproduktivnom funkcijom. Kriterijumi za izvođenje ovakvih “poštednih” operacija moraju biti strogi zbog napred navedenih mogućnosti postojanja okultnih metastaza.

Kriterijumi za izvođenje konzervativne operacije su: mlade žene niskog pariteta, dobro diferentovan tumor (G1), stadijum bolesti 1a, inkapsuliran tumor bez adhezija i da nema ascitesa, bez invazije kapsule, limfatika i mezo ovarijuma, peritonealni ispirak negativan, biopsija drugog jajnika i omentuma negativna, normalan nalaz u karlici (da genitalije nisu na drugi način komprimovane), moguće česte kontrole i praćenje, kompletiranje hirurške intervencije nakon porođaja i da je pacijntkinja ipak spremna da snosi odgovarajući rizik za svoju odluku (33,34).

1.6.2. Terapijski plan za uznapredovali karcinom jajnika

1.6.2.1. Citoreduktivna hirurgija

Citoreduktivna hirurgija je standard u lečenju uznapredovalog karcinoma jajnika. Veliki broj slučajeva (75-80%) karcinoma jajnika dijagnostikuje se kada se bolest proširila van jajnika. Često se pacijenti sa uznapredovalim karcinomom jajnika javljaju sa distendiranim trbuhom, sa ascitesom i velikim tumorskim masama u karlici i gornjem abdomenu. Uklanjanje velikih tumorskih masa poboljšava terapijski učinak citostatika na preostali tumor. Velike slabo vaskularizovane tumorske mase imaju veliku frakciju ćelija u neproliferativnoj fazi, kada su relativno neosetljive na dejstvo citostatika. U nekolicini kliničkih studija pokazano je da je srednje preživljavanje posle optimalne citoredukcije

(preostali depoziti manji od 1 cm) bilo 39 meseci, u poređenju sa 17 meseci kod suboptimalne citoredukcije. Ipak, ne postoje randomizovane kliničke studije koje podržavaju agresivnu debulking hirurgiju. Moguće je da pacijentkinje koje imaju tumor manjeg volumena imaju tumor koji je biološki manje agresivan nego one kod kojih je citoredukcija dovela do rezidualne bolesti iste zapremine posle uklanjanja velike tumorske mase.

Hirurgija pre hemioterapije, radi dijagnostike i citoredukcije, je standardni postupak. Kod pacijenata kod kojih nije moguće sprovesti optimalnu citoredukciju u prvom aktu, još uvek se ispituje potencijalna korist od kratkog indukcionog tretmana hemioterapije pre citoreduktivne hirurgije. Dva do tri ciklusa povećavaju procenat pacijentkinja kod kojih će citoredukcija biti uspešna, sa smanjenjem operativnog morbiditeta.

Intervalna citoreduktivna hirurgija (interval debulking surgery) termin je za hirurški citoreduktivni postupak koji se radi usred hemioterapijskog tretmana kod pacijentkinja kod kojih je inicijalna citoredukcija neuspešno pokušana i kod kojih bolest reaguje na hemioterapiju.

Citoreduktivna hirurgija ima za cilj uklanjanje svake makroskopski vidljive tumorske promene ($P=0$) i omogućava najveće preživljavanje. Ako to nije moguće postići u datom slučaju maksimalni hirurški tretman treba da dovede da veličina rezidualnih tumorskih promena ne bude veća od 0,5cm ($P=0,5$) ili eventualno 1 cm ($P=1$). To se smatra optimalnom citoredukcijom. U cilju maksimalne citoredukcije ponekad je potrebno uraditi različite resekcije tankog i debelog creva, peritonektomiju, splenektomiju, često resekciju repa pankreasa, površnih metastaza na jetri i dijafragmi. U određenim slučajevima može da se primeni intraperitonealna intraoperativna hemioterapija, ali je njena primena zasad ograničena (35).

1.6.3. Tretman perzistentne ili rekurentne bolesti

Kod pacijentkinja čija se bolest vrati posle više od šest meseci od završetka primarne terapije mogu imati znatnu korist od dalje hemioterapije. Kombinovana terapija daje bolji terapijski odgovor nego hemioterapija jednim citostatikom kod platina-senzitivne bolesti, ali što se tiče ukupnog preživljavanja korist nije dokazana. Značaj sekundarne citoreduktivne hirurgije još uve se ispituje u kliničkim studijama.

1.6.4. Lečenje graničnih (borderline) tumora

Osnovni terapijski tretman kod borderline tumora je hirurško lečenje. Nema dokaza da postoperativna hemioterapija poboljšava ishod kod pacijentkinja sa borderline tumorima uznapredovalog stadijuma. Ovi tumori mogu recidivirati i posle 10-15 godina.

1.6.5. Praćenje pacijenata u remisiji (follow-up)

Zbog visokog rizika od relapsa, potrebno je pratiti u tromesečnim intervalima pacijentkinje koje su u kliničkoj remisiji sa pregledom male karlice, kompjuterizovanom tomografijom abdomena i male karlice i merenjem vrednosti tumorskog markera Ca-125. Porast nivoa Ca-125 posle primarnog lečenja visoko je specifičan, naročito ako je potvrđen ponovnim testom. Studije su, međutim, pokazale da uvođenje hemioterapije u trenutku porasta Ca-125 u odnosu na uvođenje u trenutku klinički jasnog recidiva ne daje poboljšanje ni što se tiče preživljavanja, niti kvaliteta života.

1.6.6. Primena hemioterapije kod karcinoma jajnika

U poslednjih nekoliko decenija primenjivani su različiti agensi u lečenju karcinoma jajnika, počev od alkilišućih agenasa koji su se kao monohemioterapija primenjivali ranih 1970-tih godina, preko cisplatine koja je uvedena kasnih 70-tih godina prošlog veka i, nešto kasnije, karboplatine koja je zbog značajno manje toksičnosti u većini studija potisnula cisplatinu. Poslednjih godina otkriveni su mnogi novi citotoksični agensi koji pružaju znatno veće mogućnosti u lečenju ovog karcinoma. Terapijske opcije zavise od toga da li je bolesnica prethodno primala prvu liniju hemioterapije ili je terapija uključena tek kod relapsa, kao i da li je primala standardnu terapiju, ili terapiju u okviru kontrolisanih studija.

1.6.6.1. Indikacije za hemioterapiju

1.6.6.1.1. Rani stadijumi bolesti (FIGO stadijum I-IIa)

Postavlja se pitanje koji pacijenti u ranom stadijumu bolesti imaju rizik da dobiju relaps pa je potrebno da se primeni adjuvantna hemioterapija (36-40). Preživljavanje smanjuje prisustvo ascitesa sa pozitivnom citologijom.

Preporuke za adjuvantnu hemioterapiju ranog karcinoma jajnika:

- Kod optimalno operisanih pacientkinja u ranom stadijumu sa niskim rizikom za recidiv (FIGO stadijumi Ia-Ib, histološki gradus 1, sve histologije osim svetloćelijske) ne primenjuje se adjuvantna hemioterapija. (I,A)
- Kod svih ostalih pacientkinja suboptimalno operisanih i optimalno operisanih sa srednjim i visokim rizikom za recidiv (FIGO stadijum Ia-Ib histološkog gradusa 3, FIGO stadijum Ia2 i Ib2 (tumor na površini jajnika, ruptura ciste), FIGO stadijum Ic (maligni ascites, pozitivna peritonealna citologija), FIGO IIa, svetloćelijski karcinomi indikovana je primena adjuvantne hemioterapije. (I,A)
- Hemioterapijski režim: terapija na bazi platine, monokarboplatina ili paklitaksel sa karboplatinom šest ciklusa na tri nedelje.

1.6.6.1.2. Uznapredovali karcinom jajnika (FIGO stadijum IIb-IV)

Kod odmaklog stadijuma bolesti od velike važnosti je citoreduktivna hirurgija koja značajno utiče na preživljavanje, i to u zavisnosti od veličine rezidualnog tumora koja je praćena primenom hemioterapije na bazi platine.

Preporuke za sistemsku terapiju nelečenih pacientkinja sa uznapredovalim karcinomom jajnika (40,8).

- Režim izbora za prvu liniju hemioterapije u uznapredovalom karcinomu jajnika je paklitaksel 175 mg/m^2 , trosatna infuzija, i karboplatin AUC 5-7 mg/ml/min jednosatna infuzija, na tri nedelje, šest ciklusa (I,A)
- Monokarboplatina AUC 5-7 za selektovane pacijentkinje u lošijem stanju ili sa komorbiditetima
- Dozno-denzni režim (paklitaksel 80 mg/m^2 dan 1,8,15, i karboplatina AUC 5 jedan dan) na tri nedelje može se primeniti kod selektovanih pacientkinja

- U slučaju pojave hipersenzitivne reakcije na platinu, razmotriti protokol desenzitizacije pre primene narednog ciklusa
- Intraperitonealna hemioterapija i pored velike prednosti u preživljavanju u odnosu na sami intravensku hemioterapiju, nije standard zbog znatno veće toksičnosti
- Neoadjuvantna hemioterapija praćena hirurgijom nije standard, ali može biti razmotrena za pacijentkinje stadijuma IIIc-IV kod kojih je nemoguće sprovesti inicijalnu citoredukciju (obično se daju 3-4 ciklusa iste hemioterapije, ne više od ukupno 9 ciklusa (III))
- Terapija održavanja nije standard, a biloška terapija je obećavajuća.

1.6.6.1.3. Recidivirajući karcinom jajnika

Mnoge bolesnice sa karcinomom jajnika u stadijumu III i IV imaju relaps unutar 1-2 godine od inicijalne terapije. Konvencionalni stav je kada se relaps javi u prvih 6 meseci od primarne terapije bolesnice treba smatrati rezistentnim na platinu. Ukoliko se relaps javi 1-2 godine nakon inicijalne terapije, može se očekivati sličan odgovor na platinu kao i kod primarnog davanja.

Vreme relapsa odražava hemiosenzitivnost tumora tako da kod ranog relapsa ne treba očekivati odgovor ni prilikom primene drugih hemioterapijskih agenasa.

Sekundarna terapija ima bolje rezultate ukoliko je prošlo više od 6 meseci (kasni relaps) od završetka primarne terapije do pojave recidiva. Rezistentnost na platinu nije apsolutna tako da izvesni pacijenti mogu da se ponovo tretiraju platinom i kod ranog relapsa.

Za većinu pacijenata sekundarna terapija je palijativna tako da treba odabrati protokol koji je manje toksičan i pogodniji za davanje.

Kategorizacija, nedavno ažurirana i potvrđena na 4-tom sastanku o karcinomu jajnika (GCIG) definiše grupe pacijenata u odnosu na odgovor na primenjenu terapiju platine: 1. “platina-refraktorni” pacijenti su oni kod kojih je nastupila progresija u toku terapije ili unutar 4 nedelje nakon poslednje terapije; 2. “platina-rezistentni” pacijenti sa progresijom unutar 6 meseci od primene terapije na bazi platine; 3. “parcijalno platina-senzitivni” pacijenti kod kojih se javlja progresija unutar 6-12 meseci; 4. “platinum-senzitivni” sa progresijom u intervalu većem od 12 meseci (GCIG Consensus) (8)

Preporuke za sistemsku terapiju pacijentkinja da recidivirajući karcinomom jajnika (8,41):

- Ne preporučuje se rana primena hemioterapije u izolovanom “marker relapsu”
- Najvažnije je razmotriti senzitivnost na platinu, toksičnost, kombinovanu terapiju ili monoterapiju

- Platinum-senzitivna bolest:

Retretman na bazi platine dubletima (paklitaksel/karboplatin, gemcitabin/karboplatin, docetaksel/karboplatin...), a ako se proceni da pacijentkinja nije kandidat za kombinovanu hemioterapiju, razmotriti davanje monoagensa, prvestveno platinu.

- Platinum rezistentna/refraktorna bolest:

Neplatinski monoagens (PLD, topotekan, gemcitabin, paklitaksel u nedeljnom režimu, docetaksel, oralni etopozid, trabektedin) ili “stari” citostatici (melfalan, oralni ciklofosamid...)

Može se razmotriti kombinovana hemioterapija, najčešće bazirana na doksorubicinu (PAC režim) ili druge neplatinske kombinacije

- Hormonska terapija (tamoksifen, progestini)

1.6.6.1.4. Bevacizumab u lečenju karcinoma jajnika

Napredak lečenja epitelnog kancera jajnika (EOC) hirurgijom i hemioterapijom je od velikog značaja. Međutim, u novije vreme značajna je inhibicije angiogeneze kao novi pristup u lečenju ovog malignoma. Angiogeneza je proces stvaranja novih krvnih sudova pod uticajem faktora rasta porekla samog tumora parakrinim mehanizmom, koji deluju preko više različitih puteva koji se mogu podeliti na fazu inicijacije i fazu maturacije. Faza inicijacije je pod kontrolom citokina koje luči tumor, kao što je vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF) koji dovodi do razvoja nezrele mreže novih krvnih sudova sa oštećenjem permeabilnosti. Ovaj faktor rasta je centralni promoter u aktivaciji angiogeneze. U fazi maturacije nova vaskularna mreža postaje funkcionalna i dovodi do tumorske proliferacije, invazije i metastaziranja. Ekspresija VEGF i drugih angiogenetskih faktora direktno korelira sa stepenom proširenosti bolesti, i u obrnutoj korelaciji je sa dužinom preživljavanja bez progresije i ukupnim preživljavanjem bolesnica sa EOC, i često je nezavistan od drugih poznatih prognostičkih faktora. Kao nova terapijska meta identifikovan je VEGF pa su mnogobrojni VEGF inhibitori u fazi ispitivanja u terapiji EOC. Svi oni se klasifikuju prema mehanizmu dejstva na dve grupe: 1. Agensi koji u cirkulaciji neutrališu VEGF kao što je

bevacizumab, humanizovano monoklonsko antitelo; 2. drugi agensi koji blokiraju prenos signala na nivou receptora za VEGF i druge angiogenetske faktore rasta (42).

U dve velike studije GOG 0218 i ICON 7 evidentirano je produženo vreme do progresije bolesti kod bolesnica sa karcinomom jajnika. U jednoj studiji uključeni su uznapredovali stadijumi bolesti III-IV, dok su u drugoj bili zastupljeni svi stadijumi bolesti od I-IV. Primenjena je različita doza bevacizumaba (15mg/kg vs 7,5mg/kg), kao i različita dužina primene bevacizumaba (15 meseci vs 12 meseci). Rezultati kombinovane primene bevacizumaba sa standardnom hemioterapijom paklitakselom i karboplatinom nude novi efikasan put u lečenju karcinoma jajnika (43,44).

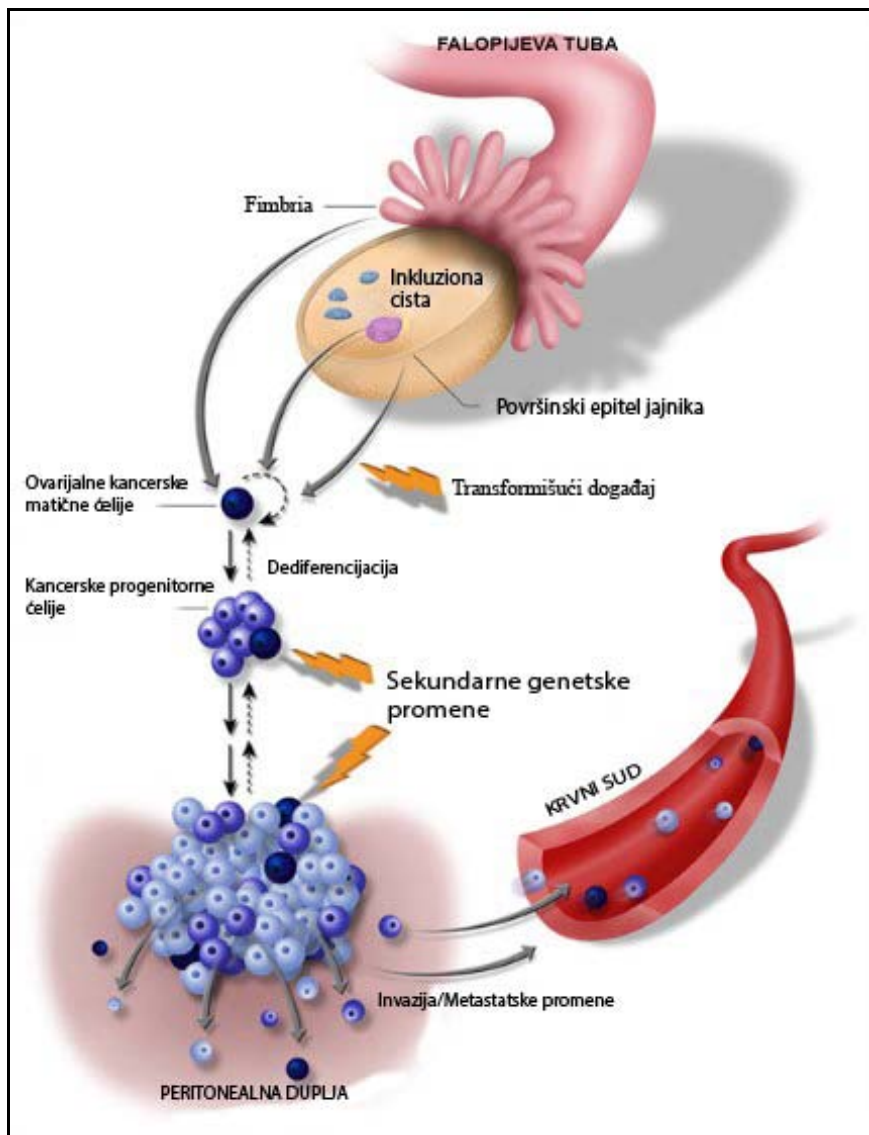
1.7. Markeri

1.7.1. Nanog

Ćelije karcinoma i embrionalne matične ćelije (ESCs) dele mnoge ključne biološke osobine. Glavna osobina oba ćelijska tipa je posedovanje velikog proliferativnog potencijala koji je važan za embriogenezu i razvoj tumora. Pluripotentnost je takođe bitna za ESCs i dovodi do diferenciranja ćerki ćelija u zreloom embrionu. Slično tome, izgleda da postoje multipotentne kancerske ćelije koje mogu nakon transplantacije da daju tumor iz koga su potekle (45). Takve tumor inicirajuće ćelije, često označene kao kancerske matične ćelije (CSCs), doprinose tumorskoj homeostazi, međutim, molekularni mehanizmi koji su u osnovi stalnog rasta i plastičnosti CSCs su slabo razjašnjeni. Samoobnavljanje je od suštinskog značaja za održavanje populacije matičnih ćelija (SC), što je dokazano testovima rasta i za ćelije karcinoma. One se obnavljaju kroz serijsku transplantaciju tumora i formiranje formacija sfera u assays-u. Nedavno je pokazano da pojedinačne ćelije karcinoma kolona, koje potiču iz sferičnih telašaca i mešavine ćelijskih linija tumora, nastaju iz kancerskih ćelija koje ispoljavaju markere CSCs (46).

Gonade (jajnici i testisi) se tokom embrionalnog razvoja najranije diferenciraju. Neki specifični transkripcioni faktori ESCs nisu potpuno pritajeni ili suprimirani u gonadama što je prikazano za Oct4 i Nanog u testisima. Njihova ekspresija prisutna je u tumorima germinativnih ćelija testisa, kao što je seminom (47). Veruje se da Oct4, Nanog i Sox2 održavaju pluripotentnost spermatogonijalnih matičnih ćelija i čuvaju ih kao nediferentovane u stanju samoobnavljanja (48). Kod adultnih tkiva oni su pritajeni, ali ako se aktiviraju mogu povećati mogućnost nastanka maligniteta. (49). Kod karcinoma testisa pokazano je da je ekspresija Oct4 veoma izražena kod seminoma i ostalih tumora germinativnih ćelija (47).

Molekulski mehanizmi koje poseduju ESCs u samoobnavljanju, takođe mogu da učestvuju i u obnavljanju kancerskih ćelija i u tumorogenezi. Transkripcioni faktori predstavljaju važne molekulske prekidače u regulisanju razvoja SC.



Slika 2. Shematski prikaz kancerskih maticnih ćelija kod karcinoma jajnika. (Kurman RJ, Shih IeM. Hum Pathol 2011;42:918-31.)

Tri transkripciona faktora, Sox2, Oct 3/4 i Nanog formiraju jezgro regulatorne mreže koja kontrološe obnavljanje ESC i diferencijaciju (50,51). Nanog je eksprimiran ne samo kod tumora porekla germinativnih ćelija, već i kod ostalih karcinoma kao što su karcinom dojke (52,53), i karcinomi grlića materice (54), usne duplje (55), bubrega (56) i jajnika (57). Takođe, ektopična ekspresija Oct4 kod transgeničnih miševa dovoljna je da indukuje hiperplaziju i displaziju epidermisa i crevnih (intestinalnih) kripti, a prekomerna ekspresija Nanog dovodi do proliferacije i transformacije NIH3T3 ćelija što ukazuje na njegov maligni potencijal i tumorogenezu (58).

Kancerske ćelije koje ekspimiraju OCT mRNA su često obeležene kao “navodne CSC”. (59). Potencijalna opasnost u pravljenju takve veze je da ima više primeraka Oct4 promenjenih ali nefunkcionalnih pseudogena (60) koji mogu imitirati pravilno mRNA i generisati produkte lažno pozitivne u real-time (realnom vremenu) polimeraza lančanoj reakciji (RT PCR) (61). Kod nekih “OCT pozitivnih” linija kancerskih ćelija kasnije je utvrđeno da nedostaje ekspresija OCT4 mRNA i proteina (62). Urađena genetska analiza ne podržava značajnu ulogu Oct4 u regulisanju normalnih mišjih somatskih matičnih ćelija (63).

S druge strane, nedavne studije pokazuju da je Oct4 važan medijator nekih fenotipova kancerskih ćelija, uključujući preživljavanje i invaziju (64,65). Kao Oct4, i Nanog je primećen kod nekih tumora ne-germinativnih ćelija i takođe poseduje multiple pseudogene. Međutim, sveobuhvatne i sistematske studije ekspresije NANOG mRNA i Nanog proteina u humanim tumorskim ćelijama još uvek nedostaju. Još važnije je da ostaje nejasno da li ekspresija Nanog u kancerskim ćelijama ima ulogu u razvoju tumora.

U istraživanju Jetera i saradnika (66) testirana je hipoteza da samoobnavljanje molekula Nanog u ESC doprinosi kloniranju kancerskih ćelija i tumorogenezi. Pružaju se ubedljivi dokazi da tumorske ćelije *in vitro* i *in vivo* ekspimiraju Nanog gen i da je Nanog protein funkcionalno važan u regulaciji razvoja tumora kod ljudi.

U istraživanju Amsterdama i saradnika (67) ispitivano je prisustvo Nanog kod karcinoma jajnika koji može biti u sličnom razvojnom stadijumu kao i kod muških gonada. Najnoviji napredak u istraživanju karcinoma otkriven je među specifičnim transkripcionim faktorima. Kod različitih humanih karcinoma ekspimirani su Oct4 i Nanog. Ekspresija Nanog udružena je sa uznapređovalim stadijumom i lošom prognozom kod nekih tipova karcinoma, uključujući karcinom jajnika (68-79). Međutim, precizna lokalizacija Nanog kod borderline tumora jajnika i karcinoma jajnika još uvek nije detaljno ispitana.

Nanog je transkripcioni factor koji zajedno sa Oct4 i Sox2 ima ulogu u održavanju samoobnavljanja nediferentovanih ESCs. On je regulisan različitim spoljašnjim i unutrašnjim signalnim putevima (80). Nanog, Oct4 i Sox2 su specifični transkripcioni faktori koji su korišćeni za reprogramiranje ili prate reprogramiranje somatskih adultnih ćelija u indukovane pluripotentne stem (iPS) ćelije (81). Njihova ekspresija potisnuta je sa p53 što sugerise da je ova supresija povezana sa p53 tumor supresornom aktivnošću kancerskih ćelija (82). Mutacija i disfunkcija p53 može ushodno da reguliše Nanog što može ubrzati reprogramiranje i formiranje iPS ćelija, kao što takođe slično utiče i na proliferaciju

tumorskih ćelija. S druge strane, p53 supresija Nanog u ESCs dovodi do njihove diferencijacije (83).

Funkcija Nanog je da blokira diferencijaciju ESCs i zadrži njihovo stanje pluripotentnosti, što ukazuje da postoji veza između ESCs, samoobnavljanja i inhibicije diferencijacije kancerskih matičnih ćelija. Nanog takođe može biti aktiviran spoljnim faktorima uključujući HIF, Hedgehog, LIF i TGF- β /activin/nodal (84-87). Nanog ekspresija regulisana je ES-specifičnim microRNAs (88). Pored Nanog1, autentičnog gena koji kodira Nanog, postoji i 10 pseudogena za Nanog u humanom genomu (89).

Ispitivanjem ekspresije Nanog u kliničkim studijama pokazano je da je Nanog prekomerno eksprimiran kod različitih karcinoma. Ekspresija Nanog1 gena dokazana je u najmanje nekoliko kancerskih ćelijskih linija (90). Treba napomenuti da je Nanogp8 gen eksprimiran kod više tipova karcinoma (91). On promovise ćelije sa karakteristikama sličnim matičnim ćelijama i dovodi do progresije karcinoma (66). Verovatno je da i Nanog1 i Nanogp8 doprinose razvoju karcinoma posredovanog Nanog-om.

Nedavno je ekspresija Nanog istraživana kod ćelija humanih karcinoma debelog creva. Ovi podaci ukazuju da iako su i Nanog1 i Nanogp8 eksprimirani u mnogim ćelijama karcinoma debelog creva, oni su izraženi u različitim odnosima i zavise od ćelijskih kultura. Ispitivanje subćelijske lokalizacije ukazuje da je Nanog uglavnom lokalizovan u citoplazmi (90,91) dok je u drugim slučajevima uglavnom lokalizovan u jedru. Pored toga, inhibicija Nanog sa miRNA kod ćelija karcinoma debelog creva dovodi do inhibicije rasta u *in vitro* kulturama kod xenografta miševa, što ukazuje na pozitivnu ulogu Nanog u proliferaciji ćelija karcinoma debelog creva (92). Međutim, ne postoji dokaz o lokalizaciji matičnih ćelija sa ekspresijom Nanog kod humanih karcinoma jajnika.

Ćelije karcinoma u tumoru su heterogene i imaju malu subpopulaciju jedinstvenih neoplastičnih ćelija koje poseduju osobine ćelija nalik matičnim, i koje su odgovorne za rast tumora, nastanak metastaza, rezistenciju na terapiju, progresiju tumora, recidiv tumora posle terapije, samoobnavljanje ili diferencijaciju u progenitorske ćelije koje mogu da se delimično diferenciraju u sve tipove brzo proliferišućih neoplastičnih ćelija unutar istog tumora formirajući tako tumorsku masu. Ove ćelije karcinoma koje se samoobnavljaju su retke ali dugoživeće i nazvane su CSCs (93). Postojanje CSCs kod malignih tumora može objasniti činjenicu da solidni tumori nisu homogeni po morfologiji i da sadrže multiplu, delimično diferenciranu populaciju ćelija karcinoma u različitim stadijumima istog maligniteta koja

može da postoji kod istog pacijenta (45). Samo ciljanje ove populacije ćelija, koje pokazuju brojne važne fenotipske, biološke i funkcionalne karakteristike povezane sa normalnim matičnim ćelijama, može konačno dovesti do izlječenja bolesti. Ovo takođe može biti razlog za neuspeh konvencionalnih antikancerskih terapija, zbog činjenice da su CSCs otpornije na lekove i mogu biti odgovorne za recidiv tumora. Temeljno razumevanje osobina CSCs je važno u cilju rasvetljavanja mehanizama uključenih u karcinogenezu i traženje adekvatnog terapijskog tretmana (94).

Smatra se da CSCs nastaju mutacijom u matičnim ćelijama različitih tipova tkiva (93) i imaju važnu ulogu u razvoju i održavanju neoplazme (95-98).

LGR5 je G protein sa 7 trans-membranskom subjedinicom koji pripada superfamiliji glikoproteinskog hormonskog receptora i eksprimira se kod skeletnih mišića, placente, kičmene moždine i tkiva mozga. Inicijalno je pronađeno da ovaj receptor kontroliše diferencijaciju i rast specifičnih embrionalnih tkiva. Kasnije studije pokazale su njegovu ekspresiju kod hepatocelularnog karcinoma (HCC) i kolorektalnog karcinoma (CRC). Međutim, mehanizmi koji leže u osnovi uključivanja LGR5 u proces karcinogeneze nisu razjašnjeni. Opšte prihvaćeno je da WNT/-catenin put ima važnu ulogu u CRC tumorogenezi. Malo se zna o vezi između ekspresije LGR5 i WNT/-catenin puta kod CRC. Od značaja je utvrđivanje koespresije Nanog u LGR5 kao markera matičnih ćelija kod karcinoma jajnika. Otkriveno da su Nanog i LGR5 ko-esprimirani kod normalnih jajnika postmenopauzalnih žena, uglavnom u epitenim ćelijama, i u grupisanim stromalnim ćelijama. Nasuprot tome, u karcinomu jajnika je otkrivena isključivo ekspresija Nanog bez ekspresije LGR5. Nađen je i značajan broj tumora jajnika koji nije eksprimirao Nanog. Prisustvo ili odsustvo ekspresije Nanog u različitim tumorima jajnika može podržati ideju o visokom i niskom gradusu karcinoma jajnika koji verovatno potiču iz različitih lokusa (99).

Nanog ima glavnu ulogu u samoobnavljanju pluripotentnih matičnih ćelija i održavanja u nediferentovanom stanju tokom ranog embrionalnog razvoja. Pored kontrolisanja takozvanih osobina matičnosti, uloga Nanog u tumorogenezi je privukla značajnu pažnju. Markeri CSCs, koji su dobri terapijski ciljevi u različitim karcinomima su sve češći predmet istraživanja (100,101).

Nanog ekspresija, utvrđena kod ćelijskih linija karcinoma jajnika, uključena je u rezistenciju na lekove. U studiji Siu i saradnika (102) ispitivan je prognostički značaj Nanog kod karcinoma jajnika. Ocenjena je po prvi put funkcionalna uloga Nanog i isti kao meta kod

karcinoma jajnika. Na osnovu rezultata autori predlažu da Nanog može biti jedan od markera CSCs koje imaju glavnu ulogu u progresiji karcinoma jajnika. Nanog takođe može biti važan prognostički marker za identifikaciju pacijenata koji kod kojih će se postići bolji terapijski odgovor na sadašnji terapijski režim, kao terapeutski cilj lečenja karcinoma jajnika

Dinamika održavanja CSCs i širenja uglavnom je nepoznata. Transformisane ćelije su neprekidno podvrgnute imunoj selekciji. Ćelije koje mogu da prežive “napad imunog sistema” se zadržavaju, za razliku od onih koje ne prežive napad i budu eliminisane (103).

Nedavno je na mišjem modelu karcinoma grlića materice pokazano da vakcinacija koja indukuje CTL-posredovanu imunu selekciju, pokreće evoluciju tumorskih ćelija sličnih karakteristikama matičnim ćelijama i antiapoptotski fenotip u procesu koji zahteva Nanog transkripcioni factor (103). Ovaj nalaz sugerise da imuna selekcija podstiče progresiju karcinoma. Međutim, molekularni mehanizmi kojim Nanog posreduje izbegavanje imunog odgovora i relevantnost Nanog ekspresije kod humanih karcinoma nisu dovoljno istražene.

U studiji Noh i saradnika (104) pokazano je da imuna selekcija kod humanih kancerskih ćelija izaziva povećanje podskupa ćelija sa visokom ekspresijom Nanog. Ove ćelije su slične matičnim ćelijama, antiapoptotskih karakteristika i otporne su na napad imunog sistema. Pokazano je da je ekspresija Nanog kod tumora u korelaciji sa stadijumom bolesti i prognozom pacijenata sa karcinomom grlića materice. Takođe, prekomerna ekspresija Nanog prisutna je u različitim tipovima humanih karcinoma. Postoji dokaz na bazi prekliničkog modela da je inhibicija Nanog efikasna strategija u kontroli humanih karcinoma, posebno u kontekstu imunske terapije.

1.7.2. Sox2

Sox je skraćenica za Sry (polno determinišući region Y) vezan za HMG grupu gena, koji se definiše kao HMG grupa visoke mobilnosti. Kodira transkripcione faktore koji interreaguju sa DNK preko HMG domena. Do sada je identifikovano preko 30 Sox gena. Postoji 20 članova Sox familije gena kod miševa i ljudi koji imaju ulogu u razvoju organa i održavanju ćelija (105,106).

Transkripcioni factor Sox2 pripada grupi B Sox familije i kodiran je jednim eksonom gena na hromozomu 3q26.3-q27 (107). Sox2 je visoko eksprimiran kod ESCs i smatra se ključnim faktorom transkripcije (108). Sox2 može učestvovati u reprogramiranju adultnih ćelija u indukovane pluripotentne matične ćelije, što ukazuje da ima važnu ulogu u ćelijskoj determinaciji, diferencijaciji i proliferaciji (109,110). Smatra se da Sox2 održava ćelijsku proliferaciju putem Notch signalnog puta (111) i modulacije ekspresije ciklina D1(112).

Sox 2 je uključen u održavanje nervnih matičnih ćelija tokom neurogeneze (113,114) i reguliše diferencijaciju senzornih ćelija u neuroepitelijum mrežnjače i unutrašnjeg uha (115,116). Zbog ove uloge u rastu i diferencijaciji matičnih ćelija, Sox 2 je proučavan imunohistohemijskom analizom kod humanih tumora germinativnih ćelija i pokazano je da je Sox izraženo eksprimiran kod embrionalnih karcinoma (117). Sox 2 ekspresija nije dovoljno ispitana kod karcinoma jajnika. Jedina studija koja je ispitivala ekspresiju Sox2 kod normalnog epitela jajnika i lezija na jajniku ukazala je na povezanost ekspresije sa kliničko patološkim karakteristikama bolesti (118).

Nedavne studije pokazale su da genska amplifikacija Sox2, koji kodira grupu visoke mobilnosti domena transkripcionog faktora, najčešći je i uobičajeni događaj kod CSCs pluća, jednjaka i usne duplje (119-121), mikrocelularnog karcinoma pluća (122) i glioblastoma multiforme (123).

Funkcionalna specifičnost različitih Sox proteina i tkivna specifičnost određenog Sox faktora su u velikoj meri povezani sa ostalim transkripcionim regulatorima, mada mnogi od njih još uvek nisu otkriveni. Nedavno su pronađene brojne veze između Sox2 i humanih karcinoma. Rezultati imunohistohemijskih analiza ukazuju da je Sox2 uključen u invaziju i

nastanak metastaza intraepitelne neoplazme pankreasa (124), a takođe je udružen sa gastričnom karcinogenezom (125) i karcinomom pankreasa (126). Ekspresija Sox2 nađena je kod 41% karcinoma dojke što sugeriše na ulogu u stvaranju slabije diferenciranog fenotipa (127). Nije poznato na koji način Sox2 ispoljava ulogu u onkogenom potencijalu.

Reprogramiranje odrasle terminalno definisane humane ćelije u pluripotentne matične ćelije koje imaju sposobnost generisanja svih ćelija u telu privuklo je veliku pažnju. Stvaranje ovih iPS ćelija zahteva prekomernu ekspresiju transkripcionih faktora Oct4, Klf4 i Myc ili Oct4, Lin28 i Nanog (128,129). Efikasnost ovog procesa reprogramiranja je izuzetno mala i ostaje za sada kao *in vitro* fenomen jer nema dokaza da se prirodno može javiti *in vivo*. Mehanizmi kojima se odvija proces reprogramiranja još uvek nisu dobro objašnjeni, međutim tri glavna transkripciona faktora Oct 4, Sox 2 i Nanog nazvani su master regulatorima pluripotentnosti. Nedavno je proces reprogramiranja i tumorogeneza povezana sa p53 tumor supresor genom, koji je jedan od glavnih regulatora onkogene transformacije koji kontroliše pluripotentnost (130-132).

U radu Leigsa i saradnika (133) istražena je veza između indukcije pluripotencije i karcinoma dojke ispitivanjem prisustva gena pluripotentnosti. Nije primećena ekspresija Oct4 ili Nanog ali je nađena ekspresija Sox2 koja je bila udružena sa ranim stadijumom tumora. Zapažena je indukcija ekspresije Sox2 u tumorskim sferama kod kultura karcinoma dojke i ćelijskim linijama karcinoma dojke sa osobinama nalik matičnim ćelijama koja sugerišu na ulogu CSCs. Ova uloga je dalje istraživana preko prekomerne ekspresije i nishodne regulacije Sox2, i nađeno je da je Sox2 neophodan, ali i nedovoljan da podstakne nastanak formacija tumorskih sfera i inicijaciju tumora *in vivo*. Regulacija Sox2 aktivacije zavisi od ushodnog pojačanja. Isti element kontroliše ekspresiju Sox2 u pluripotentnim matičnim ćelijama.

Kod adenokarcinoma pluća Sox2 ekspresija je udružena sa lošom prognozom (134). Kod ćelija karcinoma jajnika, u ćelijama sličnih karakteristika matičnim, Sox2 je ekspresiran istovremeno sa Oct4 i Lin28 (135,136). Kod debelog creva ekspresija Sox2 korelira sa zahvaćenošću limfnih nodusa i prisustvom udaljenih metastazama (137). Kod ovih karcinoma izgleda da Sox 2 pravi razliku između osobina progenitor / matičnih ćelija od ćelija karcinoma.

U istraživanju Zhang i saradnika (138) pokazano je da Sox2 može imati važnu ulogu u progresiji tumora. Praćena je ekspresija putem imunohistohemijskog bojenja uzoraka

humanih karcinoma jajnika u poređenju sa normalnim jajovodom i uzorcima tkiva jajnika. Takođe je analizirana udruženost ekspresije Sox2 sa kliničkim i patohistološkim faktorima kao što su gradus tumora, FIGO stadijum bolesti, odgovor na hemioterapiju, ukupno preživljavanje (OS) i vreme do progresije bolesti (DFS). Pokazano je da je kod povećane ekspresije Sox2 DFS kraće, a nema značaja za OS.

1.7.3. Oct 3/4

Oct (Oct3/4 ili POU5F1) je član POU familije transkripcionih faktora i ima ključnu ulogu u samoobnavljanju i pluripotentnosti ESCs. Ekspimiran je uglavnom kod nefertilizovanih oocita, unutrašnje ćelijske mase blastocista, germinativnih ćelija, embrionalnih kancerskih ćelija i embrionalnih germinativnih ćelija (139). Dok ushodna regulacija Oct4 održava stanje nediferentovanosti pluripotentnih matičnih ćelija, gubitak Oct4 indukuje diferencijaciju matičnih ćelija. Ovo je dokazano gubitkom pluripotentnosti u ćelijama kod Oct4^{-/-} embriona miševa, gde dolazi do diferencijacije ESCs u liniju trofoblasta (140). U studiji Nicholosa i saradnika (141) pokazano je dvostruko povećanje ekspresije Oct4 dovodi do konverzije ESCs u primitivna endodermalna i mezodermalnim tkivima. Nasuprot tome, povećanje ekspresije Oct4 za 50% može dovesti do diferencijacije ESCs u trofoderm (141). Ovo dokazuje da je nivo ekspresije proteina Oct4 kod ESCs važan za održavanje diferencijacije specifičnih ESCs i njihov dalji razvoj. Malo se zna o tačnoj regulaciji proteina Oct4 kod ESCs.

Uloga Oct4 u ćelijskoj transformaciji prvi put je primećena kada je pokazano da ektopična ekspresija Oct4 dovodi do povećanog malignog potencijala ESCs (142). Pokazano je da ekspresija Oct4 povećava displaziju u epitelnim tkivima adultnih miševa (143). U skladu sa tim, Oct4 ekspimiran je kod mnogih malignih neoplazmi i u korelaciji je sa gradusom tumora i progresijom bolesti (144-147). U poređenju sa tumorima sa niskom ekspresijom Oct4, povišeni nivoi Oct4 bili su udruženi sa pojavom metastaza i kraćim vremenom preživljavanja (148-150). Nedavna studija sprovedena kod karcinoma dojke pokazala je ektopičnu ekspresiju Oct4 kod ćelija normalne dojke, koja je dovela do nastanka ćelija sa tumor-inicirajućim i kolonizacionim karakteristikama. Ove ćelije su slabo diferentovane sa visokim gradusom i dokazane su kod nude miševa. Pokazan je genomski profil obogaćen mrežom embrionalnih transkripcionih faktora, koji sugerije da Oct4 transdukovane ćelije mogu predstavljati pacijent-specifični model za otkrivanje novog

onkogenog targeta (151). Na mišjem modelu CSCs karcinoma dojke pokazana je ektopična ekspresija Oct4 (152). Oct4 ekspresija je pokazana kod ćelija sličnih osobina kancerskim matičnim ćelijama u CD133+ ćelijama karcinoma pluća. Ove studije ukazuju na važnost Oct4 ekspresije kod tumora u cilju održavanja karakteristika tumorogenosti ćelija sličnih matičnim ćelijama. Epitelna mezenhimska tranzicija (EMT) važan je proces morfogeneze tokom embrionalnog razvoja (153), kao i za konverziju ranog stadijuma tumora u invazivnu neoplazmu (154). Nedavne studije pokazale su da EMT ima važnu ulogu u recidivu bolesti za koji se veruje da je često povezan sa fenotipom CSCs (155,156). Pokazano je da ektopična ekspresija Oct4 i Nanog u ćelijskim linijama adenokarcinoma pluća povećava procenat subpopulacije ćelija koje eksprimiraju CD133, rezistentnost na lekove i dovode do EMT (157, 158).

Kao regulator pluripotentnosti i samoobnavljanja Oct4 ima važnu ulogu u preživljavanju populacija CSCs koje su rezistentne na lekove (159). Ovo je podržano od strane istraživanja sprovedenim kod ćelija karcinoma jetre, gde je nađeno da su ćelije sa prekomernom ekspresijom Oct4 rezistentne na terapiju cisplatinom i doxorubicinom, u poređenju sa kontrolnim ćelijama *in vitro* i *in vivo* (160). Kod karcinoma usne duplje, Oct4 i Nanog su, takođe, značajno eksprimirani kod pacijenata rezistentnih na cisplatinu. Terapija ćelija karcinoma usne duplje cisplatinom u populaciji rezistentnih ćelija dovela je do pojave matičnih/progenitorskih ćelijama koje pokazuju povećane migratorne i invazivne osobine *in vitro* i *in vivo* (161). Ovo sugeriše da kancerske ćelije koje eksprimiraju Oct4 i preživljavaju terapiju cisplatinom mogu da se razviju u heterogenu populaciju diferentovanih ćelija koje imaju povećanu sposobnost da postanu metastatske. U skladu sa ovim, pokazano je da rezistentne ćelijske linije karcinoma prostate imaju povećanu ekspresiju Oct4 i nekoliko target gena (MIDI, MYB, IL1RN, RPS27/ i CUGBP2). Ove ćelije izložene su povećanom invazivnom potencijalu u *in vitro* testovima i tumorogenom potencijalu *in vivo* kod xenografskog modela miša (159).

Postojeća literatura u vezi ekspresije i uloge Oct4 kod EOC relativno je mala. Transkripcioni faktor Oct4 primarno se koristi kao marker za detektovanje ćelija sličnih karakteristika matičnim ćelijama kod CSC ćelijskih linija karcinoma jajnika i tumora. Ekspresija Oct4 prvo je opisana kod disgerminoma jajnika, tumora koji se sastoji od primitivnih, nediferentovanih germinativnih ćelija (162). Međutim, ovi autori nisu uspjeli da otkriju ekspresiju Oct4 kod ostalih negerminativnih tumora, kao što su granulozno ćelijski

tumori, Brennerovi tumori, serozni i endometrioidni adenokarcinomi i stromalni karcinomi jajnika. Primenom imunohistohemijskih analiza, nedavno je opisana ekspresija Oct4 kod nezrelih teratoma jajnika (163), epitelijuma Fallopijeve tube, seroznih i mucinoznih epitelnih ovarijalnih tumora sa različitim histološkim gradusom. U ovoj studiji, pokazano je da se ekspresija Oct4 značajno povećava počev od normalnog površnog epitela jajnika/epitela Fallopijeve tube, ka benignim/borderline tumorima do seroznog karcinoma visokog gradusa, što ukazuje da je ekspresija Oct4 udružena sa inicijacijom i progresijom seroznog karcinoma jajnika. Međutim, ova studija pokazala je značajne razlike između normalnog, benignog, borderline i malignih tumora mucinozne grupe, ali nije proučavala endometrioidni i svetloćelijski tip EOC (164). Razlika u ekspresiji Oct4 između seroznog i mucinoznog EOC može biti zbog razlike u genetskom sastavu seroznog i mucinoznog podtipa karcinoma jajnika (165-167).

Prvo istraživanje Oct4 kod matičnih ćelija EOC bilo je prikazano nakon izolacije jednog tumorogenetskog klonu iz asitne tečnosti pacijentkinje sa EOC koristeći serijsko razblaženje. (168). Ovaj klon pokazivao je karakteristike samoobnavljanja putem formiranja sferoida u kulturi i, takođe, je pokazivao je osobine diferencijacije formiranjem višećelijskih kolonija u agaru. Na serijskom implantacionom xenograftu, izolovani klonovi nastavili su razvoj tumora kod nude miševa slično kao kod primarnih humanih EOC tumora.

Kancerske matične ćelije izolovane iz tumora jajnika i ćelijskih linija pokazuju osobine matičnih ćelija u tumorogenetskim testovima. Kod njih postoji veća ekspresija Oct4 i rezistentnost na hemioterapiju. Nađeno je da SP ćelije, ekstrahovane iz ćelijskih linija karcinoma jajnika, imaju ABC transporter (ABCB1), histon methyltransferazu (EZH2-člana polycomb familije sa osobinama matičnosti) i Oct4 zbog kojih ne daju dobar odgovor na primenjenu terapiju. U ovom kontekstu, SP ćelije izolovane iz ascitesa kod pacijenata sa karcinomom jajnika pokazale su veći profil matičnosti u poređenju sa ne-SP ćelijama (169). Analize genske ekspresije pokazale su da su SP ćelije bile prisutne kod pacijenata sa ranim recidivom bolesti (1-12 meseci), u poređenju sa kasnim recidivom (13-24 meseci) (170). Stoga, ekspresija Oct4 kod SP pacijenata sa karcinomom jajnika može imati važnu kliničku primenu.

U poslednjih nekoliko studija za izolaciju CSCs korišćeni su različiti površinski markeri (CD44, CD133, CD117, CD24, Thy1) (171-173) i nepovršinski markeri (aldehid dehidrogenaza) (174). Sortirane CSCs na osnovu ovih markera pokazale su njihove

potencijalne karakteristike, tj. kao što su sposobnost samoobnavljanja, rezistentnost na terapiju, i skoro sve ćelije imale su relativno visoku ekspresiju Oct4. Nedavna studija pokazala je kombinovanu ekspresiju Oct4 i Lin28 kod tumora jajnika koja korelira sa visokim tumorskim gradusom (175). Oni su takođe pokazali da represija Oct4 sa Lin28 uz pomoć RNK interference kod ćelijskih linija karcinoma jajnika smanjuje preživljavanje ćelija karcinoma. I studija Latifi i saradnika (176) pokazala je da prekomerna ekspresija Oct4 može da dovede do progresije karcinoma, rezistentnosti na lekove i recidiva bolesti, pa se predlaže da Oct4 bude mogući target u terapiji EOC.

1.7.4. Sox4

Sox4 je član Sox familije transkripcionih regulatora sa udelom u njihovom DNK vezujućem domenu, i nosi karakteristike grupa visoke mobilnosti (177). Pokazano je da je Sox4 gen uključen u veliki broj razvojnih procesa.

Sox4 je važan za razvoj srca, limfocita i timocita, i nedostatak Sox4 kod miševa dovodi do srčanih defekata. Sox4 fenotip kod miševa dovodi do smrti u toku embriogeneze zbog nedostatka normalnog razvoja srca, i shodno tome do cirkulatorne (srčane) slabosti (178,179). Osim toga, druge studije pokazale su da je Sox4 eksprimiran kod hormon-zavisnih tkiva reproduktivnog sistema miša kao i u mozgu, T i B ćelijskim limfocitima (180,181) i može da igra ulogu u osteoblastičnoj diferencijaciji (182).

Transkripcioni factor Sox4 je aberantno eksprimiran kod mnogih tumora kod ljudi i može uticati na tumorogenezu i pojavu metastaza tumora kod miševa *in vivo*. Međutim, mehanizmi koji kontrolišu funkciju Sox4 su slabo definisani.

Nedavno je primećeno da oštećenje DNK povećava ekspresiju Sox4 proteina nezavisno od nivoa Sox4 mRNA, što ukazuje na još nedefinisan post-transkripcioni mehanizam regulacije ekspresije i funkcije Sox4. Pokazano je takođe da se protein Sox4 brzo razgrađuje od strane proteozoma, zbog farmakološke inhibicije sa Mg132 i epoksimicinom. Poluživot Sox4 je manji od jednog sata i ostvaruje se preko inhibicije sinteze proteina putem cikloheximida (183).

Sox4 se vezuje za 7-bp DNA-sekvencu AACAAAG kroz njegov domen visoke mobilnosti grupa i time transkripciono aktivira ciljne gene (184). Postoji alternativa Sox4

sekvence (AACAAAG) kod humanih CD2 gena, u odnosu na specifično Sox4 vezivanje u *in vitro* uslovima (185). Još uvek nisu dovoljno ispitani “kompleksni geni” koji su pod kontrolom Sox4. Međutim, src familija tirozin kinaza, tj. p56 lck, je transkripciono aktivirana pod uticajem Sox4 u prisustvu ETS1 transkripcionog faktora (186). Faktori koji s druge strane indukuju Sox4 su citokini i hormoni. Jedino dobro opisana molekulska funkcija Sox4 je da posreduju aktivaciju transkripcionog *targeta* receptora za interleukin 5 (IL5). IL-5 stimuliše ekspresiju Sox4 u B ćelijama uz pomoć membranskog receptora IL-5Ra koji se direktno vezuje za Sox 4 intracelularno, kao i sintetin (187).

Sintetin, koji se vezuje za Sox4, udružen je sa C-terminalnim domenom i stabilizuje ekspresiju Sox4. Stabilizacija Sox4 indukovana sintetinom korelira sa kompleksom Sox4-sintetin u jedru, gde se oba proteina akumuliraju. Utvrđeno je da prekomerna ekspresija sintetina kod humanih tumorskih ćelijskih linija recipročno utiče na ekspresiju proteina Sox4, transkripcionu aktivnost i njegovu ulogu kao regulatora Sox4. Pokazano je da Sox4 C-terminalni domen reguliše poliubikvitin-nezavisnu protezomalnu degradaciju Sox4 i može uticati na interakciju sa sintetinom (183).

Aberantna ekspresija Sox 4 može biti udružena sa mnogim humanim karcinomima, a može imati uticaj na proteozomalnu degradaciju Sox4 i ulogu u onkolgenezi i metastaskim svojstvima tumora (183). Pokazano je da je Sox4 značajno indukovano od strane prostaglandina, progesterina i prekomerne ekspresije “heat shock” proteina (188,189).

Još uvek nije poznato koja je uloga Sox4 u *in vivo* uslovima i u tumorogenezi. Prekomerna ekspresija Sox4 u retroviralnoj insercionoj mutagenizi kod genetski modifikovanih sojeva miševa dovodi do veće učestalosti mijeloidne leukemije i B i T ćelijskih limfoma (190,191). Visoki nivoi ekspresije Sox4 primećeni su kod karcinoma dojke i karcinoma (192), mozga (193), pluća (194), i pljuvačne žlezde (195). Međutim, neka istraživanja pokazala su da ekspresija Sox4 kod kancerskih ćelija dovodi do njihove apoptoze (196, 197).

Sox4 posebno je eksprimiran u jajniku, testisu i timusu odraslih miševa i kod ćelijskih linija T i pre B limfocita kod miševa. Sox4 takođe je eksprimiran kod miševa u mlečnoj žlezdi i materici i hormonski je regulisan od strane progesterona i estradiola (198). Tri nezavisne skrining studije utvrdile su da je Sox4 obično izmenjen u retrovirusnim insercijama (191,199).

Kod ljudi, Sox4 je eksprimiran u normalnoj dojci i u karcinomu dojke. Ovu ekspresiju povećavaju progestini što uslovljava povećanje Sox posredovane transkripcione aktivnosti (198). Sox je takođe prekomerno eksprimiran kod klasičnih medulloblastoma i karcinoma pluća, što ukazuje da Sox4 može biti važan kod različitih vrsta tumora (200).

1.7.5. CD44

U okolini tumora nalaze se različite vrste ćelija, kao što su vaskularne ćelije, fibroblasti, ćelije imunskog sistema, komponente ekstracelularnog matriksa (ECM), kao i faktori rasta i citokini. Tumorske ćelije primaju parakrine signale iz lokalne mikrosredine. Na ovaj način one često menjaju ćelijski i molekularni sastav i dovode do progresije tumora. Okruženje tumora važno je za nastanak metastatskog fenotipa ćelija karcinoma i bilo je predmet mnogih istraživanja (201,202).

Prekid ECM dovodi do abnormalnog intercelularnog i/ili intracelularnog signala, pa može da nastane disregulacija ćelijske proliferacije, rasta i reorganizacije citoskeleta (203,204). Hijaluronska kislina (HA) indukuje signale kada se vezuje za CD44 i aktivira CD44 varijantu (CD44v) (205-207). Takođe, CD44 može reagovati sa ostalim molekulima, uključujući kolagen, fibronektin, osteopontin, faktore rasta, metaloproteinazu matriksa (MMPs) (208).

Ćelijski-površinski glikoprotein CD44 uključen je u interakciju između ćelija, adheziju i migraciju ćelija (209). Smatra se ćelijskim površinskim markerom metastaza i progresije u različitim tipovima karcinoma, uključujući karcinom jajnika. CD44 je receptor za hijaluronsku kiselinu (210,211). Hijaluronska kislina je glavna komponenta ECM kod većine tkiva sisara i akumulira se na mestu deobe ćelije i brzog remodeliranja matriksa. Javlja se u toku embrionalne morfogeneze, inflamacije i tumorogeneze (212-214). Hijaluronska kislina je osnova glikozaminoglikana i nalazi se u ekstracelularnom matriksu. Ona je glavna komponenta peritoneuma na kome najčešće nastaju metastaze karcinoma jajnika (210,215). CD44 interaguje sa hijaluronskom kiselinom i aktivira Nanog-Stat3 i signalne puteve u koje je uključen ankyrin. Smatra se da je aktivacija ovih signalnih puteva odgovorna za specifično ponašanje tumorskih matičnih ćelija, jer ima uticaj na aktivaciju transkripcije, rast tumorskih ćelija i rezistenciju na lekove kod karcinoma jajnika i karcinoma dojke (216). CD44 nije eksprimiran kod normalnih ćelija i nekih neinvazivnih ćelijskih linija (212-217). Interakcija CD44 sa stromom tumora i okolinom tumora usko je povezana sa metastatskim rastom

karcinoma (215,217). Na osnovu prethodnih zaključaka, postavlja se pitanje da li supresija CD44 proteina može da poboljša efikasnost hemioterapije i prevenira nastanak metastaza. Takva supresija može potencijalno da se postigne korišćenjem siRNA nastale targetovanjem CD44 sa mRNK. Obzirom da siRNK slabo prolazi kroz ćelijsku membranu u citoplazmu njegova efikasnost kao supresor targetovane mRNA i proteina je ograničena. Razvijeno je nekoliko tipova vektora koji poboljšavaju efikasnost penetracije siRNK u ćeliji i poboljšava postojanost u plazmi (217-229).

CD44 je transmembranski protein kodiran od strane jednog gena. Postoji više oblika CD44.

I u radu Mirse i saradnika (230) prikazana je povezanost HA i njegovog receptora CD44 u nekoliko malignih stanja. Takođe, diskutovano je o mogućim terapijskim mogućnostima za razvoj ciljane terapije bazirane na razumevanju povezanosti između HA i CD44. Posebno je izdvojena uloga kompleksa HA-CD44v i uticaj na tumorski rast i invaziju, kao i to da supresija interakcije HA-CD44v može biti terapijski target.

Brojne studije pokazale su povezanost između maligniteta i ECM bogatog hijaluronskom kiselinom, zajedno sa ekspresijom CD44s i CD44v. CD44 kod ćelija karcinoma reaguje sa mikrookolinom koja sadrži hijaluronku kiselinu i ima uticaj na ćelijske signalne puteve. Na taj način dovodi do migracije matičnih ćelija, invazije ćelije ECM i širenja na udaljena mesta. (231-236). Međutim, molekularni mehanizam udruženosti HA-CD44 i uticaj na maligni fenotip i tumorsku progresiju još uvek nije dovoljno poznat.

Porast HA kod tumora je "okidač" signalnih događaja (231,237,238). Ranije studije pokazale su visoku ekspresiju nivoa CD44s i CD44v kod agresivnog karcinoma dojke sa povećanjem sinteze HA (239,240). Nedavne studije pokazale su važnost CD44 molekula u malignoj transformaciji. Sada postoje dokazi da mala populacija tumorskih ćelija (manje od 0,1%), označenih kao CSCs ili kancer-inicirajuće ćelije sa karakteristikama matičnih ćelija, imaju uticaj na održavanje tumora i formiranje metastaza. CD44 je identifikovan kao važan marker populacije CSCs kod karcinoma dojke, pankreasa i kolorektalnog karcinoma (241-243). Ova istraživanja pokazuju da CD44 ima važnu ulogu u inicijaciji i/ili održavanju CSCs kod nekih vrsta tumora. CD44s inerreaguje sa receptorima faktora rasta, kao što je receptor 2 epidermalnog faktora rasta i faktor rasta trombocita.

1.7.6. CD117

Rad na identifikaciji i izolaciji CSCs zapažen je kod različitih tipova karcinoma. Moserle i saradnici (244) identifikovali su subpopulaciju ćelija karcinoma jajnika sa SP fenotipom jednog xenografa tumora (side population (SP) phenotype). Ove ćelije su visoko kancerogene kod miševa u poređenju sa tumorima koji ne sadrže SP ćelije. Zhang i saradnici (57) posmatrali su subpopulaciju ćelija primarnog humanog karcinoma jajnika koje mogu formirati nezavisne sfere i imaju sposobnost samoobnavljanja u *in vitro* uslovima sa visokom ekspresijom CD 44 i CD 117. Ćelije sa CD 44+ i CD 117+ fenotipom veoma su kancerogene i uz to u stanju da doprinesu razvoju tumora. Baba i saradnici (172) izolovali su iz ćelijskih linija karcinoma jajnika CD 133+ ćelije koje su rezistentne na terapiju platinom i formiraju agresivne tumore u poređenju sa CD 133- ćelijama. U drugoj studiji, Gao i saradnici (245) identifikovali su subpopulaciju ovarijalnih ćelija koje ekspimiraju CD 24 fenotip. Ćelijski površinski markeri CD 44, CD 24 i CD 133 potvrđeni su kao markeri CSCs kod različitih tumorskih tipova, dok je marker CD 117 bio retko ekspimiran.

CD 117 (C-kit) je površinski marker za ESCs, kao i hematopoetske i mezenhimske matične ćelije. On održava ćelije u nediferentovanom stanju zbog čega iste podležu samoobnavljanju (246-248). CD 117 je takođe pronađen kod tumora mezenhinskog i epitelnog porekla. Kod pacijenata sa prekomernom ekspresijom i/ili mutacijom CD 117 nađena je značajno lošija prognoza u brojnim kliničkim studijama sa različitim tipovima tumora (249-255). Međutim, uloga CD 117 kod karcinoma jajnika još uvek nije dovoljno poznata. Nedavna hipoteza o svojstvima CSCs može da rasvetli njegovu ulogu u razvoju i rastu karcinoma jajnika.

Luo i saradnici (256) u svom istraživanju sprovedenom uz pomoć koje su prethodno uspešno korišćene za identifikaciju CSCs kod karcinoma dojke (257), direktno su ubrizgali ćelije izolovane iz uzoraka seroznog humanog karcinoma jajnika u imunodeficientne miševe, eliminisane ne-tumorske ćelije i kultivisane tumorske ćelije *in vivo* da bi procenili karakteristike CD 117 fenotipa. CD 117+ ćelije karcinoma jajnika pokazale su sposobnost da formiraju tumore kod miševa kao i heterogenost nastalih tumora. Imunohistohemijska analiza (IHC) parafinskih uzoraka pokazala je da su CD 117 + tumori u humanoju populaciji manje osetljivi na prvu liniju hemioterapije i da kod njih dolazi do obnavljanja tumora u kraćem periodu u poređenju sa CD117 – pacijentima.

CD 117 je prihvaćen kao CSCs marker kod nekoliko solidnih tumora. Szotek i saradnici (258) su u cilju identifikacije SP ćelija kod ovarijalnih CSCs primenili Hoechst boju. Kod ovih SP ćelija izolovanih iz ćelijske culture karcinoma jajnika verifikovana je ekspresija CD 117. Međutim, kod humanih kancerskih SP ćelija jajnika izolovanih iz ascitesa nije pokazana ekspresija CD 117. Nasuprot tome, Bapat i saradnici (259) su izolovali tumorske ćelije iz ascitesa pacijenta sa seroznog karcinoma jajnika i dobili 19 spontano imortalizovanih klonova. Molekularnim ispitivanjem ovih klonova identifikovana je ekspresija CD 44, CD 117 i liganda za CD 117. Samo jedan od ovih klonova pokazao je tumorogenezu *in vivo*, što pokazuje prisustvo ćelija sa različitim inicirajućim tumorskim kapacitetom u okviru tumora jajnika udruženih sa ascitesom. Može se spekulirati da je ovaj klon stekao dodatne genetske promene zbog *in vitro* kulture. U skladu sa ovim, drugi klon je doživeo spontanu transformaciju u kulturi.

Slično tome, Zhang i saradnici (57) analizirali su tumorske sfere nastale iz ćelija izolovanih iz ascitesa 5 pacijenata sa seroznim karcinomom jajnika. Nakon 10 serijskih pasaža u medijumu za matične ćelije primećeno je da su preostale ćelije sfera visoko eksprimirale CD 44 i CD 117. Kao kod studija koje su ispitivale CD 133 (172,260), CD 44+ i CD 117+ ćelije sferoida bile su otporne na hemioterapiju, i sposobne da pokrenu kancerogenezu i dovedu do nastanka tumora kod miševa. Koristeći primarne tumorske xenografte, slične kao kod studija sa CD 133. Luo i saradnici su ustanovili da su tumorogene kancerske ćelijske linije CD 117+ izolovane iz 3 od 14 tumorskih xenografta. Ove ćelije su sposobne za serijsku transplantaciju, asimetričnu podelu i prisustvo ovih ćelija je u korelaciji sa hemorezistencijom (260).

Nakon toga, Alvero i saradnici (261) su analizirali EOC kod 147 pacijenata pre hemioterapije i pronašli su svi tumori ekspimiraju CD 44, međutim ekspresija CD 44 je bila veća kod metastatskih depozita i tumorskog ascitesa. Zatim su generisane CD44+ ćelijske linije od primarnih humanih tumora i ascitesa koje su ubrizgane miševima. Utvrđeno je da CD 44+ ćelije dovode do obnavljanja tumora (261). Tumačenje ove studije se dovodi u pitanje, jer je ubrizgan veliki broj ćelija (1×10^6) i nije testirana tumorigenost CD 44-ćelija. Analize CD 44+ i CD 44- ćelija pokazale su da je mijeloidni faktor diferencijacije 88 (MyD88-), aktivator NFkB signalnog puta I da je ushodno regulisan kod CD 44+ ćelija. Ovim se može objasniti potencijalna veza između ekspresije CD 44 ćelija i hroničnog inflamatornog odgovora. Koristeći vitalne boje identifikovane su ćelije koje zadržavaju boju i

koje su blizu 100% pozitivne na CD 44 i CD 117 (262). Ova studija je rađena na mišjim ćelijskim linijama tako da je primenjivost na humane karcinome i dalje neizvesna. Ekspresija ostalih markera CSCs, kao što su CD 133 i CD 24 nije prijavljena.

Veliki napredak u razumevanju biologije tumora u poslednjih nekoliko godina postignut je otkrićem kancerskih matičnih ćelija-cancer stem cells (CSCs), koje imaju odlučujuću ulogu u progresiji karcinoma i rezistenciji na terapiju kod različitih nepolastičnih bolesti. CSCs mogu otvoriti nove mogućnosti stvaranja novog targeta u cilju, smanjenja otpornosti na hemioterapiju i poboljšanju efekta terapije. Metastaze tumora smatraju se glavnim uzrokom smrti kod različitih malignih tumora. Dokazi iz prethodnih studija pokazali su da ćelije slične CSCs mogu biti generisane u procesima koji su vezani za aberantnu aktivaciju epitelno-mezenhimske tranzicije (EMT) koja utiče na ćelijsku diferencijaciju i metastatski potencijal tumora. Anti-EMT strategija bila bi nova terapijska opcija za tretman agresivnih karcinoma (263,264). Postoji više dokaza da microRNA (miRNA) može biti potencijalni terapijski kandidat na osnovu sposobnosti nishodne regulacije različitih target molekula uključenih u progresiju tumora, nastanak metastaza, tumorsku rezistentnost na terapiju i relaps bolesti. U nekim studijama, nađeno je da miR-200c nishodno reguliše ćelijske linije karcinoma jajnika i u stadijumu III karcinoma jajnika. Nishodna miR-200c nishodna regulacija je u korelaciji sa lošom prognozom bolesti (265-268).

Epitelni kancer jajnika (EOC) se genetski i epigenetski razlikuje od površinskih epitelnih ćelija normalnog jajnika i uključen je u EMT u toku inicijacije nastanka karcinoma, uključujući progresiju, nastanak metastaza karcinoma i recidiv bolesti. Poznato je da je ZEB1 povezan sa invazivnom i metastatskom progresijom EOC. Ukoliko je ZEB1 eksprimiran kod EOC može direktno da potisne epitelni marker E-cadherin i indukuje invaziju tumorskih ćelija i progresiju metastaza (269-271). Međutim, malo informacija o EMT je dostupno u vezi miRNA kod EOC CSCs, i tačni molekularni mehanizmi moduliranja EMT EOC CSCs još uvek nisu razjašnjeni.

Cilj studije Chena i saradnika (272) bio je da se proceni epigenetska regulacija funkcije prekomerne ekspresije miR-200c kod EMT, tumorogeneze i metastaza CD117+ i CD44+ CSCs EOC u *in vitro* i *in vivo* uslovima. Pronađena je *in vitro* direktna povezanost u *in vitro* uslovima između prekomerne ekspresije miR-200c i sposobnosti CD 117+ i CD44+ CSC u formiranju kolonija, migraciji i invaziji. Posebno je primećeno da postoji veza između miR-200c i ZEB1 ekspresije. Rezultati studije pokazuju da prekomerna ekspresija miR-200c,

modulacijom EMT, specifično inhibira ZEB1 ekspresiju CD 117+ i CD 44+ CSCs i smanjuje ćelijsku tumorogenost i metastaze u plućima kod nude mišjeg modela (57,273).

1.7.7. Ezh2- Transkripciona regulacija modulirana H3K27 metilacionim statusom

Post-translaciona modifikacija N-terminalnog kraja histona uključuje metilaciju, acetilaciju, ubikvitinaciju i fosforilaciju. Hromatin može da modulira faktore transkripcije i transkripcionu aktivnost susednih gena. Četiri lizinska ostatka na N-terminalnom kraju histona (H3, K4, K9 i K36) su *target* specifičnih histon metiltransferaza i demetilaza (274).

H3K27 di- i tri-metilacija su karakteristike Polikomb ciljnih gena i udružene su sa represijom transkripcije (275). Polikomb represivni kompleks 1 (PRC1) i polikomb represivni kompleks (PCR2) dovode do kondenzacije hromatina. PRC1 katalizuje monoubikvitinaciju histona H2A, a PRC2 utiče na metilaciju H3K27 (276). PRC2 se sastoji od nekoliko proteina kao što su EED, SUZ12, RbAP46/48 i EZH1 ili EZH2. EZH1 i EZH2 se karakterišu SET domenom koji funkcioniše kao histon-lizin N-metiltransferaze (277,278). PRC2 kompleks sadrži EZH1 ili EZH2 i ima uticaj na represiju genske ekspresije. Dok je PRC2, koji sadrži EZH2, prvenstveno odgovoran za H3K27 metilaciju, PRC2 kompleks koji sadrži EZH1 može, takođe, katalizovati metilaciju ili kompaktni hromatin uz pomoć ostalih mehanizama pored histonske metilacije (279). Međutim, ovi mehanizmi nisu u potpunosti istraženi.

EZH je H3k27 metiltransferasa i sastavni deo polycomb represivnog kompleksa (PRC)2. Njegova enzimska funkcija katalizuje formiranje trimetil grupa na lizinu 27 histona H3 (H3K27me3), koji je udružen sa represijom velikog seta gena. Studije sa EZH2 na embrionalnim matičnim ćelijama (ESCs) pokazale su postojanje rezidualnog H3K27me3, koji se pripisuje prisustvu metiltransferaze EZH1 (279). Rezultati pokazuju da ova dva enzima mogu delimično da kompenzuju jedan drugog. Studije gubitka genske funkcije pokazale su ulogu EZH2 u uspostavljanju i fiziologiji nekoliko tipova ćelija i tkiva, kao što je koža (280), srce (281) i mlečna žlezda (282).

Genetski gubitak EZH2 ima manje posledice od gubitka drugih PRC komponenti zbog kompenzatornog prisustva EZH1. Na primer, u koži gubitak EZH2 ima samo marginalne posledice na razvoj epiderma i značajan nedostatak jedino je primećen kod kombinovanog odsustva EZH1 i EZH2 (280). U većini ćelijskih tipova odsustvo samo EZH1

ne izaziva vidljive promene, ali je potreban za održavanje hematopoetskih matičnih ćelija (282). Obzirom da EZH1 i EZH2 prikazuju aktivnost metiltransferaze histona, epigenetski mehanizmi često objašnjavaju razvojne i fiziološke posledice dobijene njihovim gubitkom ili prekomernom ekspresijom. Međutim, nedavni dokazi ukazuju da EZH2, takođe, može da kontroliše gensku ekspresiju kao transkripcioni ko-faktor steroidnih hormonskih receptora i vrši metilaciju ćelijskih proteina (283). Histonska metiltransferasa EZH1 ima enzimsku aktivnost i učestvuje u transkripciji (284). Knock-in mutacije koje specifično uklanjaju jedino aktivnost *methyltransferase* ovih proteina mogu obezbediti bolje razumevanje njihove funkcije.

Eksperimenti sa ćelijski specifičnim *Ezh2 knockout* miševima pokazali su da EZH2 utiče na proliferaciju i diferencijaciju matičnih ćelija i progenitorskih ćelija u tri različita tipa ćelija, adipocitima, keratinocitima i neuronima (285-287). Eksperimentalni dokazi ukazuju da se H3K27 metilacija uglavnom aktivira sa EZH2, a u manjoj meri sa EZH1. Važnost EZH2 ogleda se u činjenici da *Ezh2-null* miševi umiru u materici, dok *Ezh1-null* miševi nemaju vidljivih nedostataka, verovatno zbog kompenzatorne funkcije EZH2 (288).

EZH2 (enhancer zeste homolog 2-EZH2) doprinosi održavanju funkcija ćelija, regulaciji ćelijskog ciklusa i onkogenezi. Postoji više dokaza da se prekomerna ekspresija EZH2 gena javlja kod različitih maligniteta, uključujući karcinome usne duplje, kao i karcinome jednjaka, želuca, debelog creva, hepatocelularnog karcinoma, karcinoma mokraćne bešike, dojke, prostate i endometrijalnog karcinoma (289-296). Nađeno je da su abnormalnosti ovog gena u korelaciji sa agresivnim ponašanjem tumora i/ili lošom prognozom bolesti. U prethodnim istraživanjima primećeno je da je ekspresija EZH2 kod ćelija hepatocelularnog karcinoma bila dovoljna da značajno preokrene tumorogenezu u mišjem nude modelu i pokazala je terapijsku vrednost EZH2 inhibicije u *in vivo* uslovima (297). Međutim, do danas molekularni status EZH2 gena i njegova potencijalno onkogeni uloga kod karcinoma jajnika još uvek nije razjašnjena.

U studiji Rao i saradnika (298) ispitana je abnormalnost EZH2 gena i njegova uloga u patogenezi karcinoma jajnika, amplifikacioni status i javljanje ekspresije EZH2 kod normalnih i patoloških humanih tkiva jajnika. Praćen je i klinički/prognostički značaj ekspresije EZH2 kod karcinoma jajnika, kao i osnovni mehanizmi koji pokazuju onkogeni ulogu EZH2.

U toku tumorske progresije na ivicama solidnih tumora primećen je gubitak epitelnih markera i dobijanje mezenhimskih markera. Ovaj proces definisan je kao EMT i smatra se ranim početkom razvoja metastaza. EMT se karakteriše nishodnom regulacijom epitelnih markera E-kaderina i prekomernom ekspresijom mezenhimskog markera Vimentina. Tumorske ćelije gube apiko-bazalni polaritet, oslobađaju se od “zavisnog sistema nadzora”, odvajaju se i migriraju kroz normalna tkiva. Zbog reverzibilne prirode EMT i invazivno-migratornog kapaciteta, za razliku od osobina ostalih kancerskih ćelija, one nisu udružene sa stalnim genskim alteracijama. Aktivacija protoonkogeni onemogućava da kancerske ćelije normalno rastu i da se diferenciraju.

U studiji Ferraro i saradnika (299) istaknuto je da su MAPK i PI3K putevi aktivirani kod onkogenih transformacija i da mikrookruženje tumora može regulisati ekspresiju policomb proteina kao što je EZH2 kod EMT ćelija. Pokazano je da nakon prolaznog ili stabinog smanjenja ekspresije EZH2 kod kancerskih ćelija dolazi do ćelijske smrti u tro-dimenzionalnoj kulturi. Konačno, pokazano je da je ITG_2 target za EZH2 i da je njegova derepresija udružena sa smanjenjem migratorne sposobnosti.

1.7.8. Stat3

Standardna terapija za pacijente koji imaju uznapredovali karcinom jajnika je sprovođenje citoreduktivne hirurgije i primena hemioterapije. Prva linija hemioterapijskog agensa je cisplatina, međutim, primećeno je da dolazi do recidiva bolesti jer većina bolesnica postaje rezistentna na cisplatinu. Ovo objašnjava visoku stopu mortaliteta i petogodišnje preživljavanje manje od 40% čak i kod bolesnica kod kojih je postignuta maksimalna citoredukcija (ukoliko je rezidualni tumor manji od 1cm). Rezistencija na lekove ostaje jedna od najtežih prepreka kod bolesnica sa ovim malignomom, što zahteva korišćenje novih terapijskih pristupa. Molekularni mehanizmi rezistencije na cisplatinu kod ćelija karcinoma jajnika su multifaktorijalni i slabo ispitani. Jedan od mehanizama rezistencije na cisplatinu je inhibicija apoptoze. Apoptični odgovor ćelija karcinoma na hemioterapijske lekove važan je pokazatelj osetljivosti tumora (300,301). Utvrđeno da prekomerna ekspresija antiapoptotskih proteina Bcl-2 i Bcl-Xl i nishodna regulacija aktivnosti Caspase-3 mogu biti udruženi sa rezistencijom na cisplatinu kod karcinoma jajnika (302). Na osnovu studija koje su ispitivale rezistenciju na lekove i faktore ćelijskog preživljavanja kod karcinoma jajnika, identifikovano je nekoliko potencijalnih *targeta* za antikancersku terapiju. Jedan od njih je Stat3, signalni provodnik i activator transkripcije 3 koji se karakteriše povećanom

ekspresijom kod karcinoma jajnika. On dovodi do povećanog rasta tumora, pojave metastaza, angiogeneze (303) i supresije imunološkog sistema (304).

Stat3 je član familije transkripcionih fatora koji su aktivirani od strane citokina, faktora rasta i drugih polipeptidnih liganada. Aberantna aktivacija određenih STAT proteina, posebno Stat3, udružena je sa mnogim humanim karcinomima, uključujući različite vrste solidnih tumora, kao što su karcinom dojke, prostate, debelog creva, melanom, karcinom grlića materice, kao i leukemije i limfomi (305). Prethodne studije pokazale su da je aktiviran Stat3 u korelaciji sa agresivnim kliničkim ponašanjem karcinoma jajnika (306). Međutim, nejasno je da li Stat3 signalizacija može izazvati i rezistentnost na cisplatinu kod karcinoma jajnika.

Studija Tenga i saradnika (307) istaživala je ulogu Stat3 kod cisplatin-rezistentnih ćelija karcinoma jajnika i efekte malih molekula inhibitora Stat3 (Stattic) na aktivaciju Stat3 što je dovelo do obnavljanja osetljivosti na cisplatinu kod hemorezistentnih karcinoma jajnika u *in vitro* i *in vivo* uslovima. Rezultati su pokazali da je Stattic obećavajući terapijski molekularni *target* protiv rezistencije na cisplatinu kod humanih karcinoma jajnika. On pruža dalji podsticaj za kliničko istraživanje bioloških modifikatora koji mogu da zaobiđu rezistenciju na cisplatinu kod bolesnica sa hemorezistentnim karcinomom jajnika (307).

Međutim, mehanizam koji je u osnovi rezistencije na cisplatinu uglavnom nije poznat. Izloženost hemioterapijskim agensima može indukovati promene u signalnoj kaskadi koje dovode do rezistencije. Među njima je prekomerna ekspresija STAT3 koja može biti povezana sa rezistencijom na cisplatinu (308).

STAT3 je aktiviran kod 94% karcinoma jajnika i udružen je sa agresivnim fenotipovima. On korelira sa relapsom tumora i lošom prognozom (308). STAT3 učestvuje u različitim procesima maligne progresije, kao što su proliferacija malignih ćelija, migracija, invazija, angiogeneza i nastanak metastaza, indukcija EMT, inhibicija apoptoze, disregulacija ćelijskog ciklusa i rezistencije na hemioterapiju. STAT3 ima važnu ulogu kod ESC i u imunskom odgovoru (309). Dejstvo na STAT3 može promeniti malignu progresiju. U kliničkim ispitivanjima, oxaliplatin i nedaplatin efikasni su kod cisplatin-rezistentnih karcinoma jajnika. Sheng i saradnici (310) istaživali su efekte platine na STAT3 put koji je povezan sa rezistencijom na cisplatinu. Primećeno je da novi preparati platine (oxaliplatin i nedaplatin) imaju različite efekte na STAT3 put, u poređenju sa cisplatinom koji može doprineti razjašnjavanju mehanizama reverzibilne rezistencije na ovaj lek.

Kod mnogih humanih karcinoma prisutna je hiperaktivnost EGFR puta (311). Protein Stat3 je član STAT familije latentnih citoplazmatskih transkripcionih faktora koji su povezani i fosforilisani sa EGFR i ostalim tirozin kinazama (312). Disregulacija ekspresije gena koja je nastala aktiviranjem Stat3 gena dobro je poznati mehanizam u tumorogenezi i progresiji tumora. Shodno tome, postoje novi dokazi o hiperaktivnosti EGFR i Jak-Stat3 puteva koji su povezani sa rezistencijom na lekove. Ovo je utvrđeno uz pomoć indukcije antiapoptotičkih faktora, uključujući Bcl-2, Bcl-xL, Survivin i XIAP (313). Međutim, uloga EGFR i Stat3 kod rezistencije na cisplatinu još uvek nije dovoljno objašnjena. Novi uvid u mehanizam puteva koji dovode do rezistencije na cisplatinu kod karcinoma jajnika obezbediće nove i efikasne modalitete terapije ove bolesti.

Peibun i saradnici (314) su koristeći cisplatin rezistentne modele u *in vitro* uslovima, prezentovali dokaze o sposobnosti formiranja kolonija, pokretljivosti, migraciji i invazivnosti ćelija rezistentnih na cisplatinu karcinoma jajnika. Ove promene povezane su sa prekomernom ekspresijom Survivina, FLIP i VEGF, povećanjem aktivnosti metaloproteinaze matriksa i indukcijom EMT u *in vitro* uslovima. Svi oni osetljivi su na inhibiciju EGFR, Jaks ili Stat3. Rezistentne ćelije karcinoma jajnika pokazuju povećanu tumorogenezu i diseminaciju u peritonealnoj regiji u *in vivo* uslovima. Kod tumorskih nodusa koji nisu senzitivni na cisplatinu došlo je do odgovora na terapiju cisplatinom uz pomoć inhibicije aktivnosti hiperaktivnog EGFR ili Stat3. Sadašnje studije pokazuju da hiperreaktivni EGFR, uz pomoć aktivnosti Stat3 i Jak-Stat3, doprinosi nastanku fenotipa rezistentnog na cisplatinu (314).

U studiji Zhao i saradnika (315), sintetisana je mala interferirajuća RNK (siRNK) koja deluje na *stat3* gen. Ekspresija vektora siRNA-*stat3* povezana je sa p Silencer 2.1-U6, koji je zatim korišćen za transfekciju ćelija humanog karcinoma jajnika (SKOV3 ćelije) u cilju inhibicije ekspresije STAT3 i indukcije apoptoze kancerskih ćelija. Rast i apoptoza ćelija karcinoma jajnika praćena je kod subkutano ubrizganih SKOV3 ćelija transficiranih sa siRNA-*stat3* u *nude* miševima. Rezultati su pokazali da je ekspresija STAT3 značajno veća kod humanog karcinoma jajnika u poređenju sa normalnim tkivom jajnika (315).

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Radna hipoteza

Na osnovu literaturnih podataka i preliminarnih istraživanja, sprovedenih po napred navedenim postupcima na određenom broju uzoraka, očekuje se da predviđena istraživanja potvrde prisustvo ćelija koje ekspimiraju Nanog, Sox2, Oct3/4, Sox4, CD44, CD117, Ezh2, Stat3. Analizom imunohistohemijski obrađenih preparata i dobijenih rezultata, očekuje se da je određeni imunofenotip kancerskih ćelija povezan sa kliničkim i patološkim karakteristikama karcinoma jajnika.

Ciljevi istraživanja su:

1. Analiza kliničkih i patoloških karakteristika karcinoma jajnika.
2. Utvrđivanje ekspresije Nanog, Sox2, Oct3/4, Sox4, CD44, CD117, Ezh2, Stat3 na parafinskim presecima karcinoma jajnika.
3. Komparacija ekspresije Nanog, Sox2, Oct3/4, Sox4, CD44, CD117, Ezh2, Stat3 sa kliničkim i patološkim karakteristikama karcinoma jajnika.

3. MATERIJAL I METODOLOGIJA

Istraživanjem su obuhvaćene bolesnice sa karcinomom jajnika dijagnostifikovane u periodu od 2005. do 2011. godine u regionu južne Srbije. Njihovo preživljavanje praćeno je do oktobra meseca 2013. godine.

Analizirano je 270 primarnih karcinoma jajnika i to: karcinomi jajnika ograničeni na jajnike (FIGO stadijum I), karcinomi jajnika prošireni na organe male karlice (FIGO stadijum II), karcinomi jajnika sa peritonealnim metastazama (FIGO stadijum III) i karcinomi jajnika sa udaljenim metastazama (FIGO stadijum IV). Praćeni su klinički parametri bolesnica sa karcinomom jajnika, kao i njihove patološke karakteristike. Klinički parametri koji su analizirani su: godine starosti, FIGO stadijum, prisustvo i veličina rezidualnog tumora, vrsta terapije i odgovor na terapiju. Patološke karakteristike koje su analizirane su: histološki tip tumora, histološki gradus i nuklearni gradus.

Izvor podataka su istorije bolesti bolesnica sa karcinomom jajnika koje su lećene u Klinici za onkologiju KC Niš. Patološka i imunohistohemijska analiza uzoraka karcinoma jajnika obavljena je na Institutu za patologiju Medicinskog fakulteta u Nišu.

Patohistološka analiza izvršena je na biopsijskim uzorcima karcinoma jajnika koji su fiksirani u 10% neutralnom formalinu, obraćeni u aparatu za automatsku obradu tkiva i ukalupljeni u parafin i sećeni na mikrotomu debljine 5 μ m.

Nakon deparafinacije i procesiranja u graduisanim alkoholima na odabranim isećcima primenjene su sledeće metode bojenja:

1. Klasićna histološka HE metoda
 - odrećivanje diferentovanosti tumora
 - odrećivanje patološkog stadijuma tumora
2. Imunohistohemijska Avidin-Biotin Complex (ABC) metoda za detekciju:
 - citoplazmatske i nuklearne ekspresije Nanog
 - citoplazmatske i nuklearne ekspresije Sox2
 - citoplazmatske i nuklearne ekspresije Oct3/4
 - citoplazmatske i nuklearne ekspresije Sox4
 - membranske ekspresije CD44
 - citoplazmatske ekspresije CD117

- citoplazmatske ekspresije EZH
- citoplazmatske ekspresije STAT3

Za imunohistohemijsku analizu korišćena su mišja i zečja monoklonska antitela na Nanog, Sox2, Oct3/4, Sox4, CD44, CD117, EZH, STAT3. Korišćena razblaženja i ekspresija su prikazani u tabeli.

Tabela 1. Karakteristike korišćenih imunohistohemijskih markera

Antitelo	Klon/Proizvođač	Razblaženje	Ekspresija
Nanog	Anti-Nanog antibody (ab80892), abcam	1:400	jedarna i citoplazmatska
Sox2	Rb pAb to Sox2, ab97959, abcam	1:100	jedarna i citoplazmatska
Oct3/4	Rb pAb to Oct ¾ ab 19857, abcam	1:1000	jedarna i citoplazmatska
Sox4	Rb pAb to Sox4, ab 52043, abcam	1:100	jedarna i citoplazmatska
CD44	Monoclonal Mouse Anti-Human CD 44, phagocytic glycoprotein-1, clone DF 1485	1:500	membranska
CD117	Polyclonal Rabbit Anti-Human CD 117, c-kit	1:300	citoplazmatska
EZH	Anti-KMT6/EZH2 antibody (ab3748), abcam	1:100	citoplazmatska jedarna
STAT3	Anti-STAT3 (phospho S727) antibody, abcam	1:100	citoplazmatska i jedarna

Za imunohistohemijsku analizu korišćeni su parafinski preseći tkiva debljine 5µm. Prema protokolu imunohistohemijske metode – Avidin-Biotin Complex (ABC), tkivni preseći su deparafinisani, rehidratirani i inkubirani u 30ml/L hidrogen peroksidu, da bi se blokirala endogena peroksidaza, a potom isprani u PBS pH=7,4. Sledeći korak bila je inkubacija sa napred navedenim specifičnim antitelima u trajanju od 24h u vlažnoj komori na temperaturi od 4C. Posle ispiranja u PBS-u tkivo je inkubirano sa sekundarnim antitelom (Biotin labeled goat anti-rabbit antibody) u trajanju od 30 minuta. Sledi ponovno ispiranja u PBS-u i inkubacija sa tercijalnim antitelom u trajanju od 30 minuta.

Za vizualizaciju markiranih antigena korišćen je di-amino-benzidin-tetra-hidrochlorid (DAB) u H₂O₂ uz bojenje jedara hematoksilinom.

Primarna antitela su zamenjena PBS puferom što je korišćeno kao negativna kontrola, dok su pojedine normalne strukture korišćene kao pozitivna interna kontrola.

Analiza imunohistohemijski bojjenih mikroskopskih preparata karcinoma jajnik izvršena je pomoću svetlosnog mikroskopa Leica DM 1000. Dobijeni rezultati su sistematizovani i grupisani, a statistička signifikantnost testirana je odgovarajućim statističkim testovima shodno ispitivanim parametrima i veličini uzoraka.

Skoriranje imunohistohemijske reakcije

Pozitivan nalaz predstavlja braonkasto citoplazmatsko ili nuklearno prebojavanje.

Imunohistohemijska reakcija ekspresije SOX2, SOX4, Nanog i OCT okarakterisana je kao negativan nalaz (odsustvo imunoreaktivnosti) ili kao pozitivna ukoliko je više od 5% ćelija pokazalo imunoreaktivnost. Tumori koji su pokazali imunoreaktivnost podeljeni su u grupe sa slabom (low) i visokom (high) ekspresijom. Nisku ekspresiju su pokazivali tumori čija je distribucija bila više od 5% ćelija i slabog intenziteta imunološke reakcije. Visoka ekspresija pomenutih markera bila je prisutna ukoliko je intenzitet imunološke reakcije bio umeren ili visok u više od 5% tumorskih ćelija (118,164).

Skoriranje imunohistohemijske reakcije za markere STAT3, EZH i CD 117 vršeno je na osnovu procene pozitivne reakcije u tumorskim ćelijama: manje od 5% negativna reakcija, od 5 do 25% slabo pozitivna, od 25 do 50% umereno pozitivna i više od 50% reakcija

visokog intenziteta. Pri čemu je reakcija okarakterisana kao pozitivna ako je procenat tumorskih ćelija bio veći od 25%, a intenzitet reakcije umeren ili visok (304).

Statističke metode

Kvantitativna statistička analiza je sprovedena na računaru. Za upisivanje, rangiranje, grupisanje, tabelarno i grafičko prikazivanje podataka korišćen je Excel program iz Microsoft Office 2003 programskog paketa. Proračuni su vršeni korišćenjem programa R u verziji 2.12.0 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

Poređenje srednjih vrednosti numeričkih obeležja između dve grupe ispitanica vršeno je Student-ovim t testom ili Man-Vitni U testom (Mann-Whitney U test) u slučajevima kada distribucija vrednosti nije ispunjavala zahteve normalnog rasporeda. Poređenje numeričkih vrednosti između tri i četiri grupe ispitanica vršeno je analizom varijanse (ANOVA) uz primenu Tukijevog (Tukey) post hoc testa sa Kramerovom korekcijom za nejednake veličine grupa.

Poređenje učestalosti pojedinih kategorija atributivnih obeležja između pojedinih grupa ispitanika vršeno je Hi kvadrat testom (Chi square test) ili Fišerovim testom (Fisher exact test) u slučajevima kada je neka od očekivanih frekvencija bila manja od 5.

Procena povezanosti smrtnog ishoda i svih ostalih ispitivanih faktora vršena je multivarijantnom Koksovom regresionom analizom (Cox regression). Izračunavane su vrednosti odnosa verovatnoća za nastupanje i nenastupanje smrtnog ishoda (odds ratio - OR) i njihovih 95% intervala poverenja (95% IP). Primenom metode korak po korak unazad (Backward: Wald) iz regresionog modela su isključeni svi oni faktori čija statistička značajnost nije potvrđena.

Povezanost nivoa ekspresije pojedinih markera i verovatnoće preživljavanja u toku studije ispitivana je Kaplan Mejerovom procenom (Kaplan Meier estimator) i log-rank testom. Podudarnost između ekspresija različitih markera ispitivana je izračunavanjem Kohen Kapa koeficijentata (Cohen Kappa). Kao prag statističke značajnosti u zaključivanju korišćen je dozvoljeni nivo greške procene manji od 5% ($p < 0.05$).

4. REZULTATI

4.1. Karakteristike bolesnica u odnosu na primenjenu terapiju i ishod bolesti kod različitih tipova epitelnih malignih tumora jajnika

Ispitivanjem je obuhvaćena grupa od 278 bolesnica sa epitelnim malignim tumorom jajnika različitih histopatoloških tipova (serozni karcinom, mucinozni karcinom, endometrioidni i svetloćelijski karcinom jajnika).

Prosečna starost bolesnica iznosila je $55,50 \pm 12,65$ godina. Nije dobijena statistička značajnost u pogledu godina života i podtipova tumora.

Tabela 2. Karakteristike ispitanica u odnosu na epitelni kancer jajnika

Karakteristika	Epitelni kancer jajnika				Ukupno (n=278)	Poređenje
	Serozni (n=204)	Mucinozni (n=28)	Endometrioidni (n=32)	Svetloćelijski (n=14)		
Starost (godine)	56,37±12,63	55,75±11,02	50,27±14,93	54,14±7,53	55,50±12,65	n.s.
Vreme do postavljanja Dg (meseći)	4,36±4,87	4,11±2,65	5,19±5,94	2,71±1,32	4,35±4,72	n.s.
Vrsta tumora						
Primarni	164 (80,4%)	28 (100,0%)	28 (87,5%)	14 (100,0%)	234 (84,2%)	A†, C*
Metastaza	40 (19,6%)	0 (0,0%)	4 (12,5%)	0 (0,0%)	44 (15,8%)	
Rezidualni tumor	18 (8,8%)	4 (14,3%)	6 (18,8%)	2 (14,3%)	30 (10,8%)	n.s.

NAPOMENE: A – Serozni vs Mucinozni; B – Serozni vs Endometrioidni; C – Serozni vs Svetloćelijski;

D – Mucinozni vs Endometrioidni; E – Mucinozni vs Svetloćelijski; F – Endometrioidni vs Svetloćelijski;

* - $p < 0,05$; † - $p < 0,01$; ‡ - $p < 0,001$; n.s. – non significant.

U pogledu vremena do postavljanja dijagnoze koje je u proseku iznosilo $4,35 \pm 4,72$ meseci takođe nije dobijena statistička značajnost kod različitih tipova epitelnog karcinoma jajnika. Praćeni markeri analizirani su kod 234 (84,2%) primarna tumora, dok su isti prisutni u metastaskim depozitima kod 44 (15,8%). Pojava metastaza bila je najzastupljenija (19,6%) kod bolesnica sa seroznim karcinomom jajnika i ova učestalost bila je značajno veća u odnosu na ispitanice sa mucinoznim karcinomom ($p < 0,01$) i svetloćelijskim karcinomom

($p < 0,05$). Prisustvo rezidualnog tumora registrovano je kod 30 (10,8%) bolesnica, ali ni ovaj parametar nije pokazao statističku značajnost među patohistološkim podtipovima (tabela 2).

Tabela 3. Vrsta primenjene terapije u odnosu na epitelni kancer jajnika

Vrsta terapije	Epitelni kancer jajnika				Ukupno (n=278)	Poređenje
	Serozni (n=204)	Mucinozni (n=28)	Endometroidni (n=32)	Svetloćelijski (n=14)		
Hiruška Th						
Radikalna histerektomija	104 (51,5%)	18 (75,0%)	26 (81,3%)	12 (85,7%)	160 (58,8%)	A*, B†, C*
Unilateralna adneksotomija sa histerektomijom	6 (3,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	6 (2,2%)	n.s.
Bilateralna adneksotomija	16 (7,9%)	2 (8,3%)	0 (0,0%)	2 (14,3%)	20 (7,4%)	n.s.
Unilateralna adneksotomija	22 (10,9%)	4 (16,7%)	6 (18,8%)	0 (0,0%)	32 (11,8%)	n.s.
Eksplorativna biopsija	54 (26,7%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	54 (19,9%)	A†, B†, C*
Hemoterapija						
Bez Th	10 (5,1%)	6 (25,0%)	2 (6,3%)	0 (0,0%)	18 (6,8%)	A‡, D*, E*
TC	130 (66,3%)	6 (25,0%)	12 (37,5%)	8 (57,1%)	156 (58,6%)	A‡, B†, E*
CP	26 (13,3%)	8 (33,3%)	10 (31,3%)	4 (28,6%)	48 (18,0%)	A*, B*
Mono carboplatina	26 (13,3%)	4 (16,7%)	8 (25,0%)	2 (14,3%)	40 (15,0%)	n.s.
Vepezid	2 (1,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	2 (0,8%)	n.s.
CAP	2 (1,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	2 (0,8%)	n.s.
Broj Th	5,07±1,88	3,75±2,54	5,06±1,77	5,57±1,09	4,98±1,94	A†, E*

NAPOMENE: A – Serozni vs Mucinozni; B – Serozni vs Endometroidni; C – Serozni vs Svetloćelijski;

D – Mucinozni vs Endometroidni; E – Mucinozni vs Svetloćelijski; F – Endometroidni vs Svetloćelijski;

* - $p < 0,05$; † - $p < 0,01$; ‡ - $p < 0,001$; n.s. – non significant.

Radikalna hirurška intervencija (histerektomija, adnektomija i omentektomija) urađena je u 58,8% odnosno 160 bolesnica i to kod 51,5% bolesnica sa seroznim karcinomom i ova učestalost bila je značajno manja u odnosu na ispitanice sa mucinoznim karcinomom (75,0%; $p<0,05$), endometrioidnim (81,3%; $p<0,01$) i svetloćelijskim (85,7%; $p<0,05$) karcinomom. Unilateralna adnektomija sa histerektomijom urađena je samo u 6 slučajeva (3%) bolesnica sa seroznim karcinomom. Bilateralnu adnektomiju imalo je 20 (7,4%) bolesnica. Praćeno po tipovima karcinoma nije evidentirana statistička značajnost. Unilateralna adnektomija urađena je kod 32 bolesnice (11,8%), ali ni u ovom slučaju nije dobijena statistička značajnost u pogledu podtipa karcinoma. Kod 1/5 bolesnica (54, ili 19,9%) od ukupnog broja ispitanica urađena je samo eksplorativna laparotomija sa biopsijom i PH verifikacijom tumora. Sve one su imale serozni karcinom jajnika, što ukazuje da je nešto više od 1/4 bolesnica 26,7% sa seroznim karcinomom bilo inoperabilno (tabela 3).

S obzirom na stadijum bolesti, opšte stanje bolesnica i komorbiditete citostatsku terapiju nije primalo 18 (6,8%) ispitanica. Među ovim bolesnicama njih 6 ili 25,0%, je bilo sa mucinoznim karcinomom, a 10 (5,1%) sa seroznim karcinomom. Analiza podtipova u odnosu na izostanak hemioterapije pokazala je da 25% bolesnica sa mucinoznim karcinomom nije primalo terapiju, što je značajno veća učestalost u odnosu na ispitanice sa seroznim tipom tumora (5,1; $p<0,001$), endometrioidnim (6,3; $p<0,05$) i svetloćelijskim tipom tumora (0,0; $p<0,05$) (tabela 3).

Hemioterapiju po TC protokolu primalo je 156 (58,6%) bolesnica. Među njima je najviše bilo onih sa seroznim karcinomom jajnika 66,3% i ova učestalost je bila značajno veća u odnosu na ispitanice sa mucinoznim karcinomom (25,0%; $p<0,001$) i endometrioidnim karcinomom (37,5%; $p<0,01$) što predstavlja značajno veću učestalost u odnosu na ispitanice sa mucinoznim karcinomom ($p<0,05$). Bolesnice sa svetloćelijskim karcinomom primale su u 57,1% slučajeva TC protokol što predstavlja značajno veću učestalost u odnosu na ispitanice sa mucinoznim karcinomom ($p<0,05$). Mali broj bolesnica primao je monohemioterapiju i to sa Vepezidom 2 (0,8%) i karboplatinom njih 40 (15%). Patohistološki podtip tumora nije bio od značaja za uključivanje monohemioterapije. Terapija po CP protokolu u najmanjem procentu uključena je kod bolesnica sa seroznim karcinomom (13,3%), što je bilo značajno manje u odnosu na bolesnice sa mucinoznim karcinomom

(33,3%; $p < 0,05$) i endometroidnim tipom tumora (31,3%; $p < 0,05$). Sekundarni hemioterapijski protokol CAP (Cyclophosphamid/adriamycin/cisplatin) su primale samo 2 bolesnice (0,8%) i to sa seroznim tipom karcinoma. Sve bolesnice su u proseku primale $4,98 \pm 1,94$ ciklusa hemioterapije. Prosečan broj primljenih hemioterapija bio je najniži kod bolesnica sa mucinoznim karcinomom ($3,75 \pm 2,54$) i ovo je bio značajno manji broj u odnosu na ispitanice sa seroznim karcinomom ($5,07 \pm 1,88$; $p < 0,01$) i svetloćelijskim tipom tumora ($5,57 \pm 1,09$; $p < 0,05$) (tabela 3).

Tabela 4. Ishod bolesti u odnosu na epitelni kancer jajnika

Ishod terapije	Epitelni kancer jajnika				Ukupno (n=278)	Poređenje
	Serozni (n=204)	Mucinozni (n=28)	Endometroidni (n=32)	Svetloćelijski (n=14)		
Progresija	28 (15,1%)	2 (10,0%)	2 (6,7%)	4 (33,3%)	36 (14,6%)	F*
Stabilna bolest	6 (3,2%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	6 (2,4%)	n.s.
Parcijalna remisija	64 (34,6%)	2 (10,0%)	0 (0,0%)	2 (16,7%)	68 (27,5%)	A*, B‡
Kompletna remisija	87 (47,0%)	16 (80,0%)	28 (93,3%)	6 (50,0%)	137 (55,5%)	A†, B‡, F†
Preživljavanje (meseći)	$37,97 \pm 23,01$	$35,63 \pm 24,89$	$37,97 \pm 19,54$	$30,79 \pm 19,99$	$37,35 \pm 22,60$	n.s.
Nastupanje smrtnog ishoda	90 (48,4%)	10 (41,7%)	14 (46,7%)	8 (57,1%)	122 (48,0%)	n.s.

NAPOMENE: A – Serozni vs Mucinozni; B – Serozni vs Endometroidni; C – Serozni vs Svetloćelijski;

D – Mucinozni vs Endometroidni; E – Mucinozni vs Svetloćelijski; F – Endometroidni vs Svetloćelijski;

* - $p < 0,05$; † - $p < 0,01$; ‡ - $p < 0,001$; n.s. – non significant.

Kod svih praćenih bolesnica progresija bolesti evidentirana je u 36 (14,6%) slučajeva. Progresija bolesti je u najvećem procentu evidentirana kod bolesnica sa svetloćelijskim karcinomom jajnika (33,3%) i ovo je bila značajno veća učestalost u odnosu na bolesnice sa endometroidnim karcinomom (6,7%; $p < 0,05$). Progresija je takođe registrovana i kod bolesnica sa seroznim (28, ili 15,1%) i mucinoznim karcinomom (2, ili 10,0%) ali nije pokazala statističku značajnost u odnosu na svetloćelijski karcinom. Stabilnu bolest imalo je samo 6 (2,4%) od ukupnog broja bolesnica i sve one su imale serozni karcinom. Kod svih praćenih bolesnica parcijalna remisija evidentirana je u 36 (14,6%) slučajeva. Parcijalna

remisija registrovana je kod 34,6% bolesnica sa seroznim karcinomom i ova učestalost je bila značajno veća u odnosu na ispitanice sa mucinoznim (10,0%; $p < 0,05$) i endometroidnim karcinomom (0,0%; $p < 0,001$). Kompletna remisija postignuta je kod 137 (55,5%) bolesnica. Kompletna remisija je u najmanjem procentu verifikovana kod bolesnica sa seroznim karcinomom i ova učestalost je bila značajno manja u odnosu na ispitanice sa mucinoznim (80,0%; $p < 0,01$) i endometroidnim karcinomom (93,3%; $p < 0,001$). Kompletna remisija je evidentirana kod 50,0% bolesnica sa svetloćelijskim tipom tumora i ova učestalost je bila značajno u odnosu na ispitanice sa endometroidnim tipom tumora ($p < 0,01$) (tabela 4).

Prosečno preživljavanje svih praćenih bolesnica bilo je $37,35 \pm 22,60$ meseci, najmanje kod svetloćelijskog karcinoma $30,79 \pm 19,99$ meseci ali ove razlike nisu dostigle statističku značajnost među podtipovima. Kod gotovo 1/2 bolesnica (122, ili 48%) nastupio je smrtni ishod. U najmanjem procentu letalno je završilo 41,7% bolesnica sa mucinoznim karcinomom, a najviše 57,1% kod ispitanica sa svetloćelijskim karcinomom (tabela 4).

Tabela 5. FIGO stadijum, HG i NG gradus u odnosu na epitelni kancer jajnika

Stadijum/ Gradus	Epitelni kancer jajnika				Ukupno	Poređenje
	Serozni	Mucinozni	Endometroidni	Svetloćelijski		
FIGO stadijum						
Borderline	18 (8,9%)	4 (15,4%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	22 (8,0%)	n.s.
I	24 (11,9%)	14 (53,8%)	14 (43,8%)	6 (42,9%)	58 (21,2%)	A‡, B‡, C†, D*
II	20 (9,9%)	2 (7,7%)	2 (6,3%)	2 (14,3%)	26 (9,5%)	n.s.
III	112 (55,4%)	6 (23,1%)	16 (50,0%)	6 (42,9%)	140 (51,1%)	A†, D*
IV	28 (13,9%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	28 (10,2%)	A*, B*
HG gradus						
0	18 (8,9%)	4 (14,3%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	22 (8,0%)	D*
1	22 (10,9%)	10 (35,7%)	8 (25,0%)	2 (14,3%)	42 (15,2%)	A‡, B*
2	110 (54,5%)	12 (42,9%)	16 (50,0%)	8 (57,1%)	146 (52,9%)	n.s.
3	52 (25,7%)	2 (7,1%)	8 (25,0%)	4 (28,6%)	66 (23,9%)	A*
NG gradus						
0	18 (8,9%)	4 (14,3%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	22 (8,0%)	D*
1	20 (9,9%)	12 (42,9%)	10 (31,3%)	2 (14,3%)	44 (15,9%)	A‡, B†
2	120 (59,4%)	12 (42,9%)	14 (43,8%)	4 (28,6%)	150 (54,3%)	C*
3	44 (21,8%)	0 (0,0%)	8 (25,0%)	8 (57,1%)	60 (21,7%)	A†, C†, D†, E‡, F*

NAPOMENE: A – Serozni vs Mucinozni; B – Serozni vs Endometroidni; C – Serozni vs Svetloćelijski;

D – Mucinozni vs Endometroidni; E – Mucinozni vs Svetloćelijski; F – Endometroidni vs Svetloćelijski;

* - $p < 0,05$; † - $p < 0,01$; ‡ - $p < 0,001$; n.s. – non significant.

Svi rezultati koji se odnose na stadijum bolesti, histološki gradus i nuklearni gradus prezentovani su u tabeli 5.

U FIGO stadijumu I najmanji broj bolesnica bio je sa seroznim karcinomom (11,9%) i ova učestalost bila je značajno manja u odnosu na ispitanice sa mucinoznim karcinomom (53,8%; $p < 0,001$), endometroidnim (43,8%; $p < 0,001$) i svetloćelijskim karcinomom jajnika

(42,9%; $p < 0,01$). Mucinoznim karcinomom u stadijumu I imalo je značajno više bolesnica u odnosu na one sa svetloćelijskim karcinomom ($p < 0,05$).

Najmanji broj bolesnica u FIGO stadijumu III imale su mucinoznim karcinomom (23,1%), što je pokazalo statističku značajnost u odnosu na ispitanice sa seroznim (55,4%; $p < 0,01$) i endometroidnim karcinomom (50,0%; $p < 0,05$).

Četvrti FIGO stadijum bolesti bio je najzastupljeniji kod bolesnica sa seroznim karcinomom (13,9%) i ova učestalost je bila značajno veća u odnosu na ispitanice sa mucinoznim karcinomom ($p < 0,05$) i endometroidnim karcinomom ($p < 0,05$), kod kojih ovaj stadijum nije evidentiran.

Granični tumori bili su najzastupljeniji kod bolesnica sa mucinoznim karcinomom (14,3%) i ova učestalost bila je značajno veća u odnosu na ispitanice sa endometroidnim karcinomom ($p < 0,05$), kod kojih *borderline* tumor nije evidentiran.

Histološki gradus I (dobro diferentovan tumor) bio je najređe zastupljen kod bolesnica sa seroznim karcinomom (10,9%) i ova učestalost bila je značajno manja u odnosu na ispitanice sa mucinoznim karcinomom (35,7%; $p < 0,001$) i endometroidnim karcinomom (25,0%; $p < 0,05$).

Histološki gradus II imalo je nešto više od polovine bolesnica (146, ili 52%). Mešutim nije evidentirana statistička značajnost razlika među podtipovima karcinoma jajnika.

Histološki gradus III (nediferentovan tumor) bio je značajno češće verifikovan kod bolesnica sa seroznim karcinomom u odnosu na bolesnice sa mucinoznim karcinomom (25,7:7,1%; $p < 0,05$).

Granični tumori bili su najzastupljeniji kod bolesnica sa mucinoznim karcinomom (14,3%) i ova učestalost je bila značajno veća u odnosu na ispitanice sa endometroidnim karcinomom ($p < 0,05$).

Nuklearni gradus I bio je najređe zastupljen kod bolesnica sa seroznim karcinomom (9,9%) i ova učestalost je bila značajno manja u odnosu na ispitanice sa mucinoznim karcinomom (42,9%; $p < 0,001$) i endometroidnim karcinomom (31,3%; $p < 0,01$).

Nuklearni gradus II bio je značajno češće zastupljen kod bolesnica sa seroznim u odnosu na bolesnice sa svetloćelijskim karcinomom (28,6:7,1%; $p<0,05$).

Nuklearni gradus III bio je najzastupljeniji kod bolesnica sa svetloćelijskim karcinomom (57,1%) i ova učestalost bila je značajno veća u odnosu na ispitanice sa seroznim karcinomom (21,8%; $p<0,01$), kao i mucinoznim (0,0%; $p<0,001$) i endometroidnim karcinomom (25,0%; $p<0,05$). Bolesnice sa mucinoznim karcinomom imale su značajno manje nediferentovanih tumora u odnosu na ispitanice sa seroznim ($p<0,01$) i endometroidnim karcinomom jajnika ($p<0,01$).

4.2. Ekspresija molekularnih markera u karcinomu jajnika

Ekspresija ispitivanih molekularnih markera (Nanog, Sox2, Oct3-4, Sox4, CD44, CD117, Ezh2 i Stat3) u ispitivanom karcinomu jajnika prikazana je u Tabeli 6 i 7.

Tabela 6. Ekspresija Nanog, Sox2, Oct3/4 u odnosu na vrste epitelnih malignih tumora jajnika

Marker/ Ekspresija	Epitelni kancer jajnika				Ukupno	Poređenje
	Serozni	Mucinozni	Endometroidni	Svetloćelijski		
Nanog						
Negativan	60 (31,9%)	8 (40,0%)	16 (50,0%)	2 (20,0%)	86 (34,4%)	B*
Pozitivan	128 (68,1%)	12 (60,0%)	16 (50,0%)	8 (80,0%)	164 (65,6%)	
Low expression	40 (21,3%)	6 (30,0%)	6 (18,8%)	6 (60,0%)	58 (23,2%)	C†, F*
High expression	88 (46,8%)	6 (30,0%)	10 (31,3%)	2 (20,0%)	106 (42,4%)	n.s.
Sox2						
Negativan	54 (30,3%)	6 (27,3%)	12 (40,0%)	6 (60,0%)	78 (32,5%)	C*
Pozitivan	124 (69,7%)	16 (72,7%)	18 (60,0%)	4 (40,0%)	162 (67,5%)	
Low expression	64 (36,0%)	4 (18,2%)	4 (13,3%)	2 (20,0%)	74 (30,8%)	B*
High expression	60 (33,7%)	12 (54,5%)	14 (46,7%)	2 (20,0%)	88 (36,7%)	n.s.
Oct3/4						
Negativan	88 (49,4%)	14 (63,6%)	14 (46,7%)	8 (80,0%)	124 (51,7%)	n.s.
Pozitivan	90 (50,6%)	8 (36,4%)	16 (53,3%)	2 (20,0%)	116 (48,3%)	
Low expression	62 (34,8%)	4 (18,2%)	12 (40,0%)	0 (0,0%)	78 (32,5%)	C*, F*
High expression	28 (15,7%)	4 (18,2%)	4 (13,3%)	2 (20,0%)	38 (15,8%)	n.s.

NAPOMENE: A – Serozni vs Mucinozni; B – Serozni vs Endometroidni; C – Serozni vs Svetloćelijski;

D – Mucinozni vs Endometroidni; E – Mucinozni vs Svetloćelijski; F – Endometroidni vs Svetloćelijski;

* - $p < 0,05$; † - $p < 0,01$; ‡ - $p < 0,001$; n.s. – non significant.

Najveći broj ispitivanih tumora pokazao je pozitivnost na Nanog 65,6%, dok 34,4% tumora nije pokazivalo ekspresiju ovog markera. Niska ekspresija Nanog evidentirana je u 23,2% tumora, dok je visoku ekspresiju pokazalo njih 42,4%. Pozitivna ekspresija Nanog evidentirana je u značajno većem procentu kod bolesnica sa seroznim karcinomom (68,1%) u

odnosu na ispitanice sa endometroidnim karcinomom (50,0%; $p < 0,05$). Niska ekspresija Nanog evidentirana je u značajno većem procentu kod bolesnica sa svetloćelijskim karcinomom (60,0%) u odnosu na ispitanice sa seroznim (21,3%; $p < 0,01$) i endometroidnim karcinomom (18,8%; $p < 0,05$) (tabela 6).

Najveći broj tumora 162, ili 67,5% pokazivao je pozitivnu ekspresiju Sox2, dok je 1/3 bila bez ekspresije ovog markera. Među tumorima pozitivnim na Sox2 nisku ekspresiju imalo je 30,8%, a visoku 36,7%. Visoka ekspresija Sox2 nije postigla statističku značajnost među podtipovima epitelnih karcinoma jajnika (tabela 6).

Pozitivna ekspresija Sox2 evidentirana je u značajno većem procentu kod bolesnica sa seroznim karcinomom (69,7%) u odnosu na ispitanice sa svetloćelijskim karcinomom (40,0%; $p < 0,05$). Niska ekspresija Sox2 evidentirana je u značajno većem procentu kod bolesnica sa seroznim karcinomom (36,0%) u odnosu na ispitanice sa endometroidnim karcinomom (13,3%; $p < 0,05$) (tabela 6).

Gotovo polovina tumora (51,7%) nije pokazivala ekspresiju Oct 3/4, dok je druga polovina pokazivala pozitivnu ekspresiju (48,3%), znatno više nisku ekspresiju (32,5%), a manje visoku ekspresiju (15,8%). Niska ekspresija Oct 3/4 evidentirana je u značajno manjem procentu kod bolesnica sa svetloćelijskim karcinomom (0,0%) u odnosu na ispitanice sa seroznim (34,8%; $p < 0,05$) i endometroidnim karcinomom (40,0%; $p < 0,05$) (tabela 6).

Tabela 7. Ekspresija markera u odnosu na vrste epitelnih malignih tumora jajnika

Marker/ Ekspresija	Epitelni kancer jajnika				Ukupno	Poređenje
	Serozni	Mucinozni	Endometroidni	Svetloćelijski		
Sox4						
Negativan	62 (33,0%)	4 (20,0%)	10 (31,3%)	2 (20,0%)	78 (31,2%)	n.s.
Pozitivan	126 (67,0%)	16 (80,0%)	22 (68,8%)	8 (80,0%)	172 (68,8%)	
Low expression	34 (18,1%)	6 (30,0%)	8 (25,0%)	6 (60,0%)	54 (21,6%)	C†, F*
High expression	92 (48,9%)	10 (50,0%)	14 (43,8%)	2 (20,0%)	118 (47,2%)	n.s.
CD44						
Do 10 procenata	78 (43,8%)	8 (36,4%)	12 (40,0%)	4 (40,0%)	102 (42,5%)	n.s.
Preko 10 procenata	100 (56,2%)	14 (63,6%)	18 (60,0%)	6 (60,0%)	138 (57,5%)	
CD117						
Negativan	120 (67,4%)	20 (90,9%)	24 (80,0%)	10 (100,0%)	174 (72,5%)	A*, C*
Pozitivan	58 (32,6%)	2 (9,1%)	6 (20,0%)	0 (0,0%)	66 (27,5%)	
Ezh2						
Negativan	44 (23,4%)	4 (20,0%)	8 (25,0%)	2 (20,0%)	58 (23,2%)	n.s.
Pozitivan	144 (76,6%)	16 (80,0%)	24 (75,0%)	8 (80,0%)	192 (76,8%)	
Stat3						
Negativan	38 (20,2%)	8 (40,0%)	4 (12,5%)	6 (60,0%)	56 (22,4%)	A*, C†, D*, F†
Pozitivan	150 (79,8%)	12 (60,0%)	28 (87,5%)	4 (40,0%)	194 (77,6%)	

NAPOMENE: A – Serozni vs Mucinozni; B – Serozni vs Endometroidni; C – Serozni vs Svetloćelijski;

D – Mucinozni vs Endometroidni; E – Mucinozni vs Svetloćelijski; F – Endometroidni vs Svetloćelijski;

* - $p < 0,05$; † - $p < 0,01$; ‡ - $p < 0,001$; n.s. – non significant.

Na ispitivanom materijalu Sox4 je pokazao pozitivnost u 68,8% tumora. Visoka ekspresija ovog markera evidentirana je u 47,2% slučajaja, a niska u 21,6%. Niska ekspresija Sox4 evidentirana je u značajno većem procentu kod bolesnica sa svetloćelijskim karcinomom (60,0%) u odnosu na ispitanice sa seroznim (18,1%; $p<0,01$) i endometroidnim karcinomom (25,0%; $p<0,05$) (tabela 7).

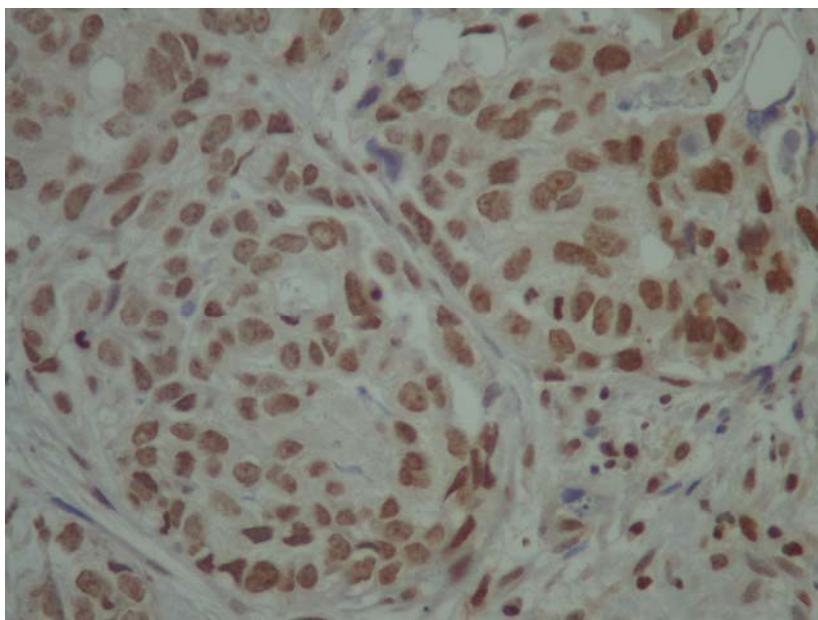
Nije evidentirana razlika u ekspresiji CD44 do 10% i preko 10% među podtipovima epitelnog kancera (tabela 7).

Najveći broj tumora 72,5% nije pokazalo ekspresiju CD117, dok je pozitivna ekspresija bila kod 1/3 bolesnica (27,5%). Pozitivna ekspresija CD117 evidentirana je u značajno većem procentu kod bolesnica sa seroznim karcinomom (32,6%) u odnosu na ispitanice sa mucinoznim (9,1%; $p<0,05$) i svetloćelijskim karcinomom (0,0%; $p<0,05$) (tabela 7).

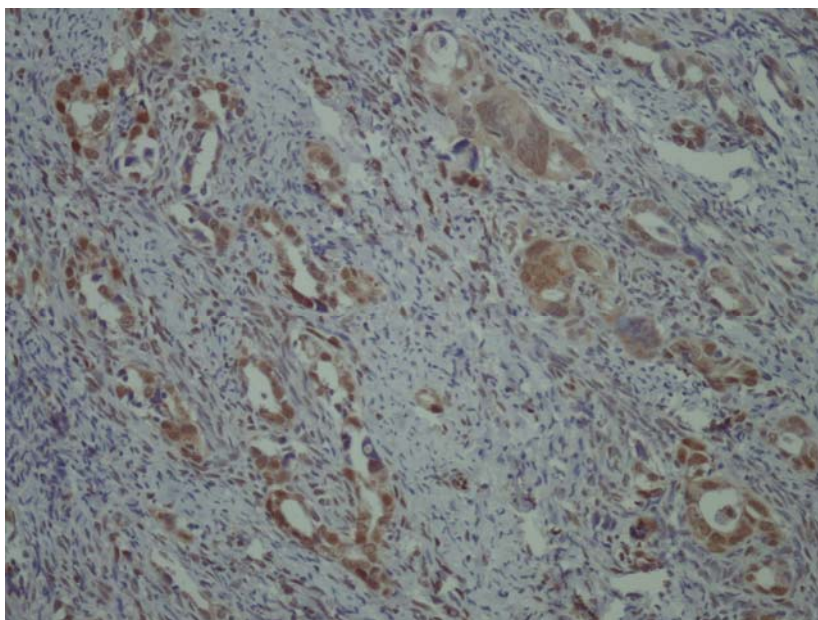
Najveći broj ispitivanih tumora pokazao je pozitivnost (76,8%) na Ezh2. Među podtipovima epitelnih kancera jajnika nije bilo statističke značajnosti u ekspresiji ovog markera (tabela 7).

Najveći broj slučajeva pokazao je ekspresiju Stat3 (77,6%), dok 22,4% tumora nije ekspresiralo ovaj marker. Pozitivna ekspresija Stat3 evidentirana je u najvećem procentu kod bolesnica sa endometroidnim karcinomom (87,5%) i ova zastupljenost je bila značajno veća u odnosu na ispitanice sa mucinoznim (60,0%; $p<0,05$) i svetloćelijskim karcinomom (40,0%; $p<0,01$). Pozitivna ekspresija Stat3 je i kod bolesnica sa seroznim karcinomom (79,8%) bila značajno veća u odnosu na ispitanice sa mucinoznim ($p<0,05$) i svetloćelijskim karcinomom ($p<0,01$) (tabela 7).

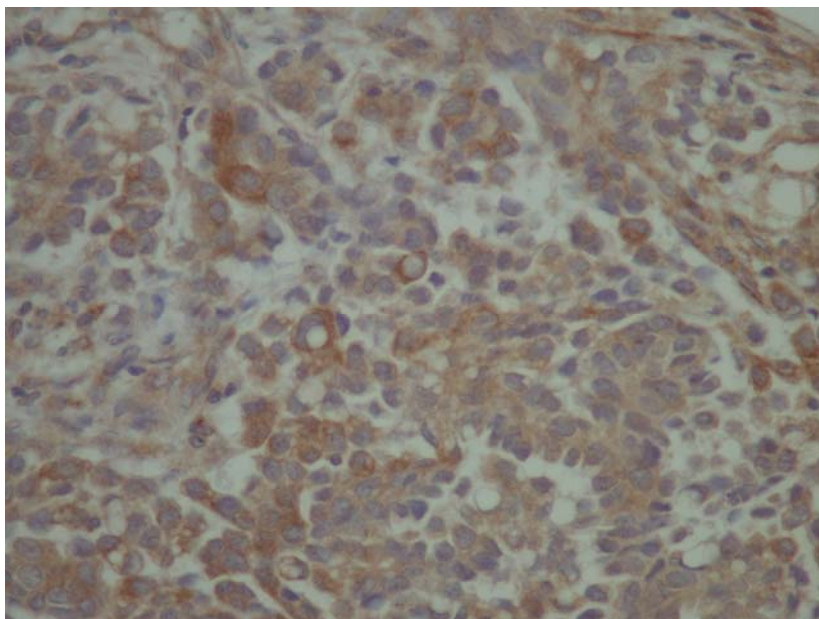
Ekspresija ispitivanih markera (Nanog, Sox2, Oct3-4, Sox4, CD44, CD117, Ezh2 i Stat3) prikazana je na fotografijama (3-21).



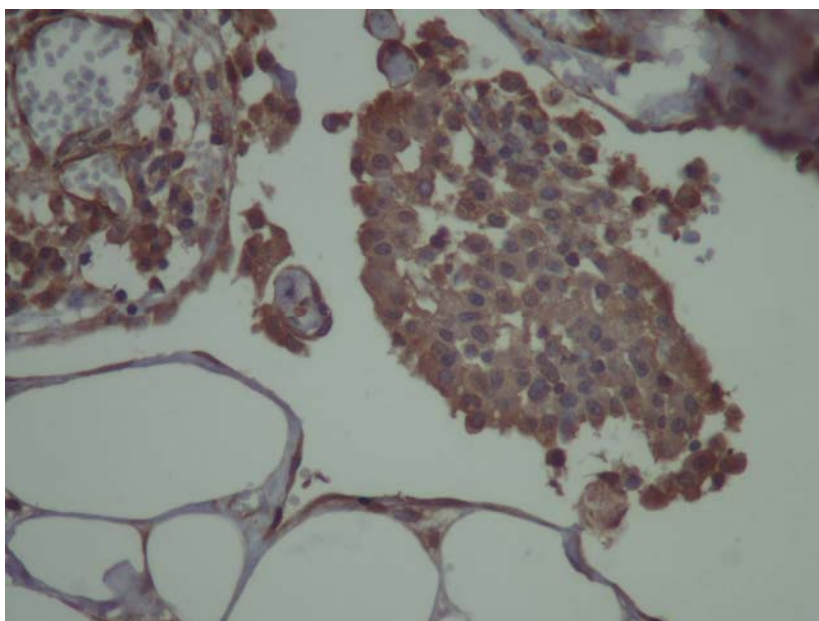
Slika 3. Nuklearna ekspresija Nanog u slabodiferentovanom seroznom karcinomu (x400)



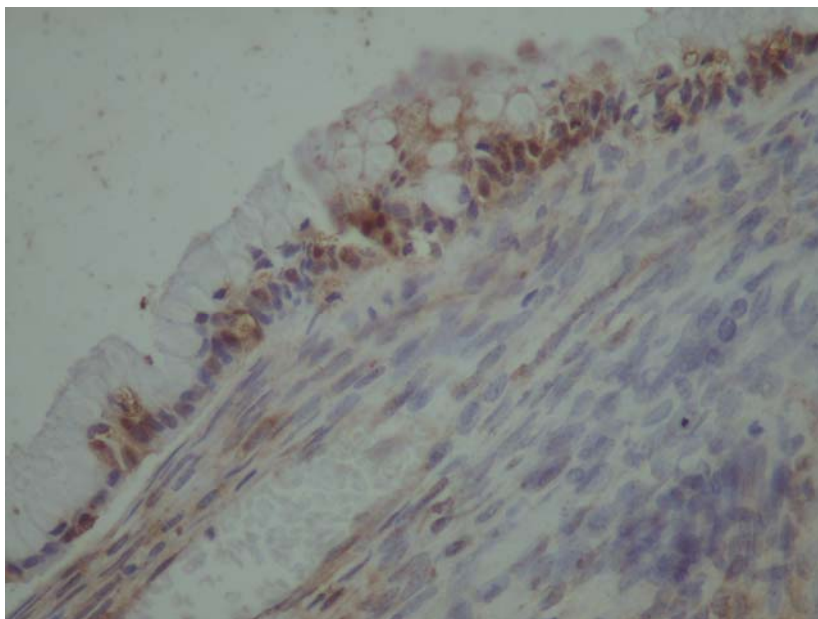
Slika 4. Dominantno nuklearna i citoplazmatska ekspresija Nanog u slabodiferentovanom seroznom karcinomu jajnika (x200)



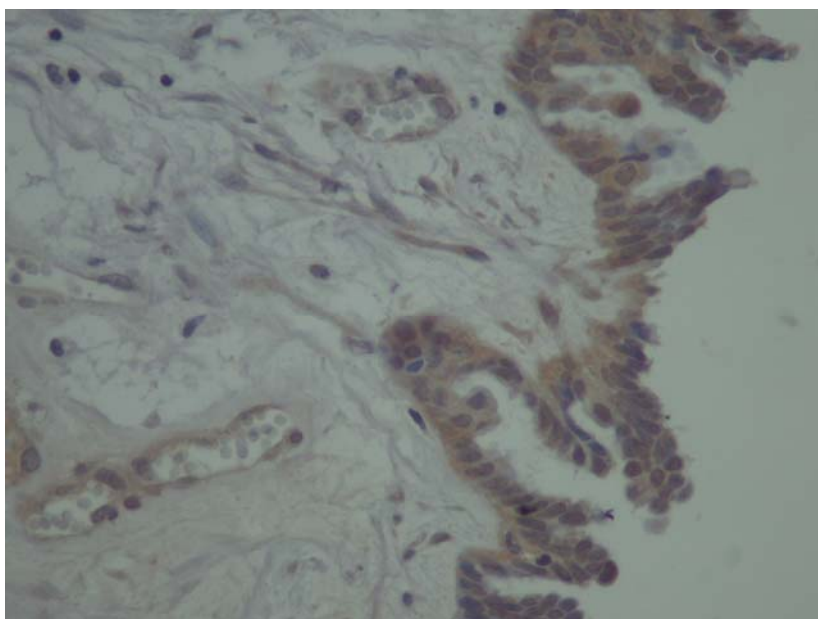
Slika 5. Citoplazmatska ekspresija SOX2 u seroznom karcinomu jajnika (x400)



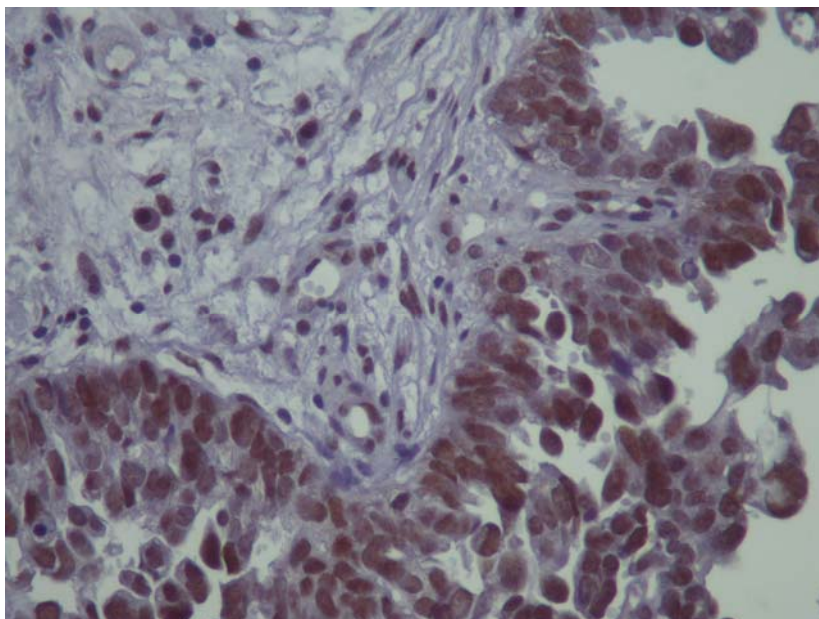
Slika 6. Citoplazmatska ekspresija SOX2 u metastazi seroznog karcinoma (x400)



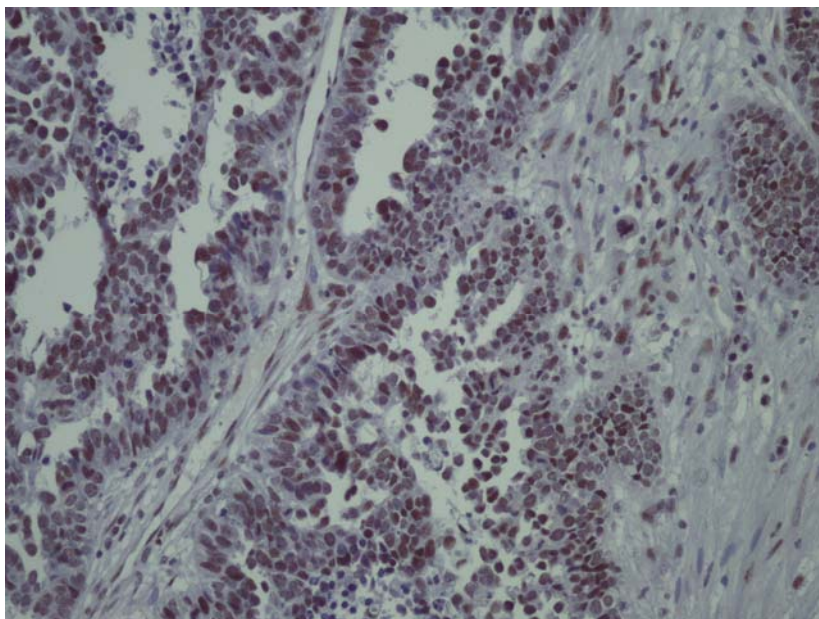
Slika 7. Citoplazmatska ekspresija SOX2 u dobrodiferentovanom mucinoznom karcinomu jajnika (x200)



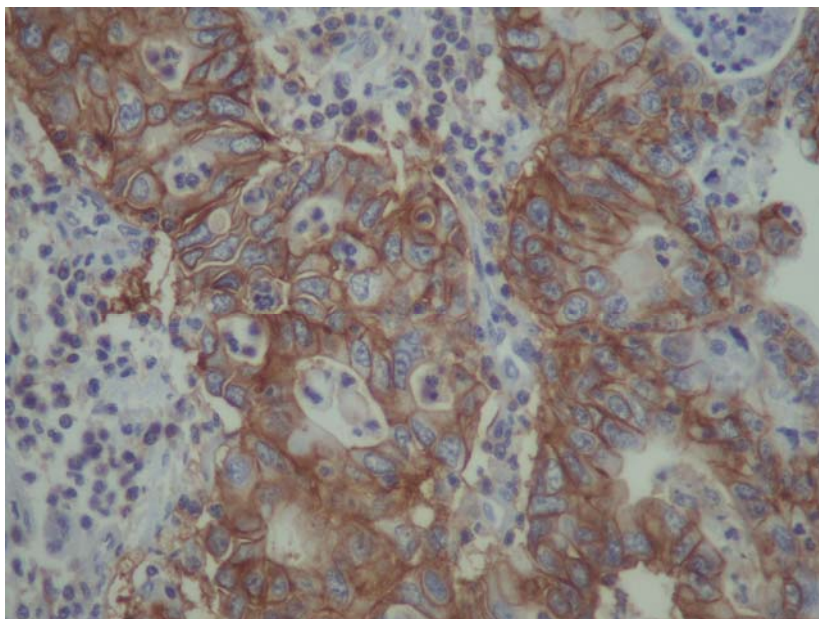
Slika 8. Citoplazmatska ekspresija OCT u dobrodiferentovanom seroznom karcinomu jajnika (x400)



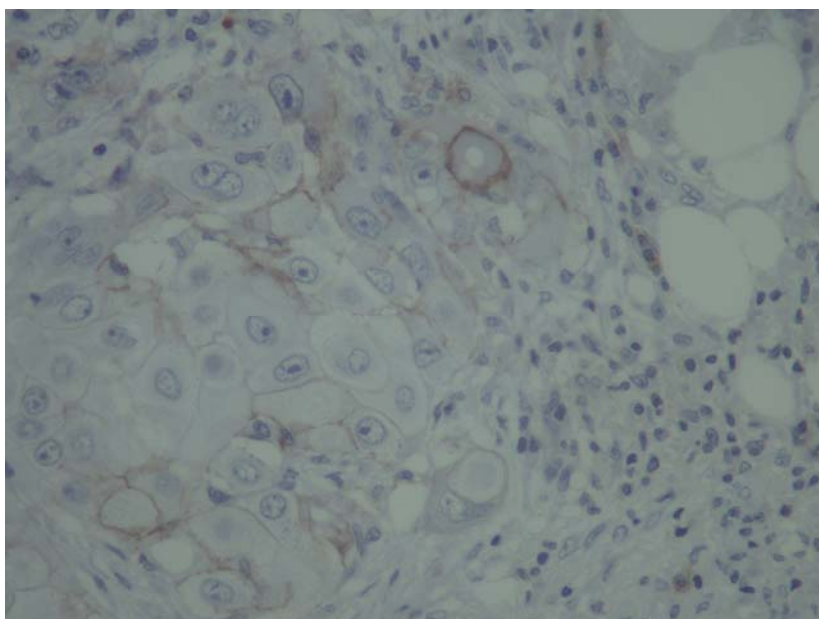
Slika 9. Citoplazmatska i nuklearna ekspresija SOX4 u slabodiferentovanom seroznom karcinomu jajnika (x400)



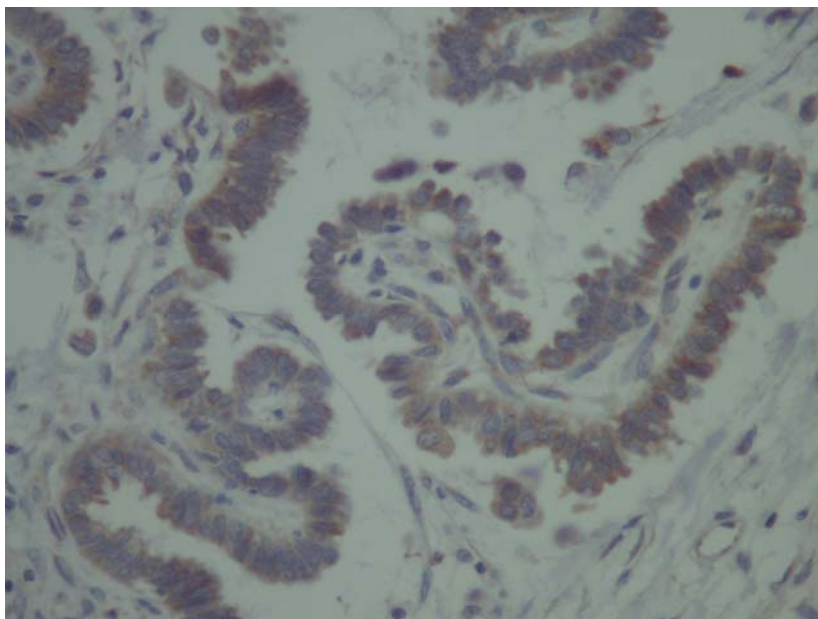
Slika 10. Citoplazmatska i nuklearna ekspresija SOX4 u seroznom karcinomu jajnika (x200)



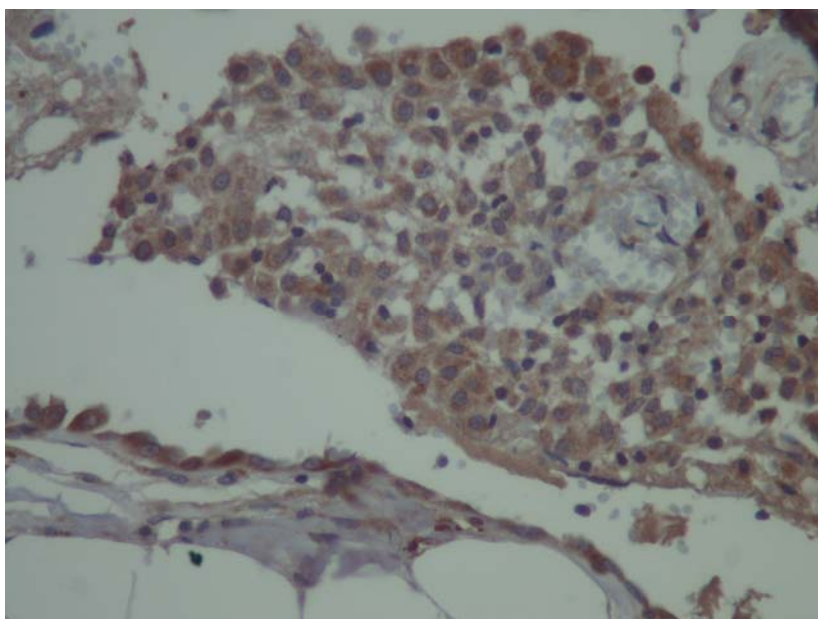
Slika 11. Membranska ekspresija CD44 u slabodiferentovanom seroznom karcinomu jajnika (x400)



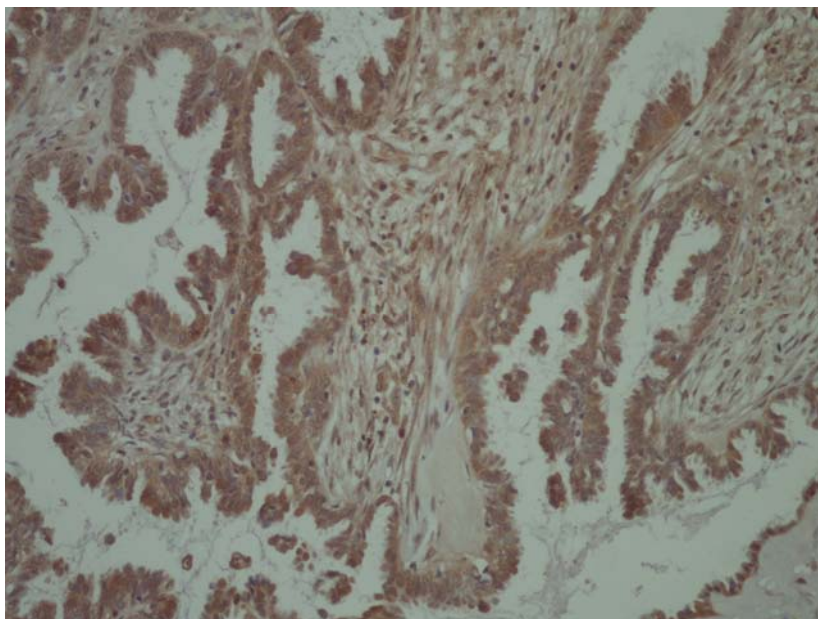
Slika 12. Gubitak imunoreaktivnosti CD44 u metastazi seroznog karcinoma jajnika (x400)



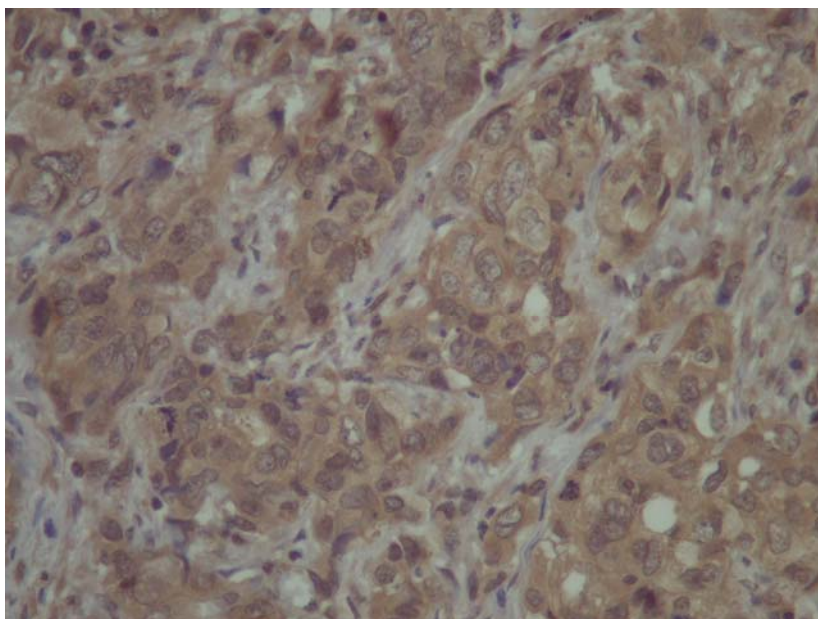
Slika 13. Citoplazmatska ekspresija CD117 u dobrodiferentovanom seroznom karcinomu jajnika (x400)



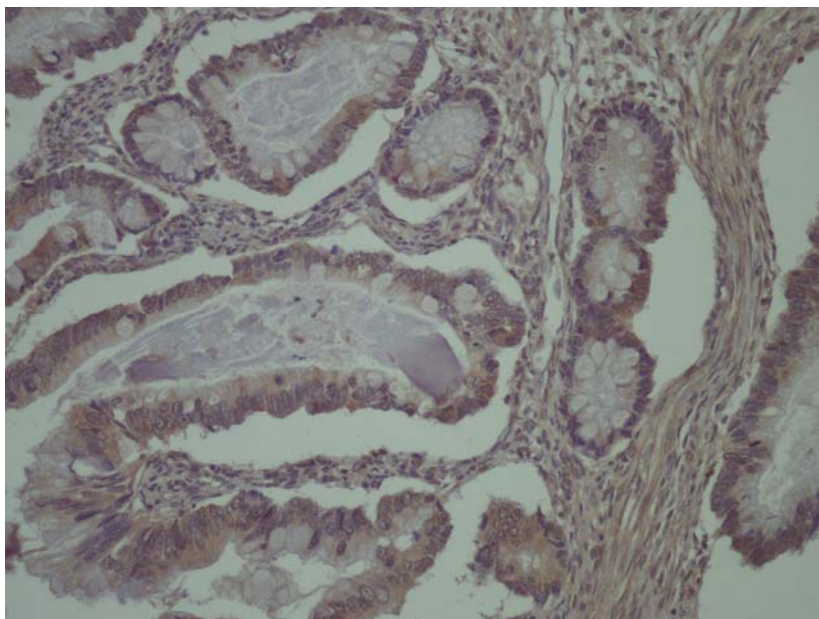
Slika 14. Citoplazmatska ekspresija CD117 u metastazi seroznog karcinoma jajnika (x400)



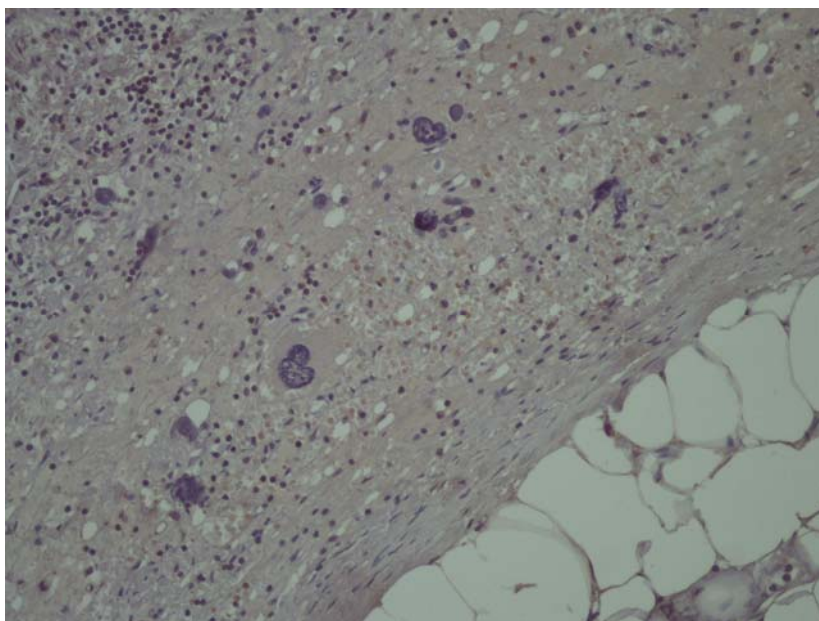
Slika 15. Citoplazmatska ekspresija EZH u dobrodiferentovanom seroznom karcinomu jajnika (x200)



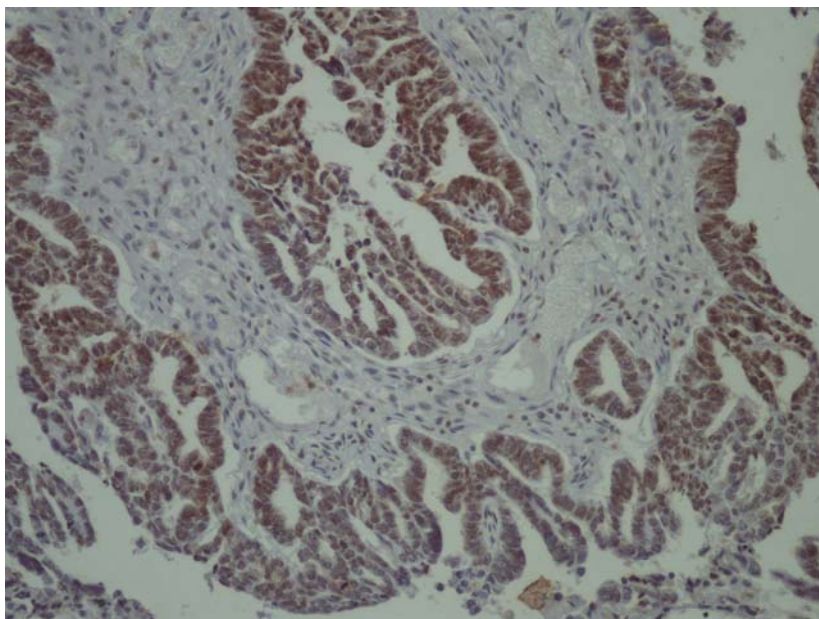
Slika 16. Citoplazmatska ekspresija EZH u slabodiferentovanom seroznom karcinomu jajnika (x400)



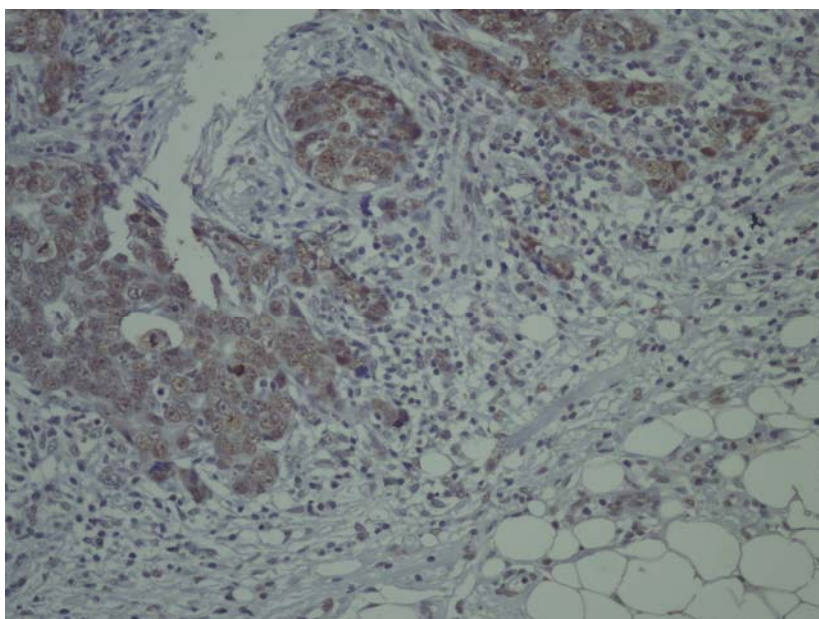
Slika 17. Citoplazmatska ekspresija EZH u dobrodiferentovanom mucinoznom karcinomu jajnika (x200)



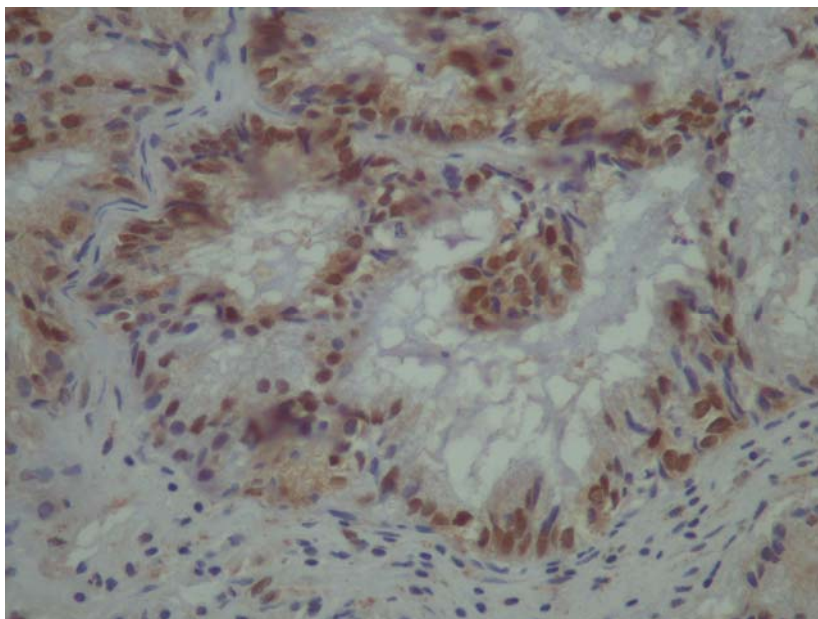
Slika. 18. Negativan nalaz ekspresije EZH u peritonealnom implantatu seroznog karcinoma jajnika (x200)



Slika 19. Citoplazmatska i nuklearna ekspresija STAT3 u seroznom karcinomu jajnika (x200)



Slika 20. Pretežno citoplazmatska ekspresija STAT3 kod metastaze seroznog karcinoma jajnika (x200)



Slika 21. Citoplazmatska i nuklearna ekspresija STAT3 u mucinoznom karcinomu jajnika (x200)

4.3. Komparacija ekspresije molekularnih markera sa kliničkim i patološkim karakteristikama karcinoma jajnika

4.3.1. Nanog

Prosečna starost bolesnica sa visokom ekspresijom Nanog iznosila je $59,66 \pm 11,61$ godina i one su bile značajno starije u odnosu na ispitanice bez ekspresije ($53,6 \pm 10,72$ godine; $p < 0,01$), kao i onih sa niskom ekspresijom ($52,12 \pm 15,37$ godine; $p < 0,01$) (tabela 8).

Metastaze su bile značajno češće zastupljene kod bolesnica sa visokom u odnosu na one sa niskom ekspresijom Nanog ($24,5:10,3\%$; $p < 0,05$) (tabela 8).

Tabela 8. Karakteristike ispitanica i vrsta tumora u odnosu na ekspresiju Nanog

Karakteristika	Ekspresija Nanog			Poređenje
	Bez ekspresije (n=86)	Niska ekspresija (n=58)	Visoka ekspresija (n=106)	
Starost (godine)	$53,6 \pm 10,72$	$52,12 \pm 15,37$	$59,66 \pm 11,61$	B†, C‡
Vreme do postavljanja Dg (meseci)	$4,57 \pm 3,33$	$2,43 \pm 1,11$	$5,01 \pm 6,13$	n.s.
Vrsta tumora				
Primarni	74 (86,0%)	52 (89,6%)	80 (75,4%)	C*
Metastaza	12 (13,9%)	6 (10,3%)	26 (24,5%)	C*
Rezidualni tumor	8 (9,3%)	4 (6,8%)	16 (15,0%)	n.s.

NAPOMENE: A – Bez ekspresije vs Niska ekspresija; B – Bez ekspresije vs Visoka ekspresija; C – Niska ekspresija vs Visoka ekspresija; * - $p < 0,05$; † - $p < 0,01$; ‡ - $p < 0,001$; n.s. – non significant.

Radikalna histerektomija je izvršena u značajno većem procentu kod bolesnica bez ekspresije Nanog u odnosu na ispitanice sa visokom ekspresijom ($65,1:50,9\%$; $p < 0,05$). Nasuprot tome, bilateralna adneksektomija urađena je u značajno manjem procentu kod bolesnica bez ekspresije Nanog u odnosu na ispitanice sa visokom ekspresijom ($2,3:11,3\%$; $p < 0,05$) (tabela 9).

Terapija po CP protokolu (ciclophosphamid/cisplatin) bila je najzastupljenija kod bolesnica sa niskom ekspresijom Nanog (28,0%) i ova učestalost bila je značajno veća u odnosu na ispitanice sa visokom ekspresijom Nanog (13,2%; $p < 0,05$) (tabela 9).

Terapija sa mono carboplatinom je bila najzastupljenija kod bolesnica sa visokom ekspresijom Nanog (20,7%) i ova učestalost je bila značajno veća u odnosu na ispitanice bez ekspresije (9,7%; $p < 0,05$). Na početku praćenog perioda još uvek nije bio standardni protokol TC za visoke stadijume bolesti (tabela 9).

Tabela 9. Vrsta primenjene terapije u odnosu na ekspresiju Nanog

Vrsta terapije	Ekspresija Nanog			Poređenje
	Bez ekspresije (n=86)	Niska ekspresija (n=58)	Visoka ekspresija (n=106)	
Hiruška Th				
Radikalna histerektomija	56 (65,1%)	30 (57,6%)	54 (50,9%)	B*
Unilateralna adnektomija sa histerektomijom	4 (4,6%)	0 (0,0%)	2 (1,8%)	n.s.
Bilateralna adnektomija	2 (2,3%)	4 (7,6%)	12 (11,3%)	B*
Unilateralna adnektomija	6 (6,9%)	8 (15,3%)	14 (13,2%)	n.s.
Eksplorativna biopsija	18 (20,9%)	10 (19,2%)	24 (22,6%)	n.s.
Hemoterapija				
Bez Th	4 (4,8%)	0 (0,0%)	4 (3,7%)	n.s.
TC	48 (58,5%)	32 (64%)	66 (62,2%)	n.s.
CP	18 (21,9%)	14 (28,0%)	14 (13,2%)	C*
Mono carboplatina	8 (9,7%)	4 (8,0%)	22 (20,7%)	B*
Vepezid	2 (2,4%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	n.s.
CAP	2 (2,4%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	n.s.
Broj Th	5,37±1,72	5,04±1,44	5,04±1,82	n.s.

NAPOMENE: A – Bez ekspresije vs Niska ekspresija; B – Bez ekspresije vs Visoka ekspresija; C – Niska ekspresija vs Visoka ekspresija; * - $p < 0,05$; † - $p < 0,01$; ‡ - $p < 0,001$; n.s. – non significant.

Stabilna bolest je u najvećem procentu evidentirana kod bolesnica sa niskom ekspresijom Nanog (8,3%) i ovo je bila značajno veća učestalost u odnosu na bolesnice bez ekspresije kod kojih stabilna bolest nije evidentirana ($p<0,05$) (tabela 10).

Kompletna remisija registrovana je kod 63,6% bolesnica bez ekspresije Nanog i ova učestalost je bila značajno veća u odnosu na ispitanice sa visokom ekspresijom (47,0%; $p<0,05$) (tabela 10).

Razlike ostalih praćenih kliničkih parametara kod bolesnica sa različitim nivoima ekspresije Nanog nisu bile statistički značajne.

Tabela 10. Ishod bolesti u odnosu na ekspresiju Nanog

Ishod bolesti	Ekspresija Nanog			Poređenje
	Bez ekspresije (n=86)	Niska ekspresija (n=58)	Visoka ekspresija (n=106)	
Progresija	8 (10,3%)	10 (20,8%)	16 (15,6%)	n.s.
Stabilna bolest	0 (0,0%)	4 (8,3%)	2 (1,9%)	A*
Parcijalna remisija	20 (25,9%)	8 (16,6%)	36 (35,2%)	n.s.
Kompletna remisija	49 (63,6%)	26 (54,1%)	48 (47,0%)	B*
Preživljavanje (meseći)	39,46±26,09	37,12±19,89	35,21±23,11	n.s.
Nastupanje smrtnog ishoda	50 (48,0%)	38 (51,3%)	26 (54,1%)	n.s.

NAPOMENE: A – Bez ekspresije vs Niska ekspresija; B – Bez ekspresije vs Visoka ekspresija; C – Niska ekspresija vs Visoka ekspresija; * - $p<0,05$; † - $p<0,01$; ‡ - $p<0,001$; n.s. – non significant.

U FIGO stadijumu I u najmanjem broju slučajeva evidentirana je visoka ekspresija Nanog (7,5%), dok su izostanak ekspresije (25,5%; $p<0,01$), kao i niska ekspresija Nanog bile značajno više zastupljene u ovom stadijumu bolesti (33,3%; $p<0,001$) (tabela 11).

U FIGO stadijumu III u najređem broju slučajeva evidentirana je niska ekspresija Nanog (29,6%), dok su izostanak ekspresije (55,8%; $p<0,01$), kao i visoka ekspresija Nanog bile značajno češće zastupljene u ovom stadijumu bolesti (66,0%; $p<0,001$) (tabela 11).

Nasuprot tome, i FIGO stadijumu IV najzastupljenije su bile bolesnice sa niskom ekspresijom Nanog (18,5%) i ova učestalost je bila značajno veća u odnosu na bolesnice kod kojih nije verifikovana ekspresija Nanog (6,9%; $p<0,05$) (tabela 11).

Dobro diferentovani tumori (histološki gradis 1) bili su najzastupljeniji kod bolesnica sa niskom ekspresijom Nanog (21,4%) i ova učestalost je bila značajno veća u odnosu na ispitanice sa visokom ekspresijom Nanog (11,3%; $p<0,05$) (tabela 11).

Dobro diferentovani tumori (nuklearni gradus I) bili su najzastupljeniji kod bolesnica sa niskom ekspresijom Nanog (21,4%) i ova učestalost je bila značajno veća u odnosu na ispitanice bez ekspresije (9,3%; $p<0,05$) (tabela 11).

Nediferentovani tumori (nuklearni gradus III) bili su najzastupljeniji kod bolesnica sa visokom ekspresijom Nanog (30,1%), a ova učestalost je bila značajno veća u odnosu na ispitanice sa niskom ekspresijom (14,2%; $p<0,05$) (tabela 11).

Tabela 11. FIGO stadijum, HG i NG gradus u odnosu na ekspresiju Nanog

Karakteristika	Ekspresija Nanog			Poređenje
	Bez ekspresije (n=86)	Niska ekspresija (n=58)	Visoka ekspresija (n=106)	
FIGO stadijum				
Borderline	4 (4,6%)	2 (3,7%)	8 (7,5%)	n.s.
I	22 (25,5%)	18 (33,3%)	8 (7,5%)	B†, C‡
II	6 (6,9%)	8 (14,8%)	10 (9,4%)	n.s.
III	48 (55,8%)	16 (29,6%)	70 (66,0%)	A†, C‡
IV	6 (6,9%)	10 (18,5%)	10 (9,4%)	A*
HG gradus				
0	4 (4,6%)	2 (3,5%)	8 (7,5%)	n.s.
1	12 (13,9%)	12 (21,4%)	12 (11,3%)	C*
2	49 (56,9%)	32 (57,1%)	58 (54,7%)	n.s.
3	21 (24,4%)	10 (17,8%)	28 (26,4%)	n.s.
NG gradus				
0	4 (4,6%)	2 (3,5%)	8 (7,5%)	n.s.
1	8 (9,3%)	12 (21,4%)	14 (13,2%)	A*
2	56 (65,1%)	34 (60,7%)	52 (49,0%)	n.s.
3	18 (20,9%)	8 (14,2%)	32 (30,1%)	C*

NAPOMENE: A – Bez ekspresije vs Niska ekspresija; B – Bez ekspresije vs Visoka ekspresija; C – Niska ekspresija vs Visoka ekspresija; * - $p < 0,05$; † - $p < 0,01$; ‡ - $p < 0,001$; n.s. – non significant.

4.3.2. Sox2

Prosečna starost bolesnica bez ekspresije Sox2 iznosila je 58,08±11,72 godine i one su bile značajno starije od ispitanica sa niskom ekspresijom čija je prosečna starost iznosila 52,33±12,77 godina ($p<0,05$) (tabela 12).

Metastaze su bile najzastupljenije kod bolesnica sa visokom ekspresijom Sox2 (22,7%) i ova učestalost je bila značajno veća u odnosu na ispitanice bez ekspresije Sox2 (10,3%; $p<0,05$) (tabela 12).

Tabela 12. Karakteristike ispitanica u odnosu na ekspresiju Sox2

Karakteristika	Ekspresija Sox2			Poređenje
	Bez ekspresije (n=78)	Niska ekspresija (n=74)	Visoka ekspresija (n=88)	
Starost (godine)	58,08±11,72	52,33±12,77	56,63±13,646	A*
Vreme do postavljanja Dg (meseci)	4,73±4,50	4,64±5,94	3,66±3,323	n.s.
Vrsta tumora				
Primarni	70 (89,7%)	58 (78,4%)	68 (77,3%)	B*
Metastaza	8 (10,3%)	16 (21,6%)	20 (22,7%)	
Rezidualni tumor	6 (7,7%)	10 (13,5%)	10 (11,4%)	n.s.

NAPOMENE: A – Bez ekspresije vs Niska ekspresija; B – Bez ekspresije vs Visoka ekspresija; C – Niska ekspresija vs Visoka ekspresija; * - $p<0,05$; † - $p<0,01$; ‡ - $p<0,001$; n.s. – non significant.

Radikalna histerektomija je izvršena kod 67,6% bolesnica sa niskom ekspresijom Sox2 i ova učestalost je bila značajno veća u odnosu na ispitanice sa visokom ekspresijom Sox2 (50,0%; $p<0,05$) (tabela 13).

Eksplorativna biopsija je urađena kod 28,6% bolesnica sa visokom ekspresijom Sox2 i ova učestalost je bila značajno veća u odnosu na ispitanice sa niskom ekspresijom Sox2 (10,8%; $p<0,01$) (tabela 13).

Hemioterapija po TC protokolu bila je najređe sprovedena kod bolesnica bez ekspresije Sox2 (40,5%) i ova učestalost je bila značajno manja u odnosu na ispitanice sa niskom (63,9%; $p<0,01$) i visokom ekspresijom Sox2 (70,7%; $p<0,001$) (tabela 13).

Terapija sa mono carboplatinom je bila najzastupljenija kod bolesnica bez ekspresije Sox2 (21,6%) i ova učestalost je bila značajno veća u odnosu na ispitanice sa visokom ekspresijom Sox2 (9,8%; $p<0,05$) (tabela 13).

Tabela 13. Vrsta primenjene terapije u odnosu na ekspresiju Sox2

Vrsta terapije	Ekspresija Sox2			Poređenje
	Bez ekspresije (n=78)	Niska ekspresija (n=74)	Visoka ekspresija (n=88)	
Hiruška Th				
Radikalna histerektomija	48 (63,2%)	50 (67,6%)	42 (50,0%)	C*
Unilateralna adnektomija sa histerektomijom	2 (2,6%)	0 (0,0%)	2 (2,4%)	n.s.
Bilateralna adnektomija	6 (7,9%)	6 (8,1%)	6 (7,1%)	n.s.
Unilateralna adnektomija	8 (10,5%)	10 (13,5%)	10 (11,9%)	n.s.
Eksplorativna biopsija	12 (15,8%)	8 (10,8%)	24 (28,6%)	C†
Hemoterapija				
Bez Th	6 (8,1%)	4 (5,6%)	2 (2,4%)	n.s.
TC	30 (40,5%)	46 (63,9%)	58 (70,7%)	A†, B‡
CP	18 (24,3%)	12 (16,7%)	14 (17,1%)	n.s.
Mono carboplatina	16 (21,6%)	10 (13,9%)	8 (9,8%)	B*
Vepezid	2 (2,7%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	n.s.
CAP	2 (2,7%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	n.s.
Broj ciklusa Th	4,97±2,15	4,75±1,81	5,27±1,587	n.s.

NAPOMENE: A – Bez ekspresije vs Niska ekspresija; B – Bez ekspresije vs Visoka ekspresija; C – Niska ekspresija vs Visoka ekspresija; * - $p<0,05$; † - $p<0,01$; ‡ - $p<0,001$; n.s. – non significant.

Progresija bolesti je u najvećem procentu evidentirana kod bolesnica sa visokom ekspresijom Sox2 (23,1%) i ovo je bila značajno veća učestalost u odnosu na bolesnice bez ekspresije Sox2 (11,4%; $p < 0,05$) (tabela 14).

Parcijalna remisija zabeležena je kod 14,1% bolesnica sa visokom ekspresijom Sox2 i ova učestalost je bila značajno manja nego kod ispitanica sa niskom ekspresijom Sox2 (28,8%; $p < 0,05$) i ispitanica bez ekspresije Sox2 (34,3%; $p < 0,01$) (tabela 14).

Razlike ostalih praćenih kliničkih parametara kod bolesnica sa različitim nivoima ekspresije Sox2 nisu bile statistički značajne.

Tabela 14. Ishod bolesti u odnosu na ekspresiju Sox2

Ishod bolesti	Ekspresija Sox2			Poređenje
	Bez ekspresije (n=78)	Niska ekspresija (n=74)	Visoka ekspresija (n=88)	
Progresija	8 (11,4%)	9 (13,6%)	18 (23,1%)	B*
Stabilna bolest	2 (2,9%)	2 (3,0%)	2 (2,6%)	n.s.
Parcijalna remisija	24 (34,3%)	19 (28,8%)	11 (14,1%)	C*, B†
Kompletna remisija	36(51,4%)	36 (54,5%)	47 (60,3%)	n.s.
Preživljavanje (meseci)	39,47±24,401	37,67±24,73	36,31±23,15	n.s.
Nastupanje smrtnog ishoda	34 (47,2%)	36 (51,4%)	40 (54,1%)	n.s.

NAPOMENE: A – Bez ekspresije vs Niska ekspresija; B – Bez ekspresije vs Visoka ekspresija; C – Niska ekspresija vs Visoka ekspresija; * - $p < 0,05$; † - $p < 0,01$; ‡ - $p < 0,001$; n.s. – non significant.

U FIGO stadijumu I u najvećem broju slučajeva nije evidentirana ekspresija Sox2 (28,9%), dok je u istom stadijumu visoka ekspresija bila značajno manja (7,0%; $p < 0,01$) (tabela 15). Visoka ekspresija Sox2 bila je najzastupljenija kod bolesnica u trećem FIGO stadijumu bolesti (65,1%) i ova učestalost bila je značajno veća nego kod ispitanica sa niskom ekspresijom Sox2 u istom stadijumu bolesti (43,2%; $p < 0,01$) (tabela 15).

Tumori sa histološkim gradusom III imali su značajno nižu ekspresiju Sox2 (13,5%) u odnosu na visoku ekspresiju u istom gradusu (27,3%; $p < 0,05$) (tabela 15). Visoka ekspresija Sox2 bila je najčešće zastupljena kod bolesnica sa histološkim gradusom III (27,3%) i ova

učestalost je bila veća u odnosu na one sa niskom ekspresijom i one bez ekspresije Sox2 ali nije bila statistički značajna (tabela 15).

Tabela 15. FIGO stadijum, HG i NG gradus u odnosu na ekspresiju Sox2

Stadijum/ Gradus	Ekspresija Sox2			Poređenje
	Bez ekspresije (n=76)	Niska ekspresija (n=74)	Visoka ekspresija (n=88)	
FIGO stadijum				
Borderline	6 (7,9%)	6 (8,1%)	6 (7,0%)	n.s.
I	22 (28,9%)	16 (21,6%)	6 (7,0%)	B†
II	4 (5,3%)	10 (13,5%)	6 (7,0%)	n.s.
III	38 (50,0%)	32 (43,2%)	56 (65,1%)	C†
IV	6 (7,9%)	10 (13,5%)	12 (13,9%)	n.s.
HG gradus				
0	6 (7,9%)	6 (8,1%)	6 (6,8%)	n.s.
1	13 (17,1%)	10 (13,5%)	11 (12,5%)	n.s.
2	42 (55,3%)	48 (64,9%)	47 (53,4%)	n.s.
3	15 (19,7%)	10 (13,5%)	24 (27,3%)	C*
NG gradus				
0	6 (7,9%)	6 (8,1%)	6 (6,8%)	n.s.
1	10 (13,1%)	10 (13,5%)	14 (15,9%)	n.s.
2	42 (55,3%)	46 (62,2%)	44 (50,0%)	n.s.
3	18 (23,7%)	12 (16,2%)	24 (27,3%)	n.s.

NAPOMENE: A – Bez ekspresije vs Niska ekspresija; B – Bez ekspresije vs Visoka ekspresija; C – Niska ekspresija vs Visoka ekspresija; * - $p < 0,05$; † - $p < 0,01$; ‡ - $p < 0,001$; n.s. – non significant.

4.3.3. Oct 3/4

Prosečna starost bolesnica bez ekspresije Oct 3/4 iznosila je 57,52±12,42 godina i one su bile značajno starije od ispitanica sa niskom ekspresijom čija je prosečna starost iznosila 52,49±13,51 godine ($p<0,05$) (tabela 16).

Tabela 16. Karakteristike ispitanica u odnosu na ekspresiju Oct 3/4

Karakteristika	Ekspresija Oct 3/4			Poređenje
	Bez ekspresije (n=124)	Niska ekspresija (n=78)	Visoka ekspresija (n=38)	
Starost (godine)	57,52±12,42	52,49±13,51	56,67±12,40	A*
Vreme do postavljanja Dg (meseći)	3,98±4,68	4,72±4,83	4,55±4,18	n.s.
Vrsta tumora				
Primarni	104 (83,8%)	60 (76,9%)	32 (84,2%)	n.s.
Metastaza	20 (16,1%)	18 (23,0%)	6 (15,7%)	n.s.
Rezidualni tumor	10 (8,0%)	10 (12,8%)	6 (15,7%)	n.s.

NAPOMENE: A – Bez ekspresije vs Niska ekspresija; B – Bez ekspresije vs Visoka ekspresija; C – Niska ekspresija vs Visoka ekspresija; * - $p<0,05$; † - $p<0,01$; ‡ - $p<0,001$; n.s. – non significant.

Radikalna histerektomija urađena je kod 70,0% bolesnica bez ekspresije Oct 3/4 i ova učestalost bila je značajno veća u odnosu na ispitanice sa niskom (52,6%; $p<0,05$) i visokom ekspresijom (42,1%; $p<0,01$) (tabela 17).

Unilateralna adnektomija sa histerektomijom urađena je kod 5,2% bolesnica sa niskom ekspresijom Oct 3/4 i ova učestalost bila je značajno veća u odnosu na ispitanice bez ekspresije, kod kojih ova intervencija nije primenjivana ($p<0,05$) (tabela 17).

Eksplorativna laparotomija sa biopsijom inoperabilnog tumora jajnika urađena je kod 31,5% bolesnica sa visokom ekspresijom Oct 3/4 i ova učestalost bila je značajno veća u odnosu na ispitanice bez ekspresije (13,3%; $p<0,05$) (tabela 17).

Sprovođenje hemioterapije po TC protokolu bilo je najmanje primenjeno kod bolesnica bez ekspresije Oct 3/4 (49,1%) i ova učestalost bila je značajno manja u odnosu na ispitanice sa niskom ekspresijom (72,9%; $p < 0,01$) (tabela 17).

Sprovođenje hemioterapije sa mono carboplatinom bilo je najzastupljenije kod bolesnica bez ekspresije Oct 3/4 (18,6%) i ova učestalost bila je značajno veća u odnosu na ispitanice sa niskom ekspresijom (8,1%; $p < 0,05$) (tabela 17).

Tabela 17. Vrsta primenjene terapije u odnosu na ekspresiju Oct 3/4

Vrsta terapije	Ekspresija Oct 3/4			Poređenje
	Bez ekspresije (n=124)	Niska ekspresija (n=78)	Visoka ekspresija (n=38)	
Hiruška Th				
Radikalna histerektomija	84 (70,0%)	40 (52,6%)	16 (42,1%)	A*, B†
Unilateralna adnektomija sa histerektomijom	0 (0,0%)	4 (5,2%)	0 (0,0%)	A*
Bilateralna adnektomija	6 (5,0%)	6 (7,8%)	6 (15,7%)	n.s.
Unilateralna adnektomija	14 (11,6%)	10 (13,1%)	4 (10,5%)	n.s.
Eksplorativna biopsija	16 (13,3%)	16 (21,0%)	12 (31,5%)	B*
Hemoterapija				
Bez Th	10 (8,4%)	2 (2,7%)	0 (0,0%)	n.s.
TC	58 (49,1%)	54 (72,9%)	22 (61,1%)	A‡
CP	24 (20,3%)	12 (16,2%)	8 (22,2%)	n.s.
Mono carboplatina	22 (18,6%)	6 (8,1%)	6 (16,6%)	A*
Vepezid	2 (1,6%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	n.s.
CAP	2 (1,6%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	n.s.
Broj Th	5,07±2,00	4,84±1,68	5,17±1,76	n.s.

NAPOMENE: A – Bez ekspresije vs Niska ekspresija; B – Bez ekspresije vs Visoka ekspresija; C – Niska ekspresija vs Visoka ekspresija; * - $p < 0,05$; † - $p < 0,01$; ‡ - $p < 0,001$; n.s. – non significant.

Kod bolesnica sa visokom ekspresijom Oct 3/4 (41,1%) u najvećem procentu evidentirana je parcijalna remisija i ovo je bila značajno veća učestalost u odnosu na bolesnice bez ekspresije (22,2%; $p<0,05$). Dok je kod bolesnica bez ekspresije Oct 3/4 kompletna remisija nastupila u 62% i ova učestalost je bila značajno veća u odnosu na ispitanice sa visokom ekspresijom Oct 3/4 (35,2%; $p<0,01$) (tabela 18).

Razlike ostalih praćenih kliničkih parametara kod bolesnica sa različitim nivoima ekspresije SOX2 nisu bile statistički značajne.

Tabela 18. Ishod bolesti u odnosu na ekspresiju Oct 3/4

Ishod bolesti	Ekspresija Oct ³ / ₄			Poređenje
	Bez ekspresije (n=124)	Niska ekspresija (n=78)	Visoka ekspresija (n=38)	
Progresija	12 (11,1%)	14 (19,4%)	8 (23,5%)	n.s.
Stabilna bolest	4 (3,7%)	2 (2,7%)	0 (0,0%)	n.s.
Parcijalna remisija	24 (22,2%)	18 (25,0%)	14 (41,1%)	B*
Kompletna remisija	68 (62,9%)	38 (52,7%)	12 (35,2%)	B†
Preživljavanje (meseći)	39,55±25,21	36,47±20,58	35,06±26,45	n.s.
Nastupanje smrtnog ishoda	50 (44,6%)	38 (55,8%)	22 (61,1%)	n.s.

NAPOMENE: A – Bez ekspresije vs Niska ekspresija; B – Bez ekspresije vs Visoka ekspresija; C – Niska ekspresija vs Visoka ekspresija; * - $p<0,05$; † - $p<0,01$; ‡ - $p<0,001$; n.s. – non significant.

Kod graničnih tumora jajnika u najvećem broju slučajeva nije uočena ekspresija Oct 3/4 (11,4%), dok visoka ekspresija Oct u ovom stadijumu nije evidentirana ($p<0,05$) (tabela 19).

U FIGO stadijumu I u najvećem broju slučajeva tumori nisu pokazivali ekspresiju Oct 3/4 (26,2%), dok je visoka ekspresija u ovom stadijumu bila evidentirana u 10,5% što je bilo statistički značajno ($p<0,05$) (tabela 19).

U FIGO stadijumu III u najvećem broju slučajeva bila je registrovana visoka Oct 3/4 ekspresija (68,4%) i bila je statistički značajna u odnosu na tumore koji nisu pokazivali ekspresiju Oct (47,5%; $p < 0,05$) (tabela 19).

Nije nađena statistička značajnost između tumora bez ekspresije Oct 3/4 i onih sa niskom i visokom ekspresijom u odnosu na histološki i nuklearni gradus.

Tabela 19. FIGO stadijum, HG i NG gradus u odnosu na ekspresiju Oct 3/4

Karakteristika	Ekspresija Oct ³ / ₄			Poređenje
	Bez ekspresije (n=124)	Niska ekspresija (n=78)	Visoka ekspresija (n=38)	
FIGO stadijum				
Borderline	14 (11,4%)	4 (5,2%)	0 (0,0%)	B*
I	32 (26,2%)	12 (15,7%)	4 (10,5%)	B*
II	8 (6,5%)	8 (10,5%)	4 (10,5%)	n.s.
III	58 (47,5%)	42 (55,2%)	26 (68,4%)	B*
IV	10 (8,1%)	10 (13,1%)	4 (10,5%)	n.s.
HG gradus				
0	14 (11,5%)	4 (5,1%)	0 (0,0%)	B*
1	22 (18,0%)	16 (20,5%)	4 (10,5%)	n.s.
2	64 (52,4%)	44 (56,4%)	26 (68,4%)	n.s.
3	22 (18,0%)	14 (17,9%)	8 (21,0%)	n.s.
NG gradus				
0	14 (11,5%)	4 (5,1%)	0 (0,0%)	B*
1	20 (16,4%)	12 (15,4%)	6 (15,8%)	n.s.
2	62 (50,8%)	46 (58,9%)	20 (52,6%)	n.s.
3	26 (21,3%)	16 (20,5%)	12 (31,6%)	n.s.

NAPOMENE: A – Bez ekspresije vs Niska ekspresija; B – Bez ekspresije vs Visoka ekspresija; C – Niska ekspresija vs Visoka ekspresija; * - $p < 0,05$; † - $p < 0,01$; ‡ - $p < 0,001$; n.s. – non significant.

4.3.4. Sox4

Prosečna starost bolesnica sa niskom ekspresijom Sox4 iznosila je $50,68 \pm 10,97$ godina i one su bile značajno mlađe od ispitanica bez ekspresije ($58,55 \pm 11,98$ godina; $p < 0,01$), kao i onih sa visokom ekspresijom ($56,67 \pm 13,13$ godina; $p < 0,05$) (tabela 20).

Tabela 20. Karakteristike ispitanica u odnosu na ekspresiju Sox4

Karakteristika	Ekspresija Sox4			Poređenje
	Bez ekspresije (n=78)	Niska ekspresija (n=54)	Visoka ekspresija (n=118)	
Starost (godine)	$58,55 \pm 11,98$	$50,68 \pm 10,97$	$56,67 \pm 13,13$	A†, C*
Vreme do postavljanja Dg (meseći)	$4,77 \pm 4,52$	$3,69 \pm 3,57$	$4,19 \pm 5,00$	n.s.
Vrsta tumora				
Primarni	58 (74,3%)	50 (92,5%)	98 (83,0%)	n.s.
Metastaza	20 (25,6%)	4 (7,4%)	20 (16,9%)	
Rezidualni tumor	6 (7,6%)	6 (11,1%)	16 (13,5%)	n.s.

NAPOMENE: A – Bez ekspresije vs Niska ekspresija; B – Bez ekspresije vs Visoka ekspresija; C – Niska ekspresija vs Visoka ekspresija; * - $p < 0,05$; † - $p < 0,01$; ‡ - $p < 0,001$; n.s. – non significant.

Razlike ostalih praćenih kliničkih parametara kod bolesnica sa različitim nivoima ekspresije Sox4 nisu bile statistički značajne (tabela 21).

Tabela 21. Vrsta primenjene terapije u odnosu na ekspresiju Sox4

Vrsta terapije	Ekspresija Sox4			Poređenje
	Bez ekspresije (n=78)	Niska ekspresija (n=54)	Visoka ekspresija (n=118)	
Hiruška Th				
Radikalna histerektomija	40 (51,2%)	34 (65,3%)	66 (57,8%)	n.s.
Unilateralna adnektomija sa histerektomijom	2 (2,5%)	2 (3,8%)	2 (1,7%)	n.s.
Bilateralna adnektomija	6 (7,6%)	4 (7,6%)	8 (7,0%)	n.s.
Unilateralna adnektomija	8 (10,2%)	4 (7,6%)	16 (14,0%)	n.s.
Eksplorativna biopsija	22 (28,2%)	8 (15,3%)	22 (19,2%)	n.s.
Hemoterapija				
Bez Th	2 (2,7%)	0 (0,0%)	6 (5,2%)	n.s.
TC	42 (56,7%)	32 (64,0%)	72 (63,1%)	n.s.
CP	12 (16,2%)	14 (28,0%)	20 (17,5%)	n.s.
Mono carboplatina	14 (18,9%)	4 (8,0%)	16 (14,0%)	n.s.
Vepezid	2 (2,7%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	n.s.
CAP	2 (2,7%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	n.s.
Broj Th	5,16±1,88	5,2±1,31	5,12±1,77	n.s.

NAPOMENE: A – Bez ekspresije vs Niska ekspresija; B – Bez ekspresije vs Visoka ekspresija; C – Niska ekspresija vs Visoka ekspresija; * - p<0,05; † - p<0,01; ‡ - p<0,001; n.s. – non significant.

Progresija bolesti je u najvećem procentu nastupila kod bolesnica bez ekspresije Sox4 (25,3%) i ovo je bila značajno veća učestalost u odnosu na bolesnice sa visokom ekspresijom (9,2%; $p < 0,01$) (tabela 22).

Razlike ostalih praćenih kliničkih parametara kod bolesnica sa različitim nivoima ekspresije Sox4 nisu bile statistički značajne.

Tabela 22. Ishod bolesti u odnosu na ekspresiju Sox4

Ishod bolesti	Ekspresija Sox4			Poređenje
	Bez ekspresije (n=78)	Niska ekspresija (n=54)	Visoka ekspresija (n=118)	
Progresija	18 (25,3%)	6 (12,5%)	10 (9,2%)	B†
Stabilna bolest	2 (2,8%)	0 (0,0%)	4 (3,7%)	n.s.
Parcijalna remisija	18 (25,3%)	12 (25,0%)	34 (31,4%)	n.s.
Kompletna remisija	33 (46,4%)	30 (62,5%)	60 (55,5%)	n.s.
Preživljavanje (meseći)	34,23±26,51	34,21±19,35	41,69±22,77	n.s.
Nastupanje smrtnog ishoda	40 (57,1%)	26 (54,1%)	48 (44,4%)	n.s.

NAPOMENE: A – Bez ekspresije vs Niska ekspresija; B – Bez ekspresije vs Visoka ekspresija; C – Niska ekspresija vs Visoka ekspresija; * - $p < 0,05$; † - $p < 0,01$; ‡ - $p < 0,001$; n.s. – non significant.

Prvi FIGO stadijum bolesti bio je najčešće zastupljen kod bolesnica sa niskom ekspresijom Sox4 (38,4%) i ova učestalost je bila značajno veća nego kod ispitanica bez ekspresije (10,2%; $p<0,001$), kao i kod onih sa visokom ekspresijom (17,2%; $p<0,01$) (tabela 23).

U FIGO stadijumu III u najvećem broju slučajeva nije evidentirana ekspresija Sox4 (69,2%), dok je u istom stadijumu bolesti niska (30,7%; $p<0,001$), i visoka ekspresija (55,1%; $p<0,05$) ovog markera bila značajno manja. U ovom stadijumu je takođe bila značajno veća učestalost visoke ekspresije Sox4 u odnosu na nisku ekspresije Sox4 ($p<0,01$). Nasuprot tome, u FIGO stadijumu IV najmanje su bile zastupljene tumori bez ekspresije Sox4 (2,5%) i ova učestalost bila je značajno manja od tumora koji su pokazivali nisku ekspresiju (15,3%; $p<0,05$), kao i kod onih sa visokom ekspresijom (13,7%; $p<0,05$) (tabela 23).

Dobro diferentovani tumori (histološki gradus I) bili su najzastupljeniji kod bolesnica sa visokom ekspresijom Sox4 (18,9%) i ova učestalost je bila značajno veća nego kod ispitanica bez ekspresije (5,1%; $p<0,01$) (tabela 23).

Nediferentovani tumori (histološki gradus III) bili su najzastupljeniji kod bolesnica bez ekspresije Sox4 (43,5%) i ova učestalost je bila značajno veća nego kod ispitanica sa niskom ekspresijom (25,9%; $p<0,05$), kao i kod onih sa visokom ekspresijom (13,7%; $p<0,001$) (tabela 23).

Dobro diferentovani tumori (nuklearnog gradusa I) bili su najzastupljeniji kod bolesnica sa visokom ekspresijom Sox4 (22,4%) i ova učestalost je bila značajno veća nego kod ispitanica bez ekspresije (2,5%; $p<0,001$) (tabela 23).

Tumori nuklearnog gradusa II bili su najzastupljeniji kod bolesnica sa niskom ekspresijom Sox4 (70,3%) i ova učestalost je bila značajno veća nego kod ispitanica sa visokom ekspresijom (53,4%; $p<0,05$) (tabela 23).

Nediferentovani tumori (histološki gradus III) bili su najzastupljeniji kod bolesnica bez ekspresije Sox4 (38,4%) i ova učestalost je bila značajno veća nego kod ispitanica sa niskom ekspresijom (14,8%; $p<0,01$), kao i kod onih sa visokom ekspresijom (17,2%; $p<0,01$) (tabela 23).

Tabela 23. FIGO stadijum, HG i NG gradus u odnosu na ekspresiju Sox4

Karakteristika	Ekspresija Sox4			Poređenje
	Bez ekspresije (n=78)	Niska ekspresija (n=54)	Visoka ekspresija (n=118)	
FIGO stadijum				
Borderline	4 (5,1%)	2 (3,8%)	8 (6,8%)	n.s.
I	8 (10,2%)	20 (38,4%)	20 (17,2%)	A‡, C†
II	10 (12,8%)	6 (11,5%)	8 (6,8%)	n.s.
III	54 (69,2%)	16 (30,7%)	64 (55,1%)	A‡, B*, C†
IV	2 (2,5%)	8 (15,3%)	16 (13,7%)	A*, B*
HG gradus				
0	4 (5,1%)	2 (3,7%)	8 (6,8%)	n.s.
1	4 (5,1%)	6 (11,1%)	22 (18,9%)	B†
2	36 (46,1%)	32 (59,2%)	70 (60,3%)	n.s.
3	34 (43,5%)	14 (25,9%)	16 (13,7%)	A*, B‡
NG gradus				
0	4 (5,1%)	2 (3,7%)	8 (6,8%)	n.s.
1	2 (2,5%)	6 (11,1%)	26 (22,4%)	B‡
2	42 (53,8%)	38 (70,3%)	62 (53,4%)	C*
3	30 (38,4%)	8 (14,8%)	20 (17,2%)	A†, B†

NAPOMENE: A – Bez ekspresije vs Niska ekspresija; B – Bez ekspresije vs Visoka ekspresija; C – Niska ekspresija vs Visoka ekspresija; * - $p < 0,05$; † - $p < 0,01$; ‡ - $p < 0,001$; n.s. – non significant.

4.3.5. CD44

Prosečna starost bolesnica sa ekspresijom CD44 do 10% iznosila je $58,88 \pm 12,78$ godina i one su bile značajno starije od ispitanica sa ekspresijom većom od 10% čija je prosečna starost iznosila $53,33 \pm 12,58$ godina ($p < 0,01$) (tabela 24).

Kod bolesnica sa ekspresijom CD44 do 10% metastaze su bile značajno zastupljenije (25,4:13,0%; $p < 0,05$) (tabela 24).

Tabela 24. Karakteristike ispitanica i vrsta tumora u odnosu na ekspresiju CD44

Karakteristika	Ekspresija CD44		Poređenje
	Do 10% (n=102)	Preko 10% (n=138)	
Starost (godine)	58,88±12,78	53,33±12,58	0,001
Vreme do postavljanja Dg (mesece)	4,50±5,91	4,17±3,45	n.s.
Vrsta tumora			
Primarni	76 (74,5%)	120 (86,9%)	0,013
Metastaza	26 (25,4%)	18 (13,0%)	
Rezidualni tumor	8 (7,8%)	18 (13,0%)	n.s.

NAPOMENA: n.s. – non significant

Unilateralna adneksektomija je u značajno većem procentu urađena kod bolesnica sa visokom ekspresijom CD44 (16,4:6,0%; $p<0,05$) (tabela 25).

Hemioterapija po CP protokolu je bila češće zastupljena kod bolesnica sa visokom ekspresijom CD44 (24,6:12,2%; $p<0,05$), dok je terapija mono karboplatinom bila češće zastupljena kod bolesnica sa niskom ekspresijom CD44 (24,4:7,6%; $p<0,001$) (tabela 25).

Tabela 25. Vrsta primenjene terapije u odnosu na ekspresiju CD44

Karakteristika	Ekspresija CD44		Poređenje
	Do 10% (n=102)	Preko 10% (n=138)	
Hiruška Th			
Radikalna histerektomija	60 (60,0%)	80 (59,7%)	n.s.
Unilateralna adneksektomija sa histerektomijom	0 (0,0%)	4 (2,9%)	n.s.
Bilateralna adneksektomija	10 (10,0%)	8 (5,9%)	n.s.
Unilateralna adneksektomija	6 (6,0%)	22 (16,4%)	0,015
Eksplorativna biopsija	24 (24,0%)	20 (14,9%)	n.s.
Hemoterapija			
Bez Th	6 (6,1%)	6 (4,6%)	n.s.
TC	56 (57,1%)	78 (60,0%)	n.s.
CP	12 (12,2%)	32 (24,6%)	0,019
Mono carboplatina	24 (24,4%)	10 (7,6%)	<0,001
Vepezid	0 (0,0%)	2 (1,5%)	n.s.
CAP	0 (0,0%)	2 (1,5%)	n.s.
Broj Th	4,92±1,96	5,08±1,79	n.s.

NAPOMENA: n.s. – non significant

Prosečno preživljavanje bilo je značajno duže kod bolesnica sa ekspresijom CD44 preko 10% ($42,11 \pm 22,52$; $32,28 \pm 24,89$ meseci; $p < 0,01$) (tabela 26).

Smrtni ishod je u značajno većem procentu nastupao kod bolesnica sa nižom ekspresijom CD44 ($59,5$: $44,2\%$; $p < 0,05$) (tabela 26).

Razlike ostalih praćenih kliničkih parametara kod bolesnica sa različitim nivoima ekspresije SOX2 nisu bile statistički značajne.

Tabela 26. Ishod bolesti u odnosu na ekspresiju CD44

Ishod bolesti	Ekspresija CD44		Poređenje
	Do 10% (n=102)	Preko 10% (n=138)	
Progresija	18 (19,1%)	16 (13,3%)	n.s.
Stabilna bolest	4 (4,2%)	2 (1,6%)	n.s.
Parcijalna remisija	22 (23,4%)	34 (28,3%)	n.s.
Kompletna remisija	50 (53,1%)	68 (56,6%)	n.s.
Preživljavanje (meseci)	$32,28 \pm 24,89$	$42,11 \pm 22,52$	0,003
Nastupanje smrtnog ishoda	56 (59,5%)	54 (44,2%)	0,025

NAPOMENA: n.s. – non significant

U FIGO stadijumu I u najvećem broju slučajeva evidentirana je visoka ekspresija CD44 (25,0:14,0%; $p < 0,05$). U FIGO stadijumu IV u najvećem broju slučajeva registrovana je niska ekspresija CD44 (16,0:5,8%; $p < 0,05$) (tabela 27).

Tabela 27. FIGO stadijum, HG i NG gradus u odnosu na ekspresiju CD44

Karakteristika	Ekspresija CD44		Poređenje
	Do 10% (n=102)	Preko 10% (n=138)	
FIGO stadijum			
borderline	8 (8,0%)	10 (7,3%)	n.s.
I	14 (14,0%)	34 (25,0%)	0,038
II	6 (6,0%)	14 (10,2%)	n.s.
III	56 (56,0%)	70 (51,4%)	n.s.
IV	16 (16,0%)	8 (5,8%)	0,011
HG gradus			
0	8 (7,8%)	10 (7,3%)	n.s.
1	16 (15,6%)	16 (11,7%)	n.s.
2	56 (54,9%)	78 (57,3%)	n.s.
3	22 (21,5%)	32 (23,5%)	n.s.
NG gradus			
0	8 (7,8%)	10 (7,3%)	n.s.
1	18 (17,6%)	16 (11,7%)	n.s.
2	50 (49,0%)	82 (60,2%)	n.s.
3	26 (25,4%)	28 (20,5%)	n.s.

NAPOMENA: n.s. – non significant

4.3.6. CD117

Prosečna starost bolesnica bez ekspresije CD117 iznosila je 56,94±13,19 godina i one su bile značajno starije od ispitanica sa ekspresijom čija je prosečna starost iznosila 52,55±11,73 godine ($p<0,05$) (tabela 28).

Rezidualni tumori su bili značajno prisutni kod bolesnica sa pozitivnom ekspresijom CD117 (18,1:8,0%; $p<0,05$) (tabela 28).

Tabela 28. Karakteristike ispitanica i vrsta tumora u odnosu na ekspresiju CD117

Karakteristika	Ekspresija CD117		Poređenje
	Negativna (n=174)	Pozitivna (n=66)	
Starost (godine)	56,94±13,19	52,55±11,73	0,022
Vreme do postavljanja Dg (meseci)	4,50±4,97	3,80±3,65	n.s.
Vrsta tumora			
Primarni	144 (82,7%)	52 (78,7%)	n.s.
Metastaza	30 (17,2%)	14 (21,2%)	
Rezidualni tumor	14 (8,0%)	12 (18,1%)	0,024

NAPOMENA: n.s. – non significant

Hemioterapija po TC protokolu bila je češće zastupljena kod bolesnica sa pozitivnom ekspresijom CD117 (70,9:54,2%; $p<0,05$), dok je terapija sa mono karboplatinom bila češće zastupljena kod bolesnica bez ekspresije CD117 (18,0:6,4%; $p<0,05$), što je u skladu sa stadijumom bolesti (tabela 29).

Tabela 29. Vrsta primenjene terapije u odnosu na ekspresiju CD117

Vrsta terapije	Ekspresija CD117		Poređenje
	Negativna (n=174)	Pozitivna (n=66)	
Hiruška Th			
Radikalna histerektomija	106 (63,0%)	34 (51,5%)	n.s.
Unilateralna adneksektomija sa histerektomijom	2 (1,1%)	2 (3,0%)	n.s.
Bilateralna adneksektomija	12 (7,1%)	6 (9,0%)	n.s.
Unilateralna adneksektomija	18 (10,7%)	10 (15,1%)	n.s.
Eksplorativna biopsija	30 (17,8%)	14 (21,2%)	n.s.
Hemoterapija			
Bez Th	10 (6,0%)	2 (3,2%)	n.s.
TC	90 (54,2%)	44 (70,9%)	0,022
CP	32 (19,2%)	12 (19,3%)	n.s.
Mono carboplatina	30 (18,0%)	4 (6,4%)	0,028
Vepezid	2 (1,2%)	0 (0,0%)	n.s.
CAP	2 (1,2%)	0 (0,0%)	n.s.
Broj Th	5,02±1,91	4,97±1,75	n.s.

NAPOMENA: n.s. – non significant

Progresija bolesti je u značajno većem procentu nastupila kod bolesnica bez ekspresije CD117 (19,7:6,4%; $p<0,05$), dok je parcijalna remisija u značajno većem procentu nastupala kod bolesnica sa ekspresijom CD117 (35,4:22,3%; $p<0,05$) (tabela 30).

Razlike ostalih praćenih kliničkih parametara kod bolesnica sa različitim nivoima ekspresije SOX2 nisu bile statistički značajne.

Tabela 30. Ishod bolesti u odnosu na ekspresiju CD117

Karakteristika	Ekspresija CD117		Poređenje
	Negativna (n=174)	Pozitivna (n=66)	
Progresija	30 (19,7%)	4 (6,4%)	0,016
Stabilna bolest	4 (2,6%)	2 (3,2%)	n.s.
Parcijalna remisija	34 (22,3%)	22 (35,4%)	0,048
Kompletna remisija	84 (55,2%)	34 (54,8%)	n.s.
Preživljavanje (meseći)	36,7±23,8	40,91±24,59	n.s.
Nastupanje smrtnog ishoda	78 (49,3%)	32 (55,1%)	n.s.

NAPOMENA: n.s. – non significant

Drugi FIGO stadijum bolesti bio je značajno zastupljeniji kod bolesnica bez ekspresije CD117 (11,7:0,0%; $p < 0,01$) (tabela 31).

Razlike učestalosti ostalih FIGO stadijuma, kao i HG i NG gradusa između bolesnica sa različitim nivoima ekspresije CD117 nisu bile statistički značajne.

Tabela 31. FIGO stadijum, HG i NG gradus u odnosu na ekspresiju CD117

Karakteristika	Ekspresija CD117		Poređenje
	Negativna (n=174)	Pozitivna (n=66)	
FIGO stadijum			
Borderline	12 (7,0%)	6 (9,0%)	n.s.
I	36 (21,1%)	12 (18,1%)	n.s.
II	20 (11,7%)	0 (0,0%)	0,004
III	86 (50,5%)	40 (60,6%)	n.s.
IV	16 (9,4%)	8 (12,1%)	n.s.
HG gradus			
0	12 (6,9%)	6 (9,0%)	n.s.
1	22 (12,7%)	10 (15,1%)	n.s.
2	96 (55,8%)	38 (57,5%)	n.s.
3	42 (24,4%)	12 (18,1%)	n.s.
NG gradus			
0	12 (6,9%)	6 (9,0%)	n.s.
1	26 (15,1%)	8 (12,1%)	n.s.
2	96 (55,8%)	36 (54,5%)	n.s.
3	38 (22,0%)	16 (24,2%)	n.s.

NAPOMENA: n.s. – non significant

4.3.7. Ezh2

Starost bolesnica sa karcinomom jajnika nije pokazala statističku značajnost u odnosu na ekspresiju Ezh2 markera (tabela 32).

Metastaze su bile značajno zastupljenije kod bolesnica sa ekspresijom Ezh2 (22,9:0,0%; $p < 0,001$) (tabela 32).

Tabela 32. Karakteristike ispitanica i vrsta tumora u odnosu na ekspresiju Ezh2

Karakteristika	Ekspresija Ezh2		Poređenje
	Negativna (n=58)	Pozitivna (n=192)	
Starost (godine)	55,79±12,91	56,08±12,56	n.s.
Vreme do postavljanja Dg (meseci)	4,29±3,34	4,25±4,90	n.s.
Vrsta tumora			
Primarni	58 (100,0%)	148 (77,1%)	<0,001
Metastaza	0 (0,0%)	44 (22,9%)	<0,001
Rezidualni tumor	10 (17,2%)	18 (9,3%)	n.s.

NAPOMENA: n.s. – non significant

Terapija po CP protokolu bila je značajno zastupljenija kod bolesnica bez ekspresije Ezh2 (28,5:16,4%; $p < 0,05$), jer je davana kod nižih stadijuma bolesti (tabela 33).

Razlike ostalih praćenih kliničkih parametara kod bolesnica sa različitim nivoima ekspresije Ezh2 nisu bile statistički značajne.

Tabela 33. Vrsta primenjene terapije u odnosu na ekspresiju Ezh2

Vrsta terapije	Ekspresija Ezh2		Poređenje
	Negativna (n=58)	Pozitivna (n=192)	
Hiruška Th			
Radikalna histerektomija	34 (58,6%)	106 (56,9%)	n.s.
Unilateralna adneksektomija sa histerektomijom	0 (0,0%)	6 (3,2%)	n.s.
Bilateralna adneksektomija	4 (6,8%)	14 (7,5%)	n.s.
Unilateralna adneksektomija	8 (13,7%)	20 (10,7%)	n.s.
Eksplorativna biopsija	12 (20,6%)	40 (21,5%)	n.s.
Hemoterapija			
Bez Th	2 (3,5%)	6 (3,2%)	n.s.
TC	30 (53,5%)	116 (63,7%)	n.s.
CP	16 (28,5%)	30 (16,4%)	0,045
Mono carboplatina	4 (7,1%)	30 (16,4%)	n.s.
Vepezid	2 (3,5%)	0 (0,0%)	n.s.
CAP	2 (3,5%)	0 (0,0%)	n.s.
Broj Th	5,50±1,65	5,04±1,72	n.s.

NAPOMENA: n.s. – non significant

Razlika od 2 meseca u dužini preživljavanja u korist bolesnica koje nisu imle ekspresiju Ezh2 nije dostigla statističku značajnost ($39,66 \pm 20,80$: $37,18 \pm 24,41$ meseci) (tabela 34).

Svi ostali praćeni parametri takođe nisu pokazali statistički značajne razlike.

Tabela 34. Karakteristike ispitanica, primenjena terapija i ishod bolesti u odnosu na ekspresiju Ezh2

Karakteristika	Ekspresija Ezh2		Poređenje
	Negativna (n=58)	Pozitivna (n=192)	
Progresija	4 (7,4%)	30 (17,3%)	n.s.
Stabilna bolest	0 (0,0%)	6 (3,4%)	n.s.
Parcijalna remisija	20 (37,0%)	44 (25,4%)	n.s.
Kompletna remisija	30 (55,5%)	93 (53,7%)	n.s.
Preživljavanje (meseci)	$39,66 \pm 20,80$	$37,18 \pm 24,41$	n.s.
Nastupanje smrtnog ishoda	24 (42,8%)	90 (52,9%)	n.s.

NAPOMENA: n.s. – non significant

Prvi FIGO stadijum bolesti bio je značajno češće zastupljen kod bolesnica sa negativnom ekspresijom Ezh2 (31,0:15,9%; $p < 0,05$) (tabela 35).

Ekspresija Ezh2 nije bila od uticaja na histološki i nuklearni gradus.

Tabela 35. FIGO stadijum, HG i NG gradus u odnosu na ekspresiju Ezh2

Karakteristika	Ekspresija Ezh2		Poređenje
	Negativna (n=58)	Pozitivna (n=192)	
FIGO stadijum			
borderline	2 (3,4%)	12 (6,3%)	n.s.
I	18 (31,0%)	30 (15,9%)	0,011
II	2 (3,4%)	22 (11,7%)	n.s.
III	32 (55,1%)	102 (54,2%)	n.s.
IV	4 (6,8%)	22 (11,7%)	n.s.
HG gradus			
0	2 (3,4%)	12 (6,3%)	n.s.
1	10 (17,2%)	12 (6,3%)	n.s.
2	24 (41,3%)	114 (60,0%)	0,012
3	22 (37,9%)	52 (27,4%)	n.s.
NG gradus			
0	2 (3,4%)	12 (6,3%)	n.s.
1	12 (20,6%)	22 (11,5%)	n.s.
2	28 (48,2%)	114 (60,0%)	n.s.
3	16 (27,5%)	42 (22,1%)	n.s.

NAPOMENA: n.s. – non significant

4.3.8. Stat3

Starost bolesnica sa karcinomom jajnika nije pokazala statističku značajnost u odnosu na ekspresiju Stat3 markera (tabela 36).

Prosečno vreme do postavljanja Dg kod bolesnica sa negativnom ekspresijom Stat3 iznosilo je $2,65 \pm 1,58$ meseca i to je bilo značajno kraće vreme u odnosu na ispitanice sa ekspresijom ($4,56 \pm 5,74$ meseca; $p < 0,05$) (tabela 36).

Tabela 36. Karakteristike ispitanica i vrsta tumora u odnosu na ekspresiju Stat3

Karakteristika	Ekspresija Stat3		Poređenje
	Negativna (n=56)	Pozitivna (n=194)	
Starost (godine)	58,11±11,81	56,98±13,82	n.s.
Vreme do postavljanja Dg (meseci)	2,65±1,58	4,56±5,74	0,039
Vrsta tumora			
Primarni	36 (90,0%)	96 (77,4%)	n.s.
Metastaza	4 (10,0%)	28 (22,5%)	
Rezidualni tumor	4 (10,0%)	16 (12,9%)	n.s.

NAPOMENA: n.s. – non significant

Radikalna histerektomija je urađena u značajno većem procentu kod bolesnica bez ekspresije Stat3 u odnosu na ispitanice sa ekspresijom (77,7:45,9%; $p<0,01$). Nasuprot tome, unilateralna adneksektomija je izvršena u značajno manjem procentu kod bolesnica bez ekspresije Stat3 u odnosu na ispitanice sa ekspresijom (0,0:18,0%; $p<0,01$) (tabela 37).

Hemioterapija po TC protokolu bila je zastupljenija kod bolesnica sa ekspresijom Stat3 (67,2%) i ova učestalost je bila značajno veća u odnosu na ispitanice bez ekspresije (47,0%; $p<0,05$). Nasuprot tome, terapija sa mono carboplatinom je bila češće primenjena kod bolesnica bez ekspresije Stat3 (29,4:13,1%; $p<0,05$) (tabela 37).

Tabela 37. Vrsta primenjene terapije u odnosu na ekspresiju Stat3

Vrsta terapije	Ekspresija Stat3		Poređenje
	Negativna (n=56)	Pozitivna (n=194)	
Hiruška Th			
Radikalna histerektomija	28 (77,7%)	56 (45,9%)	0,001
Unilateralna adneksektomija sa histerektomijom	0 (0,0%)	2 (1,6%)	n.s.
Bilateralna adneksektomija	4 (11,1%)	12 (9,8%)	n.s.
Unilateralna adneksektomija	0 (0,0%)	22 (18,0%)	0,006
Eksplorativna biopsija	4 (11,1%)	30 (24,5%)	n.s.
Hemoterapija			
Bez Th	2 (5,8%)	2 (1,6%)	n.s.
TC	16 (47,0%)	82 (67,2%)	0,032
CP	6 (17,6%)	22 (18,0%)	n.s.
Mono carboplatina	10 (29,4%)	16 (13,1%)	0,024
Vepezid	(0,0%)	(0,0%)	n.s.
CAP	(0,0%)	(0,0%)	n.s.
Broj Th	5,47±1,71	4,92±1,69	n.s.

NAPOMENA: n.s. – non significant

Parcijalna remisija je u većem procentu evidentirana kod onih bolesnica sa ekspresijom Stat3 (33,3:13,3%; $p < 0,05$) (tabela 38).

Prosečno vreme preživljavanja je bilo značajno duže kod bolesnica bez ekspresije Stat3 ($40,57 \pm 25,9$: $29,62 \pm 20,7$ meseci; $p < 0,05$) (tabela 38).

Razlike ostalih praćenih kliničkih parametara kod bolesnica sa različitim nivoima ekspresije Stat3 nisu bile statistički značajne.

Tabela 38. Ishod bolesti u odnosu na ekspresiju Stat3

Ishod bolesti	Ekspresija Stat3		Poređenje
	Negativna (n=56)	Pozitivna (n=194)	
Progresija	8 (26,6%)	18 (15,0%)	n.s.
Stabilna bolest	0 (0,0%)	6 (5,0%)	n.s.
Parcijalna remisija	4 (13,3%)	40 (33,3%)	0,031
Kompletna remisija	18 (60,0%)	56 (46,6%)	n.s.
Preživljavanje (meseci)	$40,57 \pm 25,9$	$29,62 \pm 20,7$	0,025
Nastupanje smrtnog ishoda	56 (47,4%)	20 (58,8%)	n.s.

NAPOMENA: n.s. – non significant

Bolesnice u FIGO stadijumu I bolesti u najvećem procentu nisu imale ekspresiju Stat3 (31,5:11,4%; $p < 0,01$) (tabela 39).

Ekspresija Stat3 nije bila od uticaja na histološki i nuklearni gradus.

Tabela 39. FIGO stadijum, HG i NG gradus u odnosu na ekspresiju Stat3

Karakteristika	Ekspresija Stat3		Poređenje
	Negativna (n=56)	Pozitivna (n=194)	
FIGO stadijum			
borderline	2 (5,2%)	8 (6,5%)	n.s.
I	12 (31,5%)	14 (11,4%)	0,003
II	4 (10,5%)	14 (11,4%)	n.s.
III	16 (42,1%)	70 (57,3%)	n.s.
IV	4 (10,5%)	16 (13,1%)	n.s.
HG gradus			
0	2 (5,0%)	8 (6,5%)	n.s.
1	6 (15,0%)	18 (14,7%)	n.s.
2	18 (45,0%)	52 (42,6%)	n.s.
3	14 (35,0%)	44 (36,1%)	n.s.
NG gradus			
0	2 (5,0%)	8 (6,5%)	n.s.
1	6 (15,0%)	20 (16,3%)	n.s.
2	18 (45,0%)	68 (55,7%)	n.s.
3	14 (35,0%)	26 (21,3%)	n.s.

NAPOMENA: n.s. – non significant

4.3.9. Podudarnost ispitivanih molekularnih markera

Vrednosti Kohen Kapa koeficijena potvrđile su značajnu podudarnost između pozitivne ekspresije Sox2 i pozitivnih ekspresija Oct3/4 ($p < 0,001$) i CD117 ($p < 0,05$) (tabela 40).

Pozitivna ekspresija Oct3/4 značajno se podudarala i sa pozitivnom ekspresijom CD117 ($p < 0,001$), dok se pozitivna ekspresija Stat3 značajno podudarala sa pozitivnom ekspresijom Ezh2 ($p < 0,001$) (tabela 40).

Tabela 40. Podudarnost između ekspresija markera, vrednosti Kohen Kapa koeficijena

Marker	CD44	Oct3/4	CD117	Nanog	Stat3	Ezh2	Sox4
Sox2	-0,091	0,345‡	0,165*	0,094	0,059	0,086	0,109
CD44		-0,026	0,063	-0,183	0,073	-0,053	-0,160
Oct3/4			0,284‡	-0,022	0,118	0,035	0,048
CD117				-0,011	0,089	-0,012	0,015
Nanog					-0,071	-0,008	0,046
Stat3						0,341‡	-0,110
Ezh2							-0,042

NAPOMENE: * - $p < 0,05$; † - $p < 0,01$; ‡ - $p < 0,001$.

4.3.10. Uticaj kliničkih parametara i ekspresije molekularnih markera na pojavu smrtnog ishoda

Bolesnice kod kojih je nastupio smrtni ishod bile su značajno starije ($57,56 \pm 12,55$: $53,20 \pm 12,66$ godina; $p < 0,01$) (tabela 41).

Metastaze su bile značajno zastupljenije kod bolesnica sa smrtnim ishodom ($24,6$: $7,6\%$; $p < 0,001$) (tabela 41).

Tabela 41. Karakteristike ispitanica i tip tumora u odnosu na nastupanje smrtnog ishoda

Karakteristika	Smrtni ishod		Poređenje
	Ne (n=132)	Da (n=122)	
Starost (godine)	53,20±12,66	57,56±12,55	0,006
Vreme do postavljanja Dg (meseci)	3,98±3,19	4,99±6,22	n.s.
Vrsta tumora			
Primarni	122 (92,4%)	92 (75,4%)	<0,001
Metastaza	10 (7,6%)	30 (24,6%)	
Rezidualni tumor	14 (10,6%)	16 (13,1%)	n.s.
Epitelni tip tumora			
Serozni	96 (72,7%)	90 (73,8%)	n.s.
Mucinozni	14 (10,6%)	10 (8,2%)	n.s.
Endometroidni	16 (12,1%)	14 (11,5%)	n.s.
Svetloćelijski	6 (4,5%)	8 (6,6%)	n.s.

NAPOMENA: n.s. – non significant

Od hiruških intervencija, kod bolesnica sa smrtnim ishodom bile su značajno češće izvršene radikalna histerektomija ($63,9$: $51,5\%$; $p < 0,05$) i eksplorativna laparotomija sa biopsijom inoperabilnog tumora ($26,2$: $13,6\%$; $p < 0,05$). Nasuprot tome, kod bolesnica kod

kojih nije nastupio smrtni ishod bile su značajno češće izvršene unilateralna adneksektomija sa histerektomijom (4,5:0,0%; $p < 0,05$) i unilateralna adneksektomija (24,2:0,0%; $p < 0,001$) (tabela 42).

Bolesnice kod kojih nije nastupio smrtni ishod su značajno češće bile bez hemoterapije (10,6:3,3%; $p < 0,05$) (tabela 42).

Razlike vrednosti i učestalosti ostalih karakteristika između bolesnica sa i bez smrtnog ishoda nisu bile statistički značajne.

Tabela 42. Vrsta primenjene terapije u odnosu na nastupanje smrtnog ishoda

Karakteristika	Smrtni ishod		Poređenje
	Ne (n=132)	Da (n=122)	
Hiruška Th			
Radikalna histerektomija	68 (51,5%)	78 (63,9%)	0,045
Unilateralna adneksektomija sa histerektomijom	6 (4,5%)	0 (0,0%)	0,017
Bilateralna adneksektomija	8 (6,1%)	12 (9,8%)	n.s.
Unilateralna adneksektomija	32 (24,2%)	0 (0,0%)	<0,001
Eksplorativna biopsija	18 (13,6%)	32 (26,2%)	0,012
Hemoterapija			
Bez Th	14 (10,6%)	4 (3,3%)	0,025
TC	70 (53,0%)	74 (61,7%)	n.s.
CP	30 (22,7%)	16 (13,3%)	n.s.
Mono carboplatina	18 (13,6%)	22 (18,3%)	n.s.
Vepezid	0 (0,0%)	2 (1,7%)	n.s.
CAP	0 (0,0%)	2 (1,7%)	n.s.
Broj Th	4,80±2,03	5,10±1,89	n.s.

NAPOMENA: n.s. – non significant

Kod bolesnika kod kojih je nastupio smrtni ishod značajno češće je evidentirana ekspresija CD44 do 10% (50,9:35,8%; $p < 0,05$), u ostalim slučajevima nije bilo statističke značajnosti (tabele 43 i 44).

Tabela 43. Ekspresija markera Nanog, Sox2, Oct3/4, Sox4 u odnosu na nastupanje smrtnog ishoda

Karakteristika	Smrtni ishod		Poređenje
	Ne (n=132)	Da (n=122)	
Nanog negativna	36 (32,1%)	38 (33,3%)	n.s.
Nanog pozitivna	76 (67,9%)	76 (66,7%)	
Nanog low expression	22 (19,6%)	26 (22,8%)	n.s.
Nanog high expression	54 (48,2%)	50 (43,9%)	n.s.
Sox2 negativna	38 (35,8%)	34 (30,9%)	n.s.
Sox2 pozitivna	68 (64,2%)	76 (69,1%)	
Sox2 low expression	34 (32,1%)	36 (32,7%)	n.s.
Sox2 high expression	34 (32,1%)	40 (36,4%)	n.s.
Oct3/4 negativna	62 (58,5%)	50 (45,5%)	n.s.
Oct3/4 pozitivna	44 (41,5%)	60 (54,5%)	
Oct3/4 low expression	30 (28,3%)	38 (34,5%)	n.s.
Oct3/4 high expression	14 (13,2%)	22 (20,0%)	n.s.
Sox4 negativna	30 (26,8%)	40 (35,1%)	n.s.
Sox4 pozitivna	82 (73,2%)	74 (64,9%)	
Sox4 low expression	22 (19,6%)	26 (22,8%)	n.s.
Sox4 high expression	60 (53,6%)	48 (42,1%)	n.s.

NAPOMENA: n.s. – non significant

Tabela 44. Ekspresija markera CD44, CD117, Ezh2, Stat3 u odnosu na nastupanje smrtnog ishoda

Karakteristika	Smrtni ishod		Poređenje
	Ne (n=132)	Da (n=122)	
CD44 do 10%	38 (35,8%)	56 (50,9%)	0,026
CD44 preko 10%	68 (64,2%)	54 (49,1%)	
CD117 negativna	80 (75,5%)	78 (70,9%)	n.s.
CD117 pozitivna	26 (24,5%)	32 (29,1%)	
Ezh2 negativna	32 (28,6%)	24 (21,1%)	n.s.
Ezh2 pozitivna	80 (71,4%)	90 (78,9%)	
Stat3 negativna	24 (21,4%)	26 (22,8%)	n.s.
Stat3 pozitivna	88 (78,6%)	88 (77,2%)	

NAPOMENA: n.s. – non significant

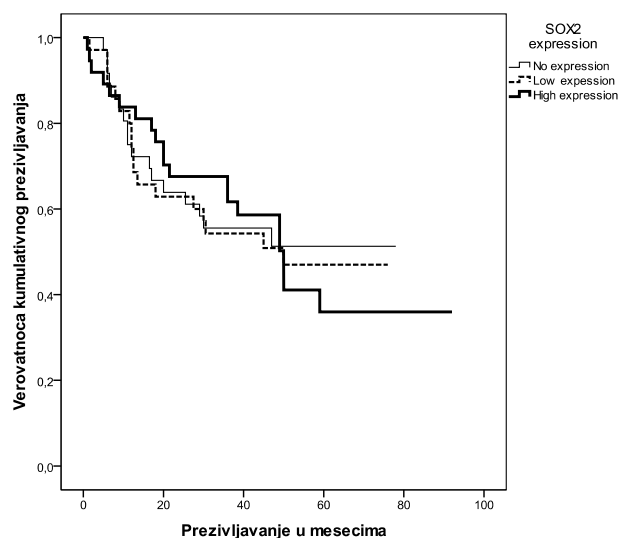
Smrtni ishod je nastupao značajno češće kod bolesnica sa ekspresijom CD44 do 10% nego kod onih sa ekspresijom CD44 preko 10% (59,5:44,2%; $p < 0,05$) (tabela 45).

Tabela 45. Nastupanje smrtnog ishoda u odnosu na ekspresiju markera

Marker	Bez Ekspresije	Sa ekspresijom	Niska ekspresija	Visoka ekspresija	Poređenje
SOX2	34 (47,2%)	76 (52,8%)	36 (51,4%)	40 (54,1%)	n.s.
CD44			56 (59,5%)	54 (44,2%)	D*
OCT	50 (44,6%)	60 (57,7%)	38 (55,8%)	22 (61,1%)	n.s.
CD117	78 (49,3%)	32 (55,1%)			n.s.
Nanog	38 (51,3%)	76 (50,0%)	26 (54,1%)	50 (48,0%)	n.s.
STAT3	20 (58,8%)	56 (47,4%)			n.s.
EZH	24 (42,8%)	90 (52,9%)			n.s.
SOX4	40 (57,1%)	74 (47,4%)	26 (54,1%)	48 (44,4%)	n.s.

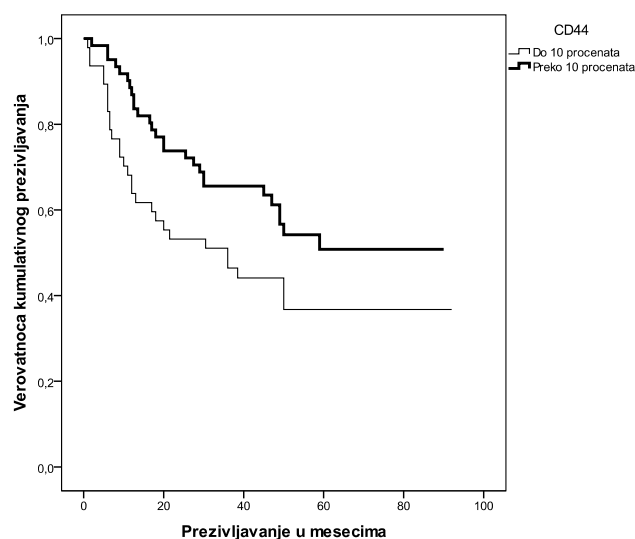
NAPOMENE: A – Bez ekspresije vs Sa ekspresijom; B – Bez ekspresije vs Niska ekspresija; C – Bez ekspresije vs Visoka ekspresija; D – Niska ekspresija vs Visoka ekspresija; * - $p < 0,05$; † - $p < 0,01$; ‡ - $p < 0,001$; n.s. – non significant.

Kaplan Majerova procena i Log-rank test su potvrdili da je verovatnoća kumulativnog preživljavanja tokom ispitivanja bila značajno veća kod bolesnica kod kojih je ekspresija CD44 bila veća od 10% ($p < 0,01$). Verovatnoća kumulativnog preživljavanja i ekspresija ostalih markera nisu bili značajno povezani u ispitivanom uzorku.



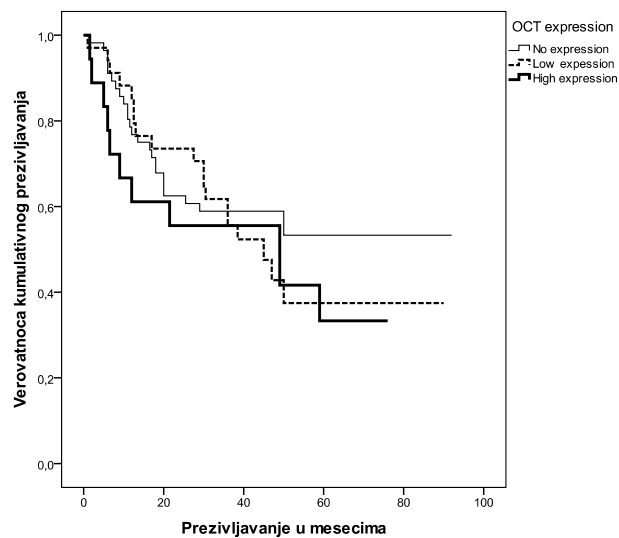
Grafikon 1. Kaplan-Majerove krive preživljavanja u odnosu na ekspresiju SOX2

Log-rank test: $p=0,945$



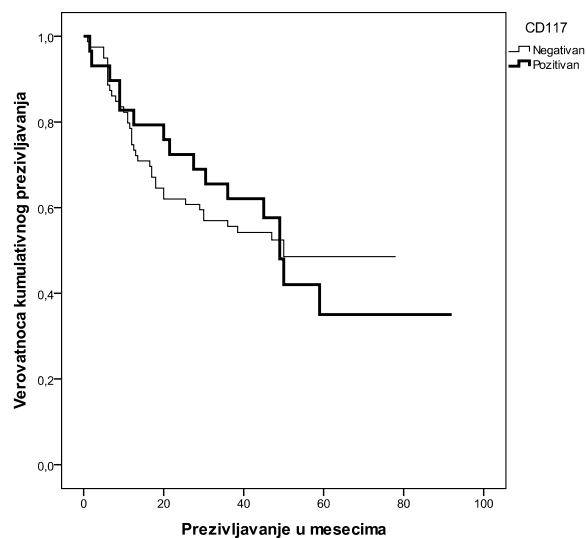
Grafikon 2. Kaplan-Majerove krive preživljavanja u odnosu na ekspresiju CD44

Log-rank test: $p=0,004$



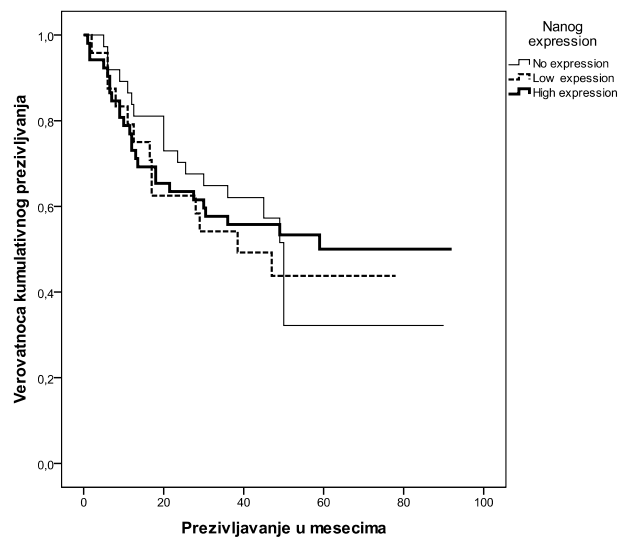
Grafikon 3. Kaplan-Majerove krive preživljavanja u odnosu na ekspresiju OCT

Log-rank test: $p=0,197$



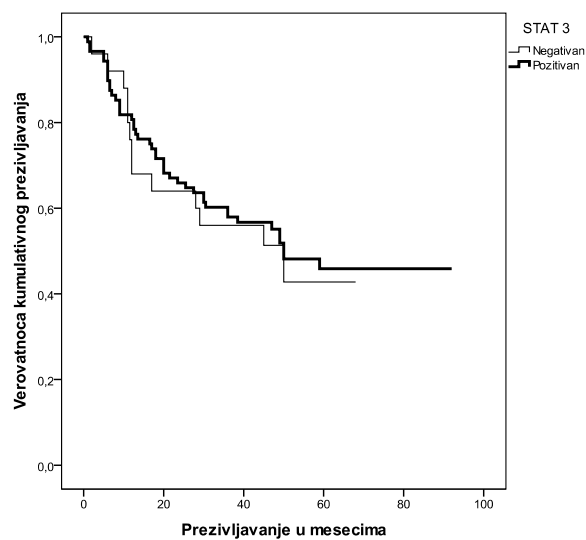
Grafikon 4. Kaplan-Majerove krive preživljavanja u odnosu na ekspresiju CD117

Log-rank test: $p=0,823$



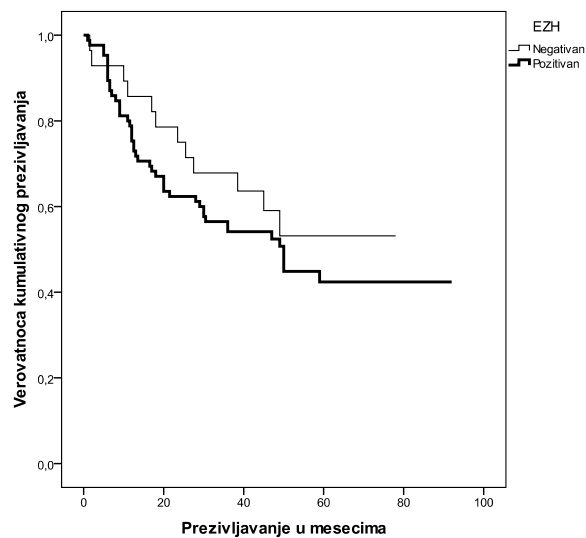
Grafikon 5. Kaplan-Majerove krive prezivljavanja u odnosu na ekspresiju Nanog

Log-rank test: $p=0,771$



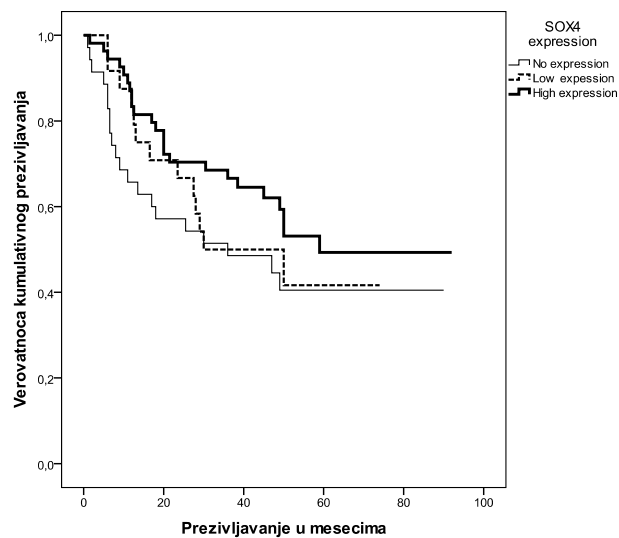
Grafikon 6. Kaplan-Majerove krive prezivljavanja u odnosu na ekspresiju STAT3

Log-rank test: $p=0,613$



Grafikon 7. Kaplan-Majerove krive prezivljavanja u odnosu na ekspresiju EZH

Log-rank test: $p=0,195$



Grafikon 8. Kaplan-Majerove krive prezivljavanja u odnosu na ekspresiju SOX4

Log-rank test: $p=0,073$

Kod bolesnica kod kojih nije nastupio smrtni ishod značajno češće su bili zastupljeni borderline (13,6:3,3%; $p<0,01$) i prvi FIGO stadijum bolesti (30,3:8,2%; $p<0,001$). Nasuprot tome, kod bolesnica kod kojih je nastupio smrtni ishod značajno češće su bili zastupljeni treći (60,7:43,9%; $p<0,01$) i četvrti FIGO stadijum bolesti (19,7:1,5%; $p<0,001$) (tabela 46).

Kod bolesnica kod kojih nije nastupio smrtni ishod značajno češće su bili zastupljeni nulti (13,6:3,3%; $p<0,01$) i prvi HG gradus (22,7:6,6%; $p<0,001$). Kod bolesnica kod kojih je nastupio smrtni ishod značajno češće je bio zastupljen treći HG gradus (31,1:16,7%; $p<0,01$) (tabela 46).

Kod bolesnica kod kojih nije nastupio smrtni ishod značajno češće su bili zastupljeni i nulti (13,6:3,3%; $p<0,01$), kao i prvi NG gradus (22,7:8,2%; $p<0,01$). Kod bolesnica kod kojih je nastupio smrtni ishod značajno češće je bio zastupljen treći NG gradus (29,5:13,6%; $p<0,01$) (tabela 46).

Tabela 45. FIGO stadijum, HG i NG gradus u odnosu na nastupanje smrtnog ishoda

Karakteristika	Smrti ishod		Poređenje
	Ne (n=132)	Da (n=122)	
FIGO stadijum			
borderline	18 (13,6%)	4 (3,3%)	0,003
I	40 (30,3%)	10 (8,2%)	<0,001
II	14 (10,6%)	10 (8,2%)	n.s.
III	58 (43,9%)	74 (60,7%)	0,008
IV	2 (1,5%)	24 (19,7%)	<0,001
HG gradus			
0	18 (13,6%)	4 (3,3%)	0,003
1	30 (22,7%)	8 (6,6%)	<0,001
2	62 (47,0%)	72 (59,0%)	n.s.
3	22 (16,7%)	38 (31,1%)	0,007
NG gradus			
0	18 (13,6%)	4 (3,3%)	0,003
1	30 (22,7%)	10 (8,2%)	0,001
2	66 (50,0%)	72 (59,0%)	n.s.
3	18 (13,6%)	36 (29,5%)	0,002

NAPOMENA: n.s. – non significant

Multivarijantna Koksova regresiona analiza je kao najznačajnije faktore koji su povezani sa nastupanjem smrtnog ishoda izdvojila FIGO stadijume III i IV, kao i HG gradus 3. Kod bolesnica sa FIGO stadijumom III verovatnoća smrtnog ishoda je rasla 3,060 puta (1,795 do 5,217 puta; $p < 0,001$), dok je kod bolesnica sa FIGO stadijumom IV verovatnoća smrtnog ishoda rasla 7,949 puta (4,005 do 15,777 puta; $p < 0,001$). Kod bolesnica sa HG gradusom 3 verovatnoća smrtnog ishoda je rasla 1,656 puta (1,084 do 2,531 puta; $p < 0,001$) (tabela 47).

Tabela 47. Procena povezanosti ispitivanih faktora i nastupanja smrtnog ishoda, rezultati multivarijantne Koksove regresione analize

Faktor	OR	95% IP za OR		P
		Donja granica	Gornja Granica	
FIGO stadijum III	3,060	1,795	5,217	<0,001
FIGO stadijum IV	7,949	4,005	15,777	<0,001
HG gradus 3	1,656	1,084	2,531	0,020

5. DISKUSIJA

Nanog

Ekspresija Nanog utvrđena je kod različitih tipova karcinoma. U studiji Siu i saradnika (316) pokazana je značajno veća imunoreaktivnost Nanog kod karcinoma jajnika u poređenju sa borderline tumorima i benignim cystadenoma/inkluzionim cistama. Imunohistohemijska analiza nije pokazala nuklearno Nanog imunoprebojavanje kod benignih cistadenoma, dok je slabo do umerena ekspresija bila prisutna kod graničnih tumora, a značajnija kod karcinoma jajnika, što je u saglasnosti sa našim istraživanjem.

U našem istraživanju praćena je nuklearna ekspresija Nanog kod karcinoma jajnika, gde je registrovana niska i visoka ekspresija ovog markera. Značajna nuklearna Nanog imunoreaktivnost primećena je kod metastatskih depozita u odnosu na primarne karcinome ($p < 0,05$), kao i u istraživanju Siua i saradnika (316).

Terapija po CP protokolu (ciclophosphamid/cisplatin) bila je najzastupljenija kod bolesnica sa niskom ekspresijom Nanog i ova učestalost bila je značajno veća u odnosu na ispitanice sa visokom ekspresijom Nanog ($p < 0,05$). Terapija sa mono carboplatinom je bila najzastupljenija kod bolesnica sa visokom ekspresijom Nanog (20,7%) i ova učestalost je bila značajno veća u odnosu na ispitanice bez ekspresije (9,7%; $p < 0,05$). Na početku praćenog perioda još uvek nije bio standardni protokol TC za visoke stadijume bolesti karcinoma jajnika. S obzirom na činjenicu da su bolesnice sa Nanog ekspresijom bile starije životne dobi, za njih je po protokolu predviđena primena monohemioterapije sa carboplatinom iz razloga što su u većini slučajeva one imale komorbiditete (bolesti kardiovaskularnog sistema, poremećaj funkcije bubrega i druge).

U FIGO stadijumu I u najmanjem broju slučajeva je evidentirana visoka ekspresija Nanog (7,5%). Ova učestalost bila je značajno manja u odnosu na ispitanice bez ekspresije ($p < 0,01$), i onih sa niskom ekspresijom, koje su bile više zastupljene u ovom stadijumu bolesti ($p < 0,001$). U FIGO stadijumu III i IV u najvećem procentu bila je zastupljena visoka ekspresija Nanog u odnosu na bolesnice kod kojih nije bila prisutna ekspresija ovog markera.

Dobro diferentovani tumori (HG i NG I) bili su najzastupljeniji kod bolesnica sa niskom ekspresijom Nanog ($p < 0,05$), za razliku od nediferentovanih tumora (HG i NG III) koji su bili najzastupljeniji kod bolesnica sa visokom ekspresijom Nanog ($p < 0,05$).

Stabilna bolest je u najvećem procentu evidentirana kod bolesnica sa niskom ekspresijom Nanog ($p < 0,05$), a kompletna remisija kod bolesnica kod kojih ekspresija Nanog nije bila prisutna ($p < 0,05$).

U istraživanju Siu i saradnika (316) visoka nuklearna Nanog imunoreaktivnost bila je značajno udružena sa lošim histološkim gradusom, seroznim histološkim tipom karcinoma i karcinomima koji su pokazivali hemiorezistentnost.

Na osnovu rezultata može se zaključiti da je ekspresija Nanog prisutna kod visokog FIGO stadijuma bolesti (FIGO III i IV) i HG i NG gradusa III. Takođe je evidentirana značajna zastupljenost kod metastatskih depozita u odnosu na primarni tumor. Kraće preživljavanje ($35,21 \pm 23,11:39,46 \pm 26,09$ meseci) bilo je evidentirano kod bolesnica čiji su tumori pokazali visoku ekspresiju Nanog, ali nije dostiglo statističku značajnost.

Ekspresija NANOG mRNA, kao i ostala dva transkripciona faktora SOX2 i OCT4 su takođe detektovana kod karcinoma jajnika. Značajno povećanje NANOG mRNA detektovano je kvantitativnom PCR analizom kod karcinoma jajnika za razliku od benignih cystadenoma. U *in vitro* uslovima, nađeno je da SOX2 može biti regulisan od strane NANOG kod ćelija karcinoma jajnika. Kod graničnih tumora i karcinoma jajnika samo 2-20% ćelija pokazalo je ekspresiju NANOG. Matične ćelije karcinoma (CSCs) su mala populacija ćelija koje se mogu naći kod malignih tkiva. Istraživanje Siu i saradnika (316) pokazalo je mali broj NANOG pozitivnih ćelija karcinoma jajnika, pa se može reći da NANOG nije samo uključen kod progresije karcinoma jajnika već da može biti jedan od markera CSCs. Ćelije slične kancerskim matičnim ćelijama izolovane iz ascitesa bolesnica sa karcinomom jajnika (317), tumora prostate (318), karcinoma usne duplje (319) i osteosarkoma (320) takođe pokazuju povećanu ekspresiju Nanog. Značajno veća Nanog imunoreaktivnost detektovana je kod slabije diferentovanih karcinoma jajnika, seroznog histološkog tipa u metastatskim depozitima u poređenju sa odgovarajućim primarnim tumorima. U *in vitro* uslovima, NANOG mRNA ekspresija posebno je visoka u ćelijskim linijama SKOV3 i OVCAR-3 ćelijskim linijama, koje vode poreklo od malignih ćelija ascitesa bolesnica sa seroznim adenokarcinomom (321). Ovi tumori seroznog tipa čine oko 70% karcinoma jajnika, (322) i često su udruženi sa ascitesom i intraperitonealnim metastazama (24). Dobijeni rezultati ukazuju da NANOG može da bude uključen u dediferencijaciju karcinoma jajnika i njegovih metastaza (323,324). Manja ekspresija NANOG mRNA nađena je u endometrioidnom tipu

tumora nastalog iz TOV112D ćelijske linije (325), u poređenju sa tri normalne HOSE ćelijske linije, što je u skladu sa relativno nižom imunoreaktivnošću NANOG u endometrioidnom karcinomu jajnika. Osim toga, pokazana je značajnost između visoke imunoreaktivnosti NANOG, kraćeg preživljavanja i vremena do progresije bolesti. Atori su predložili da NANOG može biti važan nezavisan prognostički marker kod karcinoma jajnika, naročito u pogledu ukupnog preživljavanja.

Obzirom da je visoka ekspresija NANOG potvrda loše prognoze bolesti ovaj marker može da posluži kao biomarker u trijaži bolesnica sa ranim stadijumom karcinoma jajnika pri donošenju odluke za primenu adjuvantne terapije. Kod bolesnica sa karcinomom jajnika dijagnostikovanih u prvom stadijumu bolesti (bolest ograničena na jajnik), prema važećem protokolu nije potrebno primeniti adjuvantnu terapiju, osim ako su prisutni loši prognostički parametri kao što su visoki gradus karcinoma, i serozni ili svetloćelijski tip. Ukoliko je ekspresija Nanog prisutna u ovom stadijumu bolesti treba razmišljati o primeni TC protokola koji se daje u višim stadijumima bolesti.

Sada se istražuje stražuje primena molekularne *target* terapije, sa bevacitumabom kod bolesnica sa lošom prognozom karcinoma jajnika. Visoka NANOG ekspresija može poslužiti kao marker za indikaciju primene kombinovane terapije umesto monohemioterapije u prvom stadijumu bolesti, kao i to da se izaberu pacijenti sa visokim rizikom za davanje *target* dopunske terapije u cilju poboljšanja ishoda bolesti. Ali za sada su potrebne studije većeg obima da bi potvrdile takvu aplikaciju.

Pokazano je da ovarijalne kancer-inicirajuće ćelije izolovane iz primarnih tumora sa prekomernom ekspresijom NANOG, kao i drugih markera matičnih ćelija dovodi do veće hemiorezistentnosti kod karcinoma jajnika na sadašnji hemioterpijski tretman sa palklitaxelom u kombinaciji sa platinskim derivatima (57).

Sox2

Ekspresija Sox2 primećena je kod različitih solidnih tumora. Uloga Sox2 ekspresije u poređenju sa kliničkim parametrima je kontraverzna.

U našem istraživanju radikalna histerektomija sa bilateralnom adnektomijom bila je urađena kod najvećeg broja pacijentkinja sa niskom ekspresijom Sox2 i ova učestalost bila je značajno veća nego kod ispitanica sa visokom ekspresijom Sox2 ($p < 0,05$). Ova vrsta operacije radi se kod bolesnica sa nižim stadijumom bolesti zbog manje veličine primarnog tumora i zahvaćenosti okolnih struktura. Suprotno tome, eksplorativna laparotomija sa bipsijom inoperabilnog tumora jajnika bila je urađena u većem procentu kod ispitanica sa visokom ekspresijom Sox2 ($p < 0,01$), jer je visoka ekspresija Sox2 bila zastupljena kod višeg stadijuma bolesti gde najčešće nije bilo moguće uraditi radikalnu ili reduktivnu hiruršku intervenciju.

Hemioterapija po protokolu TC (Taxol+Carboplatin) bila je najčešće sprovedena kod bolesnica sa visokom ekspresijom Sox2 ($p < 0,001$) i nešto ređe kod bolesnica sa niskom ekspresijom Sox2 ($p < 0,01$) za razliku od zastupljenosti kod ispitanica bez ekspresije Sox2 kod kojih je bila najmanje zastupljena. Bolesnice u višem stadijumu bolesti počevši od stadijuma IIb, po protokolu primaju hemioterapiju u kombinaciji paclitaxel/carboplatin, dok one u nižim stadijumima bolesti primaju monohemioterapiju sa carboplatinom.

Bolesnice kod kojih nije bila prisutna ekspresija Sox2 bolje su reagovala na primenjenu hemioterapiju od bolesnica sa niskom i visokom ekspresijom Sox2 i u najvećem procentu su pokazivale parcijalnu remisiju. Dok je progresija bolesti evidentirana u najvećem procentu bolesnica sa visokom ekspresijom Sox2 u odnosu na bolesnice bez ekspresije Sox2 ($p < 0,05$).

U FIGO stadijumu i u najvećem broju slučajeva evidentirane su bolesnice bez ekspresije Sox2, u odnosu na bolesnice sa visokom ekspresijom ovog markera ($p < 0,01$). U FIGO stadijumu bolesti III u najvećem broju slučajeva registrovane su bolesnice sa visokom ekspresijom Sox2, za razliku od ispitanica sa niskom ekspresijom Sox2 ($p < 0,01$).

Metastaze su bile najzastupljenije kod bolesnica sa visokom ekspresijom Sox2 i ova učestalost bila je značajno veća nego kod ispitanica bez ekspresije ($p < 0,05$).

Treći HG gradus i treći NG gradus bili su najzastupljeniji kod bolesnica sa visokom ekspresijom Sox2 ($p < 0,05$), što ukazuje na agresivnost tumora koja je povezana sa ekspresijom fenotipa Sox2 (p)

Preživljavanje bolesnica sa visokom ekspresijom bilo je kraće ($36,31 \pm 23,15$ meseci) u odnosu na preživljavanje bolesnica bez ekspresije Sox2 ($39,47 \pm 24,4$ meseca), što nije pokazalo statističku značajnost. Ipak postojeća razlika može da ukaže na značaj ekspresije SOX2 kao markera u prognozi krajnjeg ishoda bolesti.

Na osnovu prethodno iznetih rezultata može se videti da je visoka ekspresija fenotipa Sox2 povezana sa višim FIGO stadijumom bolesti, višim HG i NG gradusom, progresijom bolesti i značajnijim metastatskim potencijalom tumora kao i kraćim preživljavanjem.

U studiji Zhang i saradnika (138) takođe je pokazano da je ekspresija Sox2 kod karcinoma jajnika bila udružena sa visokim gradusom karcinoma (posebno visokim gradusom seroznog karcinoma) i FIGO stadijumima II do IV. Osim toga, pacijenti sa karcinomom jajnika kod kojih je prisutna ekspresija Sox2 imali su kraće preživljavanje u odnosu na pacijente bez ekspresije ovog markera. Na osnovu ovih rezultata Sox2 je predložen kao potencijalni marker ovarijalnih CSCs koji je povezan sa relapsom bolesti, a njegova uloga je slična kao kod ESC. Iako je Sox2 ekspimiran u različitim vrstama solidnih tumora, značaj Sox2 ekspresije u kliničkoj praksi je kontrtoverzna.

Naši rezultati su u skladu sa rezultatima većeg broja studija koje su proučavale ekspresiju Sox2 kod karcinoma različitih lokalizacija. Ekspresija ovog markera bila je povezana sa lošom prognozom i agresivnim tumorskim karakteristikama, kao što su visoki gradus, kraće preživljavanje i visoki FIGO stadijum bolesti (326). Neki istraživači (327,328) istakli su da Sox2 kao onkolgen može dovesti do proliferacije i tumorogeneze humanog skvamocelularnog karcinoma pluća i karcinoma dojke. Međutim, kod karcinoma želuca ekspresija Sox2 je često nishodno regulisana i može inhibirati ćelijski rast preko zaustavljanja ćelijskog ciklusa i apoptoze. Gubitak Sox2 ekspresije kod ćelija karcinoma želuca može biti u vezi sa karcinogenezom i lošom prognozom (329). Pacijenti koji imaju karcinom želuca sa visokom ekspresijom Sox2 imaju smanjenu incidenciju metastaza u limfnim nodusima, kao i dubinu invazije, uznapredovali klinički stadijumom i bolju prognozu u odnosu na one sa niskim nivoima ekspresije Sox2 (330). Osim toga, kod skvamocelularnog karcinoma pluća amplifikacija Sox2 gena i prekomerna ekspresija proteina koje on kodira su povezani sa

boljim ishodom bolesti (331). Dakle, različita ekspresija SOX2 kod različitih karcinoma može usloviti različito ponašanje ovih karcinoma. U odnosu na lokalizaciju Sox2, pokazano je da je ovaj marker prisutan u nukleusu i citoplazmi i može zavisiti od primenjenih antitela u imunohistohemijskom i imunofluorescentnom bojenju (332). U skladu sa većinom rezultata ekspresije Sox2 iznetih u literature koje se odnose na ekspresiju SOX2, naši podaci pokazali su da je Sox2 ekspresija uglavnom lokalizovana u jedru ćelija karcinoma jajnika ali je takođe prisutna je i nespecifična citoplazmatska lokalizacija ovog markera.

Sox2 je transkripcioni faktor i njegova aktivnost je definisana jačim bojenjem i detekcijom u većem procentu u jedru ćelija u odnosu na citoplazmu (333). Da bi se održala pluripotentnost ćelija, ekspresija Sox2 proteina mora da bude prisutna u jedru (334). Na osnovu istraživanja koje su sprovedli, Zhang i saradnici (138) smatraju da je prisustvo Sox2 u jedru indikator pozitivne ekspresije Sox2. Primećena je veza između ekspresije Sox2 i uznapređovalog karcinoma jajnika, što podrazumeva da je ekspresija Sox2 povezana sa lošijim kliničkim ishodom pacijenata sa karcinomom jajnika.

U studiji Yea i saradnika (335) visoka ekspresija Sox2 značajno je udružena sa ovarijalnim borderline cystadenomom i cystadenocarcinomom, u poređenju sa benignim tumorima. Sox2 može biti uključen u malignu transformaciju tumora jajnika. Takođe, predloženo je da se Sox2 može koristiti u dopunskoj dijagnostici ovarijalnih borderline cystadenoma i cystadenocarcinoma. Pored toga, pronađena je značajna korelacija između visoke ekspresije Sox2, FIGO stadijuma bolesti i patološkog stadijuma. Sox2 je udružen sa relapsom tumora, pojavom metastaza nakon primene hemioterapije i može biti marker loše prognoze kod pacijenata sa karcinomom rektuma tretiranih nakon preoperativne hemioiradijacije (336).

Oct3/4

Oct4 pripada familiji POU-domena transkripcionih faktora, podskupu familije koja kodira transkripcione regulatorne proteine. Disregulacija ovih proteina vodi ka neoplastičnoj transformaciji u kulturi ćelija i tumorskih formacija *in vivo* (337). Takođe, predloženo je da Oct4 aktivnost može predstavljati multifunkcionalni faktor kod karcinoma i matičnih ćelija. Čini se da Oct4 ima veoma sličnu ulogu kao kod karcinoma i kod embrionalnih ćelija (338).

U našem istraživanju bolesnica bez ekspresije Oct bile su značajno starije od ispitanica sa niskom ekspresijom Oct ($p < 0,05$). Radikalna histerektomija sa bilateralnom adneksektomijom bila je značajno češće urađena kod bolesnica bez ekspresije Oct4 markera 70,0% jer se radilo o bolesnicama sa nižem stadijumom bolesti. Za razliku od eksplorativne laparotomija sa biopsijom inoperabilnog karcinoma jajnika koja je bila najzastupljenija kod bolesnica sa visokom ekspresijom Oct4 ($p < 0,05$) jer su one bile u višem stadijumu bolesti. Najzastupljenija terapija kod bolesnica sa niskom ekspresijom Oct4 bila je hemioterapija po TC protokolu ($p < 0,01$), dok je najzastupljenija terapija kod bolesnica bez ekspresija Oct4 bila monokarboplatina ($p < 0,05$). Najbolji odgovor na terapiju sa kompletnom remisijom imale su bolesnice bez ekspresije OCT u odnosu na bolesnice sa visokom ekspresijom ovog markera ($p < 0,01$), dok je parcijalna remisija u najvećem procentu bila kod bolesnica sa visokom ekspresijom Oct u odnosu na bolesnice bez ekspresije ($p < 0,05$).

Granični tumora jajnika i karcinomi u prvom stadijumu bolesti bili su najzastupljeniji kod bolesnica kod kojih nije bilo ekspresije Oct4, a visoka ekspresija Oct4 bila je najzastupljenija kod bolesnica u trećem FIGO stadijumu bolesti ($p < 0,05$).

Granični tumor su u najvećem procentu bili bez ekspresije Oct4, dok je visoka ekspresija Oct4 bila zastupljena kod trećeg HG i NG.

Do sada objavljeni radovi koji se odnose na ekspresiju Oct4 kod karcinoma jajnika nisu uzimali u obzir godine života, vrstu sprovedene hirurške intervencije i vrstu sprovedene hemioterapije.

U studiji Chenga (339) i saradnika pokazana je ekspresija Oct4 u 33 slučaja dysgerminoma jajnika, ovo je bila prva studija koja je ispitivala ekspresiju Oct4 imunohistohemijakom metodom kod ovog malignoma. U pomenutoj studiji, autori, su takođe, pratili ekspresiju Oct4 i u nekim drugim tipovima karcinoma jajnika i pronašli da

nijedan od drugih tipova tumora, uključujući serozni adenokarcinom, endometrioidni karcinom i metastatski karcinom jajnika ne pokazuju Oct ekspresiju, osim bojenja fokusa manjih od 10% kod svetloćelijskog karcinoma. Autori su istakli da je Oct4 senzitivn i relativno specifičan biomarker za dysgermonom jajnika.

Međutim, u studiji Zhang i saradnika (164) Oct4 pokazuje univerzalno nuklearno bojenje kod seroznih i mucinoznih epitelnih lezija, uključujući benigni cystadenom, granični cystadenom i kod dva najčešća tipa epitelnog kancera jajnika, kod seroznog i mucinoznog adenokarcinoma imunohistohemijskom metodom. Najveći procenat bojenja pokazali su serozni i mucinozni adenokarcinomi. Važno je napomenuti da ekspresija Oct4 pokazuje trend porasta od normalnog epitela do benignog/graničnog seroznog cystadenoma ka invazivnom seroznom adenokarcinomu. Serozni karcinom jajnika čini oko 70% svih slučajeva maligniteta jajnika, i predstavlja najčešći tip karcinoma ovog organa (340). Autori su dali predlog da Oct4 može imati ulogu u karcinogenezi seroznog karcinoma jajnika. Povećana ekspresija Oct4 takođe pokazuje značajnu udruženost sa uznapredovalim kliničkim stadijumom i lošijom diferencijacijom ćelija karcinoma kod bolesnica sa seroznim karcinomom jajnika, predlažući-sugerišući da ekspresija ovog markera može biti i u vezi sa promocijom i progresijom seroznog karcinoma jajnika, što je pokazalo i naše istraživanje. Međutim, nije bilo značajne razlike između normalnog epitela, benignog mucinoznog cystadenoma, graničnog mucinoznog cystadenoma i mucinoznog adenokarcinoma. Ekspresija Oct4 takođe nije pokazala značajnu korelaciju sa kliničkim parametrima bolesnica sa mucinoznim karcinomom. Pokazano je da mucinozni karcinom ispoljava različitu ekspresiju Oct4 u odnosu na serozni karcinom. Povećanjem molekularnih i patoloških dokaza podržavaju jedinstven model progresije kod mucinoznog karcinoma jajnika. Različiti podtipovi epitelnog kancera jajnika su različite bolesti i udružene su sa različitim genetskim faktorima rizika i molekularnim događajima u toku onkogeneze (341). Autori su predložili da Oct4 može biti obećavajući terapijski target za serozni karcinom jajnika, kao i to da postoje dokazi koji podržavaju hipotezu da kancerske matične ćelije iniciraju i održavaju fenotip karcinoma jajnika.

Sox4

Do sada nije bilo objavljenih radova koji su istraživali ekspresiju Sox4 markera kod karcinoma jajnika. U našem istraživanju praćena je ekspresija Sox4 u jedru i u citoplazmi imunohistohemijskom metodom. Progresija bolesti u najvećem procentu nastupila je kod bolesnica bez ekspresije Sox4 i značajno je bila veća nego kod bolesnica sa visokom ekspresijom Sox4 ($p < 0,01$). Bolesnice bez ekspresije Sox4 su takođe bile značajno starije u odnosu na bolesnice sa niskom ekspresijom Sox4 ($p < 0,01$), kao i od onih sa visokom ekspresijom. Razlike ostalih praćenih kliničkih parametara kod bolesnica sa različitim nivoima ekspresije SOX4 nisu bile statistički značajne. U prilog prethodnom govori da u FIGO stadijumu III u najvećem broju slučajeva nije evidentirana ekspresija Sox4 (69,2%), dok su u istom stadijumu bolesti niska ($p < 0,001$) i visoka ekspresija ($p < 0,05$) bile značajno manje. U FIGO stadijumu I u najvećem broju slučajeva evidentirana je niska ekspresija Sox4 (38,4%), i ova učestalost je bila značajno veća nego izostanak ekspresije ($p < 0,001$), kao i visoka ekspresija ($p < 0,01$) u istom stadijumu bolesti. Dobro diferentovani tumori (NG I i HG I) bili su najzastupljeniji kod bolesnica sa visokom ekspresijom Sox4 u odnosu na ispitalice bez ekspresije ($p < 0,001$ i $p < 0,01$), dok kod nediferentovanih tumora (NG III i HG III) nije bila zastupljena ekspresija Sox4 u odnosu na bolesnice sa niskom ($p < 0,01$ i $p < 0,05$) i visokom ekspresijom Sox4 ($p < 0,01$ i $p < 0,001$), što ide u prilog lošije prognoze bolesti. Pokazano je da je negativna ekspresija Sox4 bila je povezana sa progresijom bolesti, FIGO stadijumom bolesti III i, kao i HG III i NG III.

Aaboe i saradnici (342) koristili su parafinske uzorke karcinoma mokraćne bešike i pratili ekspresiju Sox4. Sox4 protein eksprimiran je kod kancerskih ćelija porekla urotela u dva tipa tumora, tumori sa gradusom II i tumori sa gradusom III. Ekspresija Sox4 proteina bila je veoma izražena i u jedru i u citoplazmi ćelija. Relativno slaba ekspresija Sox4 bila je kod ćelija u stromi, verovatno zbog infiltracije strome limfocitima. Opisana je ekspresija Sox4 transkripta u B i T ćelijama (343). Autori su, da bi dokazali biološku značajnost ekspresije Sox4 u tumorima mokraćne bešike, pratili ekspresiju Sox4 na tkivnom mikroareju kod pacijenata sa karcinomom mokraćne bešike u odnosu na kliničke parametre. Praćena je ekspresija u citoplazmi (negativna, niska i visoka) i u jedru (bez nuklearnog bojenja, bojenje manje od 50% ili veće od 50%). U toku analize kombinovani su negativni ili slabi Sox4 uzorci u jednu grupu i upoređivani sa jako pozitivnim Sox4 uzorcima. Autori nisu pronašli značajnu korelaciju između Sox4 ekspresije i kliničkih varijabli kao što su relaps bolesti i

progresija kod karcinoma mokraćne bešike, za razliku od bolesnica sa karcinomom jajnika u našem istraživanju gde je progresija bolesti nastupila značajno češće kod tumora bez ekspresije Sox4. Međutim, postojala je značajna korelacija između Sox4 ekspresije i preživljavanja. Pronađeno je da bolesnici sa karcinomom mokraćne bešike sa visokom citoplazmatskom ekspresijom imaju bolje preživljavanje u odnosu na pacijente bez ekspresije ili sa slabom ekspresijom Sox4. Slično tome, bolesnici sa karcinomom mokraćne bešike kod kojih postoji više od 50% pozitivnih ćelija sa nuklearnim bojenjem imaju bolje preživljavanje u odnosu na bolesnike kod kojih je procenat pozitivnih jedara bio manji od 50% ili bez pozitivne reakcije.

I u našem istraživanju duže preživljavanje bilo je kod bolesnica sa karcinomom jajnika kod kojih je pokazana visoka ekspresija Sox4 $41,69 \pm 22,77$ meseci u odnosu na bolesnice bez ekspresije Sox4 $34 \pm 26,51$ meseci. Smrtni ishod je takođe nastupio u većem procentu kod bolesnica bez ekspresije Sox4 57,1% u odnosu na bolesnice sa visokom ekspresijom 44,4%.

Liu i saradnici (344) su u svom istraživanju pratili ekspresiju Sox4 kod ćelija karcinoma prostate i evidentirali prisustvo Sox4 proteina koji je bio zastupljeniji u odnosu na ćelije normalne prostate. Autori su koristili iminohistohemijsku metodu za istraživanje ekspresije Sox4 kod tkiva prostate. Ekspresija je obuhvatala i citoplazmatsko i nuklearno bojenje. Prikazano je intenzivno Sox4 bojenje, kao o to da Sox4 korelira sa tumorskim gradusom. Reaktivnost Sox4 proteina je povećana kod ćelija karcinoma prostate u odnosu na benigni epitel prostate i bojenje je intenzivnije kod visokog gradusa tumora, što je suprotno u odnosu na ekspresiju ovog markera u odnosu histološki i nuklearni gradus kod našeg istraživanja na karcinomu jajnika. Reaktivnost nije detektovana kod neepitelnih ćelija, osim kod infiltracije limfocitima.

Na osnovu prethodnih istraživanja vidi se da nivo ekspresije Sox4 može biti različit, ali nam daje vredne informacije o karakteristikama tumora pomažući nam da bolje razumemo interakcije signalnih puteva, takođe može voditi ka razvoju specifičnih terapija. Obzirom da je pokazano da je negativna ekspresija Sox4 povezana sa progresijom bolesti, FIGO stadijumom bolesti III i, kao i nuklearnim i histološkim gradusom III, mogao bi se koristiti kao pokazatelj povoljnije prognoze kod karcinoma jajnika ukoliko se evidentira njegova ekspresija. Međutim, potrebna su dalja istraživanja u tom pravcu.

CD 44

Bolesnice sa ekspresijom CD44 do 10% bile su značajno starije od ispitanica sa ekspresijom većom od 10% ($p < 0,01$).

Hemioterapija po CP protokolu je bila češće zastupljena kod bolesnica sa visokom ekspresijom CD44 ($p < 0,05$), dok je terapija mono karboplatinom bila češće zastupljena kod bolesnica sa niskom ekspresijom CD44 ($p < 0,001$), što je u skladu sa stadijumom bolesti.

Prosečno preživljavanje bilo je značajno duže kod bolesnica sa ekspresijom CD44 preko 10% ($42,11 \pm 22,52$: $32,28 \pm 24,89$ meseci; $p < 0,01$).

U FIGO stadijumu I u najvećem broju slučajeva evidentirana je visoka ekspresija CD44 ($p < 0,05$), dok je u FIGO stadijumu IV u najvećem broju slučajeva registrovana je niska ekspresija CD44 ($p < 0,05$). Kod bolesnica sa ekspresijom CD44 do 10% metastaze su bile značajno zastupljenije u odnosu na primarni tumor ($p < 0,05$).

Sillanpaa i saradnici (345) pokazali su da je smanjena ekspresija CD44 je udružena sa uznapredovalim stadijumom epitelnog kancera jajnika i predstavlja nezavisni faktor predviđanja kraćeg vremena preživljavanja, što je u saglasnosti sa našim rezultatima. Opšta prognostička uloga CD44 kod humanih karcinoma je kontraverzna. Smanjena ekspresija CD44 i njegovih varijanti (CD44v i CD44s) povezana je sa lošim ishodom bolesti i kod drugih malignih tumora, kao što su melanom (346), karcinoma prostate (347) i kolorektalnog karcinoma (348). S druge strane, kod karcinoma bubrega (361), ne-sitnoćelijskog karcinoma pluća (362) stadijuma II i III karcinoma dojke (349) i karcinoma grlića materice u FIGO stadijumu Ib (350-352), povećana ekspresija CD44 prediktor je loše prognoze i preživljavanja. Kod karcinoma želuca nije dokazana povezanost između ekspresije CD44 i prognoze bolesti (353). Očigledno je da je uloga CD44 u kasnijem toku bolesti povezana sa vrstom tumora. Međutim, nekonzistentni rezultati u vezi prognostičke uloge CD44 takođe su nađeni kod određenih tipova tumora, kao što je primer karcinom jajnika. Stoga, koristeći relativno mali broj pacijenata, jedna od prethodnih studija složila se sa studijom Sillanpaa i saradnika (345) da je visoka ekspresija CD44 povezana sa relativno dobrom prognozom karcinoma jajnika (354). U tri studije nije nađena veza između ekspresije CD44 i prognoze bolesti (355-357), dok je jedna studija pokazala da je loša prognoza bolesti udružena sa

visokom ekspresijom CD44 (358), što je u suprotnosti sa našim rezultatima. Bez obzira na dovoljan broj uzoraka razloge u diskrepanci rezultata treba tražiti u vrsti primenjenih antitela.

Epitelni kancer jajnika širi se implantacijom tumorskih ćelija u peritonealnu šupljinu. *In vitro* studije pokazale su da CD44 na površini ćelija karcinoma jajnika vezuje hijaluronski omotač ćelija mezotela i mogu doprineti nastanku peritonealnih metastaza (359,360). Monoklonska antitela čiji je target CD44 značajno inhibiraju adheziju ćelija karcinoma jajnika za mezotelne ćelije i njihovu peritonealnu implantaciju kod miševa (361,362). Studija Sillanpaa i saradnika (345) ne podržava ideju da CD44 +tumorske ćelije doprinose širenju karcinoma jajnika kod ljudi. Naprotiv, visok procenat CD44 pozitivnih ćelija karcinoma jajnika javlja se kod dobro diferentovanih tumora i manje agresivnih histoloških podtipova u prezentovanom materijalu i udružen je sa relativno povoljnom prognozom bolesti, ukupnim preživljavanjem i vremenom do progresije bolesti. Drugi molekularni mehanizmi, kao što su integrini (363) i proteoglikani (364) mogu imati ulogu u implantaciji ćelija karcinoma jajnika. Uočeno je da nema promene u ekspresiji CD44 u toku metastatskog procesa (363,364), dok su drugi autori primetili nishodnu regulaciju CD44 u toku progresije tumora kod miševa (365) i tumorskih ćelija iz ascitne tečnosti kod ljudi. Naravno, promene u CD44 osim ukupnog nivoa ekspresije mogu da doprinose malignom rastu (366). Jedna takva osobina je regulisanje sposobnosti ovog receptora da vezuje hijaluronan (367). U studiji Sillanpaa i saradnika (345), pozitivna korelacija prisutna kod primarnih tumora između ćelija povezanih hijaluronom i CD44 je izgubljena kod metastaza, što možda odražava promene u funkciji hijaluronskog receptora za CD44.

Inverzna korelacija između ekspresije CD44 i hijalurona u metastazama nije iznenađujuća jer oba parametra su pokazatelji napredne bolesti i loše prognoze. Međutim sadašnji podaci ne daju objašnjenje za metaboličku ili molekularnu vezu između akumulacije hijalurona u stromi i ekspresije CD44. Činjenica da akumulacija hijalurona u stromi i gubitak CD44 pozitivnosti kod primarnih tumora predstavljaju nezavisne prognostičke faktore u Cox-ovoj analizi i da stoga deluju odvojeno. Ekspresija CD44 ne mora uvek da znači adheziju tumorskih ćelija za hijaluron i nivoi ukupnog CD44 ne moraju da koreliraju sa afinitetom za hijaluron.

Steffansen i saradnici (368) takođe su pronašli inverznu korelaciju između FIGO stadijuma/gradusa bolesti i procentualne zastupljenosti ovih ćelija. Bolesnice sa FIGO

stadijumom I imale su veći broj CD44+EOC matičnih ćelija sa ekspresijom većom od 20%. Pacijenti sa gradusom tumora I pokazivali su visoke nivoe ekspresije CD44 kod EOC matičnih ćelija. Autori su došli su do zaključka da su bolesnice sa nižim brojem CD44+EOC matičnih ćelija imale progresiju bolesti. Međutim, njihovi rezultati ukazuju da u ranim fazama karcinoma jajnika, pacijenti koji imaju više od 20% CD44 pozitivnih EOC matičnih ćelija imaju kraće preživljavanje u poređenju sa bolesnicama sa karcinomom jajnika kod kojih je ekspresija CD44 manja od 20%. U multivarijantnoj analizi, utvrđeno je da CD44 pozitivnost nezavisni prediktor loše prognoze i preživljavanja, kao i u našem istraživanju. Pošto visoki nivoi CD44+EOC matičnih ćelija koreliraju sa lošom prognozom u ranom stadijumu karcinoma jajnika, ali ne kod pacijenata sa uznapredovalim FIGO stadijumom, moguće je da su visoki nivoi EOC matičnih ćelija u stadijumu I i II su rezultirali značajnošću u multivarijantnoj analizi.

Postojanje CSC bilo je prikazano u nekoliko tipova tumora kao što je akutna mijeloidna leukemija, karcinom dojke, pankreasa i tumora mozga (369-372). Veruje se da ove ćelije održavaju formiranje tumora kroz samoobnavljanje i diferencijaciju. Kod karcinoma jajnika, Bapat i saradnici (168) koristili su in vitro model 19 spontano imortalizovanih klonova nastalih od pacijenata sa visokim gradusom bolesti, autori su pokazali sposobnost 2 klona da formiraju sferoide humanih tumora kod nude miševa. Ove ćelije su pokazivale ekspresiju CD44, E-kaderina i faktora matičnih ćelija Nestin, Nanog i Oct4. U drugoj studiji Zhang i saradnika (57) registrovan je tumor-inicirajući kapacitet CD44+/CD117+ karcinoma jajnika kod miševa.

Identifikacija CSC bazirana je na prisustvu ekstracelularnih markera za koje se veruje da su specifični za matične ćelije. Neki od identifikovanih markera kao što su CD133, CD44 i CD24 pronađeni su kod karcinoma dojke, prostate i karcinoma jajnika. Iako se smatra da ovi markeri ukazuju na CSC fenotip, nije jasno da li su oni univerzalni markeri iako je karakteristično da CSC potiču iz svih tipova tumora. Potencijalno objašnjenje za ovu razliku moglo bi biti zbog studija koje su koristile kancerske ćelije linije koje ne predstavljaju originalni tumor. Međutim to može biti rezultat heterogene prirode karcinoma jajnika i njegovih različitih izvora porekla (373). Matične ćelije karcinoma jajnika poreklom iz falopijevih tuba mogu prezentovati različite površinske markere od CSC koje potiču od endometrijuma ili površnog epitela jajnika.

CD117

Ekspresija CD117 ima patogenu ulogu u brojnim malignitetima, pored GIST, tu je i karcinom dojke, tumori germinativnih ćelija, karcinom debelog creva, neki tipovi sarkoma, melanom, karcinom jajnika i sitnoćelijski karcinoma pluća (374). Uz pomoć niskomolekularnih inhibitora kinaze inhibiše se c-kit i PDGFR puta I dolazi do kliničkog poboljšanja kod pacijenata sa GIST (375). Međutim, nedavna ispitivanja ukazuju na relevantnost odgovora na imatinib (inhibitor kinaze) kod pacijenata sa aktivnim mutacijama c kit. U većini slučajeva uloga c-KIT u neoplaziji nije potpuno jasna. Odgovor na imatinib ne zavisi samo od nivoa ekspresije c KIT. Studije su pokazale da neće biti koristi od terapije imatinibom kod svake c KIT ekspresije prisutne kod solidnih i hematoloških tumora (376, 377). Oni ukazuju da stopa odgovora može zavistiti od prisustva c KIT mutacije u tumoru ali i od lokacije i tipa mutacije, kao i od interakcije sa ostalim signalnim putevima. Terapija imatinibom ili sunitinibom kod c KIT-pozitivnih GISTs predstavlja primer target terapije kod karcinoma, koja zahteva imunohistohemijsku analizu tumora u cilju otkrivanja pacijenata koji će imati najveće koristi od primene biološke terapije. Pri tome, tumori sa mutacijom na exonu 11 daju bolji odgovor od tumora sa mutacijom na exonu 9, dok je stopa odgovora minimalna kod tumora bez mutacije (378).

U našem istraživanju prosečna starost bolesnica bez ekspresije CD117 bila je značajno veća u odnosu na ispitanice sa ekspresijom CD 117 ($p < 0,05$). Hemioterapija po TC protokolu bila je češće zastupljena kod bolesnica sa pozitivnom ekspresijom CD117 ($p < 0,05$), dok je terapija sa mono karboplatinom bila češće zastupljena kod bolesnica bez ekspresije CD117 ($p < 0,05$), što je u skladu sa stadijumom bolesti. Progresija bolesti bila evidentirana je kod bolesnica čiji tumori nisu pokazivali ekspresiju CD117 ($p < 0,05$) i kod kojih je bio lošiji odgovor na hemioterapiju. Suprotno, kod bolesnica sa ekspresijom CD117 zabeležen je bolji odgovor na terapiju ($p < 0,05$), više parcijalnih remisija nakon primenjene hemiotarapije iako je veći procenat bolesnica bio u stadijumu III i IV. HG I HG nisu pokazali statističku značajnost u odnosu na nivo ekspresije. U našem istraživanju bolesnice sa ekspresijom CD117 imale su bolju preživljavanje ($40,91 \pm 24,59$ meseci : $36,7 \pm 23,8$ meseci).

U studiji Luo i saradnika (256) takođe je praćen odnos između ekspresije CD117 i odgovora na primenjenu hemioterapiju kod karcinoma jajnika. Odgovor na hemioterapiju bio je u vezi sa mnogim kliničkim faktorima, uključujući stadijum bolesti, rezidualni tumor

nakon sprovedene hirurške intervencije i sprovedene hemioterapije. Svi slučajevi u njihovoj studiji bili su u uznapredovalom stadijumu (FIGO stadijum III). Kod ovih bolesnica urađena je optimalna citoredukcija (rezidualni tumor manji od 1cm) i ordinirana hemioterapija paclitaxet/platina. Pronađena je značajna veza između ekspresije CD117 i odgovora na standardnu terapiju. Tumori koji su bili CD117+ bili su manje osetljivi na hemioterapiju i kod njih je došlo do pojave recidiva u kraćem periodu nakon prestanka primene hemioterapije u odnosu na CD117- tumore. Ali njihova studija urađena je na malom broju bolesnica, svega 25 slučajeva seroznog karcinoma jajnika.

Medingen i saradnici (379) su pratili ekspresiju CD117 imunohistohemijskom metodom kod više vrsta tumora dobili su različite rezultate. CD117 bio je eksprimiran u citoplazmi, kao i u membrani u najmanje 10% ćelija. Ispitivani tumori pokazali su nisku ekspresiju CD117 osim sarkoma, karcinoma bubrega i melanoma u poređenju sa GIST. Tumori sa aktiviranom KIT ili PDGFRA mutacijom su potencijalni target za imatinib i ostale selektivne inhibitore tirozin kinazne. U studiji Sihto i saradnika evidentirana je pored GIST I mutacija c kit u mnogim tumorima (380).

Ipak, relativno visoka c-kit ekspresija kod sarkoma, melanoma, karcinoma bubrega, seminoma i neuroendokrinih tumora zaslužuje dalju procenu na većem broju uzoraka. Brojni analizirani slučajevi karcinoma dojke i debelog creva pokazali su ekspresiju c-kit u oko 20% slučajeva, ali nijedna od njih nije bila sa visokim nivoom.

U studiji Medingen i saradnika nije nađena značajna korelacija između ekspresije c-kit i prognoze bolesti, iako je trend lošije prognoze kod c-kit pozitivnih tumora bio viđen kod karcinoma dojke i sarkoma. Što se tiče ekspresije c-kit i prognoze dostupni podaci su kontraverzni. U nedavnoj studiji Charpin i saradnika (381), c-kit ekspresija kod pacijenata sa karcinomom dojke korelira sa lošim ishodom bolesti, dok je druga studija pokazala da je gubitak c-kit ekspresije udružen sa uznapredovalim stadijumom bolesti kod karcinoma dojke (382).

Na osnovu prethodnih istaživanja vidi se da nivo ekspresije receptora faktora rasta nije uvek prediktor (ne predviđa) aktivnosti inhibitora kinaze u kompleksu intracelularnih puteva. Skrining tumora na ekspresiju receptora specifičnih faktora rasta još uvek nije relevantan, ali nam daje nam daje vredne informacije o karakteristikama tumora pomažući

nam da bolje razumemo kompleksne interakcije puteva transdukcije signala i vodi nas u razvoj specifičnijih terapija.

Ezh2

Ekspresija EZH bila je zastupljenija kod metastaza karcinoma jajnika. Progresija bolesti i kraće vreme preživljavanja bili su prisutni kod bolesnica sa pozitivnom ekspresijom EZH, kao i nastupanje smrtnog ishoda koje je bilo u većem procentu. Prvi FIGO stadijum bolesti bio je najzastupljeniji kod bolesnica sa negativnom ekspresijom EZH, a četvrti FIGO stadijum kod bolesnica sa pozitivnom ekspresijom EZH.

Rao i saradnici (298) pokazali su značajan uticaj kliničkih i patoloških prognostičkih parametara, kao što je tumorski gradus, FIGO stadijum bolesti i preživljavanje bolesnica. Pronašli su takođe da je EZH2 ekspresija veća kod karcinoma jajnika u poređenju sa normalnim tkivom jajnika.

Predloženo je da EZH2 može biti terapijski target za nekoliko tipova karcinoma kod ljudi (383-386). Međutim, abnormalnosti EZH2 i njegova moguća uloga onkogeni kod karcinoma jajnika nije puno proučavana.

U studiji Rao i saradnika (298) ispitivana je dinamika ekspresije i amplifikacioni status EZH2 IHC i FISH metodom, korišćenjem serija benignih i graničnih epitelnih tumora jajnika i karcinoma. Metodom IHC pokazano je da povećanje učestalosti visokog nivoa ekspresije EZH2 primećena je kod benignih (cystadenoma) i graničnih neoplazama i malignim lezijama. Amplifikacijom EZH2 detektovano je 9% karcinoma jajnika. Pored toga, povećana ekspresija EZH2 bila je primećena kod većine karcinoma jajnika u poređenju sa normalnim tkivom jajnika Western blotting metodom. Ovi nalazi pružaju dokaze da ushodna regulacija EZH2 može imati važnu ulogu u tumorogenim procesima u epitelnim tumorima jajnika. Dalje analize pokazale su da je visoka ekspresija EZH2 kod karcinoma jajnika u pozitivnoj korelaciji sa većim histopatološkim gradusom, lošom diferencijacijom i/ili uznapredovalim kliničkim stadijumom bolesti. Ovi rezultati sugerišu-predlažu da ushodno regulisana ekspresija EZH2 kod karcinoma jajnika može olakšati povećanje malignog fenotipa kod tumora.

Slični rezultati takođe su bili primećeni i kod drugih humanih maligniteta, kao što su karcinomi usne duplje, ezofagusa, želuca, debelog creva, hepatocelularni, mokraćne bešike, karcinoma dojke i ostalih (295, 387-392), kod kojih je prekomerna ekspresija EZH2 gena

često primećena kod agresivnih tumorskih podtipova i ima dijagnostičku vrednost. Pored toga, utvrđena je visoka ekspresija EZH2 kod karcinoma jajnika i bila je nezavistan prediktor kratkog ukupnog preživljavanja. Izgleda da EZH2 ekspresija ima potencijal da predvidi klinički ishod bolesti bolesnica sa karcinomom jajnika. Ispitivanje EZH2 ekspresije IHC metodom, stoga može da se koristi kao dodatna efikasna dijagnostika u identifikaciji onih bolesnica sa karcinomom jajnika sa povećanim rizikom od invazije tumora i/ili progresije. Ovi nalazi naglašavaju potencijalno važnu ulogu EZH2 kao osnovnog biološkog mehanizma u razvoju i/ili rastu karcinoma jajnika kod ljudi.

U pogledu genske funkcije EZH2, gen se nalazi na hromozomu 7q35, kodira polycomb grupu proteina, koji deluje kao histon methyltransferaza 3-5 i takođe može direktno kontrolisati DNK metilaciju (393). EZH2 je uključen u nekoliko ključnih regulatornih mehanizama u eukariotskim ćelijama, kao što je kontrola razvoja i ćelijske proliferacije (394, 395). Međutim, EZH2 nije samo potencijalni tumorski marker, već može doprineti deregulaciji rasta ćelija kao onkogen. Povećana ekspresija EZH2 ustanovljena je kod ćelijskog rasta *in vitro* i promociji ćelijske invazije (396-398) kod nude miševa. Obrnuto, inhibicija EZH2 ekspresije RNA interferencijom rezultovala je inhibicijom rasta kod nekoliko tipova kancerskih ćelija (384, 386). Osim toga, RNK interferencijom posredovana inhibicija ekspresije EZH2 indukuje apoptozu kod karcinoma dojke (399).

U studiji Rao i saradnika (298) korišćene su humane ovarijalne kancerske ćelijske linije OVCAR-3, UACC-1598, HO-8910 i TOV-21G. EZH protein detektovan je Western blotting testom u sve četiri ćelijske linije. U HO-8910 i UACC-326 ćelijskim linijama viđeni su relativno viši nivoi ekspresije EZH2. Dalje funkcionalne studije pokazale su inhibiciju ekspresije EZH2 tranfekcijom sa siRNA i kod HO-8910 i UACC-326 ćelijskih linija koje su ćelije dovele u G1 fazu ćelijskog ciklusa smanjenjem ćelijskog rasta/proliferacije *in vitro*, ali nisu imale uticaj na apoptozu ćelija. Ovi podaci pružaju dokaze da EZH2 nije samo uključen u proliferaciju ćelija karcinoma jajnika već je uključen i u migraciju ćelija karcinoma i/ili invaziju. Na taj način abnormalna ekspresija EZH2 može dovesti do selektivne prednosti invazivnosti kod karcinoma jajnika i/ili nastanka metastaza. Do danas međutim molekularni mehanizmi kojima EZH2 reguliše migraciju ćelija karcinoma i invazivnost još uvek nije dovoljno jasna.

Stat3

U studiji Zhao i saradnika (400) korišćenjem imunohistohemijske metode praćena je ekspresija STAT3 kod normalnog tkiva jajnika, karcinoma jajnika i ovarijalnih kancerskih ćelija (SKOV3 ćelijske linije). Nisku i umerenu ekspresiju STAT3 pokazalo je normalno tkivo jajnika. Suprotno tome, tkivo primarnog karcinoma jajnika i ovarijalnih kancerskih ćelija imalo je umereno do visoku ekspresiju STAT3.

Pod fiziološkim uskovima, aktivacija STAT3 je brz proces i aktiviran STAT3 ima kratak životni vek. Studija Zhao i saradnika (400) pokazala je važnu ulogu *stat3* u održavanju fiziološke funkcije ćelija. STAT3 je ključni element u receptoru za epidermalni faktor rasta (EGFR), interleukin-6 (IL-6)/Janus kinaza (JAK) i druge kancerogene signalne puteve tirozin kinaze kod karcinoma. Postoje dokazi prisustva STAT3 kod različitih humanih maligniteta, uključujući leukemiju, multipli mijelom, melanom, skvamozni ćelijski karcinom glave i vrata (SCCHN), karcinoma dojke, karcinoma prostate karcinoma jajnika i pluća. Aktiviran *stat3* ima važnu ulogu nastanku, rastu i inhibiciji apoptoze kancerskih ćelija (401-403). Rosen i saradnici (404) ukazuju na perzistentnu aktivaciju STAT3 signalne transdukcije koja je veoma važna u pojavi karcinoma jajnika i s obzirom da može da dovede proliferacije ćelije. Perzistentna aktivacija STAT3 dovodi do razvoja karcinoma, a povećana ekspresija STAT3 takođe ukazuje na lošu prognozu karcinoma. Po mišljenju navedenih autora, *stat3* može da se koristi kao target za antikancersku terapiju, a može i da se uvrsti kao marker za karcinom.

I u našem istraživanju preživljavanje bolesnica bilo je značajno kraće kod bolesnica sa pozitivnom ekspresijom STAT3, u poređenju sa bolesnicama sa negativnom ekspresijom ovog markera ($p < 0,05$). Bolesnice u FIGO stadijumu I bolesti u najvećem procentu nisu imale ekspresiju STAT3 ($p < 0,01$), dok je u višem stadijumu bila prisutna pozitivna ekspresija ovog markera ali nije postignuta statistička značajnost.

Rezultati studije Zhao i saradnika (400) pokazuju da je ekspresija STAT3 značajno povećana kod karcinoma jajnika kod ljudi u poređenju sa normalnim tkivom jajnika. Među tri para dvolančane siRNK oligonukleotida, čiji je target *stat3*, jedino siRNK targetovana sa *stat3-3* može značajno inhibirati ekspresiju STAT3 kod SKOV3 ćelijskih linija analiziranih Western Blot i Northern Blot analizom. U istoj studiji korišćena je siRNK-*stat-3* za transfekciju SKOV3 ćelija u daljim eksperimentima. Rezultati transfekcije siRNK-*stat3* značajno smanjuju ekspresiju Bcl-2, cyclin D1 i c-Myc kod SKOV3 ćelijskih linija. Pored toga, *stat3* siRNK inhibira in vitro rast i preživljavanje, što dovodi do apoptoze SKOV3 ćelija

. Anti-tumorski efekat *stat3* siRNK potvrđen je kod karcinoma jajnika kod nude (golih miševa). Ovo istraživanje pokazalo je in vitro i in vivo antitumorske efekte *stat3* siRNK. Autori su ukazali da STAT3 siRNK terapija može značajno inhibirati rast ćelija karcinoma jajnika i promovisati njihovu apoptozu. Iz tih razloga autori su predložili da se STAT3 koristi kao terapijski target za pacijente obolele od karcinoma jajnika i RNK interferencija sa siRNK koja targetuje *stat3* može postati efikasna strategija za tretman ovog malignoma.

Doksorubicin je antitumorski antibiotik koji se najčešće koristi, ali je njegova primena ograničena zbog hemiozistentnosti (405). Nedavne studije kod humanih karcinoma prikazale su da je STAT3 glavni regulator ćelijske proliferacije i preživljavanja koji štiti ćelije od različitih terapijskih agenasa uključujući doxorubicin (406-408).

U studiji Zhou i saradnika (409) pronađena je različita ekspresija STAT3 kod četiri kancerske ćelijske linije. Utvrđeno je da veća bazalna aktivnost STAT3 daje veću rezistentnost na doxorubicinom indukovanu citotoksičnost u HeLa ćelijama, dok HCT 116 ćelije sa nižim bazalnim nivoima STAT3 su senzitivnije na doxorubicinom-indukovanu ćelijsku smrt. Ukoliko STAT3 bude blokiran ektopičnom ekspresijom mutantnog oblika STAT3 ili RNK interferencijom dolazi do značajnog smanjenja vitalnosti ćelija i poboljšanja apoptotičke ćelijske smrti koja je detektovana u HeLa ćelijama tretmanom doxorubicina.

U našem istraživanju primena hemioterapije po TC protokolu najzastupljenija je bila kod bolesnica sa pozitivnom ekspresijom STAT3, dok je monohemioterapija sa karboplatinom bila najzastupljenija kod bolesnica sa negativnom ekspresijom STAT3. Odgovor na hemioterapiju u smislu parcijalne remisije bio je najzastupljeniji kod bolesnica sa pozitivnom ekspresijom STAT3, a bolesnice sa negativnom ekspresijom STAT3 češće pokazale kompletan odgovor koji nije pokazalo statističku značajnost (60,0%:46,6%).

6. ZAKLJUČCI:

Na osnovu kliničkih i imunohistohemijskih ispitivanja molekularnih markera (Nanog, Sox2, Oct3/4, Sox4, CD44, CD117, Ezh2 i Stat3) 278 bolesnica sa karcinomom jajnika mogu se izvesti sledeći zaključci:

1. Kod mucinoznih i endometroidnih karcinoma značajno češće je sprovedena radikalna histerektomija, dok je eksplorativna laparotomija sa biopsijom inoperabilnog karcinoma jajnika urađena isključivo kod seroznih karcinoma.
2. Serozni karcinomi jajnika su značajno češće pokazivali metastatsko širenje u odnosu na mucinozni i svetloćelijski karcinom jajnika.
3. Najveći broj bolesnica primale su hemioterapiju po TC protokolu, u proseku $4,98 \pm 1,94$ ciklusa, sa prosečnim preživljavanjem od $37,4 \pm 22,6$ meseci.
4. Svetloćelijski karcinom jajnika pokazivao je najmanje prosečno preživljavanje $30,8 \pm 20,0$ meseci, značajno češću progresiju bolesti u odnosu na ostale histološke tipove kao i najveću smrtnost koja je iznosila 57,1%.
5. Kompletna remisija bolesti postignuta je značajno češće kod mucinoznog i endometroidnog karcinoma u odnosu na serozni i svetloćelijski tip, sa najmanjom smrtnošću u grupi bolesnica sa mucinoznim karcinomom.
6. Serozni karcinomi jajnika su značajno češće bili u FIGO stadijumu IV, pokazivali su slabiji stepen diferencijacije (histološki i nuklearni gradus) u odnosu na mucinozne karcinome.
7. Najveći broj tumora pokazivao je pozitivnost na Nanog 65,6%, Sox2 67,5%, Oct3/4 48,3%, Sox4 68,8% pri čemu je pozitivna ekspresija Nanog, Sox2 i Oct3/4 i negativna ekspresija Sox4 bila povezana sa starijom uzrastom, FIGO stadijumom III i IV, slabijom diferencijacijom, progresijom bolesti, pojavom metastaza i kraćim preživljavanjem.
8. Niska ekspresija CD44 i odsustvo CD117 reaktivnosti povezana je sa starijom uzrastom, češćom progresijom bolesti i kraćim preživljavanjem.
9. Ispitivani serozni karcinomi jajnika pokazivali su značajno visoku ekspresiju Sox2, CD117 i Stat3; svetloćelijske karcinome karakterisala je značajno povećana ekspresija Nanog i Oct3/4; endometroidne karcinome snižena ekspresija Oct3/4 i povećana reaktivnost na Stat3, dok je karakteristika mucinoznih karcinoma jajnika bila smanjena Satt3 imunoreaktivnost.
10. Nije nađena značajna razlika u ekspresiji CD44 i Ezh2 u ispitivanim podtipovima epitelnih kancera jajnika.
11. Nepovoljan klinički tok karcinoma jajnika bio je povezan sa pozitivnom ekspresijom Nanog, Sox2, Oct3/4, i odsustvom ili niskom ekspresijom Sox4, CD117 i CD44, dok su

pokazatelji značajno dužeg preživljavanja bili gubitak ekspresije Ezh2 i Stat3 u karcinomu jajnika.

7. LITERATURA:

1. EUCAN Cancer Factsheets: Ovary. <http://eu-cancer.iarc.fr/EUCAN/CancerOne.aspx?Cancer=27&Gender=2> (11 July 2013, date last accessed).
2. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers CD, Parkin D. GLOBOCAN 2008, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2010. Available at: <http://globocan.iarc.fr>.
3. WHO. Cancer Mortality Database, International Agency for Research on Cancer - IARC, Lyon, France, 2012. Available at: <http://www-dep.iarc.fr/WHOdb/WHOdb.htm>,
4. WHO. World health statistics 2013. World Health Organization Databank. WHO Statistical Information System. Geneva: World Health Organization; 2013. Available at: <http://www.who.int/whosis>
5. National Cancer Institute 133 SEER Survival Monograph. National Cancer Institute, SEER. 2012. Available at: seer.cancer.gov/publications/survival/surv_ovary.pdf
6. Howlander N, Noone AM, Krapcho M, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2010, National Cancer Institute. Bethesda, MD, based on November 2012 SEER data submission, posted to the SEER web site, 2013. Available at: http://seer.cancer.gov/csr/1975_2010
7. Morch LS, Lokkegaard E, Andreasen AH, et al. Hormone therapy and ovarian cancer. JAMA 2009;302:298-305.
8. Ledermann JA, Raja FA, Fotopoulou C, Gonzalez-Martin A, Colombom N, Sessa C. On behalf of the ESMO Guidelines Working Group. Newly diagnosed and relapsed epithelial ovarian carcinoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†. Annals of Oncology 2013;24:vi24–vi32.
9. Finch A, Beiner M, Lubinski J, et al. Salpingo-oophorectomy and the risk of ovarian, fallopian tube, and peritoneal cancers in women with a BRCA1 or BRCA2 Mutation. JAMA 2006;296:185-92.
10. Rebbeck TR, Kauff ND and Domchek SM. Meta-analysis of risk reduction estimates associated with risk-reducing salpingo-oophorectomy in BRCA1 or BRCA2 mutation carriers. J Natl Cancer Inst 2009;101:80-7.
11. Roh MH, Kindelberger D and Crum CP. Serous tubal intraepithelial carcinoma and the dominant ovarian mass: clues to serous tumor origin? Am J Surg Pathol 2009;33:376-83.
12. Carlson JW, Miron A, Jarboe EA, et al. Serous tubal intraepithelial carcinoma: its potential role in primary peritoneal serous carcinoma and serous cancer prevention. J Clin Oncol 2008;26:4160-5.

13. Kindelberger DW, Lee Y, Miron A, et al. Intraepithelial carcinoma of the fimbria and pelvic serous carcinoma: Evidence for a causal relationship. *Am J Surg Pathol* 2007;31:161-9.
14. Medeiros F, Muto MG, Lee Y, et al. The tubal fimbria is a preferred site for early adenocarcinoma in women with familial ovarian cancer syndrome. *Am J Surg Pathol* 2006;30:230-6.
15. Semmel DR, Folkins AK, Hirsch MS, et al. Intercepting early pelvic serous carcinoma by routine pathological examination of the fimbria. *Mod Pathol* 2009;22:985-8.
16. Scully RE, Young RH, Clement PB. Tumors of the ovary, maldeveloped gonads, fallopian tube, and broad ligament. In: Atlas of tumor pathology, 3rd series, fasc 23. Armed Forces Institute of Pathology, Washington, DC(1998).
17. Vang R, Shih I-M, Kurman RJ. Ovarian low-grade and high-grade serous carcinoma: pathogenesis, clinicopathologic and molecular biologic features, and diagnostic problems. *Adv Anat Pathol* 2009;16:267–82.
18. Bonome T, Lee JY, Park DC et al. Expression profiling of serous low malignant potential, low-grade, and high-grade tumors of the ovary. *Cancer Res* 2005;65:10602–12.
19. Diaz-Padilla I, Malpica AL, Minig L et al. Ovarian low-grade serous carcinoma: a comprehensive update. *Gynecol Oncol* 2012;126:279–85.
20. Schmeler KM, Sun CC, Bodurka DC et al. Neoadjuvant chemotherapy for lowgrade serous carcinoma of the ovary or peritoneum. *Gynecol Oncol* 2008;108:510–4.
21. Maggioni A, Benedetti Panici P, Dell’Anna T et al. Randomised study of systematic lymphadenectomy in patients with epithelial ovarian cancer macroscopically confined to the pelvis. *Br J Cancer* 2006;95:699–704.
22. Tavassoli FA, Devilee P. (Eds.). World Health Organisation Classification of Tumors. Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs. Lyon: IARC Press, 2003.
23. Kurman RJ. (Ed). Blaustein’s pathology of the female genital tract. 5th ed. New York: Springer-Verlag, 2002.
24. Ronnett BM, Kurman RJ, Shmookler BM, Sugarbaker PH, Young RH. The morphologic spectrum of ovarian metastases of appendiceal adenocarcinomas: a clinicopathologic and immunohistochemical analysis of tumors often misinterpreted as primary ovarian tumors or metastatic tumors from other gastrointestinal sites. *Am J Surg Pathol* 1997;21:1144-55.
25. Lee KR, Young RH. The distinction between primary and metastatic mucinous carcinoma of the ovary: gross and histologic findings in 50 cases. *Am J Surg Pathol* 2003;27:281-92.

26. Wiegand KC, Shah SP, Al-Agha OM et al. ARID1A mutations in endometriosis associated ovarian carcinomas. *N Engl J Med* 2010;363:1532–43.
27. McCluggage WG. Morphological subtypes of ovarian carcinoma: a review with emphasis on new developments and pathogenesis. *Pathology* 2011;43:420–32.
28. Bell D, Berchuck A, Birrer M et al. Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. *Nature* 2011;474:609–15.
29. Vang R, Shih I-M, Kurman RJ. Fallopian tube precursors of ovarian low- and highgrade serous neoplasms. *Histopathology* 2013;62:44–58.
30. Carlson JW, Miron A, Jarboe EA et al. Serous tubal intraepithelial carcinoma: its potential role in primary peritoneal serous carcinoma and serous cancer prevention. *J Clin Oncol* 2008;26:4160–5.
31. Rice LW, Barbieri R. The Ovary. In: *Kisner's Gynecology*. St Louis-Baltimore, Boston, Carlsbad, Chicago, Naples, New York, Philadelphia, Portland, Singapore, Sydney, Tokyo, Toronto, Wiesbaden: Mosby 1995; 187-223.
32. Lerner JP, Timor-Tritsch IE, Federman A, Abramovich G. Transvaginal ultrasonographic characterization of ovarian masses with an improved, weighted scoring system. *Am J Obstet Gynecol* 1994;170:81–85.
33. Petković S. (Ed). *Ginekologija*. Beograd: Elit-Medica, Draslar, 2004.
34. Eisenkop SM, Spirtos NM. The impact of Subspeciality on the Management of Advanced Ovarian Cancer. *Gynecol Oncol* 1991;40:103-6.
35. van der Burg ME, van Lent M, Buyse M, et al. The effect of debulking surgery after induction chemotherapy on the prognosis in advanced epithelial ovarian cancer. Gynecological Cancer Cooperative group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer. *N Engl J Med*. 1995;332:629-34.
36. Trimbos J, Parmar M, Vergote I et al. International Collaborative Ovarian Neoplasm trial 1 and Adjuvant ChemoTherapy In Ovarian Neoplasm trial: two parallel randomized phase III trials of adjuvant chemotherapy in patients with early-stage ovarian carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 105-12
37. Bell J, Brady M, Young R et al. Randomized phase III trial of three versus six cycles of adjuvant carboplatin and paclitaxel in early stage epithelial ovarian carcinoma: A Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol* 2006;102:432-9.
38. Chan JK, Tian C, Fleming GF et al. The potential benefit of 6 vs. 3 cycles of chemotherapy in subsets of women with early-stage high-risk epithelial ovarian cancer: an exploratory analysis of a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol* 2010;116:301–6.

39. García-Sáenz JA, Custodio A, Casado A et al. Platinum-based adjuvant chemotherapy on moderate- and high-risk stage I and II epithelial ovarian cancer patients. Long-term single institution experience and literature review. *Clin Transl Oncol* 2011;13:121-32.
40. Colombo N, Peiretti M, Parma G et al. Newly diagnosed and relapsed epithelial ovarian carcinoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2010;21:v23-v30.
41. NCI: Recurrent or Persistent Ovarian Epithelial Cancer Treatment, last modified februar 2013; <http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/treatment/ovarianepithelial>
42. Siddigul GK, Elmasy K, Wong Te Fong AC et al. Prognostic significance of intratumoral vascular endothelial growthfactor as a marker of tumor angiogenesis in epithelial ovarian cancer. *Eur J Gynecol Oncol* 2010;31:156-9.
43. Burger RA, Brady MF, Bookman MA et al. Incorporation of bevacizumab in the primary treatment of ovarian cancer. *N Engl J Med* 2011;365:2473-83.
44. Perren T, Swart AM, Pfistere J et al. A Phase 3 Trial of Bevacizumab in Ovarian Cancer. *N Engl J Med* 2011;365:2484-96.
45. Visvader JE, Lindeman GJ. Cancer stem cells in solid tumours: Accumulating evidence and unresolved questions. *Nat Rev Cancer* 2008;8:755–68.
46. Vermeulen L, Todaro M, de Sousa Mello F et al. Single-cell cloning of colon cancer stem cells reveals a multi-lineage differentiation capacity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105:13427–32.
47. Gidekel S, Pizov G, Bergman Y, Pikarsky E. Oct-3/4 is a dose-dependent oncogenic fate determinant. *Cancer Cell* 2003;4:361–70.
48. Chambers I, Tomlinson SR. The transcriptional foundation of pluripotency. *Development* 2009;136:2311–22.
49. Chiou SH, Wang ML, Chou YT, et al. Coexpression of Oct4 and Nanog enhance malignancy in lung adenocarcinoma by inducing cancer stem cell-like properties and epithelial-mesenchymal transdifferentiation. *Cancer Res* 2010;70:10433–44.
50. Boyer LA, Lee TI, Cole MF et al. Core transcriptional regulatory circuitry in human embryonic stem cells. *Cell* 2005;122:947–956.
51. Wang J, Rao S, Chu J et al. A protein interaction network for pluripotency of embryonic stem cells. *Nature* 2006;444:364–368.
52. Alldridge L, Metodieva G, Greenwood C et al. Proteome profiling of breast tumors by gel electrophoresis and nanoscale electrospray ionization mass spectrometry. *J Proteome Res* 2008;7:1458–69.

53. Ezech UI, Turek PJ, Reijo RA et al. Human embryonic stem cell genes OCT4, NANOG, STELLAR, and GDF3 are expressed in both seminoma and breast carcinoma. *Cancer* 2005;104:2255–65.
54. Ye F, Zhou C, Cheng Q et al. Stem cell protein NANOG, nucleostemin and Musashi1 are highly expressed in malignant cervical epithelial cells. *BMC Cancer* 2008;8:108.
55. Chiou SH, Yu CC, Huang CY et al. Positive correlations of Oct-4 and NANOG in oral cancer stem-like cells and high-grade oral squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2008;14:4085–95.
56. Bussolati B, Bruno S, Grange C et al. Identification of a tumor-initiating stem cell population in human renal carcinomas. *FASEB J* 2008;22:3675–96.
57. Zhang S, Balch C, Chan M et al. Identification and characterization of ovarian cancer-initiating cells from primary human tumors. *Cancer Res* 2008;68:4311–20.
58. Piestun D, Kochupurakkal BS, Jacob-Hirsch J et al. NANOG transforms NIH3T3 cells and targets cell-type restricted genes. *Biochem Biophys Res Commun* 2006;343:279–85.
59. Gibbs CP, Kukekov VG, Reith JD et al. Stem-like cells in bone sarcomas: Implications for tumorigenesis. *Neoplasia* 2005;7:967–76.
60. Pain D, Chirn G, Strassel C et al. Multiple retropseudogenes from pluripotent cell-specific gene expression indicates a potential signature for novel gene identification. *J Biol Chem* 2005;280:6265–8.
61. Liedtke S, Enczmann J, Waclawczyk S et al. Oct4 and its pseudogenes confuse stem cell research. *Cell Stem Cell* 2007;1:364–6.
62. Cantz T, Key G, Bleidissel M et al. Absence of OCT4 expression in somatic tumor cell lines. *Stem Cells* 2008;26:692–7.
63. Lengner C, Camargo F, Hochedlinger K et al. Oct4 expression is not required for mouse somatic stem cell self-renewal. *Cell Stem Cell* 2007;1:403–15.
64. Chang C, Shieh G, Wu P et al. Oct3/4 expression reflects tumor progression and regulates motility of bladder cancer cells. *Cancer Res* 2008;68:6281–91.
65. Hu T, Liu S, Breiter D et al. Octamer 4 small interfering RNA results in cancer stem cell-like cell apoptosis. *Cancer Res* 2008;68:6533–40.
66. Jeter CR, Badeaux M, Choy G, et al. Functional Evidence that the Self-Renewal Gene NANOG Regulates Human Tumor Development. *Stem cells* 2009;27:993-1005.
67. Chiou SH, Wang ML, Chou YT, et al. Coexpression of Oct4 and Nanog enhance malignancy in lung adenocarcinoma by inducing cancer stem cell-like properties and epithelial-mesenchymal transdifferentiation. *Cancer Res* 2010;70:10433–44.

68. Lee H, Park G, Jung JH, et al. Diagnostic approach using the expression profiling of the P53 tumor suppressor gene and its related proteins in ovarian epithelial tumors. *Int J Gynecol Cancer* 2005;15:453–61.
69. Saad AF, Hu W, Sood AK. Microenvironment and pathogenesis of epithelial ovarian cancer. *Horm Cancer* 2010;1:277–90.
70. Amsterdam A, Shezen E, Raanan C, et al. Nuclear localization of phosphorylated ERK1 and ERK2 as markers for the progression of ovarian cancer. *Int J Oncol* 2011;39:649–56.
71. Amsterdam A, Shezen E, Raanan C, et al. Epiregulin as a marker for the initial steps of ovarian cancer development. *Int J Oncol* 2011;39:1165–2117.
72. McCluggage WG. Morphological subtypes of ovarian carcinoma: a review with emphasis on new developments and pathogenesis. *Pathology* 2011;43:420–32.
73. Visvanathan K, Vang R, Shaw P, et al. Diagnosis of serous tubal intraepithelial carcinoma based on morphologic and immunohistochemical features: a reproducibility study. *Am J Surg Pathol* 2011;35:1766–75.
74. Bolton KL, Ganda C, Berchuck A, Pharaoh PD, Gayther SA. Role of common genetic variants in ovarian cancer susceptibility and outcome: progress to date from the Ovarian Cancer Association Consortium (OCAC). *J Intern Med* 2012;27:366–78.
75. Kernagis DN, Hall AH, Datto MB. Genes with bimodal expression are robust diagnostic targets that define distinct subtypes of epithelial ovarian cancer with different overall survival. *J Mol Diagn* 2012;14:214–22.
76. Kurman R, Shih L. Molecular pathogenesis and extraovarian origin of epithelial ovarian cancer. Shifting the paradigm. *Hum Pathol* 2011;42:918–31.
77. Morice P, Uzan C, Fauvet R, Gouy S, Duvillard P, Darai E. Borderline ovarian tumor: pathological diagnostic dilemma and risk factors for invasive or lethal recurrence. *Lancet Oncol* 2012;13:e103–15.
78. Prat J. Ovarian carcinomas: five distinct diseases with different origins, genetic alterations, and clinicopathological features. *Virchows Arch* 2012;460:237–49.
79. Wilken JA, Badri T, Cross S, et al. EGFR/HER-targeted therapeutics in ovarian cancer. *Future Med Chem* 2012;4:447–69.
80. Pan G, Thomson JA. Nanog and transcriptional networks in embryonic stem cell pluripotency. *Cell Res* 2007;17:42–9.
81. Nakagawa M, Yamanaka S. Reprogramming of somatic cells to pluripotency. *Adv Exp Med Biol* 2010;695:215–24.

-
82. Li M, He Y, Dubois W, Wu X, Shi J, Huang J. Distinct regulatory mechanisms and functions for p53-activated and p53-repressed DNA damage response genes in embryonic stem cells. *Mol Cell* 2012;46:30–42.
83. Lin T, Chao C, Saito S, et al. p53 induces differentiation of mouse embryonic stem cells by suppressing Nanog expression. *Nat Cell Biol* 2005;7:65–71.
84. Mathieu J, Zhang Z, Zhou W, et al. HIF induces human embryonic stem cell markers in cancer cells. *Cancer Res* 2011;71:4640–52.
85. Po A, Ferretti E, Miele E, et al. Hedgehog controls neural stem cells through p53-independent regulation of Nanog. *EMBO J* 2010;29:2646–58.
86. Niwa H, Ogawa K, Shimosato D, Adachi K. A parallel circuit of LIF signalling pathways maintains pluripotency of mouse ES cells. *Nature* 2009;460:118–22.
87. Vallier L, Mendjan S, Brown S, et al. Activin/nodal signalling maintains pluripotency by controlling Nanog expression. *Development* 2009;136:1339–49.
88. Tay YM, Tam WL, Ang YS, et al. MicroRNA-134 modulates the differentiation of mouse embryonic stem cells, where it causes post-transcriptional attenuation of Nanog and LRH1. *Stem Cells* 2008;26:17–29.
89. Fairbanks DJ, Maughan PJ. Evolution of the NANOG pseudogene family in the human and chimpanzee genomes. *BMC Evol Biol* 2006;6:12.
90. Booth HA, Holland PW. Eleven daughters of NANOG. *Genomics* 2004;84:229–38.
91. Zhang J, Wang X, Li M, et al. NANOGP8 is a retrogene expressed in cancers. *FEBS J* 2006;273:1723–30.
92. Prud'homme GJ. Cancer stem cells and novel targets for antitumor strategies. *Curr Pharm Des* 2012;18:2838–49.
93. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011;144:646–74.
94. Radtke F, Clevers H. Self-renewal and cancer of the gut: two sides of a coin. *Science* 2005;307:1904–9.
95. Lobo NA, Shimono Y, Qian D, Clark MF. The biology of cancer promotes cell proliferation and tumor formation. *Am J Pathol* 2007;173:835–43.
96. Nicolis SK. Cancer stem cells and “stemness” genes in neurooncology. *Neurobiol Dis* 2007;25:217–29.
97. Boman BM, Huang E. Human colon cancer stem cells: a new paradigm in gastrointestinal oncology. *J Clin Oncol* 2008;26:2828–38.
98. Barker N, Van Es JH, Kuipers J, et al. Identification of stem cells in small intestine and colon by marker gene Lgr5. *Nature* 2007;449:217–29.

99. Amsterdama A, Raananb C, Schreiber L, Freyhana O, Schechtmand L, Givola D. Localization of the stem cell markers LGR5 and Nanog in the normal and the cancerous human ovary and their inter-relationship. *Acta Histochemica* 2013; 115:330–8.
100. Klonisch T, Wiechec E, Hombach-Klonisch S, et al. Cancer stem cell markers in common cancers—therapeutic implications. *Trends Mol Med* 2008;14:450–60.
101. Pan Y, Huang X. Epithelial ovarian cancer stem cells—a review. *Int J Clin Exp Med* 2008;1:260–6.
102. Siu M, Wong E, Kong D, et al. Stem cell transcription factor NANOG controls cell migration and invasion via dysregulation of E-cadherin and FoxJ1 and contributes to adverse clinical outcome in ovarian cancers. *Oncogene* 2013;32:3500–9.
103. Noh KH. Cancer vaccination drives Nanog- dependent evolution of tumor cells towards an immune-resistant and stem-like phenotype. *Cancer Res* 2012;72:1717–27.
104. Noh KH, Kim BW, Song K-H, et al. Nanog signaling in cancer promotes stem-like phenotype and immune evasion. *J Clin Invest* 2012;122:4077–93.
105. Gubbay J, Collignon J, Koopman P, et al. A gene mapping to the sex-determining region of the mouse Y chromosome is a member of a novel family of embryonically expressed genes. *Nature* 1999;346:245–50.
106. Wegner M. From head to toes: the multiple facets of Sox proteins. *Nucl Acids Res* 1999;27:1409–20.
107. Scaffidi P, Bianchi ME. Spatially precise DNA bending is an essential activity of the Sox2 transcription factor. *J Biol Chem* 2001;276:47296-302.
108. Fong H, Hohenstein KA, Donovan PJ. Regulation of self-renewal and pluripotency by Sox2 in human embryonic stem cells. *Stem Cells* 2008;26:1931-8.
109. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 2007;131:861-72.
110. Chew LJ, Gallo V. The yin and yang of Sox proteins: activation and repression in development and disease. *J Neurosci Res* 2009;87:3277-87.
111. Bani-Yaghoub M, Tremblay RG, Lei JX, et al. Role of Sox2 in the development of the mouse neocortex. *Dev Biol* 2006;295:52-66.
112. Tavassoeli FA, Devilee P. Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs. Lyon IARC Press; 2003. p. 117-45.
113. Ellis P, Fagan BM, Magness ST, et al. SOX2, a persistent marker for multipotential neural stem cells derived from embryonic stem cells, the embryo or the adult. *Dev Neurosci* 2004;26:148–65.

114. Pevny L, Placzek M. SOX genes and neural progenitor identity. *Curr Opin Neurobiol* 2005;15:7–13.
115. Taranova OV, Magness ST, Fagan BM, et al. SOX2 is a dose-dependent regulator of retinal neural progenitor competence. *Genes Dev* 2006;20:1187–1202.
116. Kiernan AE, Pelling AL, Leung KK, et al. Sox2 is required for sensory organ development in the mammalian inner ear. *Nature* 2005;434:1031–5.
117. Santagata S, Ligon KL, Hornick JL. Embryonic stem cell transcription factor signatures in the diagnosis of primary and metastatic germ cell tumors. *Am J Surg Pathol* 2007;31:836–45.
118. Ye F, Li Y, Hu Y, Zhou C, Hu Y, Chen H. Expression of Sox2 in human ovarian epithelial carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011;137:131–7.
119. Bass AJ, Watanabe H, Mermel CH, et al. SOX2 is an amplified lineage-survival oncogene in lung and esophageal squamous cell carcinomas. *Nat Genet* 2009;41:1238–42.
120. Hussenet T, Dali S, Exinger J, SOX2 is an oncogene activated by recurrent 3q26.3 amplifications in human lung squamous cell carcinomas. *PLoS ONE* 2010;5:e8960.
121. Maier S, Wilbertz T, Braun M, et al. SOX2 amplification is a common event in squamous cell carcinomas of different organ sites. *Hum Pathol* 2011;42:1078–88.
122. Rudin CM, Durinck S, Stawiski EW, et al. Comprehensive genomic analysis identifies SOX2 as a frequently amplified gene in smallcell lung cancer. *Nat Genet* 2012;44:1111–6.
123. Alonso MM, Diez-Valle R, Manterola L, et al. Genetic and epigenetic modifications of Sox2 contribute to the invasive phenotype of malignant gliomas. *PLoS ONE* 2011;6:e26740.
124. Sanada Y, Yoshida K, Ohara M, Oeda M, Konishi K, Tsutani Y. Histopathologic evaluation of stepwise progression of pancreatic carcinoma with immunohistochemical analysis of gastric epithelial transcription factor SOX2: comparison of expression patterns between invasive components and cancerous or nonneoplastic intraductal components. *Pancreas* 2006;32:164–70.
125. Li XL, Eishi Y, Bai YQ, et al. Expression of the SRY-related HMG box protein SOX2 in human gastric carcinoma. *Int J Oncol* 2004;24:257–63.
126. Sattler HP, Lensch R, Rohde V, et al. Novel amplification unit at chromosome 3q25-q27 in human prostate cancer. *Prostate* 2000;45:207–15.
127. Rodriguez-Pinilla SM, Sarrio D, Moreno-Bueno G, et al. Sox2: a possible driver of the basal-like phenotype in sporadic breast cancer. *Mod Pathol* 2007;20:474–81.

-
128. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 2007;131:861–72.
129. Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse fibroblasts by four transcription factors. *Cell Prolif* 2008;41:51–6.
130. Kawamura T, Suzuki J, Wang YV, et al. Linking the p53 tumour suppressor pathway to somatic cell reprogramming. *Nature* 2009;460:1140–4.
131. Li H, Collado M, Villasante A, et al. The Ink4/Arf locus is a barrier for iPS cell reprogramming. *Nature* 2009;460:1136–9.
132. Marion RM, Strati K, Li H, et al. A p53-mediated DNA damage response limits reprogramming to ensure iPS cell genomic integrity. *Nature* 2009;460:1149–53.
133. Leis O, Eguiara A, Lopez-Arribillaga E, et al. Sox2 expression in breast tumours and activation in breast cancer stem cells. *Oncogene* 2011;1–12.
134. Sholl LM, Barletta JA, Yeap BY, Chirieac LR, Hornick JL. Sox2 protein expression is an independent poor prognostic indicator in stage I lung adenocarcinoma. *Am. J. Surg. Pathol* 2010;34:1193–8.
135. Peng S, Maihle NJ, Huang Y. Pluripotency factors Lin28 and Oct4 identify a sub-population of stem cell-like cells in ovarian cancer. *Oncogene* 2010;29:2153–9.
136. Zhong X, Li N, Liang S, Huang Q, Coukos G, Zhang L. Identification of microRNAs regulating reprogramming factor LIN28 in embryonic stem cells and cancer cells. *J Biol Chem* 2010;285:41961–71.
137. Neumann J, Bahr F, Horst D, et al. SOX2 expression correlates with lymphnode metastases and distant spread in right-sided colon cancer. *BMC Cancer* 2011;11:518–25.
138. Zhang J, Chang DY, Mercado-Uribe I, Liu J. Sex-determining region Y-box 2 expression predicts poor prognosis in human ovarian carcinoma *Human Pathology* 2012;43:1405–12.
139. Kellner S, Kikyo N: Transcriptional regulation of the Oct4 gene, a master gene for pluripotency. *Histol Histopathol* 2010;25:405–12.
140. Nichols J, Zevnik B, Anastassiadis K, et al. Formation of pluripotent stem cells in the mammalian embryo depends on the POU transcription factor Oct4. *Cell* 1998;95:379–91.
141. Niwa H, Miyazaki J, Smith AG. Quantitative expression of Oct-3/4 defines differentiation, dedifferentiation or self-renewal of ES cells. *Nat Genet* 2000;24:372–6.
142. Gidekel S, Pizov G, Bergman Y, Pikarsky E. Oct-3/4 is a dose-dependent oncogenic fate determinant. *Cancer Cell* 2003;4:361–70.

143. Hochedlinger K, Yamada Y, Beard C, Jaenisch R. Ectopic expression of Oct-4 blocks progenitor-cell differentiation and causes dysplasia in epithelial tissues. *Cell* 2005;121:465–77.
144. Zhao P-P, Liu C-X, Xu K, et al. Expression of OCT4 protein in bladder cancer and its clinicopathological implications. *J South Med Univer* 2012;32:643–6.
145. Zhang X, Han B, Huang J, et al. Prognostic significance of OCT4 expression in adenocarcinoma of the lung. *Jpn J Clin Oncol* 2010;40:961–6.
146. Huang P, Chen J, Wang L, et al. Implications of transcriptional factor, OCT-4, in human bladder malignancy and tumor recurrence. *Medical Oncology (Northwood, London, England)* 2012;29:829–834.
147. Rijlaarsdam MA, van Herk HADM, Gillis AJM, et al. Specific detection of OCT3/4 isoform A/B/B1 expression in solid (germ cell) tumours and cell lines: confirmation of OCT3/4 specificity for germ cell tumours. *British J Cancer* 2012;105:854–63.
148. He W, Li K, Wang F, Qin Y-R, Fan Q-X. Expression of OCT4 in human esophageal squamous cell carcinoma is significantly associated with poorer prognosis. *World J Gastroentero* 2012;18:712–9.
149. Chen Z, Wang T, Cai L, et al. Clinicopathological significance of non-small cell lung cancer with high prevalence of Oct-4 tumor cells. *J Exp Clin Canc Res* 2012;31:10–10.
150. Karoubi G, Gugger M, Schmid R, Dutly A. OCT4 expression in human nonsmall cell lung cancer: implications for therapeutic intervention. *Interactive Cardiovasc Thorac Surg* 2009;8:393–7.
151. Beltran AS, Rivenbark AG, Richardson BT, et al. Generation of tumor-initiating cells by exogenous delivery of OCT4 transcription factor. *Breast Cancer Res* 2011;13:R94.
152. Kim RJ, Nam JS. OCT4 Expression Enhances Features of Cancer Stem Cells in a Mouse Model of Breast Cancer. *Lab Anim Res* 2011;27:147–52.
153. Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest* 2009;119:1420–8.
154. Guarino M, Rubino B, Ballabio G. The role of epithelial-mesenchymal transition in cancer pathology. *Pathology* 2007;39:305–18.
155. Mani SA, Guo W, Liao MJ, et al. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. *Cell* 2008;133:704–15.
156. Floor S, van Staveren WC, Larsimont D, Dumont JE, Maenhaut C. Cancer cells in epithelial-to-mesenchymal transition and tumor-propagating cancer stem cells: distinct, overlapping or same populations. *Oncogene* 2011;36:4609–21.

157. Chiou S-H, Wang M-L, Chou Y-T, et al. Coexpression of Oct4 and Nanog enhances malignancy in lung adenocarcinoma by inducing cancer stem cell-like properties and epithelial-mesenchymal transdifferentiation. *Cancer Res* 2012;70:10433–44.
158. Hu J, Qin K, Zhang Y, et al. Downregulation of transcription factor Oct4 induces an epithelial-to-mesenchymal transition via enhancement of Ca²⁺ influx in breast cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2011;411:786–91.
159. Linn DE, Yang X, Sun F, et al. A Role for OCT4 in Tumor Initiation of Drug-Resistant Prostate Cancer Cells. *Genes & Cancer* 2011;1:908–16.
160. Wang XQ, Ongkeko WM, Chen L, et al. Octamer 4 (Oct4) mediates chemotherapeutic drug resistance in liver cancer cells through a potential Oct4-AKT-ATP-binding cassette G2 pathway. *Hepatology (Baltimore, Md)* 2010;52:528–39.
161. Tsai LL, Yu CC, Chang YC, Yu CH, Chou MY. Markedly increased Oct4 and Nanog expression correlates with cisplatin resistance in oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 2011;40:621–8.
162. Cheng L, Thomas A, Roth LM, Zheng W, Michael H, Karim FW. OCT4: a novel biomarker for dysgerminoma of the ovary. *Am J Surg Pathol* 2004;28:1341–6.
163. Abiko K, Mandai M, Hamanishi J, et al. Oct4 expression in immature teratoma of the ovary: relevance to histologic grade and degree of differentiation. *Am J Surg Pathol* 2010;34:1842–8.
164. Zhang J, Li YL, Zhou CY, Hu YT, Chen HZ. Expression of octamer-4 in serous and mucinous ovarian carcinoma. *J Clin Pathol* 2010;63:879–83.
165. Kobel M, Kalloger SE, Boyd N, et al. Ovarian carcinoma subtypes are different diseases: implications for biomarker studies. *PLoS Med* 2008;5:e232.
166. Virant-Klun I, Skutella T, Cvjeticanin B, Stimpfel M, Sinkovec J. Serous papillary adenocarcinoma possibly related to the presence of primitive oocyte-like cells in the adult ovarian surface epithelium: a case report. *J Ovarian Res* 2011;4:13.
167. Virant-Klun I, Skutella T, Stimpfel M, Sinkovec J. Ovarian surface epithelium in patients with severe ovarian infertility: a potential source of cells expressing markers of pluripotent/multipotent stem cells. *J Biomed Biotechnol* 2011;3:819-28.
168. Bapat SA, Mali AM, Koppikar CB, Kurrey NK. Stem and progenitor-like cells contribute to the aggressive behavior of human epithelial ovarian cancer. *Cancer Res* 2005;65:3025–9.
169. Rizzo S, Hersey JM, Mellor P, et al. Ovarian cancer stem cell-like side populations are enriched following chemotherapy and overexpress EZH2. *Mol Cancer Ther* 2011;10:325–35.

170. Hosonuma S, Kobayashi Y, Kojo S, et al. Clinical significance of side population in ovarian cancer cells. *Hum Cell* 2011;24:9–12.
171. Alvero AB, Chen R, Fu HH, et al. Molecular phenotyping of human ovarian cancer stem cells unravels the mechanisms for repair and chemoresistance. *Cell Cycle* 2009;8:158–66.
172. Baba T, Convery PA, Matsumura N, et al. Epigenetic regulation of CD133 and tumorigenicity of CD133+ ovarian cancer cells. *Oncogene* 2009;28:209–18.
173. Gao MQ, Choi YP, Kang S, Youn JH, Cho NH. CD24+ cells from hierarchically organized ovarian cancer are enriched in cancer stem cells. *Oncogene* 2010;29:2672–80.
174. Wang YC, Yo YT, Lee HY, et al. ALDH1-bright epithelial ovarian cancer cells are associated with CD44 expression, drug resistance, and poor clinical outcome. *Am J Pathol* 2012;180:1159–69.
175. Peng S, Maihle NJ, Huang Y. Pluripotency factors Lin28 and Oct4 identify a sub-population of stem cell-like cells in ovarian cancer. *Oncogene* 2010;29:2153–9.
176. Latifi A, Luwor RB, Bilandzic M, et al. Isolation and characterization of tumor cells from the ascites of ovarian cancer patients: molecular phenotype of chemoresistant ovarian tumors. *PLoS One* 2012;7:e46858.
177. Farr CJ, Easty DJ, Ragoussis J, et al. Characterization and mapping of the human SOX4 gene. *Mamm Genome* 1993;4:577–84.
178. Schilham MW, Oosterwegel MA, Moerer P, et al. Defects in cardiac outflow tract formation and pro-Blymphocyte expansion in mice lacking Sox-4. *Nature* 1996;380:711–4.
179. Ya J, Schilham MW, de Boer PA, et al. Sox4-deficiency syndrome in mice is an animal model for common trunk. *Circ Res* 1998;83:986–94.
180. Cheung M, Abu-Elmagd M, Clevers H, et al. Roles of Sox4 in central nervous system development. *Brain Res Mol Brain Res* 2000;79:180–91.
181. van deWetering M, Oosterwegel M, van Norren K, et al. Sox-4, an Sry-like HMG box protein, is a transcriptional activator in lymphocytes. *EMBO J* 1993;12:3847–54.
182. Locklin RM, Riggs BL, Hicok KC, et al. Assessment of gene regulation by bone morphogenetic protein 2 in human marrow stromal cells using gene array technology. *J Bone Miner Res* 2001;16:2192–204.
183. Beekman JM, Vervoort SJ, Dekkers F, et al. Syntenin-mediated regulation of Sox4 proteasomal degradation modulates transcriptional output. *Oncogene* 2012;31:2668-79.
184. van Beest M, Dooijes D, van De Wetering M, et al. Sequence-specific high mobility group box factors recognize 10-12-base pair minor groove motifs. *J Biol Chem* 2000;275:27266–73.

185. Wotton D, Lake RA, Farr CJ, et al. The high mobility group transcription factor, SOX4, transactivates the human CD2 enhancer. *J Biol Chem* 1995; 270:7515–22.
186. McCracken S, Kim CS, Xu Y, et al. An alternative pathway for expression of p56lck from type I promoter transcripts in colon carcinoma. *Oncogene* 1997;15: 2929–37.
187. Geijsen N, Uings IJ, Pals C, et al. Cytokine-specific transcriptional regulation through an IL-5Ra interacting protein. *Science* 2001;293:1136–8.
188. Ahn SG, Cho GH, Jeong SY, et al. Identification of cDNAs for Sox-4, an HMG-Box protein, and a novel human homolog of yeast splicing factor SSF-1 differentially regulated during apoptosis induced by prostaglandin A2/y12–2 in Hep3B cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;260:216–21.
189. Graham JD, Hunt SM, Tran N, et al. Regulation of the expression and activity by progestins of a member of the SOX gene family of transcriptional modulators. *J Mol Endocrinol* 1999;22:295–304.
190. Mikkers H, Allen J, Knipscheer P, et al. Highthroughput retroviral tagging to identify components of specific signaling pathways in cancer. *Nat Genet* 2002; 32:153–9.
191. Suzuki T, Shen H, Akagi K, et al. New genes involved in cancer identified by retroviral tagging. *Nat Genet* 2002;32:166–74.
192. McGowan EM, Clarke CL. Effect of overexpression of progesterone receptor A on endogenous progestinsensitive end points in breast cancer cells. *Mol Endocrinol* 1999;13:1657–71.
193. Lee CJ, Appleby VJ, Orme AT, et al. Differential expression of SOX4 and SOX11 in medulloblastoma. *J Neurooncol* 2002;57:201–14.
194. Bangur CS, Switzer A, Fan L, et al. Identification of genes over-expressed in small cell lung carcinoma using suppression subtractive hybridization and cDNA microarray expression analysis. *Oncogene* 2002;21:3814–25.
195. Frierson HF, Jr., El-Naggar AK, Welsh JB, et al. Large scale molecular analysis identifies genes with altered expression in salivary adenoid cystic carcinoma. *Am J Pathol* 2002;161:1315-23.
196. Ahn SG, Kim HS, Jeong SW, et al. Sox-4 is a positive regulator of Hep3B and HepG2 cells' apoptosis induced by prostaglandin (PG)A(2) and y(12)-PGJ(2). *Exp Mol Med* 2002;34:243–9.
197. Hur EH, Hur W, Choi JY, et al. Functional identification of the pro-apoptotic effector domain in human Sox4. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;325:59–67.
198. Hunt SM, Clarke CL. Expression and hormonal regulation of the Sox4 gene in mouse female reproductive tissues. *Biol Reprod* 1999;61:476–81.

199. Shin MS, Fredrickson TN, Hartley JW, Suzuki T, Agaki K, Morse HC III. High-throughput retroviral tagging for identification of genes involved in initiation and progression of mouse splenic marginal zone lymphomas. *Cancer Res* 2004;64:4419–27.
200. Friedman R, Bangur C, Zasloff E, et al. Molecular and immunological evaluation of the transcription factor SOX-4 as a lung tumor vaccine antigen. *J Immunol* 2004; 172:3319–27.
201. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature* 2002;420:860–867.
202. Coussens LM, Werb Z. Inflammatory cells and cancer. Think different! *J Exp Med* 2001;193:23–6.
203. Theocharis AD, Skandalis SS, Tzanakakis GN, Karamanos NK. Proteoglycans in health and disease: novel roles for proteoglycans in malignancy and their pharmacological targeting. *FEBS J* 2010;277:3904–23.
204. Murphy G, Nagase H. Localising matrix metalloproteinase activities in the pericellular environment. *FEBS J* 2010;278:2–15.
205. Lesley J, Hascall VC, Tammi M, Hyman R. Hyaluronan binding by cell surface CD44. *J Biol Chem* 2000;275:26967–75.
206. Lesley J, Hyman R. CD44 can be activated to function as an hyaluronic acid receptor in normal murine T cells. *Eur J Immunol* 1992;22:2719–23.
207. Lesley J, English N, Charles C, Hyman R. The role of the CD44 cytoplasmic and transmembrane domains in constitutive and inducible hyaluronan binding. *Eur J Immunol* 2000;30:245–53.
208. Ponta H, Sherman L, Herrlich PA. CD44: from adhesion molecules to signalling regulators. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003;4:33–45.
209. Naor D, Sionov RV, Ish-Shalom D. CD44: structure, function, and association with the malignant process. *Adv Cancer Res* 1997;71:241–319.
210. Bajorath J, Greenfield B, Munro SB, Day AJ, Aruffo A. Identification of CD44 residues important for hyaluronan binding and delineation of the binding site. *J Biol Chem* 1998;273:338–43.
211. Sreaton GR, Bell MV, Jackson DG, Cornelis FB, Gerth U, Bell JI. Genomic structure of DNA encoding the lymphocyte homing receptor CD44 reveals at least 12 alternatively spliced exons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89:12160–4.
212. Mackay CR, Terpe HJ, Stauder R, Marston WL, Stark H, Gunthert U. Expression and modulation of CD44 variant isoforms in humans. *J Cell Biol* 1994;124:71–82.
213. Rodriguez-Rodriguez L, Sancho-Torres I, Leakey P, et al. CD44 splice variant expression in clear cell carcinoma of the ovary. *Gynecol Oncol* 1998;71:223–9.

214. Rodriguez-Rodriguez L, Sancho-Torres I, Mesonero C, Gibbon DG, Shih WJ, Zotalis G. The CD44 receptor is a molecular predictor of survival in ovarian cancer. *Med Oncol* 2003;20:255–63.
215. Aruffo A, Stamenkovic I, Melnick M, Underhill CB, Seed B. CD44 is the principal cell surface receptor for hyaluronate. *Cell* 1990;61:1303–13.
216. Bourguignon LY, Peyrollier K, Xia W, Gilad E. Hyaluronan-CD44 interaction activates stem cell marker Nanog, Stat-3-mediated MDR1 gene expression, and ankyrin-regulated multidrug efflux in breast and ovarian tumor cells. *J Biol Chem* 2008;283:17635–51.
217. Speiser P, Wanner C, Breitenacker G, Kohlberger P, Kainz C. CD-44 is not involved in the metastatic spread of ovarian cancer in vivo. *Anticancer Res* 1995;15:2767–9.
218. Chiu YL, Ali A, Chu CY, Cao H, Rana TM. Visualizing a correlation between siRNA localization, cellular uptake, and RNAi in living cells. *Chem Biol* 2004;11:1165–75.
219. de Fougerolles A, Vornlocher H-P, Maraganore J, Lieberman J. Interfering with disease: a progress report on siRNA-based therapeutics. *Nat Rev Drug Discov* 2007;6:443–53.
220. Song E, Zhu PC, Lee S-K, et al. Antibody mediated in vivo delivery of small interfering RNAs via cell-surface receptors. *Nat Biotech* 2005;23:709–17.
221. Uprichard SL. The therapeutic potential of RNA interference. *FEBS Lett* 2005;579:5996–6007.
222. Betigeri S, Pakunlu RI, Wang Y, Khandare JJ, Minko T. JNK1 as a molecular target to limit cellular mortality under hypoxia. *Mol Pharm* 2006;3:424–30.
223. Patil ML, Zhang M, Betigeri S, Taratula O, He H, Minko T. Surface modified and internally cationic polyamidoamine dendrimers for efficient siRNA delivery. *Bioconjug Chem* 2008;19:1396–403.
224. Patil ML, Zhang M, Minko T. Multifunctional triblock Nanocarrier (PAMAM-PEG-PLL) for the efficient intracellular siRNA delivery and gene silencing. *ACS Nano* 2011;5:1877–87.
225. Patil ML, Zhang M, Taratula O, Garbuzenko OB, He H, Minko T. Internally cationic polyamidoamine PAMAM-OH dendrimers for siRNA delivery: effect of the degree of quaternization and cancer targeting. *Biomacromolecules* 2009;10:258–66.
226. Saad M, Garbuzenko OB, Minko T. Co-delivery of siRNA and an anticancer drug for treatment of multidrug-resistant cancer. *Nanomedicine* 2008;3:761–76.
227. Taratula O, Garbuzenko O, Savla R, Wang YA, He H, Minko T. Multifunctional nanomedicine platform for cancer specific delivery of siRNA by superparamagnetic iron oxide nanoparticles-dendrimer complexes. *Curr Drug Deliv* 2011;8:59–69.

228. Taratula O, Garbuzenko OB, Chen AM, Minko T. Innovative strategy for treatment of lung cancer: targeted nanotechnology-based inhalation co-delivery of anticancer drugs and siRNA. *J Drug Target* 2011;19: 900–14.
229. Taratula O, Garbuzenko OB, Kirkpatrick P, et al. Surface-engineered targeted PPI dendrimer for efficient intracellular and intratumoral siRNA delivery. *J Control Release* 2009; 140:284–93.
230. Misra S, Heldin P, Hascall VC, et al. Hyaluronan–CD44 interactions as potential targets for cancer therapy. *FEBS Journal* 278 (2011) 1429–43.
231. Toole BP. Hyaluronan–CD44 interactions in cancer: paradoxes and possibilities. *Clin Cancer Res* 2009;15:7462–8.
232. Orian-Rousseau V. CD44, a therapeutic target for metastasising tumours. *Eur J Cancer* 2010;46,1271–7.
233. Cheng C, Yaffe MB, Sharp PA. A positive feedback loop couples Ras activation and CD44 alternative splicing. *Genes Dev* 2006; 20,1715–20.
234. Anttila MA, Tammi RH, Tammi MI, Syrjanen KJ, Saarikoski SV, Kosma VM. High levels of stromal hyaluronan predict poor disease outcome in epithelial ovarian cancer. *Cancer Res* 2000;60,150–5.
235. Marhaba R, Zoller M. CD44 in cancer progression: adhesion, migration and growth regulation. *J Mol Histol* 2004;35,211–31.
236. Theocharis AD, Vynios DH, Papageorgakopoulou N, Skandalis SS, Theocharis DA. Altered content composition and structure of glycosaminoglycans and proteoglycans in gastric carcinoma. *Int J Biochem Cell Biol* 2003;35:376–90.
237. Naor D, Wallach-Dayana SB, Zahalka MA, Sionov RV. Involvement of CD44, a molecule with a thousand faces, in cancer dissemination. *Semin Cancer Biol* 2008;18:260–7.
238. Orian-Rousseau V, Ponta H. Adhesion proteins meet receptors: a common theme? *Adv Cancer Res* 2008;101,63–92.
239. Heldin P, de la Torre M, Ytterberg D, Bergh J. Differential synthesis and binding of hyaluronan by human breast cancer cell lines: relationship to hormone receptor status. *Oncology Rep* 1996;3:1011–6.
240. Kaufmann M, Heider KH, Sinn HP, von Minckwitz G, Ponta H, Herrlich P. CD44 variant exon epitopes in primary breast cancer and length of survival. *Lancet* 1995;345,615–9.
241. Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ, Clarke MF. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:3983–8.

242. Simeone DM. Pancreatic cancer stem cells: implications for the treatment of pancreatic cancer. *Clin Cancer Res* 2008;14,5646–8.
243. Du L, Wang H, He L, Y et al. CD44 is of functional importance for colorectal cancer stem cells. *Clin Cancer Res* 2008;14,6751–60.
244. Moserle L, Indraccolo S, Ghisi M. The side population of ovarian cancer cells is a primary target of IFN-alpha antitumor effects. *Cancer Res* 2008;68,5658–68.
245. Gao MQ, Choi YP, Kang S, Youn JH, Cho NH. CD24+ cells from hierarchically organized ovarian cancer are enriched in cancer stem cells. *Oncogene* 2010;29:2672–80.
246. Hassan HT, El-Sheemy M. Adult bone-marrow stem cells and their potential in medicine. *J R Soc Med* 2004;97:465–71.
247. Lu M, Glover CH, Tien AH, Humphries RK, Piret JM, Helgason CD. Involvement of tyrosine kinase signaling in maintaining murine embryonic stem cell functionality. *Exp Hematol* 2007;35,1293–302.
248. Palmqvist L, Glover CH, Hsu L, et al. Correlation of murine embryonic stem cell gene expression profiles with functional measures of pluripotency. *Stem Cells* 2005;23:663–80.
249. Cohen PS, Chan JP, Lipkuns kaya M, Biedler JL, Seeger RC. Expression of stem cell factor and c-kit in human neuroblastoma. The Children's Cancer Group. *Blood* 1994;84:3465–72.
250. Curtin JA, Busam K, Pinkel D, Bastian BC. Somatic activation of KIT in distinct subtypes of melanoma. *J Clin Oncol* 2006;24:4340–6.
251. Duensing A, Heinrich MC, Fletcher CD, Fletcher JA. Biology of gastrointestinal stromal tumors: KIT mutations and beyond. *Cancer Invest* 2004;22:106–16.
252. Høe-Hansen CE, Kraggerud SM, Abeler VM, Kaern J, Rajpert-De Meyts E, Lothe RA. Ovarian dysgerminomas are characterised by frequent KIT mutations and abundant expression of pluripotency markers. *Mol Cancer* 2007;6:12.
253. Naeem M, Dahiya M, Clark JI, Creech SD, Alkan S. Analysis of c-kit protein expression in small-cell lung carcinoma and its implication for prognosis. *Hum Pathol* 2002;33:1182–7.
254. Tsuda H, Tani Y, Weisenberger J, et al. Frequent KIT and epidermal growth factor receptor overexpressions in undifferentiated-type breast carcinomas with 'stem-cell-like' features. *Cancer Sci* 2005;96:333-9.
255. Yasuda A, Sawai H, Takahashi H, et al. The stem cell factor/c-kit receptor pathway enhances proliferation and invasion of pancreatic cancer cells. *Mol Cancer* 2006;5:46.

256. Luo L, Zeng J, Liang B, et al. Ovarian cancer cells with the CD117 phenotype are highly tumorigenic and are related to chemotherapy outcome. *Exper Mol Pathol* 2011;91:596–602.
257. Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ, Clarke MF. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:3983–8.
258. Szotek PP, Pieretti-Vanmarcke R, Masiakos PT, et al. Ovarian cancer side population defines cells with stem cell-like characteristics and mullerian inhibiting substance responsiveness. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:11154–9.
259. Bapat SA, Mali AM, Koppikar CB, Kurrey NK. Stem and progenitor-like cells contribute to the aggressive behavior of human epithelial ovarian cancer. *Cancer Res* 2005;65:3025–9.
260. Silva IA, Bai S, McLean K, et al. Aldehyde dehydrogenase in combination with CD133 defines angiogenic ovarian cancer stem cells that portend poor patient survival. *Cancer Res* 2011;71:3991–4001.
261. Alvero AB, Chen R, Fu HH, et al. Molecular phenotyping of human ovarian cancer stem cells unravels the mechanisms for repair and chemoresistance. *Cell Cycle* 2009;8:158–66.
262. Kusumbe AP, Bapat SA. Cancer stem cells and aneuploid populations within developing tumors are the major determinants of tumor dormancy. *Cancer Res* 2009;69:9245–53.
263. Dong Y, Stephens C, Walpole C, et al. Paclitaxel resistance and multicellular spheroid formation are induced by kallikrein-related peptidase 4 in serous ovarian cancer cells in an ascites mimicking microenvironment. *PLoS One* 2013;8:e57056.
264. Yin G, Alvero AB, Craveiro V, et al. Constitutive proteasomal degradation of TWIST-1 in epithelial-ovarian cancer stem cells impacts differentiation and metastatic potential. *Oncogene* 2013;32:39–49.
265. Cittelly DM, Dimitrova I, Howe EN, et al. Restoration of miR-200c to ovarian cancer reduces tumor burden and increases sensitivity to paclitaxel. *Mol Cancer Ther* 2012;11:2556–65.
266. Bracken CP, Gregory PA, Kolesnikoff N. A double-negative feedback loop between ZEB1-SIP1 and the microRNA-200 family regulates epithelial-mesenchymal transition. *Cancer Res* 2008;68:7846–54.
267. He X, Wang J, Zhao F, et al. Antitumor efficacy of viable tumor vaccine modified by heterogenetic ESAT-6 antigen and cytokine IL-21 in melanomatous mouse. *Immunol Res* 2012;52:240–9.
268. Nam EJ, Yoon H, Kim SW, et al. MicroRNA expression profiles in serous ovarian carcinoma. *Clin Cancer Res* 2008;14:2690–5.

269. Mani SA, Guo W, Liao MJ, et al. The epithelial- mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. *Cell* 2008;133:704–15.
270. Berry NB, Bapat SA. Ovarian cancer plasticity and epigenomics in the acquisition of a stem-like phenotype. *J Ovarian Res* 2008;1:8.
271. Ho CM, Chang SF, Hsiao CC, Chien TY, Shih DT. Isolation and characterization of stromal progenitor cells from ascites of patients with epithelial ovarian adenocarcinoma. *J Biomed Sci* 2012;19:23.
272. Chen D, Zhang Y, Wang J, et al. MicroRNA-200c overexpression inhibits tumorigenicity and metastasis of CD117+CD44+ ovarian cancer stem cells by regulating epithelial-mesenchymal transition. *J Ovarian Res* 2013;6:50.
273. Chen J, Wang J, Chen D, et al. Evaluation of characteristics of CD44+CD117+ovarian cancer stem cells in three dimensional basement membrane extract scaffold versus two dimensional monocultures. *BMC Cell Biol* 2013;14:7.
274. Aagaard-Tillery KM, Suter MA, Harris A, et al. Epigenetics and reproduction and the developmental origins of health and dis-ease. *Anim Reprod* 2010;7:103-16.
275. Schwartz YB, Pirrotta V. Polycomb silencing mechanisms and the management of genomic programmes. *Nature Rev Genet* 2007;8:9-22.
276. Margueron R, Reinberg D. The Polycomb complex PRC2 and its mark in life. *Nature* 2011;469:343-9.
277. Cao R, Wang L, Wang H, et al. Role of histone H3 lysine 27 methylation in Polycomb-group silencing. *Science* 2002;298:1039-43.
278. Pasini D, Bracken AP, Jensen MR, et al. Suz12 is essential for mouse development and for EZH2 histone methyltransferase activity. *EMBO J.* 2004;23:4061-71.
279. Shen X, Liu Y, Hsu YJ, et al. EZH1 mediates methylation on histone H3 lysine 27 and complements EZH2 in maintaining stem cell identity and executing pluripotency. *Mol Cell* 2008;32:491-502.
280. Ezhkova E, Lien WH, Stokes N, Pasolli HA, Silva JM, Fuchs E. EZH1 and EZH2 cogovern histone H3K27 trimethylation and are essential for hair follicle homeostasis and wound repair. *Genes Dev* 2011;25:485–98.
281. Pal B, Bouras T, Shi W, et al. Global changes in the mammary epigenome are induced by hormonal cues and coordinated by Ezh2. *Cell Rep.* 2013;3:411–26.
282. Hidalgo I, Herrera-Merchan A, Ligos JM, et al. Ezh1 is required for hematopoietic stem cell maintenance and prevents senescence-like cell cycle arrest. *Cell Stem Cell* 2012;11,649–62.
283. Xu K, Wu ZJ, Groner AC, et al. EZH2 oncogenic activity in castration-resistant prostate cancer cells is Polycomb-independent. *Science* 2012;38:1465–9.

284. Mousavi K, Zare H, Wang AH, Sartorelli V. Polycomb protein Ezh1 promotes RNA polymerase II elongation. *Mol Cell* 2012;45:255–62.
285. Wang L, Jin Q, Lee JE, et al. Histone H3K27 methyltransferase Ezh2 represses Wnt genes to facilitate adipogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107:7317–22.
286. Ezhkova E, Pasolli HA, Parker JS, et al. Ezh2 orchestrates gene expression for the stepwise differentiation of tissue-specific stem cells. *Cell* 2009;136:1122–35.
287. Pereira JD, Sansom SN, Smith J, et al. Ezh2, the histone methyltransferase of PRC2, regulates the balance between self-renewal and differentiation in the cerebral cortex. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107:15957–62.
288. Ezhkova E, Lien WH, Stokes N, et al. EZH1 and EZH2 cogovern histone H3K27 trimethylation and are essential for hair follicle homeostasis and wound repair. *Genes Dev* 2011; 25:485–98.
289. Kidani K, Osaki M, Tamura T. High expression of EZH2 is associated with tumor proliferation and prognosis in human oral squamous cell carcinomas. *Oral Oncol* 2009;45:39–46.
290. He LR, Liu MZ, Li BK, et al. High expression of EZH2 is associated with tumor aggressiveness and poor prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma treated with definitive chemoradiotherapy. *Int J Cancer* 2010;127:138–97.
291. Matsukawa Y, Semba S, Kato H, Ito A, Yanagihara K, Yokozaki H. Expression of the enhancer of zeste homolog 2 is correlated with poor prognosis in human gastric cancer. *Cancer Sci* 2006;97:484–91.
292. Mimori K, Ogawa K, Okamoto M, Sudo T, Inoue H, Mori M. Clinical significance of enhancer of zeste homolog 2 expression in colorectal cancer cases. *Eur J Surg Oncol* 2005;31:376–80.
293. Sudo T, Utsunomiya T, Mimori K, et al. Clinicopathological significance of EZH2 mRNA expression in patients with hepatocellular carcinoma. *Br J Cancer* 2005; 92:1754–8.
294. Collett K, Eide GE, Arnes J, et al. Expression of enhancer of zeste homologue 2 is significantly associated with increased tumor cell proliferation and is a marker of aggressive breast cancer. *Clin Cancer Res* 2006;12:1168–74.
295. Bachmann IM, Halvorsen OJ, Collett K, et al. EZH2 expression is associated with high proliferation rate and aggressive tumor subgroups in cutaneous melanoma and cancers of the endometrium, prostate, and breast. *J Clin Oncol* 2006;24:268–73.
296. Raman JD, Mongan NP, Tickoo SK, Boorjian SA, Scherr DS, Gudas LJ. Increased expression of the polycomb group gene, EZH2, in transitional cell carcinoma of the bladder. *Clin Cancer Res* 2005;11:8570–6.

297. Chen Y, Lin MC, Yao H, et al. Lentivirus-mediated RNA interference targeting enhancer of zeste homolog 2 inhibits hepatocellular carcinoma growth through down-regulation of stathmin. *Hepatology* 2007;46:200–8.
298. Rao ZY, Cai MY, Yang GF, et al. EZH2 supports ovarian carcinoma cell invasion and/or metastasis via regulation of TGF- β 1 and is a predictor of outcome in ovarian carcinoma patients. *Carcinogenesis* 2010;31:1576–83.
299. Ferraro A, Mourtzoukoc D, Kosmidou V, et al. EZH2 is regulated by ERK/AKT and targets integrin α 2 gene to control Epithelial–Mesenchymal Transition and anoikis in colon cancer cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2013;45:243–54.
300. Hajra KM, Tan L, Liu JR. Defective apoptosis underlies chemoresistance in ovarian cancer. *Advanc Exp Med Biol* 2008;622:197–208.
301. Fraser M, Leung BM, Yan X, Dan HC, Cheng JQ, Tsang BK. P53 is a determinant of X-linked inhibitor of apoptosis protein/Akt-mediated chemoresistance in human ovarian cancer cells. *Cancer Research* 2003;63:7081–8.
302. Yang X, Zheng F, Xing H, Q, et al. Resistance to chemotherapy-induced apoptosis via decreased caspase-3 activity and overexpression of antiapoptotic proteins in ovarian cancer, *J Cancer Res Clin Oncol* 2004;130:423–8.
303. Wei D, Le X, Zheng L et al. Stat3 activation regulates the expression of vascular endothelial growth factor and human pancreatic cancer angiogenesis and metastasis. *Oncogene* 2003;22:319-29.
304. Wang T, Niu G, Kortylewski M, et al. Regulation of the innate and adaptive immune responses by Stat-3 signaling in tumor cells. *Nature Medicine* 2004;10:48–54.
305. Buettner R, Mora LB, Jove R. Activated STAT signaling in human tumors provides novel molecular targets for therapeutic intervention. *J Am Assoc Cancer Res* 2002;8:945–54.
306. Silver DL, Naora H, Liu J, Cheng W, Montell DJ. Activated signal transducer and activator of transcription (STAT) 3: localization in focal adhesions and function in ovarian cancer cell motility. *Cancer Res* 2004;64:3550–8.
307. Ji T, Gong D, Han Z, et al. Abrogation of constitutive Stat3 activity circumvents cisplatin resistant ovarian cancer. *Cancer Letters* 2013;341:231–9.
308. Han Z, Hong Z, Gao Q, et al. A potent oncolytic adenovirus selectively blocks the STAT3 signaling pathway and potentiates cisplatin antitumor activity in ovarian cancer. *Hum Gene Ther* 2012;23:32-45.
309. Hall J, Guo G, Wray J, et al. Oct4 and LIF/Stat3 additively induce Kruppel factors to sustain embryonic stem cell self-renewal. *Cell Stem Cell* 2009;5:597-609.

310. Sheng WJ, Jiang H, Wu DL, Zheng JH. Early responses of the STAT3 pathway to platinum drugs are associated with cisplatin resistance in epithelial ovarian cancer. *Brazilian J Med Biol Res* 2013;46:650-8.
311. Blume-Jensen P, Hunter T. Oncogenic kinase signalling. *Nature* 2001;411:355–65.
312. Burke WM, Jin X, Lin HJ, et al. Inhibition of constitutively active Stat3 suppresses growth of human ovarian and breast cancer cells. *Oncogene* 2001;20:7925–34.
313. Gritsko T, Williams A, Turkson J, et al. Persistent activation of stat3 signaling induces survivin gene expression and confers resistance to apoptosis in human breast cancer cells. *Clin Cancer Res* 2006;12:11–9.
314. Yue P, Zhang X, Paladino D, et al. Hyperactive EGF receptor, Jaks and Stat3 signaling promote enhanced colony-forming ability, motility and migration of cisplatin-resistant ovarian cancer cells. *Oncogene* 2012;31:2309–22.
315. Zhao S-H, Zhao F, Zheng J-Y, Gao L-F, Zhao X-J, Cui M-H. Knockdown of *stat3* expression by RNAi inhibits *in vitro* growth of human ovarian cancer. *Radiol Oncol* 2011;45:196-203.
316. Siu M, Wong E, Kong D et al. Stem cell transcription factor NANOG controls cell migration and invasion via dysregulation of E-cadherin and FoxJ1 and contributes to adverse clinical outcome in ovarian cancers. *Oncogene* 2013;32,3500–9.
317. Hu L, McArthur C, Jaffe RB. Ovarian cancer stem-like side-population cells are tumorigenic and chemoresistant. *Br J Cancer* 2010;102:1276–83.
318. Jeter CR, Badeaux M, Choy G, et al. Functional evidence that the self-renewal gene NANOG regulates human tumor development. *Stem Cells* 2009;27:993–1005.
319. Chiou SH, Yu CC, Huang CY, et al. Positive correlations of Oct-4 and Nanog in oral cancer stem-like cells and high-grade oral squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2008;14:4085–95.
320. Di Fiore R, Santulli A, Ferrante RD, al. Identification and expansion of human osteosarcoma-cancer-stem cells by longterm 3-aminobenzamide treatment. *J Cell Physiol* 2009;219:301–13.
321. Wilson AP, Garner CM. Ovarian cancer. *Human Cell*. Kluwer Academic Publishers: Boston, MA, USA, 1999, pp 25.
322. Seidman JD, Kurman RJ. Pathology of ovarian carcinoma. *Hematol Oncol Clin North Am* 2003;17:909–25.
323. Perez RP, Godwin AK, Hamilton TC, Ozols RF. Ovarian cancer biology. *Semin Oncol* 1991;18:186–204.

324. Pan Y, Huang X. Epithelial ovarian cancer stem cells-a review. *Int J Clin Exp Med* 2008;1: 260–6.
325. Provencher DM, Lounis H, Champoux L, et al. Characterization of four novel epithelial ovarian cancer cell lines. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 2000;36:357–61.
326. Huang P, Qiu J, Li B, et al. Role of Sox2 and Oct4 in predicting survival of hepatocellular carcinoma patients after hepatectomy. *Clin Biochem* 2011;44:582-9.
327. Hussenet T, du Manoir S. SOX2 in squamous cell carcinoma: amplifying a pleiotropic oncogene along carcinogenesis. *Cell Cycle* 2010;9:1480-6.
328. Chen Y, Shi L, Zhang L, et al. The molecular mechanism governing the oncogenic potential of SOX2 in breast cancer. *J Biol Chem* 2008;283:17969-78.
329. Otsubo T, Akiyama Y, Yanaqihara K, Yuasa Y. SOX2 is frequently downregulated in gastric cancers and inhibits cell growth through cellcycle arrest and apoptosis. *Br J Cancer* 2008;98:824-31.
330. Zhang X, Yu H, Zhu R, et al. SOX2 in gastric carcinoma, but not Hath1, is related to patients' clinicopathological features and prognosis. *J Gastrointest Surg* 2010;14:1220-6.
331. Wilbertz T, Wagner P, Petersen K, et al. SOX2 gene amplification and protein overexpression are associated with better outcome in squamous cell lung cancer. *Mod Pathol* 2011;24:944-53.
332. Zuk PA. The intracellular distribution of the ES cell totipotent markers OCT4 and Sox2 in adult stem cells differs dramatically according to commercial antibody used. *J Cell Biochem* 2009;106:867-77.
333. Hussenet T, Dali S, Exinger J, et al. SOX2 is an oncogene activated by recurrent 3q26.3 amplifications in human lung squamous cell carcinomas. *PLoS One* 2010;5:e8960.
334. Baltus GA, Kowalski MP, Zhai H, et al. Acetylation of sox2 induces its nuclear export in embryonic stem cells. *Stem Cells* 2009;27:2175-84.
335. Ye F, Li Y, Hu Y, Zhou C, Hu Y, Chen H. J Expression of Sox2 in human ovarian epithelial carcinoma. *Cancer Res Clin Oncol* 2011;137:131–7.
336. Saigusa S, Tanaka K, Toiyama Y, et al. Correlation of CD133, OCT4, and SOX2 in rectal cancer and their association with distant recurrence after chemoradiotherapy. *Ann Surg Oncol* 2009;16:3488–98.
337. Serov SF, Scully RE, Sobin LH. International histological classification and staging of tumours. No 9. Histologic typing of ovarian tumours. Geneva: World Health Organisation, 1973.

338. Hochedlinger K, Yamada Y, Beard C, et al. Ectopic expression of OCT-4 blocks progenitor cell differentiation and causes dysplasia in epithelial tissues. *Cell* 2005;121:465-77.
339. Cheng L, Thomas A, Roth LM, et al. OCT4: a novel biomarker for dysgerminoma of the ovary. *Am J Surg Pathol* 2004;28:1341-6.
340. Seidman JD, Horkayne-Sakaly I, Haiba M, et al. The histologic type and stage distribution of ovarian carcinomas of surface epithelial origin. *Int J Gynecol Pathol* 2004;23:41-4.
341. Kobel M, Kalloger SE, Boyd N, et al. Ovarian carcinoma subtypes are different diseases: implications for biomarker studies. *PloS Med* 2008;5:e232.
342. Mads Aaboe, Karin Birkenkamp-Demtroder, Carsten Wiuf, et al. SOX4 Expression in Bladder Carcinoma: Clinical Aspects and In vitro Functional Characterization. *Cancer Res* 2006;66:3434-42.
343. van deWetering M, Oosterwegel M, van Norren K, et al. Sox-4, an Sry-like HMG box protein, is a transcriptional activator in lymphocytes. *EMBO J* 1993;12:3847-54.
344. Liu P, Ramachandran S, Seyed MA, et al. Sex-Determining Region Y Box 4 Is a Transforming Oncogene in Human Prostate Cancer Cells. *Cancer Res* 2006;66:4011-9.
345. Sillanpää S, Anttila MA, Voutilainen K, et al. CD44 Expression Indicates Favorable Prognosis in Epithelial Ovarian Cancer. *Clin Cancer Res* 2003;9:5318-24.
346. Karjalainen JM, Tammi RH, Tammi MI, et al. Reduced level of CD44 and hyaluronan associated with unfavorable prognosis in clinical stage I cutaneous melanoma. *Am J Pathol* 2000;157:957-965.
347. Aaltomaa S, Lipponen P, Ala-Opas M, Kosma V-M. Expression and prognostic value of CD44 standard and variant v3 and v6 isoforms in prostate cancer. *Eur Urol* 2001;39:138-144.
348. Nanashima A, Yamaguchi H, Sawai T, et al. Prognostic factors in hepatic metastases of colorectal carcinoma: immunohistochemical analysis of tumor biological factors. *Dig Dis Sci* 46:1623-8.
349. Rioux-Leclercq N, Epstein JI, Bansard J-Y, et al. Clinical significance of cell proliferation microvessel density, and CD44 adhesion molecule expression in renal cell carcinoma. *Hum Pathol* 2001;32:1209-15.
350. Nguyen VN, Mirejovsky T, Melinova L, Mandys V. CD44 and its v6 spliced variant in lung carcinomas: relation to NCAM, CEA, EMA and UP1 and prognostic significance. *Neoplasma* 2000;47:400-8.

351. Bhatavdekar JM, Patel DD, Shah NG, et al. Prognostic significance of immunohistochemically localized biomarkers in stage II and stage III breast cancer: a multivariate analysis. *Ann. Surg. Oncol* 2000;7:305–11.
352. Ayhan A, Baykal C, Atakan A, Ayhan A. Altered CD44 variant 6 expression in FIGO stage IB cervical carcinoma. *Gynecol Oncol* 2001;83:569–574.
353. Setälä L, Lipponen P, Tammi R, et al. Expression of CD44 and its variant isoform v3 has no prognostic value in gastric cancer. *Histopathology* 2001;38:13–20.
354. Ross JS, Sheehan CE, Williams SS, Malfetano JH, Szyfelbein WM, Kallakury BV. Decreased CD44 standard form expression correlates with prognostic variables in ovarian carcinomas. *Am J Clin Pathol* 2001;116:122–8.
355. Berner HS, Davidson B, Berner A, et al. Expression of CD44 in effusions of patients diagnosed with serous ovarian carcinoma: diagnostic and prognostic implications. *Clin Exp Metastasis* 2000;18:197–202.
356. Saegusa M, Machida D, Hashimura M, Okayasu I. CD44 expression in benign, premalignant, and malignant ovarian neoplasms: relation to tumour development and progression. *J Pathol* 1999;189:326–37.
357. Cannistra SA, Abu-Jawdeh G, Niloff J, et al. CD44 variant expression is a common feature of epithelial ovarian cancer: lack of association with standard prognostic factors. *J Clin Oncol* 1995;13:1912–21.
358. Kayastha S, Freedman AN, Piver MS, Mukkamalla J, Romero-Guittierez M, Werness BA. Expression of the hyaluronan receptor, CD44s, in epithelial ovarian cancer is an independent predictor of survival. *Clin Cancer Res* 1999;5:1073–6.
359. Gardner MJ, Catterall JB, Jones LM, Turner GA. Human ovarian tumour cells can bind hyaluronic acid via membrane CD44: a possible step in peritoneal metastasis. *Clin Exp Metastasis* 1996;14:325–34.
360. Catterall JB, Gardner MJ, Jones LM, Turner GA. Binding of ovarian cancer cells to immobilized hyaluronic acid. *Glycoconj J* 1997;14:867–9.
361. Lessan K, Aguiar DJ, Oegema T, Siebenson L, Skubitz APN. CD44 and 1 integrin mediate ovarian carcinoma cell adhesion to peritoneal mesothelial cells. *Am J Pathol* 1999;154:1525–37.
362. Strobel T, Swanson L, Cannistra SA. *In vivo* inhibition of CD44 limits intra-abdominal spread of a human ovarian cancer xenograft in nude mice: a novel role for CD44 in the process of peritoneal implantation. *Cancer Res* 1997;57:1228–32.
363. Casey RC, Skubitz APN. CD44 and 1 integrins mediate ovarian carcinoma cell migration toward extracellular matrix proteins. *Clin Exp Metastasis* 2000;18:67–75.

364. Kokenyesi R. Ovarian carcinoma cells synthesize both chondroitin sulfate and heparan sulfate cell surface proteoglycans that mediate cell adhesion to interstitial matrix. *J Cell Biochem* 2001;83:259–70.
365. Yeo TK, Nagy JA, Yeo KT, Dvorak HF, Toole BP. Increased hyaluronan at sites of attachment to mesentery by CD44- positive mouse ovarian and breast tumor cells. *Am J Pathol* 1996;148:1733–40.
366. Herrlich P, Morrison H, Sleeman J, et al. CD44 acts both as a growth- and invasiveness-promoting molecule and as a tumor suppressing cofactor. *Ann NY Acad Sci* 2000;910:106–20.
367. Lesley J, Hyman R, Kincade PW. CD44 and its interaction with extracellular matrix. *Adv Immunol* 1993;54:271–335.
368. Steffensen KD, Alvero B, Yang Y, et al. Prevalence of Epithelial Ovarian Cancer StemCells Correlates with Recurrence in Early-Stage Ovarian Cancer. *J Oncol* 2011, Article ID 620523, 1-12.
369. Lapidot T, Sirard C, Vormoor J, et al. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice. *Nature* 1994;367:645–648.
370. Clarke MF, Fuller M. Stem cells and cancer: two faces of eve. *Cell* 2006; 124, 1111–5.
371. Singh SK, Clarke ID, Terasaki M et al. Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer Research* 2003; 63:5821–8.
372. Cho RW, Wang X, Diehn M, et al. Isolation and molecular characterization of cancer stemcells in MMTV-*Wnt-1* murine breast tumors. *Stem Cells* 2008;26:364–71.
373. Carlson JW, Miron A, Jarboe EA, et al. Serous tubal intraepithelial carcinoma: its potential role in primary peritoneal serous carcinoma and serous cancer prevention. *J Clin Oncol*;26:4160-5.
374. Went PT, Dirnhofer S, Bundi M, et al. Prevalence of KIT expression in human tumors. *J Clin Oncol* 2004;22:4514–22.
375. Demetri GD, von Mehren M, Blanke CD et al. Efficacy and safety of imatinib mesylate in advanced gastrointestinal stromal tumors. *N Engl J Med* 2002;347:472–80.
376. Piccaluga PP, Malagola M, Rondoni M, et al. Imatinib mesylate in the treatment of newly diagnosed or refractory/resistant c-kit positive acute myeloid leukemia. Results of an Italian multicentre phase II study. *Haematologica* 2007;92:1721–2.
377. Coleman RL, Broaddus RR, Bodurka DC, et al. Phase II trial of imatinib mesylate in patients with recurrent platinum-andtaxane-resistant epithelial ovarian and primary peritoneal cancers. *Gynecol Oncol* 2006;101:126–31.

378. Dy GK, Miller AA, Mandrekar SJ, et al. A phase II trial of imatinib (ST1571) in patients with c-kit expressing relapsed small cell lung cancer: a CALGB and NCCTG study. *Ann Oncol* 2005;16:1811–6.
379. Medinger M, Kleinschmidt M, Mross K, et al. c-kit (CD117) Expression in Human Tumors and its Prognostic Value: An Immunohistochemical Analysis. *Pathol Oncol Res* 2010;16:295-301.
380. Sihto H, Sarlomo-Rikala M, Tynninen O, et al. KIT and platelet-derived growth factor receptor alpha tyrosine kinase gene mutations and KIT amplifications in human solid tumors. *J Clin Oncol* 2005;23:49–57.
381. Charpin C, Giusiano S, Charfi S, et al. Quantitative immunohistochemical expression of c Kit in breast carcinomas is predictive of patients' outcome. *Br J Cancer* 2009;7:48–54.
382. Tsutsui S, Yasuda K, Suzuki K, et al. A loss of c-kit expression is associated with an advanced stage and poor prognosis in breast cancer. *Br J Cancer* 2006;94:1874–8.
383. Simon JA, Lange CA. Roles of the EZH2 histone methyltransferase in cancer epigenetics. *Mutat Res* 2008;647:21–9.
384. Varambally S, Dhanasekaran SM, Zhou M, et al. The polycomb group protein EZH2 is involved in progression of prostate cancer. *Nature* 2008;419:624–9.
385. Raman JD, Mongan NP, Tickoo SK, Boorjian SA, Scherr DS, Gudas LJ. Increased expression of the polycomb group gene, EZH2, in transitional cell carcinoma of the bladder. *Clin Cancer Res* 2005;11:8570–6.
386. Chen Y, Lin MC, Yao H, et al. Lentivirus-mediated RNA interference targeting enhancer of zeste homolog 2 inhibits hepatocellular carcinoma growth through down-regulation of stathmin. *Hepatology* 2007;46:200–8.
387. Kidani K, Osaki M, Tamura T, et al. High expression of EZH2 is associated with tumor proliferation and prognosis in human oral squamous cell carcinomas. *Oral Oncol* 2009;45,39–46.
388. He LR, Liu MZ, Li BK, et al. High expression of EZH2 is associated with tumor aggressiveness and poor prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma treated with definitive chemoradiotherapy. *Int J Cancer* 2010;127:138–97.
389. Matsukawa Y, Semba S, Kato H, Ito A, Yanagihara K, Yokozaki H. Expression of the enhancer of zeste homolog 2 is correlated with poor prognosis in human gastric cancer. *Cancer Sci* 2006;97:484–91.
390. Mimori K, Semba S, Kato H, Ito A, Yanagihara K, Yokozaki H. Clinical significance of enhancer of zeste homolog 2 expression in colorectal cancer cases. *Eur J Surg Oncol* 2005;31:376–80.

391. Sudo T, Utsunomiya T, Mimori K, et al. Clinicopathological significance of EZH2 mRNA expression in patients with hepatocellular carcinoma. *Br J Cancer* 2005;92:1754–8.
392. Collett K, Eide GE, Arnes J, et al. Expression of enhancer of zeste homologue 2 is significantly associated with increased tumor cell proliferation and is a marker of aggressive breast cancer. *Clin Cancer Res* 2006;12:1168–74.
393. Simon JA, Lange CA. Roles of the EZH2 histone methyltransferase in cancer epigenetics. *Mutat Res* 2008;647:21–9.
394. Jacobs JJ, van Lohuizen M. Polycomb repression: from cellular memory to cellular proliferation and cancer. *Biochim Biophys Acta* 2002;1602,151–61.
395. Cao R, Zhang Y. The functions of E(Z)/EZH2-mediated methylation of lysine 27 in histone H3. *Curr Opin Genet Dev* 2004;14:155–64.
396. Visser HP, Gunster MJ, Kluin-Nelemans HC, et al. The Polycomb group protein EZH2 is upregulated in proliferating, cultured human mantle cell lymphoma. *Br J Haematol* 2001;112,950–8.
397. Kleer CG, Cao Q, Varambally S, et al. EZH2 is a marker of aggressive breast cancer and promotes neoplastic transformation of breast epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100,11606–11.
398. Bracken A, Pasini D, Capra M, Prosperini E, Colli E, Helin K. PEZH2 is downstream of the pRB-E2F pathway, essential for proliferation and amplified in cancer. *EMBO J* 2003;22:5323–35.
399. Tan J, Yang X, Zhuang L, et al. Pharmacologic disruption of Polycomb-repressive complex 2-mediated gene repression selectively induces apoptosis in cancer cells. *Genes Dev* 2007;21:1050–63.
400. Zhao SH, Zhao F, Zheng JY, Gao LF, Zhao XJ, Cui MH. Knockdown of stat3 expression by RNAi inhibits in vitro growth of human ovarian cancer. *Radiol Oncol* 2011;45:196-203.
401. Fernandes A, Hamburger AW, Gerwin BI. ErbB-2 kinase is required for constitutive STAT3 activation in malignant human lung epithelial cells. *Int J Cancer* 1999; 83: 564-70.
402. Nagpal JK, Mishra R, Das BR. Activation of Stat3 as one of the early events in tobacco chewing-mediated oral carcinogenesis. *Cancer* 2002; 94: 2393-400.
403. Hsieh FC, Cheng G, Lin J. Evaluation of potential Stat3-regulated genes in human breast cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 335: 292-99.

404. Rosen DG, Mercado-Uribe I, Yang G, et al. The role of constitutively active signal transducer and activator of transcription 3 in ovarian tumorigenesis and prognosis. *Cancer* 2006; 107: 2730-40.
405. Hortobagyi GN. Anthracyclines in the treatment of cancer. An overview. *Drugs* 1997;54:1-7.
406. Alas S, Bonavida B. Inhibition of constitutive STAT3 activity sensitizes resistant non-Hodgkin's lymphoma and multiple myeloma to chemotherapeutic drug-mediated apoptosis. *Clin Cancer Res* 2003;9:316-26.
407. Real PJ, Sierra A, De Juan A, Segovia JC, Lopez-Vega JM, Fernandez-Luna JL. Resistance to chemotherapy via Stat3-dependent overexpression of Bcl-2 in metastatic breast cancer cells. *Oncogene* 2002;21:7611-8.
408. Salem M, Elbaz O, Zahran M, et al. Malignancy: identification of predictors of disease status and progression in patients with myeloma (MM). *Hematology* 2000;5:41-5.
409. Zhou J, Ong C-N, Hur G-M, Shen H-M. Inhibition of the JAK-STAT3 pathway by andrographolide enhances chemosensitivity of cancer cells to doxorubicin *Biochemical Pharmacology* 2010;79:1242-50.

8. Lista skraćena

ABC transporter	— transmembranski proteini
CSCs	— kancerske matične ćelije
CRC	— kolorektalni karcinom
CTL	— posredovana imuna selekcija
DFS	— vreme do progresije bolesti
ESCs	— embrionalne matične ćelije
EMT	— epitelna mezenhimalna transformacija
EOC	— epitelni ovarijalni kancer
ECM	— ekstracelularni matriks
EGFR	— receptor za epidermalni faktor rasta
EpCAM	— epitelni ćelijski adhezioni molekul
HMG	— grupa visoke mobilnosti
HA	— hijaluronska kiselina
HCC	— hepatocelularni karcinom
HIF	— factor indukcije hipoksije
Hedgehog	— Hedgehog signalni put
H2A	— histon
iPSc	— indukovane pluripotentne matične ćelije
IL-5	— interleukin 5
LIF	— leukemija inhibitorni faktor
MMPs	— metaloproteinaza matriksa
MYD88	— mijeloidni faktor diferencijacije
miRNA	— mikro RNA
MMP2	— matrix metaloproteinaza 2
MMP9	— matrix metaloproteinaza 9

mRNA	— messenger RNKmiR200c
miR200c	— kratak RNK molekul
NIH3T3	— ćelijska linija embrionalnih mišjih fibroblasta
Notch	— Notch signalni put
NFkB	— proteinski kompleks
OS	— ukupno preživljavanje
PRC1	— polikomb represivni kompleks 1
PRC2	— polikomb represivni kompleks 2
RT PCR	— real-time polimeraza lančana reakcija
SC	— matične ćelije
SRC	— familija tirozin kinaza
SSEA-4	— specifični embrionalni antigen 4
siRNA	— mala interferirajuća RNK
TGF-b	— transformišući faktor rasta beta-superfamilije
WNT/catenin	— grupa puteva za prenošenje signala
VEGF	— vaskularni endotelni faktor rasta

9. Biografija

Irena Conić rođena je 20.05.1979. godine u Nišu.

Osnovnu školu "Sveti Sava" u Nišu završila je kao najbolji učenik generacije. Nosilac je Vukove diplome.

Srednju Medicinsku školu „Milenko Hadžić“ u Nišu završila je sa odličnim uspehom 1998. godine.

Medicinski fakultet u Nišu upisala je školske 1998/99., a diplomirala 2004. godine sa prosečnom ocenom 8,97 i ocenom 10 na diplomskom ispitu.

Autor je i koautor devet radova (5 radova na SCI listi). Prisustvovala i učestvovala u radu seminara sprovedenih na fakultetu, kao i u organizaciji Udruženja ginekoloških onkologa Srbije (UGOS).

U toku studija kao Student Prodekan kroz mnogobrojne akcije zastupala interese studenata i doprinela poboljšanju uslova studiranja i studentskog života. Kao član studentske organizacije Saveza Studenata Medicinskog fakulteta (SSMF) doprinela razvoju: naučne, kulturno-zabavne i sportske aktivnosti. Bila član Centra za naučno istraživački rad (CNIRS) i omogućila učešće studenata na kongresima u zemlji i inostranstvu.

Dobitnik je nagrade za istaknutog studenta na 5. godini studija 2003. godine, nagrade za izuzetne rezultate u naučno-istraživačkom radu na 45. Kongresu studenata medicine i stomatologije Srbije i Crne Gore 2004. godine i proglašena za najboljeg studenta od strane studenata i uprave Medicinskog fakulteta 2003/2004. godine.

Pohađala i uspešno završila Kurs operatera na PC računaru i Kurs engleskog jezika.

Poslediplomske studije iz onkologije upisala je 2005/06. i položila sve ispite predviđene programom. Magistarsku tezu pod nazivom „ Uticaj vrste terapije karcinoma grlića materice na depresivnost, anksioznost i kvalitet života bolesnica“ odbranila je januara 2008.godine.

Na Klinici za onkologiju je u radnom odnosu od 12.04.2006. godine. Od 28.09.2014.godine radi kao specialista interne medicine.

Član je Udruženja za ginekološku onkologiju (UGOS) i član Srpskog lekarskog društva.