

UNIVERZITET U BEOGRADU
MEDICINSKI FAKULTET

Bojana V. Gutić

**EKSPRESIJA I PROGNOŠTIČKI ZNAČAJ LI-
GANDA PROGRAMIRANE ĆELIJSKE SMRTI 1
(PD-L1) KOD KARCINOMA JAJNIKA**

doktorska disertacija

Beograd, 2024.

UNIVERSITY OF BELGRADE
SCHOOL OF MEDICINE

Bojana V. Gutić

**EXPRESSION AND PROGNOSTIC SIGNIFI-
CANCE OF PROGRAMED CELL DEATH LI-
GAND 1 (PD-L1) IN OVARIAN CANCER**

doctoral dissertation

Belgrade, 2024.

Mentori doktorske disertacije:

Prof. dr Tatjana Božanović, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu,

Prof. dr Lazar Popović, vanredni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu,

Prof. dr Tatjana Ivković Kapicl, redovni profesro Medicinskog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu

Članovi komisije:

prof. Dr Snežana Vidaković, predsednik, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

prof. Dr Svetislav Tatić, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

prof. Dr Miroslava Gojnić Dugalić, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

prof. Dr Aljoša Mandić, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu

doc. Dr Milan Dokić, docent Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

U Beogradu, 15.07.2024.

Zahvaljujem se:

Svojim mentorima, *prof. dr Tatjani Božanović, prof. dr Lazaru Popoviću i prof. dr Tatjani Ivković Kapić*, na neizmernoj podršci i usmeravanju tokom izrade doktorske disertacije.

Članovima komisije:

prof. Dr Snežani Vidaković

prof. Dr Svetislavu Tatiću

prof. Dr Miroslavi Gojnić Dugalić

prof. Dr Aljoša Mandić

doc. Dr Milan Dokić

na pomoći u realizaciji disertacije.

Zahvalnost dugujem nadasve roditeljima Snežani i Veljku za poverenje i strpljivo usmeravanje kroz život i karijeru. Ocu na disciplini i odgovornosti kojom me je učio ličnim primerom, majci na sigurnosti i podršci na svakom koraku i tome što je umela da uobličići sve moje osobine na najbolji mogući način. Sestri i braći na podršci i nezamenljivom osećaju sigurnosti da kroz dobro i loše hodamo rame uz rame. Suprugu na podršci i razumevanju za posao kojim se bavim i vremenu koje je nepovratno utrošeno u praktičnom i akademskom usaršavanju.

Veliku zahvalnost dugujem i prof. Dr Miroslavi Gojnić Dugalić, koja mi je nesebičnim primerom dala prve smernice o tome šta zaista znači biti lekar i bez koje se ne bih usmerila putem na kojem sam sada. Njena nesebična podrška i motivacija su najveći razlog što sam posle mnogo uspona i padova na kraju doktorskih studija.

Slučajna ili namerna poznanstva učinila su da budem okružena ljudima koji su mi takođe bili motivacija i snaga da iznesem još jedno akademsko putovanje do svog kraja.

Hvala vam!

Takođe se zahvaljujem koautorima radova koji su proizašli kao rezultat istraživanja u okviru ove doktorske teze:

1. Kreiranju koncepta teze: *prof. dr Tatjana Božanović, prof. dr Aljoša Mandić*
2. Prikupljanju podataka: *kl. ass. Dr Stefan Dugalić*
3. Formalnoj analizi: *dr Jovana Todorović*
4. Istraživanju: *prof. dr Tatjana Božanović*
5. Metodologiji: *prof. dr Aljoša Mandić, prof. Dr Miroslava Gojnić Dugalić, prof. dr Dejana Stanisavljević*
6. Superviziji: *prof. Dr Miroslava Gojnić Dugalić, dr Demet Sengul, prof. dr Aljoša Mandić*
7. Pisanju – originalni nacrt: *prof. dr Tatjana Božanović, prof. dr Aljoša Mandić, prof. Dr Miroslava Gojnić Dugalić*
8. Pisanju recenzija i uređivanje: *dr Dženana A. Detanac, prof. dr Ilker Sengul, dr Dzemail Detanac, dr Tugrul Kesicioglu, dr Jose Maria Soares Junior*

EKSPRESIJA I PROGNOŠTIČKI ZNAČAJ LIGANDA PROGRAMIRANE ĆELIJSKE SMRTI (PDL1) KOD KARCINOMA JAJNIKA

Sažetak

Uvod. Karcinom jajnika predstavlja relativno redak malignitet sa visokim mortalitetom. Nejasna etiopatogeneza jedan je od razloga što ciljana terapija još uvek nije zauzela značajno mesto u lečenju ovih pacijentkinja.

Metod. Istraživanje je kohortna studija u kojoj je analizirana ekspresija PD-L1 i njen prognostički značaj kod obolelih od karcinomom jajnika. Retrospektivni deo istraživanja uključio je prikupljanje demografskih podataka, informacija o kliničko-patološkim karakteristikama tumora, načinu lečenja i ishodu bolesti. Kod selektovanih pacijentkinja prospektivno je analiziran status PD-L1 receptora u tumorskom tkivu. Analizirana je ekspresija PD-L1 u uzorku, kao i njegova povezanost sa kliničkopatološkim karakteristikama tumora, odgovorom na primarni tretman i ishodom bolesti.

Rezultati. Ekspresija u ispitivanom uzorku bila je prisutna na 53% tumor infiltrišućih limfocita (TIL), 40% tumor asociраних макрофага и 21% tumorskih ćelija. Kod karcinoma ovarijuma tip1 u FIGO stadijumu III i IV primetna je nesignifikantno manja ekspresija PD-L1 na tumor infiltrišućim limfocitima i tumor infiltrišućim makrofagima. Ekspresija PDL-1 u tumorskim ćelijama ($\chi^2 (2) = 7,50, p = ,024$) bila je statistički značajno povezana sa odgovorom na terapiju. Pokazana je marginalna značajnost (LRT (1) = 1,36, $p < ,05$) u preživljavanju pacijentkinja u odnosu na PD-L1 ekspresiju na tumorskim ćelijama sa protokom vremena.

Zaključak. Ekspresija PD-L1 je najučestalija na tumor infiltrišućim limfocitima. Ekspresija PD-L1 na tumorskim ćelijama je značajno pozitivno povezana sa odgovorom na standardnu terapiju. Sa protokom vremena praćenja veću verovatnoću preživljavanja imaju pacijentkinje bez eksprimiranog PD-L1.

Ključne reči: karcinom jajnika, etiopatogeneza karcinoma, PD-L1 ekspresija, imunologija karcinoma jajnika

Naučna oblast: medicina

Uža naučna oblast: Humana reprodukcija, perinatologija i neonatologija

UDK broj: _____

EXPRESSION AND PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF PROGRAMED CELL DEATH LI-GAND (PDL1) IN OVARIAN CANCER

Abstract

Introduction. Ovarian cancer has relatively low incidence but high mortality. Undefined etiopathogenesis is one of the reasons that target treatment still did not take a significant place in ovarian cancer treatment.

Methods. Research is a cohort study which analyzed PD-L1 expression and its prognostic role in ovarian cancer patients. Retrospective part of the research included collecting demographic data of patients, informations of clinical and pathological characteristics of the tumor, implemented treatment and outcome. PD-L1 receptor status in the tumor tissue was analyzed for the selected patients. Relation of PD-L1 expression and clinical and pathological data was analyzed as well as the relation of PD-L1 expression with respond to standard treatment and outcome of disease.

Results. There was 53% tumor infiltrating lymphocytes (TIL) with PD-L1 expression, 40% tumor associated macrophages and 21% tumor cells. Difference in PD-L1 expression for ovarian cancer type 1 and 2 in advance stages ovarian cancer was insignificantly lower in type 1 for TIL and tumor associated macrophages. There was statistically significant relation of PD-L1 expression on tumor cells and respond to standar treatment ($\chi^2 (2) = 7.50, p = .024$). Survival analysis showed marginally significance (LRT (1) = 1,36, $p < ,05$) benefit for patients without PD-L1 expression after two years follow up.

Conclusions. PD-L1 expression was most common on TIL. There was significant relation of PD-L1 expression on tumor cells and respond to standard treatment. After two years follow up there was higher survival probability for patients without PD-L1 expression.

Key words: ovarian cancer, cancer etiopathogenesis, PD-L1 expression, ovarian cancer immunology

Scientific field: medicine

Specific scientific field: Human reproduction, perinatology and neonatology

UDK number: _____

SADRŽAJ

1. Uvod.....	1
1.1. Epidemiologija karcinoma jajnika.....	1
1.2. Stadiranje karcinoma jajnika.....	1
1.3. Prognostički faktori.....	3
1.4. Etiopatogeneza karcinoma jajnika.....	5
1.4.1. Dualistički model.....	7
1.5. Osnovni principi dijagnostike i tretmana karcinoma jajnika.....	9
1.6. Uloga imunog sistema u onkogenezi.....	15
2. Ciljevi istraživanja.....	21
3. Materijal i metode.....	22
4. Rezultati.....	25
4.1. Ekspresija PD-L1.....	28
4.2. Analiza preživljavanja.....	40
5. Diskusija.....	48
6. Zaključci.....	60
7. Literatura.....	61

1. UVOD

1.1. Epidemiologija karcinoma jajnika

Prema podacima Svetske Zdravstvene Organizacije (SZO) broj novoobolelih od karcinoma ovarijuma 2020. godine bio je 313.959, što ga čini trećim po učestalosti među ginekološkim malignitetima, iza karcinoma grlića (604.100) i karcinoma tela materice (417.367). Iako treći po učestalosti, ističe se visokom stopom mortaliteta. Iste godine (2020.), mortalitet od karcinom jajnika iznosio je 207.252, što je više od polovine dijagnostikovanih (1).

Petogodišnje preživljavanje obolelih od karcinoma jajnika je samo 30-40% (2). Vodeći faktor loše prognoze karcinoma jajnika jeste činjenica da je oko 75% novodijagnostikovanih u uznapređovalom stadijumu bolesti (*International Federation of Gynecology and Obstetrics* (FIGO) III ili IV stadijum) u vreme postavljanja dijagnoze (Tabela 1) (3).

Tabela 1. Petogodišnje preživljavanje obolelih od karcinoma jajnika prema FIGO stadijumu

FIGO stadijum	I	II	III	IV
Petogodišnje preživljavanje (%)	89	71	41	20

Prema podacima *Surveillance, Epidemiology, and End Results Program* (SEER) samo 18% novodijagnostikovanih sa karcinomom jajnika je u ranom stadijumu, kada je bolest ograničena na mesto primarnog ishodišta. Preživljavanje u ovoj grupi obolelih je oko 90%, dok je kod obolelih u uznapređovalom stadijumu, sa udaljenim metastazama, preživljavanje značajno lošije (31,5%) (4).

1.2. Stadiranje karcinoma jajnika

Stadiranje karcinoma jajnika sprovodi se prema FIGO klasifikaciji (Tabela 2) (3).

Tabela 2. FIGO klasifikacija karcinoma jajnika (2018)

FIGO stadijum			opis
---------------	--	--	------

I		Tumor ograničen na jajnik ili jajovod
	IA	Tumor ograničen na jedan jajnik, intaktne kapsule, ili jajovod, bez malignih ćelija na površini ili u ascitesu
	IB	Tumor ograničen na oba jajnika intaktne kapsule, ili jajovod, bez malignih ćelija na površini ili u ascitesu
	IC	Tumor ograničen na jedan ili oba jajnika ili jajovoda sa sledećim:
	IC1	Hirurško rasipanje-
	IC2	Ruptura kapsule preoperativno ili tumor na površini jajnika ili jajovoda
	IC3	Maligne ćelije u ascitesu ili lavatu
II		Tumor zahvata jedan ili oba jajnika ili jajovoda sa širenjem u karlici ili peritonealni karcinom
	IIA	Širenje ili implanti na uterusu i/ili jajovode i/ili jajnike
	IIB	Širenje na druga pelvična, intraperitonealna tkiva
III		Tumor zahvata jedan ili oba jajnika ili jajovoda, ili peritonealni karcinom, sa citološki ili histološki potvrđenim širenjem na peritoneum van male karlice i/ili metastaze i limfnim čvorovima
	III A	Samo pozitivni retroperitonealni limfni čvorovi (citološki ili histološki potvrđeno)
	IIIA1 (i)	Metastaze do 10 mm
	IIIA1 (ii)	Metastaze preko 10 mm
	IIIA2	Mikroskopske ekstrapelvične peritonealne metastaze sa ili bez pozitivnih limfnih čvorova
	III B	Makroskopske ekstrapelvične peritonealne metastaze najveće dimenzije do 2 cm sa ili bez pozitivnih limfnih čvorova

	III C		Makroskopske ekstrapelvične peritonealne metastaze najveće dimenzije preko 2 cm sa ili bez pozitivnih limfnih čvorova (uključujući i promene na kapsuli jetre i slezine, bez zahvatanja parenhima)
IV			Udaljene metastaze
	IV A		Pleuralne efuzije sa potvrđenom pozitivnom citologijom
	IV B		Metastaze parenhima i ekstraabdominalne metastaze (uključujući ingvinalne i limfne čvorove van abdomena)

Kasno dijagnostikovanje kao jedan od osnovnih razloga visokog mortaliteta u populaciji obolelih od karcinoma jajnika posledica je činjenica da se radi o asimptomatskoj bolesti u ranim stadijumima. Drugi razlog je nespecifična simptomatologija u kasnijim stadijumima, koja neretko navodi na ispitivanja patologije digestivnog trakta. Mali udeo karcinoma jajnika dijagnostikovanih u ranom stadijumu ograničava i mogućnosti za razumevanje biologije, etiopatogeneza i biomarkera. I pored napretka medicine, tehnologije i molekularne biologije, iskoraci u definisanju svih aspekata karcinoma jajnika su još uvek nedovoljni da bi se postigao krajnji cilj, a to je rana dijagnoza i adekvatno lečenje.

1.3. Prognostički faktori

Prirodni tok bolesti kada je u pitanju karcinom jajnika ide u pravcu skraćivanja intervala između relapsa sa protokom vremena bez obzira na terapijske modalitete (5). Razlika postoji, u pogledu intervala do prve progresije bolesti, zavisno od inicijalnog lečenja.

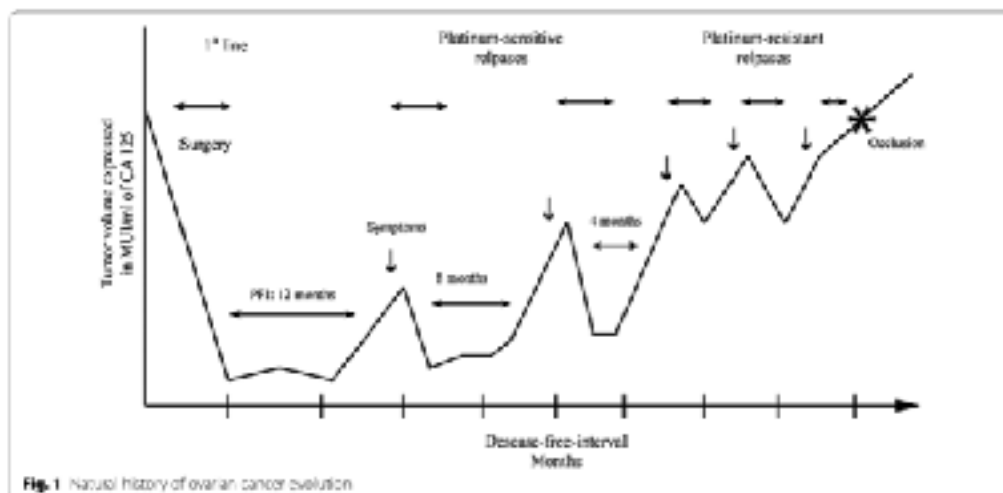
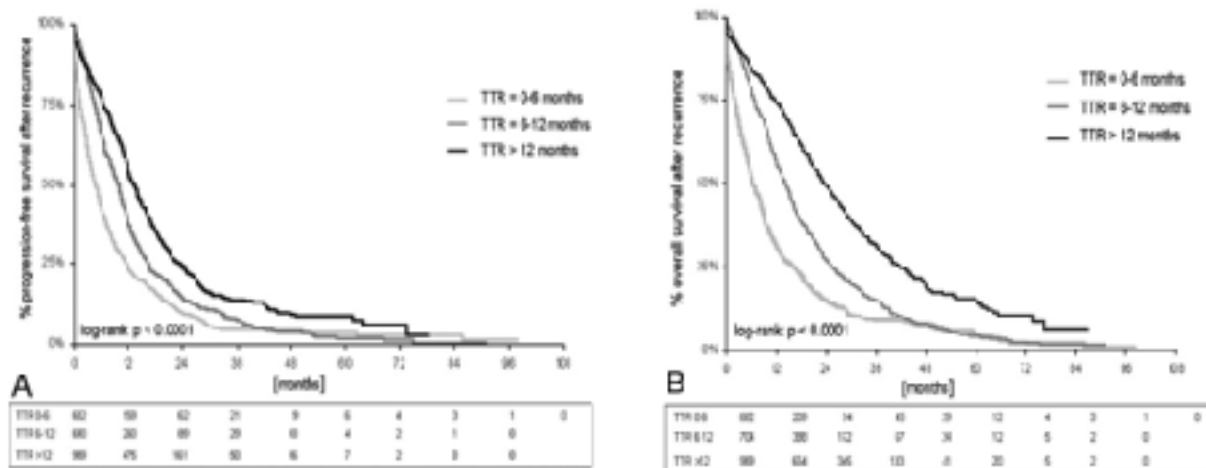


Fig.1 Natural history of ovarian cancer evolution

Slika 1. Prirodni tok karcinoma jajnika (izvor: Giornelli GH. Management of relapsed ovarian cancer: a review. Springerplus. 2016 Jul 28;5(1):1197).

Klasični prognostički faktori za karcinom jajnika se odnose na kliničke i patohistološke osobine karcinoma, kao i serumski *cancer antigen 125* (CA125) (6). Za razliku od drugih faktora, serumski CA125 nema ulogu u ranom dijagnostikovanju bolesti. Njegova uloga je u periodu praćenja pacijentkinja nakon sprovedenog lečenja. Značajni kliničko-patološki faktori koji utiču na prognozu karcinoma jajnika su FIGO stadijum bolesti, histološki gradus tumora, tip sprovedenog operativnog zahvata, kao i odgovor na hemioterapiju (6,7).

Kao što je navedeno, petogodišnje preživljavanje se značajno smanjuje sa FIGO stadijumom bolesti, takođe, uticaj ima i visoki histološki gradus tumora. Vremenom se tip hirurškog lečenja, odnosno, postoperativni volumen rezidualnog tumora, izdvojio kao najznačajniji pojedinačni prognostički faktor (8). Du Bois i saradnici su još 2009. godine prikazali značaj rezidualnog tumora nakon operacije, sa značajno dužim preživljavanjem bez progresije bolesti nakon kompletne resekcije (slika 2A). Medijana preživljavanja u grupi pacijentkinja kod kojih je postignuta kompletna resekcija je bila značajno duža u odnosu na grupu sa rezidualnim tumorom postoperativno (99,1 mesec (95% CI, 83,5 -), rezidualni tumor 1-10 mm 36,2 meseca (95% CI, 34,6 - 39,4) i rezidualni tumor >10 mm 29,6 meseci (95% CI, 27,4 - 32,2)/(log rank test: $P < .0001$)) (slika 2B). Sa održavanjem navedenih razlika i kada se analiziraju pojedinačni FIGO stadijumi (8).



Slika 2A. PFS u odnosu na rezidualni tumor Slika 2B. OS u odnosu na rezidualni tumor

(izvor: u Bois A, Reuss A, Pujade-Lauraine E, Harter P, Ray-Coquard I, Pfisterer J. Role of surgical outcome as prognostic factor in advanced epithelial ovarian cancer: a combined exploratory analysis of 3 prospectively randomized phase 3 multicenter trials: by the Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie Studiengruppe Ovarialkarzinom (AGO-OVAR) and the Groupe d'Investigateurs Nationaux Pour les Etudes des Cancers de l'Ovaire (GINECO). Cancer. 2009;115(6):1234-44.)

1.4. Etiopatogeneza karcinoma jajnika

Mehanizam onkogeneze ostaje i dalje nedovoljno jasan iako su poznati faktori rizika koji se dovode u vezu sa nastankom karcinoma jajnika, kao što su pozitivna porodična anamneza, genetske mutacije (*breast cancer* geni 1 i 2 (BRCA1, BRCA2), mutacije povezane sa Lynch sindromom), pojava drugih maligniteta (dojke, materice, debelog creva), endometrioza i nuliparitet (9,10).

Upravo je ovo razlog za postojanje brojnih hipoteza koje pokušavaju da objasne etiopatogenezu karcinoma jajnika (10):

- hipoteza neprestane ovulacije, koja naglašava uticaj ponavljanih trauma na nivou epitela tokom perioda ovulacije
- hipoteza retrogradne menstruacije, ukazuje na mogućnost ektopične implantacije tkiva endometriju-ma
- hipoteza stimulacije gonadotropinima hipofize sugerise da pod uticajem visokih nivoa gonadotropina dolazi do stimulacije epitelnih ćelija jajnika i povećanja broja mitoza i proliferacije epitela, te do inkluzije epitelnih ćelija ka stromi, nakon čega dolazi do maligne transformacije
- androgen/progesteron hipoteza definiše protektivni uticaj progesterona, dok androgeni, koji su povišeni u postmenopauzi i kod gojaznih, imaju proonkogeni uticaj za karcinoma jajnika
- hipoteza strome jajnika, objašnjava nastanak karcinoma kao posledicu neadekvatne apoptoze teka i granulosa ćelija, te povišenih nivoa steroida, koji potom pozitivno utiču na nastanak karcinoma
- hipoteza inflamacija naglašava uticaj pelvičnih inflamatornih bolesti na nastanak karcinoma jajnika, dok sa druge strane ligiranje jajovoda ima protektivni uticaj.

Detaljnijom analizom navedenih hipoteza, kao zajednički faktor izdvaja se inflamacija (slika 3) (10). Ovim se objašnjava i pik incidencije karcinoma jajnika koji je između 65-70 godine, a ne u perio-

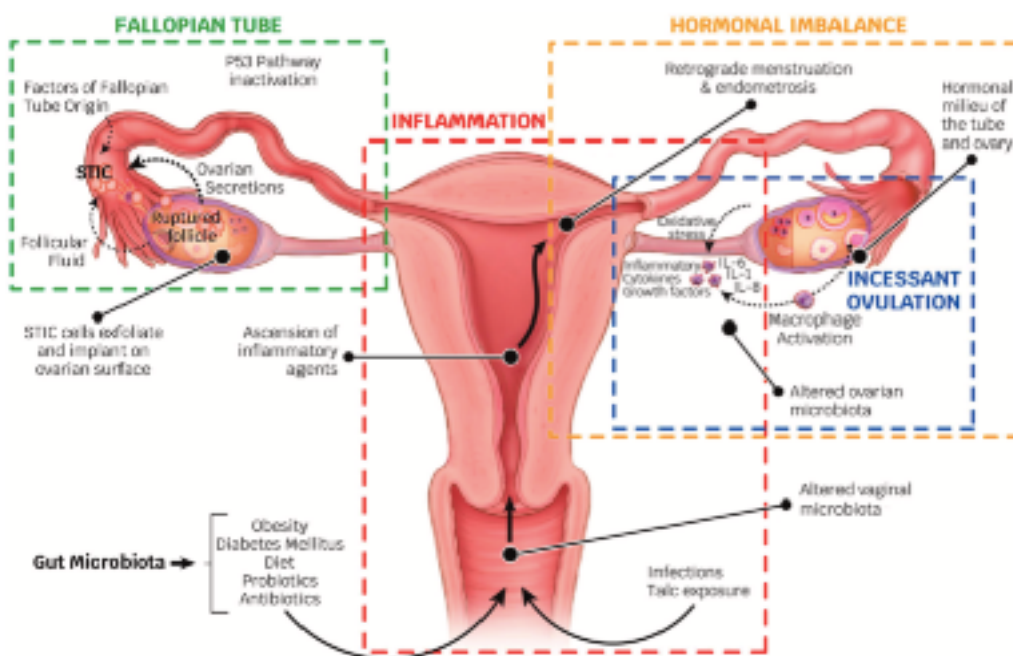
du intenzivnih ovulacija. Sa starenjem dolazi do promena na nivou ćelije, koje imaju proinflamatorni uticaj na okolinu. Radi se o takozvanom senescence stanju ćelije, kada se dalja deoba ne može nastaviti ukoliko postoje oštećenja DNK ćelije (11).

Mehanizam bi se mogao tumačiti protektivno za nastanak karcinoma da nije poznato da ovakve ćelije utiču na mikrokruženje u proinflamatornom pravcu. Pojačana je produkcija proinflamatornih citokina i hemokina, faktora rasta, proteaza i angiogenih faktora (11).

I druge hipoteze se prepliću sa inflamatornom hipotezom na različite načine. Tako kod ovulatorne hipoteze postoje inflamatorni faktori koji se oslobađaju nakon ovulacije i u toku reparacije usled čega se stvara velika količina citokina i enzima, kao što su prostaglandini, eikosanoidi, kolagenaze, interleukini (IL), aktivatori plazminogena i drugi.

Sa druge strane, imuni odgovor se aktivira i kao odgovor na oštećenja nastalih prilikom rupture folikula (10).

Hipoteza retrogradne menstruacije kao faktora u onkogenezi karcinoma ovarijuma, objašnjava se takozvanom Fenton reakcijom na nivou jajovoda i jajnika, u kojoj učestvuju metaboliti gvožđa iz menstrualne krvi bogate prostaglandinima i citokinima, a predstavlja oksidativni proces iz koga se oslobađaju reaktivni hidroksilni radikali. Ovako nastali radikali mogu uticati na malignu transformaciju. Navedeni mehanizam retrogradne menstruacije i oslobađanja proinflamatornih faktora tokom ovulacije, gotovo su identični mehanizmu koji se opisuje kod hipoteze inflamacije jajovoda (10,11,12,13).



Slika 3. Inflamacija kao zajednički faktor u hipotezama o etiopatogenezi karcinoma jajnika

(izvor: Sanchez-Prieto M, Sanchez-Borrego R, Lubian-Lopez DM, Perez-Lopez F. Etiopathogenesis of ovarian cancer. An inflamm-aging entity? Gynecologic Oncology Reports. 2022; 42, 101018)

Iako se inflamacija izdvojila kao zajednički faktor u navedenim hipotezama još uvek nije poznat mehanizam etiopatogeneze karcinoma jajnika.

1.4.1 Dualistički model

Prema novijim saznanjima karcinom jajnika se smatra heterogenom bolešću, sa različitim vrstama tumora, koji su specifični po svom biološkom ponašanju, kliničkim i patološkim karakteristikama i etiopatogenezi. Napretkom morfoloških i molekularnih istraživanja razumevanje etiopatogeneze karcinoma jajnika usmereno je ka dualističkom modelu, koji razlikuje dva tipa karcinoma jajnika.

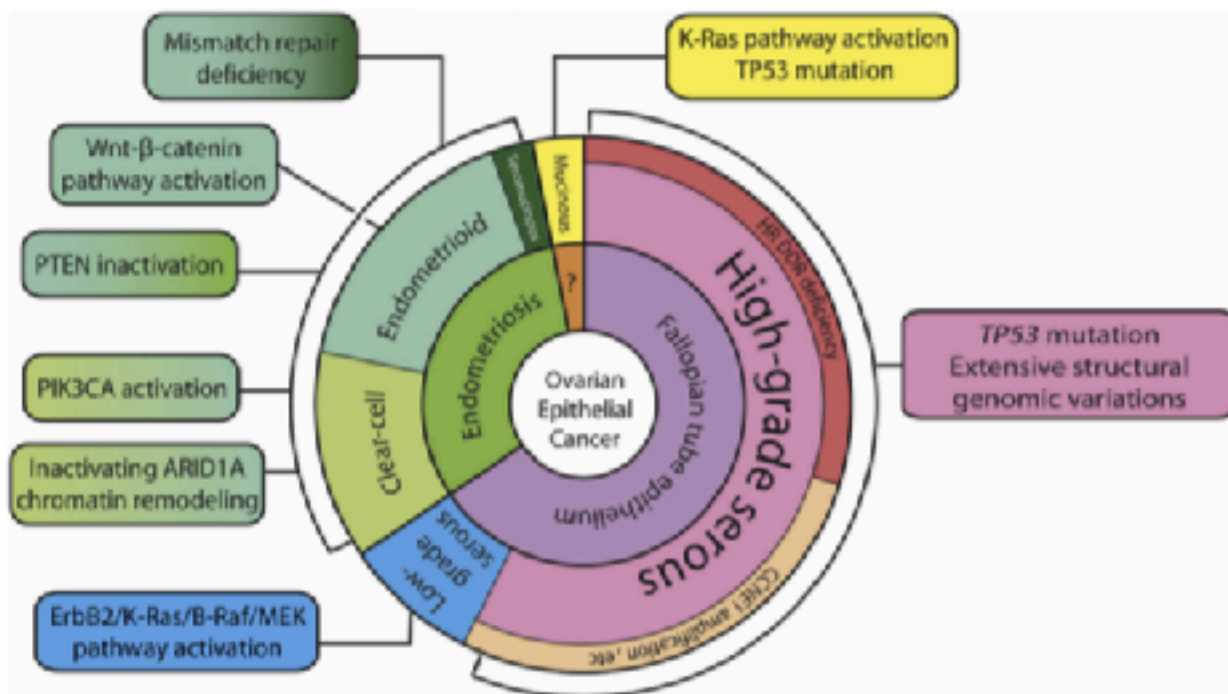
Tip 1 uključuje niskogradusni (*low grade*) serozni karcinom, *low grade* endometrioidni karcinom, karcinom svetlih ćelija (*clear cell*), mucinozni i Brenner-ov (tranzicioćelijski) karcinom. Karakteristično za karcinom jajnika tip 1 jeste da se češće dijagnostikuje u ranoj fazi bolesti, kada je bolest još uvek ograničena na jajnik. Druga važna odlika ovog tipa karcinoma je evolucija od benignih cisti, preko *borderline* (graničnih) tumora (16,17).

Suprotno karcinomu tip 1, karcinom jajnika tip 2 pokazuje agresivniju prirodu, bez definisanih prekursora invazivne bolesti. Tumori tip 2 češće se dijagnostikuju u uznapredovalom stadijumu bolesti, FIGO stadijum III i IV, a čine ih visokogradusni (*high grade*) serozni karcinom, *high grade* endometrioidni, nediferentovani karcinom, kao i karcinosarkomi, koji se svrstavaju u ovu grupu prema osobinama epitelijalne komponente (18). Osim agresivnijeg biološkog ponašanja i lošije prognoze karcinoma jajnika tip 2, oni čine i većinu, 68% svih karcinoma jajnika (19,20).

Tumori tip 1 pokazuju relativnu genetsku stabilnost i specifične mutacije zavisno od podtipa tumora. Gotovo dve trećine tumora imaju mutacije KRAS, BRAF i ERBB2. Suprotno, tumori tip 2

pokazuju veću morfološku homogenost kao grupe, ali genetsku nestabilnost, i značajan procenat TP53 mutacija (slika 4), oko 80%, kao i visok proliferativni indeks Ki67 (50-75%) (17,19).

Mutacije tumor supresor gena BRCA1 (*breast associated cancer*) i BRCA2 su zastupljene kod oko 90% hereditarnih karcinoma jajnika (17,19). Izvesna odstupanja pokazuje *clear cell* karcinom jajnika, koji se ubraja u tip 1 karcinome po svojoj genetskoj stabilnosti, karakterističnoj mutaciji PIK3CA, prezentaciji u ranom stadijmu bolesti ali *high grade* prezentaciji u vreme postavljanja dijagnoze (17,19).

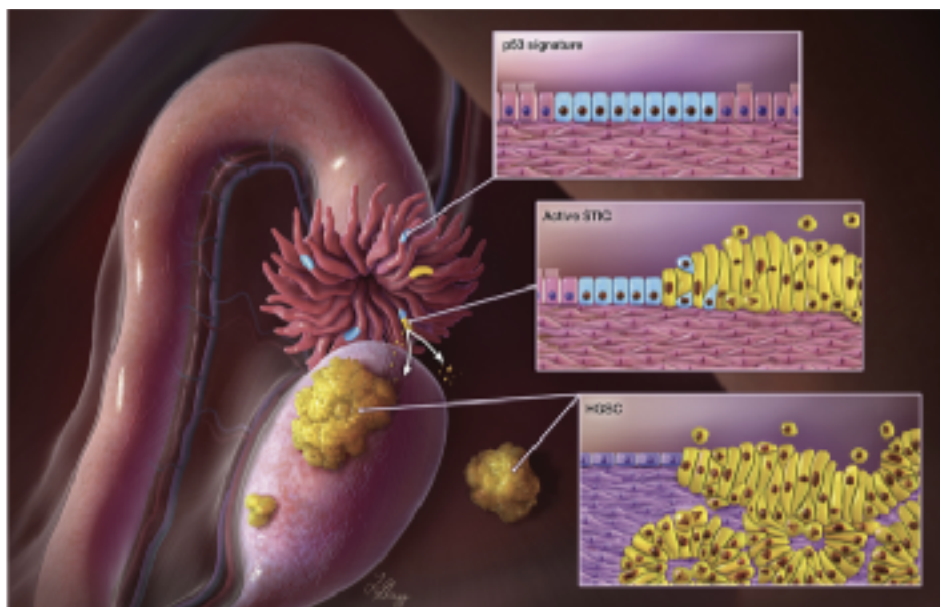


Slika 4. Molekularni profil karcinoma jajnika

(izvor: Shih I, Wang Y, Wang T, The Origin of Ovarian Cancer Species and Precancerous Landscape. Am J Pathol. 2021; 191: 26e39)

Poslednjih godina su istraživanja etiopatogeneze usmerena ka morfološkim i imunohistohemijskim karakteristikama, čime je definisana i heterogenost high grade seroznih karcinoma. Uveden je novi, detaljniji, protokol analize jajovoda i fimbrija, SEE-FIM (sectioning and extensive examination of fimbria), kojim je imunohistohemijskom analizom definisano nekoliko entiteta: STIC (serous tubal intraepithelial carcinoma), p53 signature, SCOUT (secretory cell outgrowth), serozne intraepitelne lezije (STIL) (20,21).

Aktuelna istraživanja naglašavaju značaj STIC, koji je prethodno smatran metastazom karcinoma ovarijuma. Na osnovu molekularnih analiza pokazano je da su telomeraze kod STIC, kao rana promena u karcinogenezi, kraće u odnosu na telomeraze paralelnog high grade seroznog karcinoma (HGSC), što govori u prilog da je primarna promena nastala na samom jajovodu, nakon čega sledi širenje bolesti invazijom mukoze i širenjem na jajnik, serozu creva, omentum i peritoneum po odvajanju od epitela jajovoda (slika 5). Na osnovu ovih saznanja, može se smatrati da je STIC prekursor većine HGSC male karlice (20,21).



Slika 5. Mehanizam nastanka STIC promene, širenje na tkivo jajnika i formiranje HGSC (izvor: Shih I, Wang Y, Wang T, The Origin of Ovarian Cancer Species and Precancerous Landscape. Am J Pathol. 2021; 191: 26e39)

1.5. Osnovni principi dijagnostike i tretmana karcinoma jajnika

Standardni dijagnostički postupci kada postoji sumnja na karcinom jajnika podrazumevaju pregled abdomena i karlice, radiološku i laboratorijsku obradu, određivanje vrednosti tumor markera. U indikovanim slučajevima, mogu biti korisni dodatni pregledi, kao što su endoskopski pregledi, procena reproduktivnog statusa i po potrebi konsultacija endokrinologa i specijaliste infertiliteta. Svrha sprovedenih analiza jeste procena statusa bolesnice i stadijuma bolesti, na osnovu čega se može doneti individualizovana, multidisciplinarna odluka o inicijalnom tretmanu.

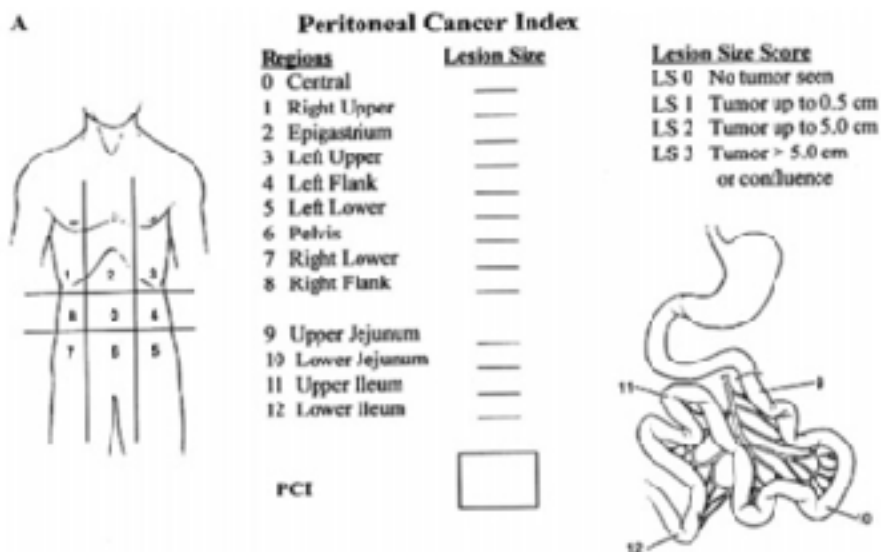
Jedno od prvih pitanja koja se nameću jeste operabilnost, odnosno mogućnost kompletne resekcije. U tu svrhu u kliničkoj praksi se primenjuju matematički modeli, kao što su Fagotti skor i Sugarbaker-ov peritonealni karcinomski indeks (PCI).

Fagotti indeks podrazumeva laparoskopsku procenu i bodovanje sedam parametara kao što je navedeno u tabeli 3. Kao granična vrednost za operabilnost koristi se skor 8, u slučajevima kada je skor ≥ 8 , smatra se da se radi o neoperabilnom statusu i lečenje se započinje primenom hemioterapije (22).

Tabela 3. Fagotti skoring sistem

Fagotti indeks	0	2
Omental cake		
Peritonealna karcinoza		
Dijafragmalna karcinoza		
Retrahovalni mezenterijum		
Infiltracija creva		
Infiltracija želuca		
Metastaze parenhima jetre		
Total 0-14		
0 - ne postoje promene; 2 - prisutne promene		

Sugarbakerov skoring sistem se koristi u otvorenoj hirurgiji i razlikuje 13 segmenata koji se boduju od 0 do 3, zavisno od veličine opisane promene (slika 6). Postoje nesuglasice oko granične vrednosti, te se u literaturi mogu naći vrednosti od 10 do 25 (23).



Slika 6. Bodovanje za peritonealni karcinomski indeks

(izvor: Peritoneal Cancer index (Data from Jacquet P, Sugarbaker

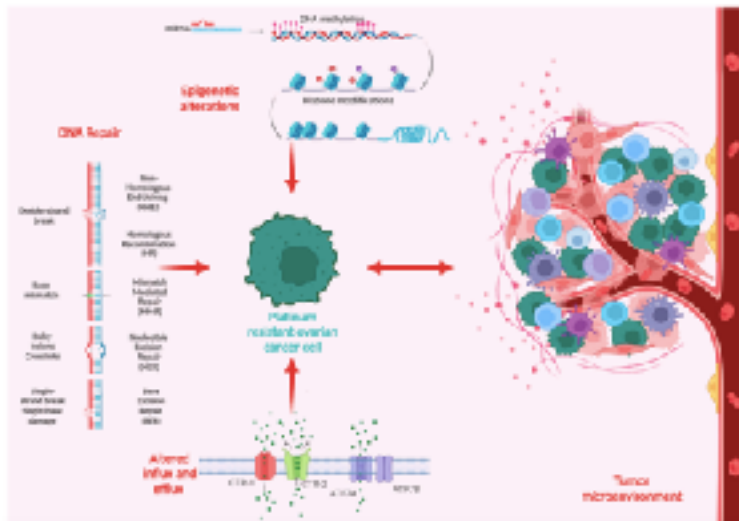
PH. Current methodologies for clinical assessment of patients with peritoneal carcinomatosis. J Exp Clin Cancer Res 1996;15(1):49–58, and is available under a Creative Commons Attribution License 4.0.). Contributed by Dr. Fady Moustarah, MD, MPH. and Jay Desai, MBBS)

Svrha procene statusa bolesti i operabilnosti jeste postizanje kompletne citoredukcije, a značaj adekvatne preoperativne procene dobija na važnosti kada znamo da je rezidualni volumen tumora najznačajniji pojedinačni prognostički faktor za karcinom jajnika (8). Trogodišnje preživljavanje kod kompletne citoredukcije iznosi 72,4%, dok se značajno smanjuje kada postoji rezidualni tumor ≤ 1 cm 65,8% ili tumor veći od 1 cm 45,2% (24). Shodno ovome kod pacijentkinja sa uznapredovalom bolešću se primenjuje neoadjuvantna hemioterapija i “interval debulking” hirurško lečenje (25).

Nakon operativnog lečenja i procene faktora rizika, u indikovanim slučajevima primenjuje se adjuvantni tretman. Prva linija adjuvantne terapije, kao i inicijalno lečenje kod neoperabilnih pacijentkinja, jeste kombinacija paclitaxela (175 mg/m²) i carboplatine (AUC5) (26,27,28). Bez obzira na dobar odgovor na primenjenu terapiju kod 80% pacijentkinja se očekuje recidiv bolesti, te petogodišnje preživljavanje kod pacijentkinja sa karcinomom jajnika iznosi 30-40% (27,2).

Druga linija lečenja zavisi od intervala nakon inicijalnog odgovora na terapiju, kojim razlikujemo platina senzitivne i platina rezistentne tumore (29). Kao prognostički najlošija podgrupa izdvajaju se platina refraktarni tumori, kod kojih do progresije bolesti dolazi tokom ili do mesec dana od sprovedene terapije (30). U tom slučaju druga linija terapije podrazumeva neplatinske preparate.

Opisano je nekoliko mehanizama rezistencije na platinu i možemo ih svrstati u epigenetske, koji indirektno utiču na funkciju DNK, zatim različiti mehanizmi popravke DNK, promene na nivou ćelijske membrane, koje utiču na ulazak leka u ćeliju, kao i promene u tumorskom mikrokruženju (slika 7)(30). Opisani mehanizmi su predmet istraživanja aktuelnih studija usmerenih ka ciljanom tretmanu karcinoma.



Slika 7. Mehanizmi rezistencije karcinoma na platinske preparate

(Izvor: Havasi A, Cainap SS, Havasi AT, Cainap C. Ovarian Cancer-Insights into Platinum Resistance and Overcoming It. *Medicina (Kaunas)*. 2023 Mar 10;59(3):544. doi: 10.3390/medicina59030544. PMID: 36984544; PMCID: PMC10057458.)

Intenzivna istraživanja u oblasti karcinoma jajnika dovela su do izvesnih pomaka u njegovom lečenju od kojih se izdvajaju uvođenje *bevacizumaba* u prvu liniju lečenja uz navedenu hemioterapiju, kod visokorizičnih grupa (suboptimalno operisani u stadijumu III i stadijum IV) (31,32). Bevacizumab pripada familiji vaskularnih endotelnih faktora rasta sačinjenoj od pet cirkulišućih faktora, koji se vezuju za tri vrste receptora VEGFR1 (zadužen za motilitet leukocita), VEGFR2 (ekspresija na endotelnu

krvnih sudova), VEGF3 (ekspresija na endotelnu limfnih sudova). Uloga VEGF nije samo dobro poznati efekti na neoangiogenezu, promena osmolarnosti i propustljivosti citostatika, nego i izmena tumorskog mikrokruženja, što zajedno ima posledicu na efekat primenjene hemioterapije (33).

Smanjenjem adhezivnih molekula na endotelu, onemogućena je propustljivost imunih ćelija u tumor, sa druge strane inhibitorynim uticajem na T ćelije i stimulacijom regulatornih T ćelija, stvara se imunosupresivno mikrokruženje. Takođe, u prilog ovome stoji i direktan uticaj na maturaciju dendritičkih ćelija, kao i povećana ekspresija molekula programirane ćelijske smrti (PD-1), citotoksični T limfocit antigen (CTLA-4) na površini ćelija. Jedan od primera međusobnog odnosa jeste i odnos vaskularnih endotelnih faktora rasta sa PD-1 (33). Sinhrona primena bevacizumaba sa hemioterapijom otvara i pitanje potrebe za redefinisanjem platina senzitivnosti.

Značajan pomak u lečenju obolelih od karcinoma jajnika učinjen je uvođenjem poli(ADP-riboza) polimeraza (PARP) inhibitora, prvobitno kod bolesnica sa platina senzitivnim relapsom bolesti i detektovanim BRCA mutacijama, kod kojih je uvođenjem postignuto preživljavanje duže za 12,9 meseci (34). Nakon čega je prema rezultatima SOLO1 studije uvedena terapija olaparibom i u prvoj liniji lečenja (35). Prema rezultatima PAOLA1 studije u prvoj liniji lečenja kod pacijentkinja sa defektom homologne rekombinacije (HRD) indikovana je primena kombinacije *olapariba* i *bevacizumaba*, s obzirom na to da je pokazano duže petogodišnje preživljavanje u ovoj grupi pacijentkinja (HR 0,62, 95% CI 0,45-0,85), kao i PFS (HR 0,41, 95% CI 0,32-0,54) (36). Kako su BRCA mutacije deo mehanizma homologne rekombinacije, kao i da su prisutne samo kod oko 15% karcinoma jajnika, ovim je prošireno indikaciono polje na HRD pozitivne pacijentkinje kojih je kod karcinoma jajnika oko 50%. Iz grupe PARP inhibitora u primeni su još i rucaparib za platina senzitivne pacijentkinje sa BRCA mutacijama ili sa genomskim gubitkom heterozigotnosti, kao potencijalnim faktorom HRD (37). Drugi agens je niraparib, odobren za primenu kod platina senzitivnih karcinoma jajnika, nezavisno od BRCA ili HRD statusa (38).

Celokupna onkologija ide u pravcu specifične, ciljane terapije. Kada je reč o karcinomu jajnika, najviše ispitivana je blokada checkpoint inhibitora, prvenstveno PD-L1. Mađutim, dosadašnje studije su pokazale umeren odgovor na ovu vrstu tretmana.

Najznačajnije studije u ovom pravcu su pokazale umeren odgovor 8-11,5% (39,40). KEY-NOTE-028 pokazala je prihvatljivu toksičnost primene *pembrolizumaba* kod PD-L1 pozitivnih pacijentkinja sa karcinomom ovarijuma, sa jednim slučajem (3,8%) neželjenih efekata gradus 3. Ispitana je

ukupna stopa odgovora (ORR), dužina odgovora, PFS i OS. ORR je bio 11,5% (95% CI 2,4-30,2%), a dužina odgovora kod ovih pacijentkinja je bila $\geq 20,5$ meseci (39). Nakon Keynote-028 usledila je Keynote-100, studija faze II, koja je takođe pokazala umeren odgovor (ORR 8%(95% CI 5,4-11,2)) na monoterapiju *pembrolizumabom*, dok je kontrola bolesti postignuta kod oko 37% ispitivanih pacijentkinja. Sa nešto boljim odgovorom kod pacijentkinja u kohorti sa više prethodnih linija hemioterapije. Pomak je načinjen u smislu procene predikcije na terapiju *pembrolizumabom*. Pacijentkinje sa CPS > 10 za PD-L1 su imale bolji odgovor (ORR 17,1% (95% CI 9,7-27,0) (40).

Novija istraživanja, kada je u pitanju terapija, usmerena su ka racionalnoj upotrebi kombinacije terapijskih opcija. Studija faze II, MEDIOLA, pokazala je značajan ORR kod pacijentkinja sa platina senzitivnim recidivom karcinoma ovarijuma i germinativnim BRCA mutacijama koje su primale dvojnju terapiju olaparib i durvalumab (92,2% (95% CI 81,1–97,8)), sa kompletnim odgovorom kod 43,1% pacijentkinja (41). U kohorti pacijentkinja kod kojih nisu detektovane germinativne BRCA mutacije, bolji odgovor je postignut kada je navedenoj kombinaciji lekova dodat i *bevacizumab* 74,2% (90% CI, 58,2–86,5) u odnosu na kohortu koja je primala samo dvojnju terapiju (28,1% (90% CI, 15,5–43,9)). S obzirom na to da se radi o grupi pacijentkinja koje su primile više linija terapije, značajno je da kombinacija lekova nije pokazala nove toksičnosti vezano za trojnu terapiju. Ono što je možda i najveći nedostatak ove studije, jeste što ne postoji kontrolna grupa pacijentkinja koje su dobijale samo olaparib, čija efikasnost je pokazana u Solo3 studiji (84,6% u odnosu na 61,5% kod pacijentkinja koje su primale hemioterapiju (OR 3,44 (95% CI 1,42-8,54)) (42).

Ne treba zanemariti ni činjenicu da postoje brojni kostimulatorni i koinhibitorni molekuli (tabela 4) koji pojedinačno ili u različitim odnosima mogu uticati na izmene tumorskog mikrookruženja i zahtevaju pažnju pri analizi kako sa aspekta etiopatogeneza, tako i ciljane terapije karcinoma jajnika(43).

Tabela 4. Kostimulatorni i koinhibitorni molekuli u ginekološkim malignitetima

Kostimulatorni mehanizmi	Koinhibitorni mehanizmi
--------------------------	-------------------------

TNF receptor superfamilija (CD27, OX40, 4-1BB), CD40, GITR (glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor), ICOS (inducible co-stimulator/CD278), B7-H6	PD-1, TIM3(T cell immunoglobulin-3), TIGIT (T cell immunoreceptor with immunoglobulin, ITIM (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif) domen, LAG3 (Lymphocyte activation gene-3), VISTA (V-type immunoglobulin domain-containing suppressor of T cell activation), B7-H3 (CD276) i B7-H4
---	---

1.6. Uloga imunog sistema u onkogenezi

Naznake da imunološki odgovor zauzima značajno mesto u tretmanu malignih bolesti, postoje još iz perioda drevnog Egipta. Zabeleženo je da kod pojedinih pacijentata obolelih od maligne bolesti može doći do smanjenja tumora ukoliko je prisutna i infekcija, kao pokretač imunog odgovora. U Evropi su zabeleženi pokušaji ciljanog unošenja patogena u ovu svrhu. Jedan od prvih je Wilhelm Busch, koji je pacijenta sa dijagnostikovanom uznapredovalim sarkomom inficirao streptokokom (*Streptococcus pyogenes*), nakon čega je zabeleženo smanjenje tumora ali sa letalnim ishodom u narednim danima (44). Ovakav primer oslikva upravo važnost balansa imunog odgovora ali i toksičnosti primenjenih agenasa.

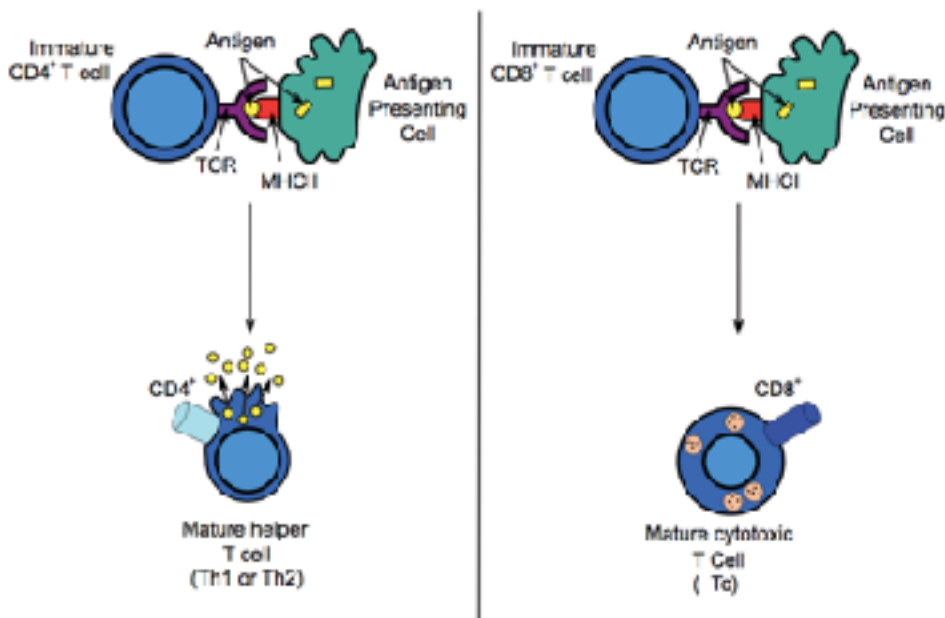
Brojne su studije koje istražuju široko polje imunologije karcinoma jajnika. Onkogeneza za imunološki sistem pojedinca predstavlja nastanak neoantigena i očekivano bi bilo da nenarušen imuni sistem prepozna i eliminiše ovako nastale antigene.

Međutim, u nastanku tumora značajnu ulogu ima izbegavanje imunog odgovora. Da bismo razumeli mehanizam izbegavanja imunog odgovora, potrebno je da poznamo normalan imunološki odgovor i njegove mehanizme ograničavanja, imunologiju i biologiju tumora, kao i njihov međusobni odnos.

Osnovna uloga imunog sistema jeste odbrana organizma, uz prepoznavanje i toleranciju sopstvenih antigena. Razlikujemo urođeni i stečeni imuni odgovor (44).

Kao prva linija odbrane od patogena uključuje se urođeni imuni odgovor, sa svojim celularnim i humoralnim komponentama. Odlikuje ga primitivniji, promptan ali ne i visokospecifičan odgovor na patogene. Komponente urođenog imunog sistema čine fagociti, NK (natural killer) ćelije, granulociti i sistem komplemenata. Stečeni imuni odgovor je, za razliku od urođenog, precizniji, antigen specifičan i zahteva vreme. Stečeni imuni odgovor se ostvaruje posredstvom T ćelija, kojim se ostvaruje ćelijski odgovor i B ćelija, koje produkcijom antitela čine humoralnu komponentu stečenog imunog odgovora. Značajna karakteristika stečenog imuniteta je stvaranje takozvanih “imunoloških sinapsi” i imunološka memorija (44).

Da bi došlo do pokretanja imunog odgovora potrebno je prvo da se ostvari kontakt sa antigenom. Ovo se dešava stvaranjem imunoloških sinapsi na nivou T ćelijskih receptora i antigen prezentujućih ćelija (APĆ) (slika 8), koje pomoću glavnog kompleksa histokompatibilnosti (MHC - major histocompatibility complex) na svojoj površini prezentuju “pripremljene” antigene. Dalji tok ide u pravcu aktivacije T ćelijskog odgovora i zavisi od vrste APĆ, odnosno, da li se u kompleksu nalaze profesionalne ili neprofesionalne APĆ. Profesionalne APĆ nakon fagocitoze antigena isti prezentuju i ostvaruju sinapse sa CD4+ pomoćnim T ćelijama (Th) 1 pomoću MHC klase II (slika 8). APĆ koje koriste MHC klase I prezentuju antigene CD8+ T ćelijama (citotoksične T ćelije), što za posledicu ima produkciju citokina (TNF α , IFN γ) i interleukina 2 (IL-2) (44,45).



Slika 8. Aktivacija T ćelija posredstvom APC u pravcu T helper ili citotoksičnih T ćelija
(izvor: https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/4/4d/Antigen_presentation.svg)

Sinapsa sama za sebe nije dovoljna da bi došlo da aktivacije T ćelija. Aktivacija se dešava kao posledica kostimulatornih signala između CD80 (B7-1) i CD 86 (B7-2) na APC i CD28 na T ćeliji, što rezultuje fosforilacijom *immune receptor tyrosine-based activation motifs* (ITAMs).

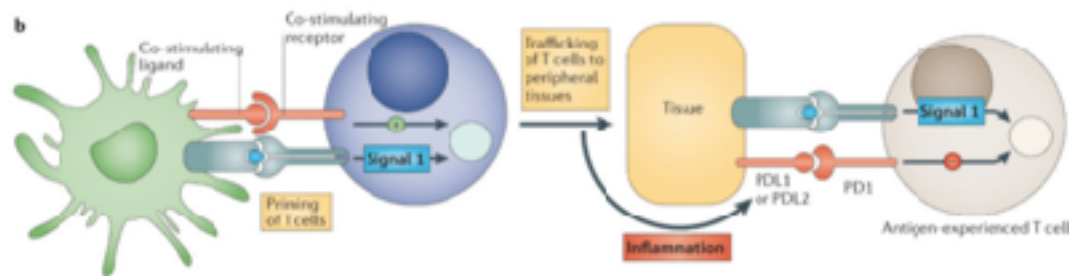
Tek nakon opisane fosforilacije T ćelijskih receptora, dolazi do pokretanja kaskadnih signala i produkcije citokina kao sekundarnih ćelijski glasnika, koji imaju efektornu ulogu u ćelijskoj apoptozi. Opisani mehanizam je stimulatorni i nije jedinstven, poznati su brojni signalni putevi između APC i T ćelija.

Poznato je, takođe, da je ekspresija receptora na površini T ćelija regulisana i da raste u određenim stanjima, kao što je inflamacija i prisustvo neoantigena.

U regulaciji imunog odgovora značajnu ulogu imaju i inhibitorni mehanizmi, kao i njihova ravnoteža sa opisanim stimulatornim mehanizmima. Osnovna uloga inhibitora jeste imuna tolerancija, čime se sprečava dejstvo imunog odgovora na sopstvene ćelije (centralna tolerancija) i nastanak autoimunih bolesti, tolerancija fetusa kao semialogena, kao i antigena iz digestivnog trakta (periferna tolerancija). Osim opisane tolerancije, značajno mesto zauzima i ograničavanje inflamatornog odgovora.

Ovo se ostvaruje na različitim nivoima. Jedan vid imune tolerancije je negativna selekcija u timusu i koštanoj srži, eliminacijom autoreaktivnih T i B limfocita. Sa druge strane inhibitorni mehanizmi ostvaruju se i na nivou imunih sinapsi, negativnim kostimulatornim molekulima poznatim i kao imunološke kontrolne tačke (immune checkpoint), kao što su PD-1, CTLA4, TIM-3, BTLA, VISTA, LAG-3. Njihova ekspresija se dešava pod dejstvom oslobođenih citokina, što zahteva izvestan vremenski interval nakon stimulacije T ćelije (slika 9) (45). Iz ove grupe receptora najviše je ispitivan protein programirane ćelijske smrti 1 (PD-1) ili CD279 (47). PD-1 je transmembranski receptor tip I iz grupe imunoglobulina i nije isključivo vezan za T ćelije, njegova ekspresija zabeležena je i na B ćelijama, dendritičnim ćelijama (DC), tumor infiltrišućim limfocitima (TIL) (46,47). Uticaj na T ćelijski odgovor ostvaruju na periferiji (46). Nakon aktivacije T limfocita i oslobađanja citokina u tkivima dolazi do ekspresije liganda PD-1 (PDL-1 (B7-H1 i CD274), za koji se vezuje PD-1 protein sa površine T ćelija i potom pokreće kaskadni mehanizam inhibicije i ograničavanja imunog odgovora, kao i produkcije in-

terleukina 10 (IL-10) u samom tumoru. Ovim mehanizmom se sprečava eliminacija tumora posre-



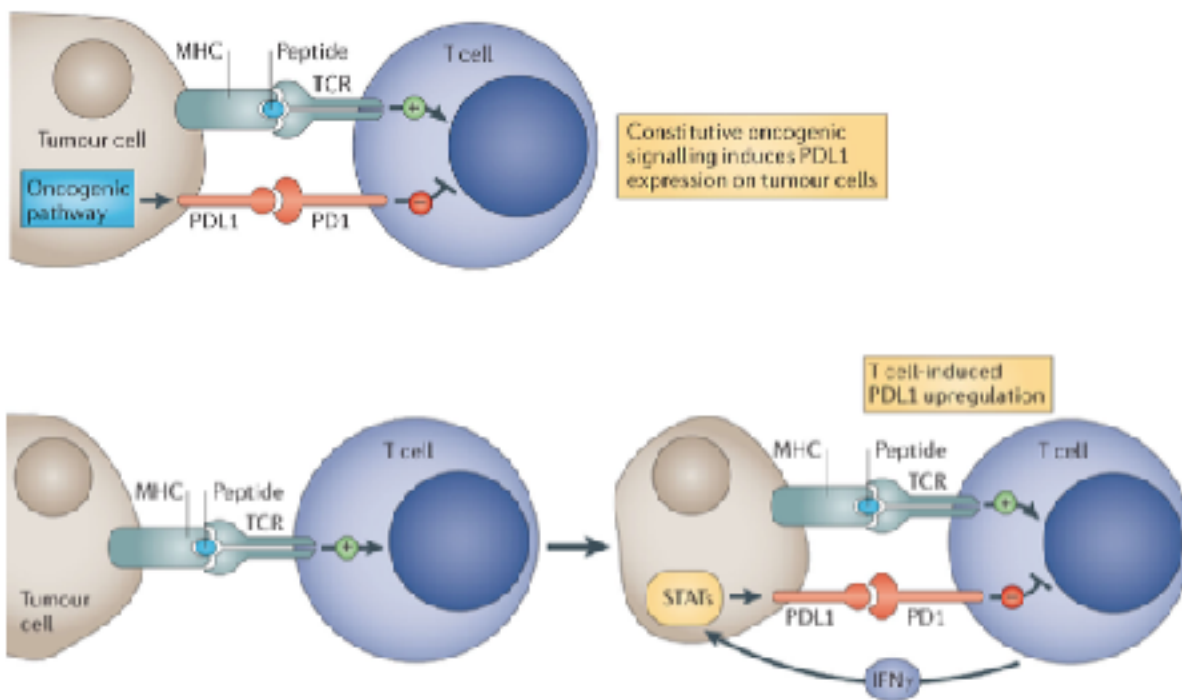
dovana T
ćelijskim
odgov-
orom
(47).

Slka 9. Mehanizam regulacije checkpoint inhibitora u imunom odgovoru (povećana ekspresija usled prisustva proinflamatornih faktora u tokivu)

(izvor: Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. Nat Rev Cancer. 2012;12(4):252-64.)

Inhibitorni efekat PD-1 ostvaruje se i vezivanjem za druge molekule prisutne na površini T ćelija, za koje PD-1 ima afinitet, kao što je protein B7-1 (CD80), PDL-2 (B7-DC; CD273) te tako dodatno utiče na negativnu regulaciju T ćelija (45,47). Takođe, povećanom diferencijacijom CD4+ T ćelija ka regulatornim T ćelijama (Treg) (CD4+Foxp3+), kao posledica vezivanja PD-1 i PDL-1 u prisustvu CD3 i TGF- β , stvara se i održava imunosupresivno okruženje koje pogoduje preživljavanju i progresiji tumora. Održavanje Foxp3 ekspresije ostvaruje se inhibicijom *Akt-mammalian target of rapamycin* (mTOR) signala i povećanom aktivnošću fosfataza i tenzin homologa (PTEN) (45,46,47). Ovim se potvrđuje da uticaj PDL-1 nije ograničen samo na direktnu inhibiciju T ćelijskog odgovora, nego i indirektno, uticajem na povišenu ekspresiju Treg. Podatak da je ekspresija PDL-1 značajno veća u tumorskom u odnosu na druga tkiva, za razliku od kostimulatornih mehanizama koji nisu u toj meri naglašeni, govori u prilog ulozi "checkpoint" mehanizama u imunnoj toleranciji i važnosti studija koje ispituju dejstvo checkpoint inhibitora u terapiji karcinoma (47).

Do sada su opisana dva moguća mehanizma regulacije ekspresije PDL-1 na tumorskim ćelijama: urođeni i stečeni (slika 10). Kada su signali koji dovode do ekspresije PDL-1 već postojeći onkogeni signalni putevi, koji su nezavisni od proinflamatornog mikrookruženja tumora (TME), govorimo o urođenim mehanizmima rezistencije. Opisan je uticaj aktivacije Akt i STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3) na povišenu ekspresiju PDL-1. Sa druge strane TME, na prvom mestu proinflamatorni citokini oslobođeni iz efektornih T ćelija, stvaraju uslove za povišenu ekspresiju PDL-1 u tumorskom tkivu i čine mehanizam adaptivne rezistencije (45).



Slika

10. Mehanizmi izbegavanja imunog odgovora na nivou tumora (gornja šema urođeni, donja šema stečeni mehanizmi)

(izvor: Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. Nat Rev Cancer. 2012;12(4):252-64.)

Opisani mehanizmi čine deo mikrookruženja tumora (TME), koje je sačinjeno kako od samih karcinomskih, tako i od okolnih neizmenjenih ćelija i predstavlja dinamičku sredinu čije su komponente i njihov međusobni odnos premet brojnih aktuelnih studija u onkologiji.

Nekarcinomsku ćelijsku komponentu čine imune ćelije mijeloidne loze (tumour associated macrophages (TAM), myeloid-derived suppressor cells (MDSC), tumour associated neutrophils (TANs)), tumor infiltrirajući limfociti (TIL) i druge ćelije limfoidne loze. Neimune ćelije (mezotelne ćelije, CAF (cancer associated fibroblast), epiermalne ćelije) su takođe važan deo TME i zajedno sa imunim ćelijama stvaraju imunosupresvino okruženje koje pogoduje preživljavanju i progresiji karcinoma jajnika (48).

Kako bi se ostvario uzajamni uticaj neophodna je međusobna komunikacija elemenata TME, koja je posredovana medijatorima: citokini, faktori rasta, proinflamatorni faktori i enzimi, koji zajedno sa elementima strome (ekstraćelijski matriks, fibroblasti, krvni i limfni sudovi, nervi, ćelije krvi), formiraju TME karcinoma jajnika.

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

1. Odrediti ekspresiju PD-L1 receptora u tumorskom tkivu karcinoma jajnika kod bolesnica u FIGO stadijumu III i IV
2. Uporediti ekspresiju PD-L1 receptora kod različitih tipova karcinoma jajnika
3. Ispitati povezanost ekspresije PD-L1 receptora i odgovora na standardnu terapiju
4. Ispitati povezanost ekspresije PD-L1 i vremena do progresije bolesti

3. MATERIJAL I METODE

Istraživanje je kohortna studija u kojoj je analizirana ekspresija PD-L1 i njen prognostički značaj kod obolelih od karcinomom jajnika. Istraživanje je sprovedeno kod bolesnica lečenih na Odeljenju ginekologije Klinike za operativnu onkologiju Instituta za onkologiju Vojvodine u periodu 2012-2016. godine.

Retrospektivni deo istraživanja uključio je prikupljanje demografskih podataka, informacija o kliničko-patološkim karakteristikama tumora, načinu lečenja i ishodu bolesti. Podaci su prikupljeni iz istorija bolesti u informacionom sistemu Instituta (BIRPIS). Kliničko-patološke karakteristike tumora uključene u analizu bile su patohistološki (PH) tip tumora, FIGO stadijum bolesti u trenutku postavljanja dijagnoze, histološki gradus, status limfovaskularne invazije. Dijagnoza karcinoma jajnika postavljena je patohistološkom analizom materijala dobijenog biopsijom tumora ili analizom nakon operativnog lečenja u Institutu za onkologiju Vojvodine. Za odabrane pacijentkinje prikupljeni su podaci o vrsti primarnog tretmana (operativno lečenje ili hemioterapija), kao i odgovoru na sprovedeno lečenje. Hirurško lečenje je definisano kao kompletna resekcija (bez rezidualnog tumora), optimalna resekcija (rest tumora do 1 cm), suboptimalna resekcija (rest tumora veći od 1 cm i eksplorativna hirurgija u cilju PH verifikacije tumora). Odgovor na hemioterapiju procenjivan je prema Response Evaluation Criteria in Solid Tumours (RECIST kriterijumu) (49). Podaci o toku i progresiji bolesti su takođe prikupljeni iz BIRPIS-a. Progresija bolesti je definisana na osnovu radiološki potvrđene progresije. Podaci o toku bolesti prikupljeni su za petogodišnji period.

Kriterijumi za uključivanje u analizu:

1. Bolesnice starije od 18 godina
2. Histološki dokazan karcinom jajnika
3. Dostupni podaci o toku bolesti za period od 5 godina
4. Dostupnost histoloških uzoraka
5. Adekvatnost uzorka za analizu PD-L1 statusa

Kriterijumi za isključivanje iz analize:

1. Bolesnice sa sinhronim malignim tumorom druge lokalizacij
2. Raniji malignitet ukoliko je od istog proteklo manje od pet godina
3. Nedostupni podaci o toku bolesti za period od 5 godina
4. Nedostupni histološki uzorci
5. Neadekvatni histološki uzorci za analizu PD-L1 statusa

Kod ovako selektovanih pacijentkinja prospektivno je analiziran status PD-L1 receptora u tumorskom tkivu. Analiza ekspresije PD-L1 je vršena od strane patologa službe za patološko-anatomsku i laboratorijsku dijagnostiku Instituta za onkologiju Vojvodine u Sremskoj Kamenici. Korišćeni su prethodno fiksirani preparati formalinom i ukalupljeni u parafin. Uzorci su sečeni na 4-5 μm . Po pripremi preparata bojenje je vršeno primenom antitela PD-L1 IHC Dako 22c3. PD-L1 pozitivno bojenje definisano je ukoliko je membrana tumorske ćelije delom ili čitavom cirkumferencijom obojena, nezavisno od intenziteta. Analizirana je ekspresija na ćelijskoj membrani tumorskih ćelija, tumor infiltrišućih limfocita i tumor infiltrišućih makrofaga. Interpretacija je podrazumevala ekspresiju pojedinačno i u vidu scoring sistema, Tumor proportion score (TPS) i Combined positive score (CPS):

$\text{TPS} = \text{PD-L1 pozitivne tumorske ćelija} / \text{ukupan broj tumorskih ćelija} \times 100$

$\text{CPS} = \text{broj PD-L1 pozitivne ćelije (tumorske ćelije, limfociti, makrofagi)} / \text{ukupan broj vijabilnih tumorskih ćelija} \times 100$

Analizirana je ekspresija PD-L1 u uzorku, kao i njegoa povezanost sa kliničkopatološkim karakteristikama tumora, odgovorom na primarni tretman i ishodom bolesti.

Analiza podataka primenjena nad kategorijalnim varijablama je sprovedena primenom frekvencijskom metoda i Pirsonovog χ^2 testa. Frekvencijski metod je primenjen sa ciljem da se utvrdi frekvencija i procenat kategorija pojedinačnih varijabli. Pirsonov χ^2 test je primenjen sa ciljem da se utvrdi povezanost između kategorija dve varijable.

Rezultati analize preživljavanja su predstavljeni u kontekstu Kaplan-Majer krive preživljavanja i Koksovog modela proporcionalnih hazarda. Ukupan period praćenja pacijentkinja iznosio je 5 godina od postavljene dijagnoze.

Sve statističke analize su sprovedene u programima SPSS for Windows v25 (IBM Corp., 2017) i R for Windows v4.2.1. (R Core Team, 2022) (50,51). Rezultati su prikazani tabelarno i grafički.

4. REZULTATI

Ispitivanu grupu pacijentkinja sa karcinomom jajnika činile su pacijentkinje starije životne dobi. Pik incidencije zabeležen je u intervalu od 71 do 75 godina starosti, kako u celokupnom uzorku, tako i u podgrupi pacijentkinja kod kojih je analiziran PDL status. U odnosu na starost, ispitanice su imale najčešće od 71 do 75 godina (24,66% - ceo uzorak i 26,32% - poduzorak kojem je određen PDL status) ili od 66 do 70 godina (17,81% i 21,05%). Nešto manji procenat činila je podgrupa u starosnoj dobi od 61 do 65 godina (13,7% i 13,16%). Prosečna starost na nivou celog uzorka iznosila je 65,89 godina (SD = 11,23) dok je na nivou poduzorka ispitanica kojima je određen PDL iznosila 66,39 godina (SD = 9,25). Kliničke karakteristike celokupnog uzorka i poduzorka ispitanica kod kojih je analiziran PD-L1 status su gotovo identične i predstavljene su Tabelom 5 za celokupan uzorak.

Većina ispitanica je imala tumore visokog histološkog gradusa (78,1% i 78,95%) i sa prisutnom limfovaskularnom invazijom (84,90% na nivou celog uzorka i 85,70% u poduzorku). Nakon analize stadijuma bolesti evidentno je da su značajnu većinu u ispitivanom uzorku činili uznapredovali stadijumi bolesti (83,60% i 84,21%), FIGO stadijum III i IV. Isti odnos postojao je i kada su poređeni tumori tip 1 i tip 2. U celokupnom uzorku češće su dijagnostikovani tumori tip 2 u odnosu na tip 1 (83,60% vs. 16,40%), kao i u poduzorku u kom je analiziran PD-L1 status (84,21% vs. 15,79%).

Daljom obradom dostupnih podataka nakon definisanja osnovnih karakteristika uzorka, analizirali smo i vrstu primarnog tretmana, kao i odgovor na standardnu hemioterapiju. Kod 37% (36,84% u podgrupi) pacijentkinja dijagnoza je potvrđena biopsijom, dok je kod preostalih sprovedeno primarno hirurško lečenje i to kod 1,40% kompletna resekcija, kod 17,80% optimalna resekcija i kod 34,20% suboptimalna resekcija. Komparabilne podatke smo dobili i u podgrupi, bioptirano je 36,84% pacijentkinja, kompletna resekcija nije postignuta ni kod jedne pacijentkinje, optimalna resekcija je postignuta kod 21,05% i suboptimalna kod 31,58% pacijentkinja. Kod 7 (9,60%) odnosno 4 (10,53%) pacijentkinje nedostaje podatak o vrsti hirurškog zahvata. Prema standardnom protokolu pacijentkinje su u prvoj liniji primile platina baziranu terapiju (taxol i carboplatina). U celokupnom uzorku i poduzorku većina pacijentkinja je imala platina senzitivnu bolest (72,60% i 76,32%), nezavisno od primarnog tretmana (operativno lečenje ili primarno hemioterapija). Kompletan odgovor na terapiju zabeležen je kod

67,10% i 71,05% pacijentkinja, kod 4,10% i 5,26% odgovor na terapiju je bio parcijalan, dok je kod 20,5% i 13,16% postojala progresija bolesti u toku terapije. Samo kod jedne pacijentkinje iz grupe sa postignutim odgovorom na terapiju zabeležena je progresija unutar 6 meseci, dok je preostalih 53 ispitanica (72,60%) imalo platina senzitivnan odgovor.

Prosečno vreme bez progresije bolesti za celokupan uzorak ispitanica iznosilo je 13,96 (SD = 15,08), dok je prosečan PFS za grupu ispitanica kod kojih je analiziran PD-L1 bio 14,56 (SD = 15,35). Kada je analiziran PFS u odnosu na gradus, najveći broj ispitanica ima visok gradus i bile su platina senzitivne (53,42% i 57,89%) ali povezanost između PFS i gradusa nije statistički značajna ni na celokupnom uzorku ($\chi^2(1) = 1,36, p = ,243$) ni u poduzorku u kom je određen PD-L1 ($\chi^2(1) = 1,26, p = ,606$).

Tabela 5. Kliničke karakteristike celog uzorka.

Varijabla	Kategorija	F	%
Starost (godine)	Do 40	2	2.74
	Od 41 do 45	0	0.00
	Od 46 do 50	4	5.48
	Od 51 do 55	6	8.22
	Od 56 do 60	9	12.33
	Od 61 do 65	10	13.70
	Od 66 do 70	13	17.81
	Od 71 do 75	18	24.66
	Od 76 do 80	4	5.48
	Preko 80	7	9.59
FIGO stadijum	I i II	12	16,40
	III i IV	61	83,60

Tip karcinoma ovarijuma	Tip 1	12	16,40
	Tip 2	61	83,60
Gradus	Nizak	13	17,80
	Visok	57	78,10
	Nedostaje	3	4,10
Operacija	Nije bilo operacije	27	37,00
	Kompletna resekcija	1	1,40
	Optimalna resekcija	13	17,80
	Suboptimalna resekcija	25	34,20
	Nedostaje podatak	7	9,60
Odgovor na terapiju platinom	Platina senzitivne	53	72,60
	Platina rezistentne	20	27,40
Odgovor na terapiju	Kompletan	49	67,10
	Parcijalni odgovor	3	4,10
	Progresija bolesti	15	20,50
	Nedostaje	6	8,20
Gradus i PFS	Nizak gradus - platina senzitivne	11	15,06
	Nizak gradus - platina rezistentne	2	2,73
	Visok gradus - platina senzitivne	39	53,42
	Visok gradus - platina rezistentne	18	24,65
	Nedostaje (Gradus i/ili PFS)	3	4,10
	Nije prisutna	7	9,60

Limfovaskularna invazija	Prisutna	62	84,90
	Nedostaje podatak	4	5,50

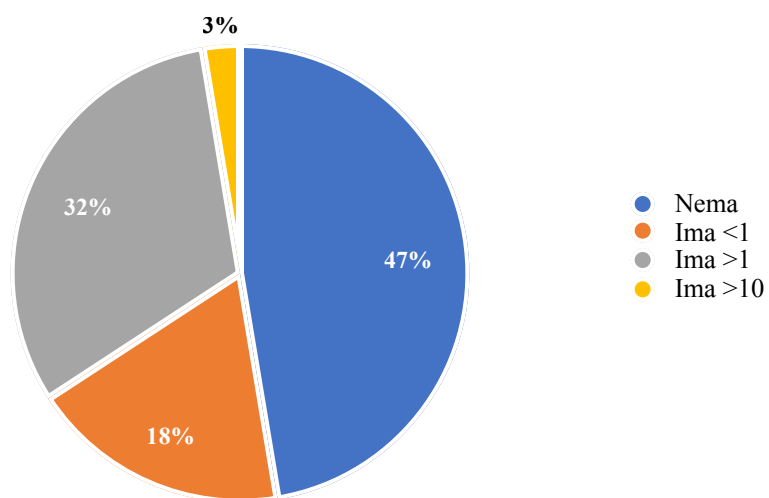
4.1. Ekspresija PD-L1

Ekspresija PD-L1 na tumor infiltrirajućim limfocitima (TIL), tumor asociranim makrofagima (TAM) i tumorskim ćelijama (TC;TPS) je prikazana grafikonom 1. U našem uzorku ekspresija PD-L1 bila je najizraženija na tumor infiltrirajućim limfocitima (Grafikon 1a), kod 53% ispitanica. Nađeno je da 18% ima ekspresiju manju od 1, 32% veću od 1 a manju od 10 i 3% ima ekspresiju veću od 10. Ekspresija PD-L1 na tumor asociranim makrofagima (Grafikon 1b) je zabeležena kod 40% ispitanica. U 11% uzoraka ekspresija na tumor asociranim makrofagima bila je manja od 1, u 24% veća od 1 a manja od 10 i u 5% uzoraka ekspresija je bila veća od 10. Ekspresija PD-L1 na tumorskim ćelijama (Grafikon 1c) je bila prisutna kod 21% ispitanica, od toga 11% sa ekspresijom manjom od 1, 5% većom od 1 a manjom od 10 i u 2% uzoraka većom od 10.

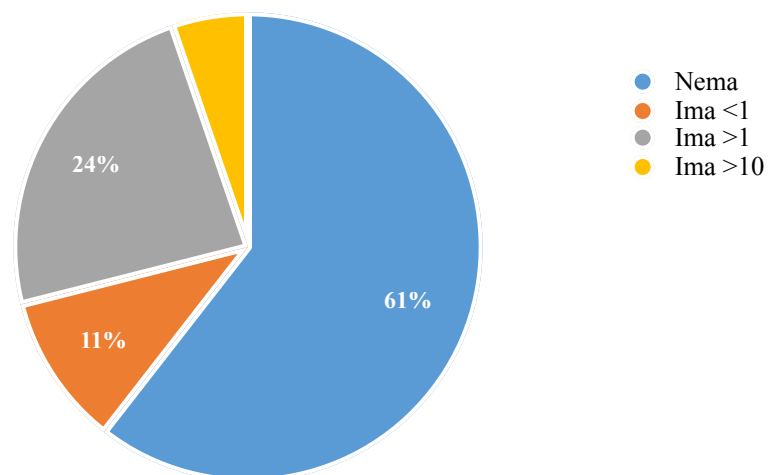
Kada se dobijeni rezultati sagledaju pojedinačno, primetno je da je ekspresija PD-L1 u većem stepenu prisutna na tumor infiltrirajućim limfocitima (53%) i tumor asociranim makrofagima (40%) nego na tumorskim ćelijama (21%).

Grafikon 1. Ekspresija PD-L1 na tumor infiltrirajućim limfocitima, tumor asociranim makrofagima i tumorskim ćelijama

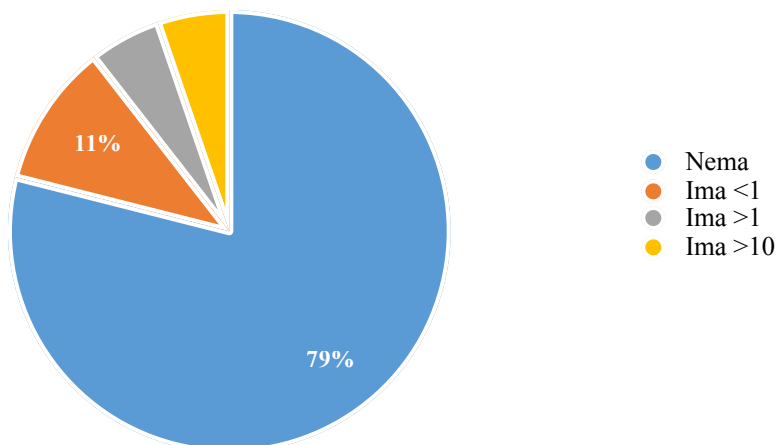
Grafikon 1a. Ekspresija PD-L1 na tumor infiltrišućim limfocitima



Grafikon 1b. Ekspresija PD-L1 na tumor infiltrišućim makrofagima



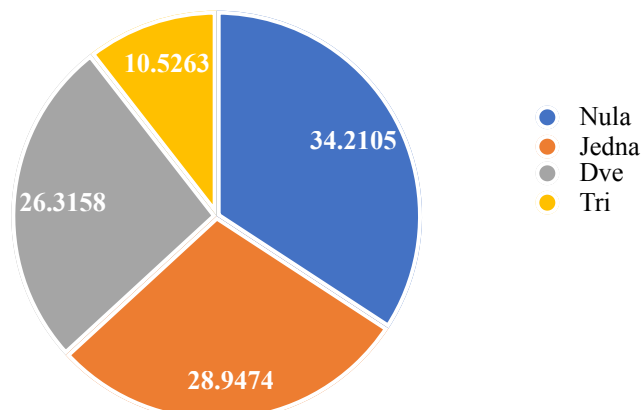
Grafikon 1c. Ekspresija PD-L1 na tumorskim ćelijama



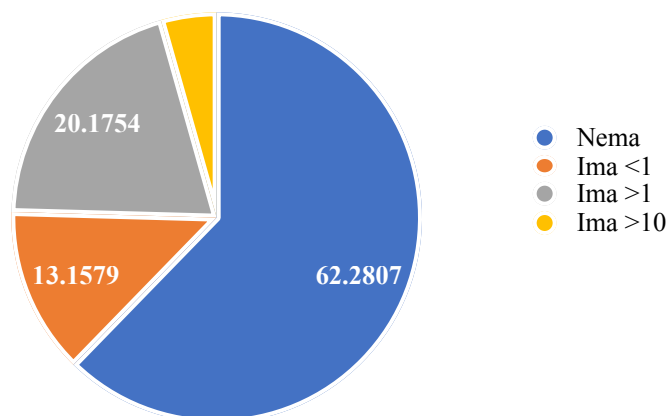
Inicijalno je određena ekspresija, a potom i intenzitet ekspresije na tumorskim ćelijama, tumor infiltrišućim limfocitima i tumor asociranim makrofagima. Gornjim delom Grafikona 2 je predstavljen ukupan broj ekspresija PD-L1. Najmanje je ispitanica kod kojih je ispoljena ekspresija na sve tri vrste ćelija (10,5%), dok je relativno ujednačen broj ispitanica (oko 30%) kod kojih nije ispoljena ni na jednoj ili na jednoj ili dve vrste (Grafikon 2a). Grafikonom 2b je predstavljen intenzitet ekspresije PD-L1 za sve ispitivane ćelije. PD-L1 nije izražen kod skoro dve trećine uzoraka na svim ispitivanim ćelijama (62,3%). U uzorku je bila najučestaliji intenzitet ekspresije >1 (20,2%) i <1 (13,2%), dok je ekspresija PD-L1 preko 10 (4,4%) bila najmanje zastupljena.

Grafikon 2. Broj ekspresija i intenzitet ekspresija PD-L1.

Grafikon 2a. Broj ekspresija PD-L1



Grafikon 2b. Intenzitet ekspresije PD-L1



Sa ciljem da se odgovori na prvi cilj istraživanja - Odrediti ekspresiju PD-L1 receptora u tumorskom tkivu karcinoma jajnika kod bolesnica u FIGO stadijumu III i IV, sproveden je veći broj analiza, čiji rezultati su predstavljeni tabelama 6 do 8. Tabelom 6 su predstavljeni rezultati povezanosti između PD-L1 ekspresije i FIGO stadijuma. Obrazac dobijenih rezultata je prilično dosledan, odnosno ekspresija PD-L1 je bila manje izražena u FIGO I i II stadijumu u odnosu na FIGO III i IV stadijum, ali intenzitet povezanosti ove dve varijable nije dovoljno snažno izražen da bi bio statistički značajan kada je reč o ekspresiji PD-L1 u tumor infiltrišućim limfocitima ($\chi^2(1) = 1,06$, $p = ,302$), u tumor infiltrišućim makrofagima ($\chi^2(1) = 0,11$, $p = ,737$) i u tumorskim ćelijama ($\chi^2(1) = 1,90$, $p = ,168$). Upotre-

bom CPS takođe nije zabeležena statistički značajna povezanost sa FIGO stadijumom ($\chi^2 (1) = 1.21, p = .258$).

Tabela 6. Povezanosti između PD-L1 ekspresije i FIGO stadijuma.

		FIGO I i II (N = 6)		FIGO III i IV (N= 32)	
		N	%	N	%
Ekspresija PD-L1 u tumor infiltrišućim limfocitima	Nema	4	66,67	14	43,75
	Ima (ukupno)	2	33,33	18	56,25
	<1	2	33,33	5	15,63
	>1	0	0,00	12	37,50
	>10	0	0,00	1	3,13
Ekspresija PD-L1 u tumor infiltrišućim makrofagima	Nema	4	66,67	19	59,38
	Ima (ukupno)	2	33,33	13	40,63
	<1	1	16,67	3	9,38
	>1	0	0,00	9	28,13
	>10	1	16,67	1	3,13
Ekspresija PD-L1 u tumorskim ćelijama	Nema	6	100,00	24	75,00
	Ima (ukupno)	0	0,00	8	25,00
	<1	0	0,00	4	12,50
	>1	0	0,00	2	6,25
	>10	0	0,00	2	6,25
CPS	<1	4	11,42	12	34,28
	>1	2	5,71	17	48,57

Povezanost tipa karcinoma ovarijuma sa ekspresijom PD-L1 je prikazana tabelom 7 za sve FIGO stadijume i tabelom 8 za FIGO stadijum III i IV. Kada je reč o FIGO stadijumu I i II, ekspresija PD-L1 u tumor infiltrišućim limfocitima bila je manje izražena kod karcinoma ovarijuma tip 1 ($\chi^2(1) = 1,50, p = ,221$) dok je ekspresija PD-L1 u tumor infiltrišućim makrofagima bila slabije izražena u karcinomu ovarijuma tip 2 ($\chi^2(1) = 0,37, p = ,540$). U ranim stadijumima karcinoma ovarijuma ekspresija PD-L1 na tumorskim ćelijama nije bila izražena ni u tipu 1 ni u tipu 2 (usled čega nije bilo moguće proceniti vrednost χ^2 testa). Povezanost između tipa karcinoma ovarijuma i ekspresije PD-L1, bez obzira na FIGO stadijum, prikazana je tabelom 7. Karcinom ovarijuma tip 1, u odnosu na karcinom ovarijuma tip 2 imao manje izraženu ekspresiju u tumor infiltrišućim limfocitima ($\chi^2(1) = 1,06, p = ,302$), tumor infiltrišućim makrofagima ($\chi^2(1) = 0,11, p = ,737$) kao i u tumorskim ćelijama ($\chi^2(1) = 0,08, p = ,774$), ali intenzitet povezanosti nije bio dovoljno veliki da bi se mogao smatrati statistički značajnim. Takođe, ni CPS nije statistički značajno povezan sa tipom karcinoma ovarijuma ($\chi^2(1) = 0.054, p = .817$), bez obzira o kojem FIGO stadijumu je reč.

Tabela 7. Povezanost tipa karcinoma ovarijuma sa ekspresijom PD-L1.

		Karcinom ovarijauma tip I (N = 6)		Karcinom ovarijauma tip II (N = 32)	
		N	%	N	%
Ekspresija PD-L1 u tumor infiltrišućim limfocitima	Nema	4	66.67	14	43.75
	Ima (ukupno)	2	33.33	18	56.25
	<1	0	0.00	7	21.88
	>1	2	33.33	10	31.25
	>10	0	0.00	1	3.13
Ekspresija PD-L1 u tumor infiltrišućim makrofagima	Nema	4	66.67	19	59.38
	Ima (ukupno)	2	33.33	13	40.63
	<1	1	16.67	3	9.38
	>1	1	16.67	8	25.00
	>10	0	0.00	2	6.25

	Nema	5	83.33	25	78.13
	Ima (ukupno)	1	16.67	7	21.88
Ekspresija PD-L1 u tumorskim ćelijama	<1	0	0.00	4	12.50
	>1	1	16.67	1	3.13
	>10	0	0.00	2	6.25
CPS	<1	3	8,57	13	37,14
	>1	3	8,57	16	45,71

Kada je reč o FIGO stadijumu III i IV, ekspresija PD-L1 u tumor infiltrišućim limfocitima je bila manje izražena kod karcinoma ovarijuma tip 1 ($\chi^2(1) = 0,07$, $p = ,788$), kao i ekspresija PD-L1 u tumor infiltrišućim makrofagima ($\chi^2(1) = 0,46$, $p = ,469$). Ekspresija PD-L1 u tumorskim ćelijama je bila podjednako izražena i kod karcinoma ovarijuma tipa 1 i kod tipa 2 ($\chi^2(1) = 0,00$, $p = 1,000$).

Tabela 8. Povezanost tipa karcinoma ovarijuma sa ekspresijom PD-L1 u FIGO stadijum III i IV.

		Karcinom ovarijauma tip I (N = 4)		Karcinom ovarijauma tip II (N = 28)	
		N	%	N	%
Ekspresija PD-L1 u tumor infiltrišućim limfocitima	Nema	2	50,00	12	42,86
	Ima (ukupno)	2	50,00	16	57,14
	<1	0	0,00	5	17,86
	>1	2	50,00	10	35,71
	>10	0	0,00	1	3,57
Ekspresija PD-L1 u tumor infiltrišućim	Nema	3	75,00	16	57,14
	Ima (ukupno)	1	25,00	12	42,86
	<1	0	0,00	3	10,71

makrofagima	>1	1	25,00	8	28,57
	>10	0	0,00	1	3,57
Ekspresija PD-L1 u tumorskim ćelijama	Nema	3	75,00	21	75,00
	Ima (ukupno)	1	25,00	7	25,00
	<1	0	0,00	4	14,29
	>1	1	25,00	1	3,57
	>10	0	0,00	2	7,14
	CPS	<1	2	6,90	2
	>1	10	34,48	15	51,72

Kada smo analizirali ekspresiju PD-L1 u odnosu na histološke karakteristike tumora dobili smo sledeće rezultate. Za poređenje ekspresije PD-L1 receptora i gradusa, primenjena su tri χ^2 testa. Rezultati su predstavljeni tabelom 9. Visok gradus češće je bio praćen prisustvom ekspresije PD-L1 u tumor infiltrišućim limfocitima, dok je nizak gradus bio praćen odsustvom ekspresije PD-L1, i ove razlike su bile statistički marginalno značajne ($\chi^2 (1) = 3,76, p = ,052$). Nisu identifikovane statistički značajne razlike u gradusu i ekspresiji PD-L1 kada je reč o ekspresiji PD-L1 u tumor infiltrišućim makrofagima ($\chi^2 (1) = 1,85, p = ,174$) kao i kada je reč o ekspresiji PD-L1 u tumorskim ćelijama ($\chi^2 (1) = 2,06, p = ,151$). Međutim, kada smo koristili CPS zabeležena je statistički značajna povezana sa gradusom ($\chi^2 (1) = 7.071, p = .008$), pri čemu je CPS značajno češće izražena preko 1 kod visokog, a u odnosu na nizak gradus.

Tabela 9. Povezanost ekspresije PD-L1 i gradusa.

		Gradus - nizak		Gradus - visok	
		N	%	N	%
Ekspresija PD-L1 u	Nema	5	13,89	12	33,33
	Ima (ukupno)	1	2,78	18	50,00

tumor infiltrišućim limfocitima	<1	1	2,78	5	13,89
	>1	0	0,00	12	33,33
	>10	0	0,00	1	2,78
Ekspresija PD-L1 u tumor infiltrišućim makrofagima	Nema	5	13,89	16	44,44
	Ima (ukupno)	1	2,78	14	38,89
	<1	1	2,78	3	8,33
	>1	0	0,00	9	25,00
	>10	0	0,00	2	5,56
Ekspresija PD-L1 u tumorskim ćelijama	Nema	6	16,67	22	61,11
	Ima (ukupno)	0	0,00	8	22,22
	<1	0	0,00	4	11,11
	>1	0	0,00	2	5,56
	>10	0	0,00	2	5,56
CPS	<1	5	14,29	10	28,57
	>1	0	0,00	18	51,43

Sa ciljem da se ispita povezanost između ekspresije PD-L1 receptora i prisustva limfovaskularne invazije, primenjena su tri χ^2 testa. Rezultati su predstavljeni tabelom 10. Rezultati ukazuju na zaključak da ekspresija PD-L1 u tumor infiltrišućim limfocitima ($\chi^2(1) = 2,69$, $p = ,101$), tumor infiltrišućim makrofagima ($\chi^2(1) = 1,48$, $p = ,223$) i u tumorskim ćelijama ($\chi^2(1) = 0,65$, $p = ,419$) nije statistički značajno povezana sa prisustvom limfovaskularne invazije. Ekspresija CPS-a je statistički marginalno značajno povezana sa prisustvom limfovaskularne invazije ($\chi^2(1) = 2,045$, $p = ,085$). Kod osoba koje imaju CPS veći od 1, LVI je marginalno značajno češće prisutan, u odnosu na ispitanike koji imaju ekspresiju CPS manji od 1.

Tabela 10. Povezanost između ekspresije PD-L1 receptora i prisustva limfovaskularne invazije.

		Limfovaskularna invazija			
		Nije prisutna		Prisutna	
		N	%	N	%
Ekspresija PD-L1 u tumor infiltrišućim limfocitima	Nema	2	5,88	13	38,24
	Ima (ukupno)	0	0,00	19	55,88
	<1	0	0,00	6	17,65
	>1	0	0,00	12	35,29
	>10	0	0,00	1	2,94
Ekspresija PD-L1 u tumor infiltrišućim makrofagima	Nema	2	5,88	18	52,94
	Ima (ukupno)	0	0,00	14	41,18
	<1	0	0,00	3	8,82
	>1	0	0,00	9	26,47
	>10	0	0,00	2	5,88
Ekspresija PD-L1 u tumorskim ćelijama	Nema	2	5,88	24	70,59
	Ima (ukupno)	0	0,00	8	23,53
	<1	0	0,00	4	11,76
	>1	0	0,00	2	5,88
	>10	0	0,00	2	5,88
CPS	<1	2	6,45	11	35,48
	>1	0	0,00	18	58,06

Sa ciljem da se odgovori na treći cilj istraživanja - Ispitati povezanost ekspresije PD-L1 receptora i odgovora na standardnu terapiju, primenjeno je nekoliko χ^2 testova. Tabelom 11 predstavljena je

povezanosti ekspresije PD-L1 receptora i odgovorom na terapiju, kod standardno primenjivane terapije (taxol i carboplatina). Rezultati ukazuju na zaključak da ekspresija PD-L1 u tumor infiltrirajućim limfocitima ($\chi^2 (2) = 2,43, p = ,296$) i tumor infiltrirajućim makrofagima ($\chi^2 (2) = 1,19, p = ,551$) nije značajno povezana sa odgovorom na standardu terapiju. S druge strane, ekspresija PDL-1 u tumorskim ćelijama ($\chi^2 (2) = 7,50, p = ,024$) jeste statistički značajno povezana sa odgovorom na terapiju. Kod kompletnog odgovora na terapiju je češća bila prisutna ekspresija PD-L1, kod parcijalnog odgovora na terapiju je ekspresija ili odsustvo ekspresije jednako učestalo, dok je kod progresije bolesti češće beleženo odsustvo ekspresije PD-L1. CPS nije statistički značajno povezana sa odgovorom na standardnu terapiju ($\chi^2 (1) = 3.16, p = .205$).

Tabela 11. Povezanosti ekspresije PD-L1 receptora i odgovora na standardnu terapiju.

		Kompletan		Parcijalan		Progresija	
		N	%	N	%	N	%
Ekspresija PD-L1 u tumor infiltrirajućim limfocitima	Nema	10	32,26	1	3,23	4	12,90
	Ima (ukupno)	14	45,16	1	3,23	1	3,23
	<1	3	9,68	0	0,00	1	3,23
	>1	10	32,26	1	3,23	0	0,00
	>10	1	3,23	0	0,00	0	0,00
Ekspresija PD-L1 u tumor infiltrirajućim makrofagima	Nema	13	41,94	1	3,23	4	12,90
	Ima (ukupno)	11	35,48	1	3,23	1	3,23
	<1	3	9,68	1	3,23	0	0,00
	>1	8	25,81	0	0,00	0	0,00
	>10	0	0,00	0	0,00	1	3,23
Ekspresija PD-L1 u tumorskim ćelijama	Nema	18	58,06	0	0,00	5	16,13
	Ima (ukupno)	6	19,35	2	6,45	0	0,00
	<1	3	9,68	1	3,23	0	0,00

	>1	2	6,45	0	0,00	0	0,00
	>10	1	3,23	1	3,23	0	0,00
CPS	<1	11	31,43	0	0,00	3	8,57
	>1	15	42,86	2	5,71	1	2,86

Sa ciljem da se odgovori na pitanje povezanosti ekspresije PD-L1 i vremena do progresije bolesti, sprovedena je korelaciona analiza. Iako rezultati ukazuju na odsustvo značajnih razlika između ekspresije PD-L1 u tumor infiltrirajućim limfocitima ($r = -0,194$, $p = ,243$), tumor infiltrirajućim makrofagima ($r = -0,114$, $p = ,496$) i u tumorskim ćelijama ($r = -0,234$, $p = ,158$) sa PFS-om, primetna je očekivana i dosledno dobijene negativna korelacija između ove dve varijable.

Sa ciljem da se ispita povezanost između ekspresije PD-L1 receptora i vrste sprovedene operacije, primenjena su tri χ^2 testa. Rezultati su predstavljeni tabelom 12. Rezultati ukazuju na zaključak da ekspresija PD-L1 u tumor infiltrirajućim limfocitima ($\chi^2 (2) = 2,62$, $p = ,270$), tumor infiltrirajućim makrofagima ($\chi^2 (2) = 0,59$, $p = ,746$) i u tumorskim ćelijama ($\chi^2 (2) = 3,27$, $p = ,195$) nije statistički značajno povezana sa vrstom operacije. CPS nije statistički značajno povezan sa tipom sprovedene operacije ($\chi^2 (2) = 2,04$, $p = ,359$).

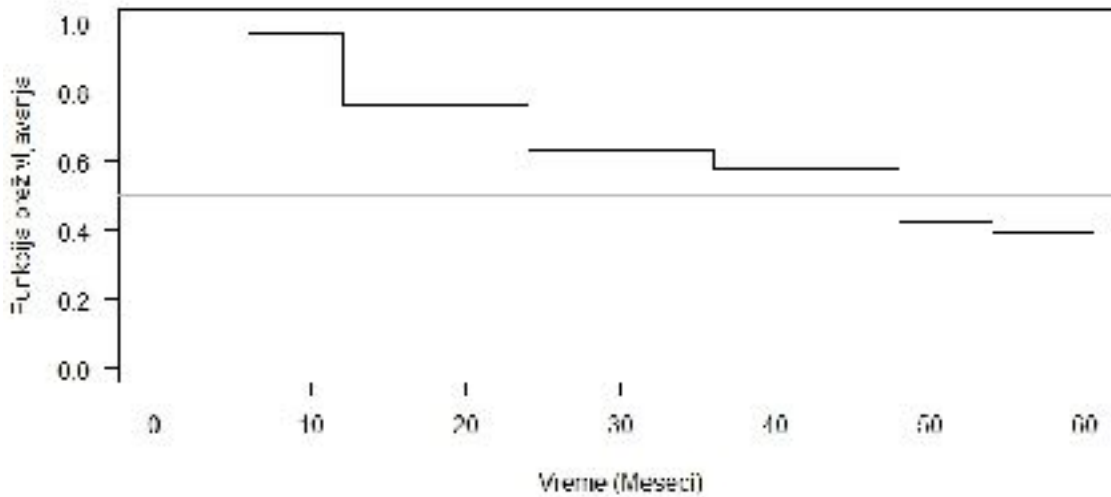
Tabela 12. Povezanosti ekspresije PD-L1 receptora i vrste sprovedene operacije.

		Bez operacije		Optimalna resekcija		Suboptimalna resekcija	
		N	%	N	%	N	%
Ekspresija PD-L1 u tumor infiltrirajućim limfocitima	Nema	6	17,65	6	17,65	5	14,71
	Ima (ukupno)	8	23,53	2	5,88	7	20,59
	<1	4	11,76	0	0,00	3	8,82
	>1	3	8,82	2	5,88	4	11,76
	>10	1	2,94	0	0,00	0	0,00

	Nema	9	26,47	6	17,65	7	20,59
Ekspresija PD-L1 u tumor infiltrišućim makrofagima	Ima (ukupno)	5	14,71	2	5,88	5	14,71
	<1	1	2,94	0	0,00	2	5,88
	>1	3	8,82	2	5,88	2	5,88
	>10	1	2,94	0	0,00	1	2,94
		Nema	11	32,35	8	23,53	8
Ekspresija PD-L1 u tumorskim ćelijama	Ima (ukupno)	3	8,82	0	0,00	4	11,76
	<1	1	2,94	0	0,00	2	5,88
	>1	2	5,88	0	0,00	0	0,00
	>10	0	0,00	0	0,00	2	5,88
		<1	7	22,58	4	12,90	4
CPS	>1	6	19,35	2	6,45	8	25,81

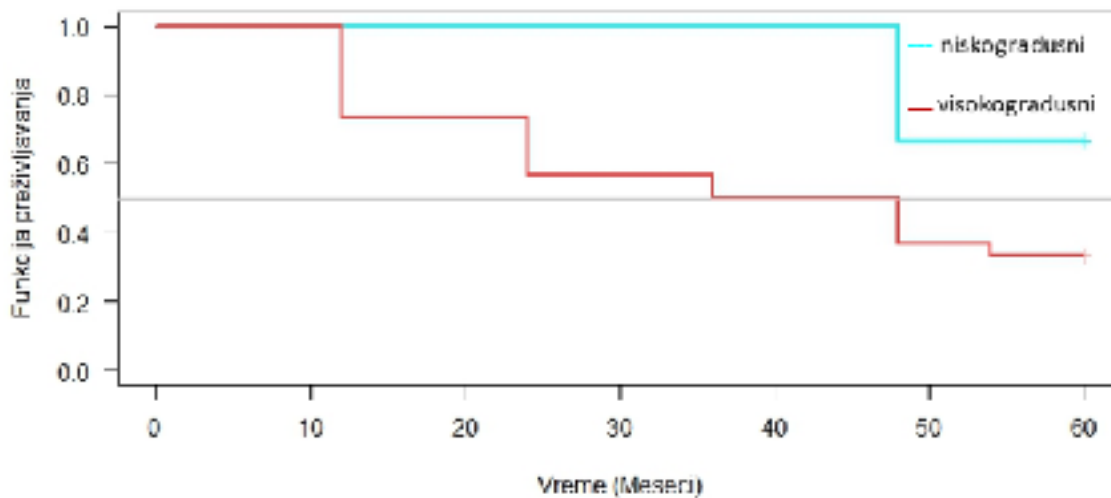
4.2. Analiza preživljavanja

Kaplan – Majer kriva preživljavanja, za sve ispitanice, prikazana je Slikom 11. Na osnovu dobijenih rezultata, zaključeno je da je petogodišnje preživljavanje 40% u ispitivanom uzorku. Kada je napravljen presek preživljavanja nakon dve godine od postavljanja dijagnoze u našem uzorku 50% ispitanica sa karcinomom ovarijuma ne preživljava duže od 48 meseci.



Slika 11. Kaplan – Majer kriva preživljavanja za celokupan uzorak.

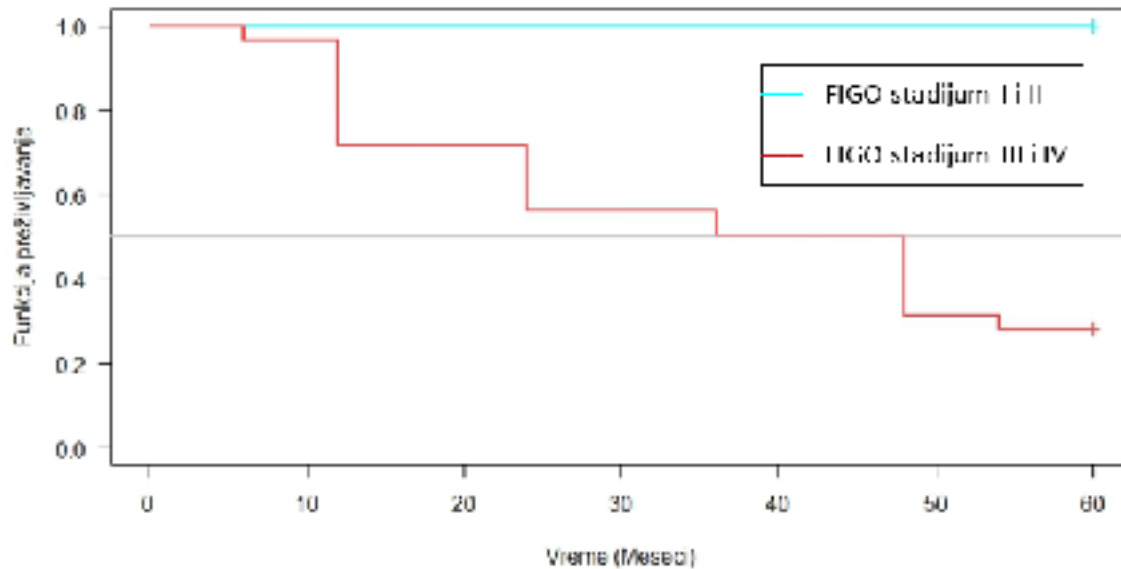
Kaplan – Majer kriva preživljavanja u odnosu na gradus je predstavljena slikom 12. Grupa ispitanica sa niskim gradusom ima znatno višu verovatnoću preživljavanja tokom celokupnog perioda praćenja, u odnosu na grupu ispitanica sa visokim gradusom. Razlike u verovatnoći preživljavanja su upečatljivo različite do 48 meseca praćenja. Rezultati Koksovog modela proporcionalnih hazarda ukazuju na zaključak da je model marginalno statistički značajan ($LRT(1) = 3,04, p = ,08$).



Slika 12. Kaplan – Majer kriva preživljavanja u odnosu na gradus.

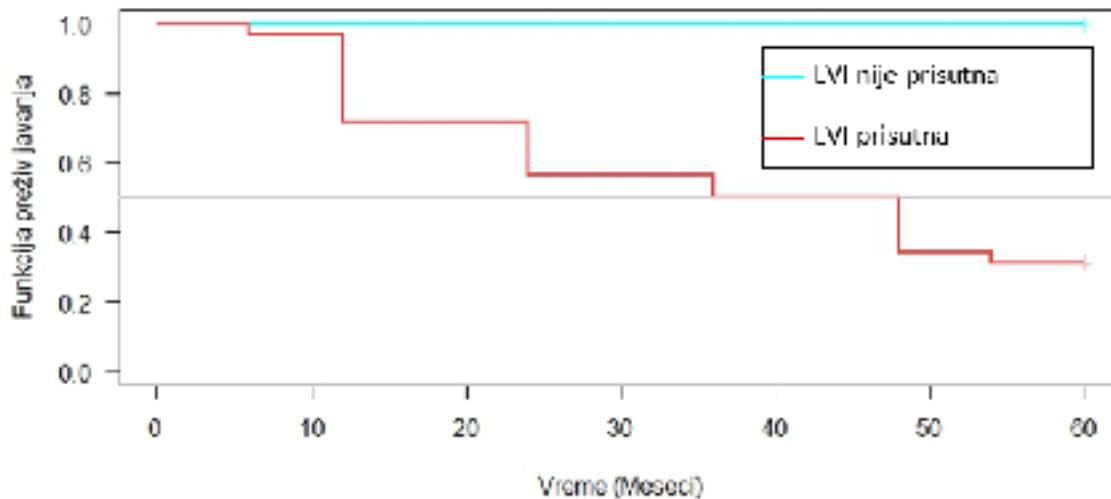
Kaplan – Majer kriva preživljavanja u odnosu na FIGO stadijum je predstavljena slikom 13. Grupa ispitanica koje su u FIGO stadijumu I i II imaju maksimalnu verovatnoću preživljavanja tokom perioda praćenja, dok verovatnoća preživljavanja kod grupe ispitanica koje su u FIGO stadijumu III i

IV opada sa protokom vremena. Kod ove grupe ispitanica, verovatnoća preživljavanja od 50% se javlja od 36 do 48 meseca praćenja. Rezultati Koksovog modela proporcionalnih hazarda ukazuju na zaključak da je model statistički značajan (LRT (1) = 12,06, p = ,001).



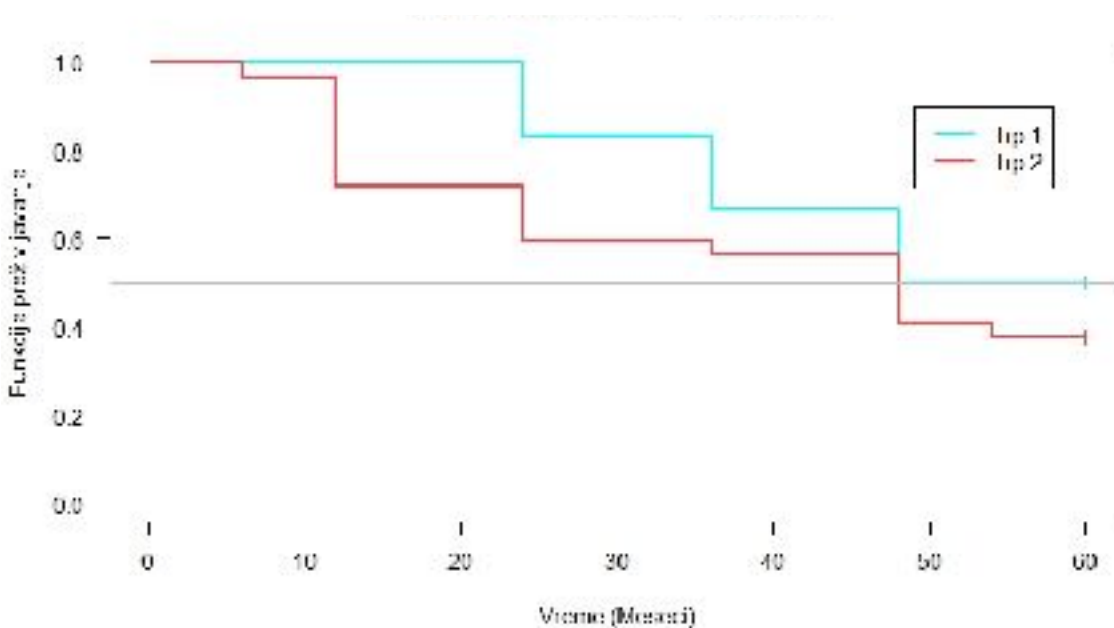
Slika 13. Kaplan – Majer kriva preživljavanja u odnosu na FIGO stadijum.

Kaplan – Majer kriva preživljavanja u odnosu na LVI je predstavljena slikom 14. Grupa ispitanica kod koje LVI nije izražen imaju maksimalnu verovatnoću preživljavanja tokom perioda praćenja, dok verovatnoća preživljavanja kod grupe ispitanica kod koje LVI jeste opada sa protokom vremena. Kod ove grupe ispitanica, verovatnoća preživljavanja od 50% se javlja od 36 do 48 meseca praćenja. Rezultati Koksovog modela proporcionalnih hazarda ukazuju na zaključak da je model statistički značajan (LRT (1) = 4,28, p = ,04).



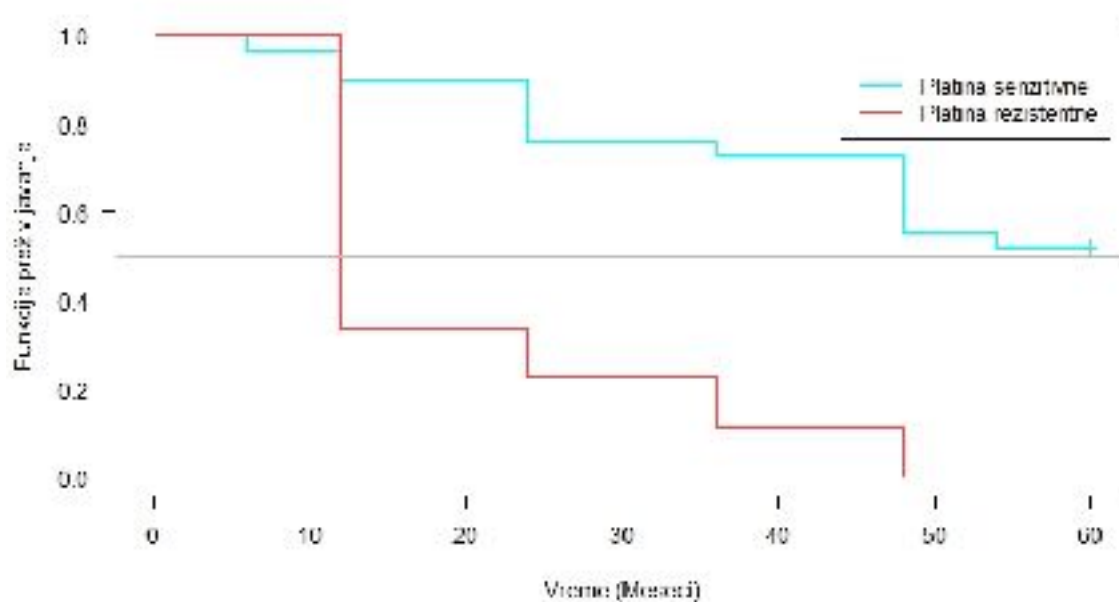
Slika 14. Kaplan – Majer kriva preživljavanja u odnosu na LVI.

Kaplan – Majer kriva preživljavanja u odnosu na tip karcinoma je predstavljena slikom 15. Grupa ispitanica kod koje je prisutan karcinom ovarijuma tip 1 ima više izraženu verovatnoću preživljavanja tokom perioda praćenja u odnosu na grupu kod koje je prisutan karcinom ovarijuma tip 2. Verovatnoća preživljavanja od 50% kod grupe sa karcinomom ovarijuma tipa 1 je prisutna od 48 meseca do kraja perioda praćenja, dok je kod grupe sa karcinomom ovarijuma tip 2 prisutna tokom 48 meseca praćenja. Rezultati Koksovog modela proporcionalnih hazarda ukazuju na zaključak da model nije statistički značajan (LRT (1) = 0,55, p = ,50).



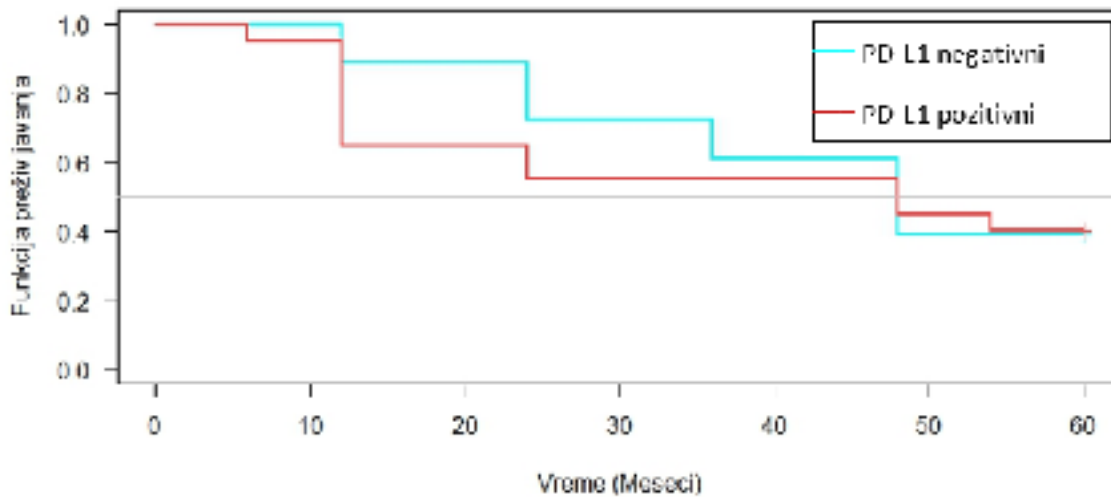
Slika 15. Kaplan – Majer kriva preživljavanja u odnosu na tip karcinoma.

Kaplan – Majer kriva preživljavanja u odnosu na PFS je predstavljena slikom 16. Grupa ispitanica koje su platina senzitivne imaju značajno višu verovatnoću preživljavanja u odnosu na grupu ispitanica koje su platina rezistentne, tokom celokupnog perioda praćenja. Grupa ispitanica koje su platina senzitivne imaju verovatnoću preživljavanja veću od 50% tokom celokupnog perioda praćenja, dok grupa ispitanica koje su platina rezistentne imaju verovatnoću preživljavanja manju od 50% tokom 12 meseca praćenja. Rezultati Koksovog modela proporcionalnih hazarda ukazuju na zaključak da je model statistički značajan ($LRT(1) = 13,42, p = ,001$).



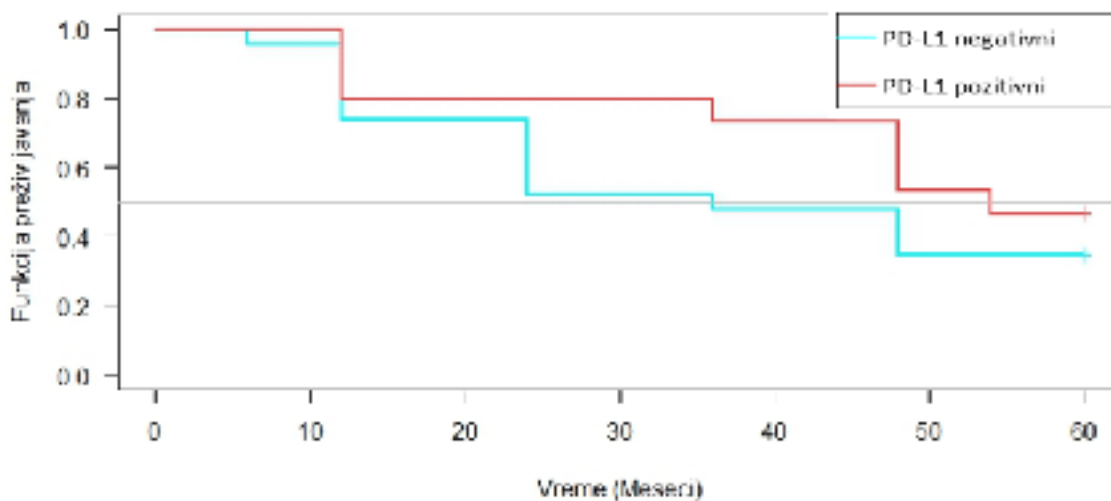
Slika 16. Kaplan – Majer kriva preživljavanja u odnosu na PFS.

Kaplan – Majer kriva preživljavanja u odnosu na ekspresiju PD-L1 na tumor infiltrirajućim limfocitima je predstavljena slikom 17. Ispitanice kod kojih PD-L1 u TIL nije izražen imaju bolju prognozu preživljavanja do 48 meseca u odnosu na ispitanice kod kojih je ekspresija PD-L1 u TIL izražena. Nakon 48 meseci, verovatnoća preživljavanja obe grupe ispitanica je gotovo identična. Rezultati Koksovog modela proporcionalnih hazarda ukazuju na zaključak da model nije statistički značajan ($LRT(1) = 0,08, p < ,05$).



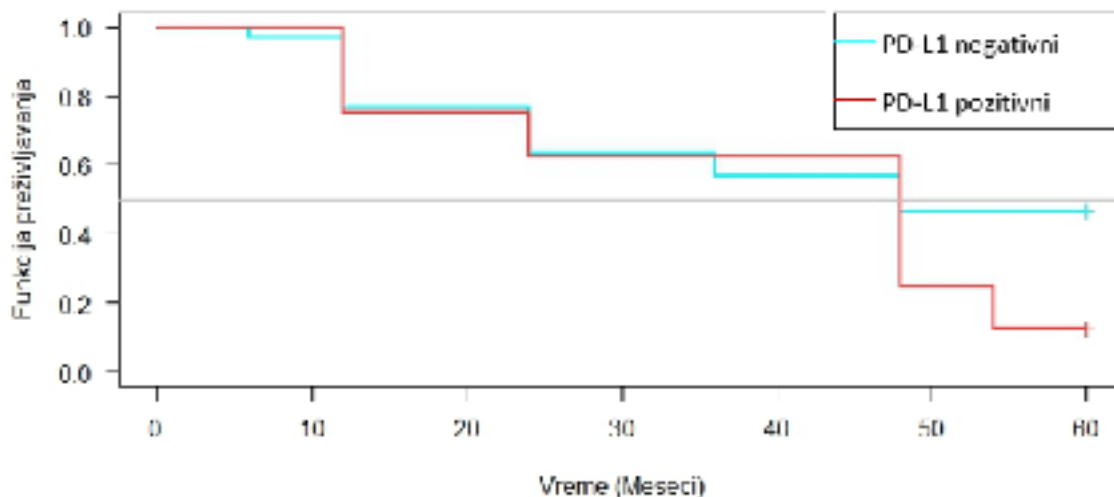
Slika 17. Kaplan – Majer kriva preživljavanja u odnosu na ekspresiju PD-L1 na tumor infiltrišućim limfocitima.

Kaplan – Majer kriva preživljavanja u odnosu na ekspresiju PD-L1 na tumor asociranim makrofagima je predstavljena slikom 18. Ispitanice kod kojih PD-L1 u TAM nije izražen imaju generalno lošiju prognozu preživljavanja tokom perioda praćenja od 60 meseci, u odnosu na ispitanice kod kojih ekspresija PD-L1 u TAM jeste izražena. Rezultati Koksovog modela proporcionalnih hazarda ukazuju na zaključak da model nije statistički značajan ($LRT(1) = 1,03, p < ,05$).



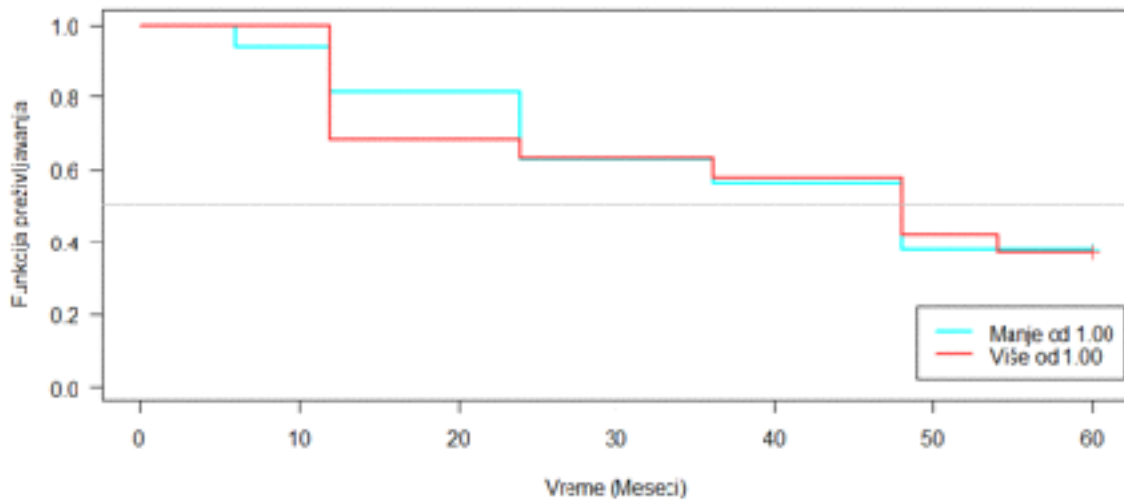
Slika 18. Kaplan – Majer kriva preživljavanja u odnosu na ekspresiju PD-L1 na tumor asociranim makrofagima.

Kaplan – Majer kriva preživljavanja u odnosu na ekspresiju PD-L1 na tumorskim ćelijama je predstavljena slikom 19. Obe grupe ispitanica imaju gotovo identičnu verovatnoću preživljavanja do 48 meseca praćenja. Nakon 48 meseca pa do kraja praćenja, veću verovatnoću preživljavanja imaju ispitanice kod kojih ekspresija PD-L1 u TC nije izražena, u odnosu na grupu ispitanica kod kojih je ova ekspresija izražena. Rezultati Koksovog modela proporcionalnih hazarda ukazuju na zaključak da je model marginalno statistički značajan ($LRT(1) = 1,36, p < ,05$).



Slika 19. Kaplan – Majer kriva preživljavanja u odnosu na ekspresiju PDL-1 na tumor infiltrišućim makrofagima.

Kaplan – Majer kriva preživljavanja u odnosu na ekspresiju predstavljenu CPS prikazana je slikom 20. Ispitanice kod kojih je CPS manji od 1 imaju podjednaku verovatnoću preživljavanja nakon perioda od 48 meseci, kao i tokom celokupnog perioda praćenja, u odnosu na grupu ispitanica čija je ekspresija CPS veći od 1. Rezultati Koksovog modela proporcionalnih hazarda ukazuju na zaključak da model nije statistički značajan ($LRT(1) = 0,08, p < ,05$).



Slika 20. Kaplan – Majer kriva preživljavanja u odnosu na CPS

5. DISKUSIJA

Ispitivanu grupu pacijentkinja sa karcinomom jajnika u našem uzorku dominantno su činile ispitanice starosti od 66 do 75 godina, što je koherentno sa podacima iz literature o piku incidencije (52,53). Početkom prošlog veka primećen je porast incidencije karcinoma jajnika kao rezultat socioekonomskog razvoja i promene trenda pariteta, nakon čega se, krajem devedesetih, beleži njen pad (54). Razloge za negativan trend incidencije možemo pripisati kako dostupnosti informacija, prvenstveno o faktorima rizika, tako i značaju evaluacije povećane upotrebe oralnih kontraceptiva i njihovom dugoročnom, onkogenom potencijalu prevashodno u oblasti karcinoma dojke (52). Rezultat navedenih saznanja bila je racionalnija upotreba kontraceptiva u navedenom periodu u populaciji menopauzalnih žena, te smanjenje rizika za nastanak karcinoma jajnika u ovoj grupi (55). Suprotno, u mlađoj populaciji su oralni kontraceptivi definisani kao protektivni faktori, međutim, učestalost pojave drugih, dodatnih, faktora rizika, kao što su gojaznost, metabolički sindrom i nuliparitet, odložene prve trudnoće i manji broj ostvarenih trudnoća, dominantnije utiču na nastanak karcinoma jajnika, te se ne beleži sinhroni pad incidencije u ovoj populaciji (52). Navedene činjenice nam ukazuju na trend porasta incidencije karcinoma jajnika u mlađoj populaciji, te potrebu za dodatnim naporima da se ove pacijentkinje održavaju u stabilnom statusu bolesti duži vremenski period.

Nedostatak adekvatnog skrininga i rane dijagnostike i danas predstavlja najznačajniji negativan prgnostički faktor. I pored pokušaja da se identifikuju markeri za rano otkrivanje, u trenutku postavljanja dijagnoze preko 60% pacijentkinja su u uznapredovalom stadijumu bolesti, sa udaljenim metastazama (56,57,58,59). U ispitivanom uzorku značajnu većinu (83,6%) su činile pacijentkinje sa uznapredovalim FIGO stadijumom (III i IV). Veći procenat uznapredovalog stadijuma bolesti možemo objasniti većim udelom karcinoma tip 2. Shodno njihovom agresivnijem biološkom ponašanju i kasnijem otkrivanju. U ovoj grupi pacijentkinja očekivano je viši procenat (preko 75%) bolesnica sa uznapredovalim stadijumom bolesti u trenutku postavljanja dijagnoze(60,61).

U ispitivanom uzorku najzastupljenija ekspresija PD-L1 je bila na TIL (53%), dok je u tumorskim ćelijama ekspresija bila prisutna samo kod 21%. U literaturi se može naći širok raspon ekspresije PD-L1 kod karcinoma jajnika. Slično našim rezultatima u studiji Eymerit-Morin i sar.

prikazane su relativno niske vrednosti ekspresije PD-L1 na tumorskim ćelijama (14-28%) uz značajnu heterogenost u ekspresiji zavisno od korišćenih antitela i načina interpretacije (62). Nešto viši procenat i češće prisutnu ekspresiju na ćelijskoj membrani izneli su Drakes i sar. (33%). U studiji Wang i sar. kao i u našem istraživanju, detektovana ekspresija PD-L1 na ćelijskoj membrani, shodno njihovom biološkom značaju u odnosu na prisustvo u citoplazmi (63). Ispitano je 107 pacijentkinja sa *high grade* seroznim karcinomom (HGSC) ovarijuma, a ispitivane su tumorske ćelije i limfociti. U navedenoj studiji bojenje je vršeno upotrebom monoklonskog antitela za PD-L1, klon E1L3N. Ono što ovu studiju dodatno razlikuje od našeg istraživanja jeste tumačenje ekspresije PD-L1 u vidu komparacije sa ekspresijom na placenti (63). Rezultati su predstavljeni kao kao negativna, slaba, umerena i ista ili jača ekspresija od one na placenti. U ispitanom uzorku pozitivna ekspresija PD-L1 na tumorskim ćelijama je detektovana, približno našim rezultatima, kod 24,30% pacijentkinja, ali je ekspresija na TIL bila značajno niža 15,89% (63). Prema kliničko-histološkim karakteristikama navedeni uzorak je uporediv sa našim ispitanicama, te se u tom pogledu ne nameće jasan odgovor za ovakvu razliku. Sa druge strane korišćeno antitelo (E1L3N) i interpretacija rezultata bi mogli biti uzrok različitim rezultatima, što zahteva dodatne analize. I u studiji Eymerit-Morin i sar. uočena je razlika (oko 14%) između rezultata dobijenih upotrebom različitih antitela (E1L3N i QR1) (62). Upotrebom E1L3N detektovana je veća senzitivnost u vidu češće detektovanih ekspresija preko 10% ali su se QR1 klon i CPS u odnosu na TPS pokazali kao bolji izbor za evaluaciju PD-L1 statusa kod pacijentkinja obolelih od karcinoma ovarijuma (62).

Za razliku od navedenih studija, postoje i one sa značajno višim vrednostima ekspresije PD-L1. Xue i saradnici su prikazali ekspresiju PD-L1 od 44,16% (64). Za razliku od prethodnih studija i našeg istraživanja ovde je ekspresija detektovana na membrani tumorskih ćelija ali i u citoplazmi. Takođe, za razliku od većine drugih studija, ovde je korišćena deskriptivna metoda procene ekspresije, takozvani H-skor metod (64). Slične vrednosti ekspresije PD-L1 prikazane su i u studiji Alwosaibai i saradnika, gde je ekspresija bila 47,8%, sa izdvajanjem seroznog karcinoma (ekspresija 51,35%) (65). Sa druge strane, Jovanović i saradnici su prikazali visoku ekspresiju (preko 70%), kao i značajnu razliku u odnosu na neinvazivne tumore ($p < 0,001$) (66).

Kada napravimo razliku u detekciji na različitim ćelijama, slično našim rezultatima, u jednoj od studija pokazano je takođe da je najniža ekspresija na tumorskim ćelijama. Ekspresija PD-L1 bila je na-

jznačajnija na makrofagima kao i u studiji Webb i sar., dok je PD-1 gotovo isključivo bio prisutan na limfocitima (67,63). Iako različiti u pogledu vrste, navedeni rezultati, kao i rezultati na našem uzorku usmeravaju na značaj imunih ćelija i mikrookruženja tumora, u odnosu na dosadašnja ispitivanja koja su bila usmerna više ka samim tumorskim ćelijama. Takođe, razlike u vrsti ćelija na kojim se detektuje prisustvo PD-L1 zahteva detaljnije analize vremenskog intervala pojave PD-1 i PD-L1 na njihovoj površini. Prednost našeg istraživanja jeste što su analizirani uzorci u najvećem procentu pacijentkinje kod kojih prethodno nije sprovedena ni jedna vrsta sistemske terapije. Potencijalni značaj same infiltracije i eventualno promena u njihovom nivou u različitim fazama bolesti i lečenja, takođe bi potvrdili značaj navedenog odnosa TIL i ekspresije PD-L1. Ne smemo zanemariti ni uticaj različitih faktora tumorskog mikrookruženja, koji modeliraju ekspresiju i funkciju PD-L1.

Zahteve i poteškoće u pogledu detekcije i interpretacije ekspresije možemo sagledati na primeru revijalnog članka, u kom je opisan raspon ekspresije PD-L1 od 16-86%, kao i šest različitih antitela u sedam analiziranih studija, takođe sa različitim graničnim vrednostima (68). Navedene razlike u ekspresiji PD-L1 u različitim studijama mogu se tumačiti sa mnogo aspekata. Kao bitne karakteristike izdvajaju se nestandardizovani postupci kako u detekciji, tako i u interpretaciji ekspresije PD-L1 kod karcinoma jajnika. U studijama su korišćena različita antitela: QR1 i E1L3N 22C3, SP263 i SP142 (62,64,69,70,71). Na primeru studije Munari i saradnika može se uvideti značaj korišćenih antitela i platformi ali i iskustva patologa (69). Analizom podudaranja nivoa ekspresije PD-L1 korišćenjem različitih antitela (22C3 i SP263) kod nemikrocelularnog karcinoma pluća, na gotovo 200 uzoraka (69). Zabeležena je razlika u korist SP263 antitela, sa kojim je identifikovano oko duplo više PD-L1 pozitivnih uzoraka. Razlika u detekciji, u istoj studiji, postojala je čak i kada su ispitivači koristili antitela sa kojima imaju više iskustva (69). Opisane karakteristike se ne mogu koristiti kod ostalih maligniteta bez prethodne verifikacije njihovog značaja.

Nedostatak ovakvih istraživanja jeste podatak o jasnom kliničkom značaju ekspresije merene različitim antitelima i na različitim ćelijama, bilo da se radi o primarnom ili sekundarnom tumoru. Danas je poznato da PD-L1 status nije uvek presudan parametar u donošenju odluke kada je reč o uvođenju terapije u različitim malignitetima (72). Ovim se akcenat stavlja na kritičkom korišćenju dobijenih podataka, što možemo videti i na primeru malignog melanoma, s obzirom na to da se i kod PD-L1 negativnih tumora beleži odgovor na terapiju PD-L1 inhibitorima (73). Slično je i kod karcinoma

endometrijuma, gde PD-L1 ekspresija nema prediktivni značaj i nije povezana sa odgovorom na ciljanu terapiju (74).

Navedeno nam ukazuje da moramo razmišljati o vrsti ispitivanog maligniteta, načinu detekcije i interpretacije nalaza. Za izvestan broj maligniteta jasno su definisani scoring sistemi i prihvaćena različita antitela, kao što su TPS uz korišćenje 22C3, SP263 i SP142 kod karcinoma pluća, za urotelijalne i karcinome glave i vrata se preporučuju CPS sa 22C3 i SP263 klonovima, dok je imune ćelije (IĆ) skor sa SP142 klonom prihvatljiv za sve navedene malignitete (71). Kada se govori o karcinomu ovarijuma, još uvek ne postoji standardizovan pristup ni jasno definisan značaj PD-L1.

Razlike u dobijenim rezultatima moramo sagledati i kroz mogućnost modifikacije samog receptora i njegovog liganda ali i okoline, koja se pokazala kao značajan faktor kako (48). Opravdanje za ovakav stav nalazimo u ranijim studijama koje su se bavile strukturom i signalnim putevima. U jednoj od njih je pokazano da je za aktivaciju signalnog puta PD-1 neophodno vezivanje različitih formi intracelularnih proteina za specifični deo citoplazmatskog repa ovog receptora (ITSM (imunoreceptor tirozin-kinaza motif)), kao i da je neophodan signal susednih stimulatornih receptora (CD3 ili CD28) (75). Razlog za ovakvo sadejstvo nije jasan ali se pretpostavlja da je neophodna ili blizina navedenih kostimulatornih receptora ili se njihovom aktivacijom oslobađaju faktori koji su intracelularno neophodni za uspostavljanje signalnog puta PD-1 (75).

U literaturi je opisan i efekat različitih liganda, prvenstveno B7-1 (CD80). Ovaj ligand ostvaruje stimulatorni efekat na imuni odgovor vezivanjem za CD28, za koji ima najveći afinitet, dok svoj inhibični efekat ostvaruje vezivanjem za CTLA-4 ali sa značajno manjim afinitetom. U studiji Butte i saradnika je opisana interrekcija B7-1 sa PD-L1, a blokada ovakve interrekcije je moguća upotrebom monoklonski antitela za specifične epitope receptora i u pogledu blokade PD-1/PD-L1 i B7-1/PD-L1 sa izvesnim preklapanjem (76). Nije jasan mehanizam i odnos vezivanja B7-1 za CD28, CTLA4 ili PD-L1. I ako je pokazan i pozitivan odnos ushodne regulacije receptora PD-L1 u prisustvu CD28, i dalje nije poznat tačan mehanizam i međusobni odnos nvedenih činjenica (76).

Iznete činjenice predstavljaju samo deo složenog procesa, koji na svakom koraku može biti različito regulisan i dati različit krajnji odgovor. Jedna od studija koja nas upućuje na značaj međusobnog odnosa i dinamičkog procesa unutar tumorskog mikrookruženja je studija Aust i saradnika koji su

tokom komparacije PD-L1 ekspresije na tumorskim ćelijama u primarnom tumoru i metastatskim implantima uočili nekoliko specifičnosti (77). Jedna od njih je viša ekspresija u primarnom u odnosu na metastatski tumor kod high grade seroznih karcinoma ovarijuma (75% primarni tumor, 40% metastatski implant) i ekspresija PD-L1 isključivo u prisustvu TIL (77). Zanimljiv je i podatak da postoji pozitivan trend ekspresije PD-L1 kod rekurentne bolesti u odnosu na primarnu (77). Tako je u celokupnom uzorku inicijalno ekspresija bila 19,4% u primarnom tumoru i 17,9% u metastatskim implantima, dok je u prvoj i drugoj rekurenciji ekspresija bila značajno viša (I 37,5%, II 55,6%) (77). Kada je u pitanju regulacija PD-L1 ekspresije opisana je pozitivna korelacija sa genima MHC I klase, kao i negativna korelacija sa NK ćelijama (77). Navedeni rezultati ukazuju na značaj tumorske mikrosredine i složenost procesa inicijacije i održavanja imunog odgovora organizma, kao i progresije bolesti, koji zahtevaju dalja, složenija istraživanja, kako bismo imali uvid u tok bolesti i potencijalno ciljana mesta regulacije na koja bismo mogli uticati.

Ako razmišljamo o pravilnom uzorkovanju tumora i preciznijoj dijagnostici, napomenućemo samo da su od značaja rezultati studija koje ukazuju da se viša ekspresija nalazi u invazivnim delovima tumora. Tako je u rezultatima Wang i sar kod PD-L1 pozitivnih pacijentkinja češće beležen uznapredovali stadijum bolesti ($p=0,023$), a pozitivnost je češće detektovana u invazivnim segmentima tumora (63). Analizom mesta detekcije PD-L1 Jovanović i sar. došli su do istih rezultata, da je ekspresija češće prisutna u invazivnim delovima tumora, u odnosu na centralne ($p < 0,001$) (66). Ovi rezultati još više dobijaju na važnosti kada znamo da se u praksi dijagnostika karcinoma ovarijuma postavlja bioptičkim uzorcima, te je od značaja njihovo pravilno uzorkovanje zbog veličine samog preparata te potrebe za preciznošću.

Dodatna pitanja postavljaju se kada se uzme u obzir poreklo uzorka, i to ne samo lokalizacija unutar samog tumora, kao što je prethodno navedeno, nego i primarni tumor u odnosu na metastatske promene. Ovo je analizirano u studiji Parvathareddy i sar. Ukojoj je kod 194 pacijentkinje sa karcinomom ovarijum poređena PD-L1 ekspresija u primarnom i metastatskom tumoru (78). Ekspresija u primarnom tumoru zabeležena je kod 32,5% pacijentkinja, što se statistički značajno razlikovalo od metastatskih promena (45,9%) (78). Neslaganje u nalazima primarnih i metastatskih promena postojalo je kod 34% pacijentkinja. Ovakve razlike možemo opravdati samom heterogenošću kako primarnog tako i metastatskog tumora ali i poreklom metastaza i načinom širenja karcinoma ovarijuma, koji i

danas nije u potpunosti jasan. Svakako, u budućnosti ne bismo trebali zanemariti ove razlike, kao racionalno opravdanje za različit pristup kod recidiva bolesti.

Značaj ekspresije PD-L1 kod obolelih od karcinoma ovarijuma ispitivali smo analizom povezanosti sa kliničko-patološkim karakteristikama ispitanica. U ispitivanom uzorku iako češće prisutna ekspresija u uznapredovalim u ondosu na početne stadijume bolesti, ova razlika nije bila statistički značajna. Izazovi sa kojima smo se susreli u ovom istraživanju delom su razlog za heterogenost podataka i u dosadašnjim istraživanjima. Tako je, u studiji Xue i sar. nađena pozitivna povezanost PD-L1 ekspresije i Figo stadijuma bolesti ($p=0,026$) (79). Pacijentkinje sa višim stadijumom bolesti (Figo III i IV) su češće imale visoku ekspresiju PD-L1 (79). Do istih zaključaka, kada je u pitanju Figo stadijum došli su i Wang i sar. ($p=0,023$) (63). Za razliku od navedenih rezultata Darkes i saradnici su izneli suprotne vrednosti (80). U njihovoj studiji korišćeno je ab205921 antitelo, a u grupi sa ranim stadijumom bolesti (Figo stadijum I i II) je češće detektovana viša ekspresija PD-L1 (22%), u odnosu na 4,3% u Figo stadijumu III i IV (80). U rezultatima studije Xue i sar. povezanost sa drugim kliničkim ili patološkim parametrima nije zabeležena (79). Zbog malog uzorka i njegove heterogenosti, a sa druge strane slične karakteristike unutar podgrupa tumora u dualnom modelu, analizirali smo odnos PD-L1 ekspresije u odnosu na tip1 i tip2 tumora. Iako češće prisuta na imunim ćelijama u tipu 2, navedene razlika je bila nesignifikantna. U skladu sa iznetim Cheng i saradnici su zabeležili značajno višu ekspresiju kod HGSC u odnosu na ostale tumore (58% u odnosu na 38%, $p<0,05$) (68). Eymerit-Morin i sar. analizirali su ekspresiju kod različitih histoloških tipova karcinoma ovarijuma i za razliku od navedenih rezultata pokazano je da je najznačajnija kod clear cell karcinoma 29,6% (81). Razlika u ekspresiji PD-L1 u odnosu na histološki tip pokazana je u još većem procentu (44%) kod MSS clear cell karcinoma u studiji Xiao i sar. (82). Navedena studija je primarno ispitivala odnos MMR statusa, TIL i PD-L1 ekspresije. Pokzano je da su tumori sa deficijntnim mismatch repair mehanizmom (MMRd) značajno češće bili infiltrirani CD3⁺ TIL ($p = 0.0493$), kao i CD8⁺ TILs ($p = 0.0212$) (82). Takođe, postojala je značajnija ekspresija PD-L1 na imunim ćelijama u MMRd tumorima u odnosu na tumore sa očuvanim MMR mehanizmom (MMRp) ($p = 0,0049$) (82). Rezultati studije sugerišu da MMRd tumori verovatno prave imunogeno mikrookruženje stvarajući neoantigene u velikom broju. Suprotno ovome Webb i sar. izneli da je upravo kod clear cell karcinoma ekspresija bila najniža (16,2%) (83). U literaturi se češće sreću studije koje su opisale višu ekspresiju kod HGSC, što je i navelo da istraživanja idu u ovom

pravcu, te da se izvestan broj studija zasniva upravo na ovoj grupi pacijentkinja (65,66,84). Jedna od retkih studija u kojoj je pokazana veza PD-L1 ekspresije sa kliničko-patološkim parametrima jeste studija Kim i sar. koji su u svojoj studiji ispitivali PD-L1 na različitim ćelijama: stromalnim TIL, tumorskim ćelijama i intraepitelnim TIL, koristeći SP263 klon (Ventana AZ) (84). Najznačajnija ekspresija PD-L1, kako na celokupnom uzorku, tako i izdvojeno kod HGSC, bila je na stromalnim TIL (16,9% u celokupnom uzorku, 20,7% kod HGSC) (84). Pokazana je statistički značajna povezanost ekspresije na stromalnim TIL sa histološkim tipom ($p = 0,015$), rezidualnim tumorom ($p = 0,001$), gradusom ($p < 0,001$), kao i nuklearnim gradusom ($p < 0,001$) (84). Kod HGSC ekspresija na stromalnim TIL bila je povezana sa tumorskim gradusom ($p=0,003$) i nuklearnim gradusom ($p < 0,001$) (84). Ovo je delimično u skladu sa dobijenim rezultatima, s obzirom na to da je prikazan pozitivan odnos CPS i gradusa tumora. Sa druge strane ekspresija PD-L1 na tumorskim ćelijama ni u jednoj histološkoj formi karcinoma ovarijuma nije bila povezana sa bilo kojim ispitivanim kliniko-patološkim parametrom (84). Webb i saradnici takođe iznose povezanost ekspresije PD-L1 i gradusa ($P = 0.011$), kao i u studiji Drakes i sar. ($p=0,40$) (83,80). U odnosu na imune ćelije u tumoru, TAM su bili češće PD-L1 pozitivni u odnosu na tumorske ćelije kojih je bilo samo 13,2% (83). Značajno za razumevanje toka ekspresije i uloge u imunom odgovoru kod karcinoma ovarijuma jeste i to da nije zabilježen ni jedan uzorak sa PD-L1 pozitivnim tumorskim ćelijama, kod kojih su TAM bili PD-L1 negativni (83).

Trenutna saznanja o onkogenezi i toku sa velikom sigurnošću ukazuju da je izolovano posmatranje pojedinačnih faktora TME insuficijentno. Ovakvi podaci sugerišu da je TME jedan dinamički kontinuum, koji zahteva složenija ispitivanja. Najčešće ispitivan odnos faktora tumorskog mikrokruženja je odnos TIL i PD-L1. U jednom od studija koje su analizirale ovaj odnos kod pacijentkinja sa PD-L1 pozitivnim TIL češće je beležena pozitivna ekspresija PD-L1 na tumorskim ćelijama ($p < 0,001$) (63). Viši nivo CD3⁺ i CD8⁺ i TIL su se pokazali kao nezavisni pozitivni prognostički faktor (63). Takođe, pacijentkinje sa višim vrednostima intraepitelnih CD8⁺ TIL i negativnim PD-L1 su imale najdužu medijanu ukupnog preživljavanja ($p < 0.001$) (63). Najčešće ispitivan odnos PD-L1 na imunim ćelijama, podrazumevao je analizu TIL i TAM. Jedna od ovakvih studija analizirala je značaj ekspresije na PD-1 i PD-L1 na limfocitima i makrofagima, kao i njihov uticaj na preživljavanje (85). U studiju su uključene samo pacijentkinje sa HGSC ovarijuma, njih 130. Kao i u prethodno navedenoj studiji, a za

razliku od naših rezultata imune ćelije koje su pokazale najvišu ekspresiju PD-L1 na makrofagima, dok je ekspresija PD-1 bila najznačajnija na limfocitima (85).

Prognostički značaj ekspresije PD-L1 analiziran je u studijama različitog dizajna. Kada je analizirano ukupno preživljavanje u studiji Kim i sar., samo visoka ekspresija PD-L1 u stromalnim TIL je pokazala pozitivnu povezanost sa boljim ukupnim preživljavanjem ($p = 0,02$) u celokupnom uzorku (84). Navedeno ovu studiju razlikuje i po značaju ekspresije PD-L1 na TIL, tako i njihov prognostički značaj. Jedan od osnovnih nedostataka ove studije je dug vremenski period (1998-2013.) iz kog su pacijentkinje uključene u studiju, te moguće različit pristup u lečenju i ishodu ovih pacijentkinja nezavisno od prognostičkih parametara. U studiji Darkes i sar., iako startno nije postojala razlika, prognostički PD-L1 pozitivna podgrupa je pokazala bolje preživljavanje sa dužim protokom vremena od postavljanja dijagnoze (80). Opisane razlike iako bez statističke značajnosti zahtevaju dalju evaluaciju. Jedna od studija pokazala benefit u preživljavanju ($p=0,02$) u grupi visoke ekspresije PD-L1 na makrofagima, što je u skladu sa zabeleženim odnosom u našim rezultatima iako nismo uspeli da dokažemo značaj ovog odnosa (85). Kao što se može videti iz prethodnog teksta, u studijama koje ispituju značaj PD-L1 ekspresije naglašava se prognostički značaj kombinovanih parametara, pa tako je i ovde postojao veći značaj od pojedinačnih parametara kombinacija visokih vrednosti, u ovom slučaju PD-L1 i PD-1, u odnosu na niske (HR 0,36 (0,17–0,79), $p = 0.01$) (85). U analizi preživljavanja u našem uzorku prezentovana je samo marginalno značajno duže preživljavanje u grupi pacijentkinja koje su imale eksprimiran PD-L1 na tumorskim ćelijama i to nakon dve godine praćenja. Analize Xue i sar. ukazale su na značajno kraće ukupno preživljavanje kod pacijentkinja sa visokom ekspresijom PD-L1 (log-rank $X^2=12,25$, $p=0,0005$, HR=2,689, 95% CI 1,400-5,163) (64). Ovde je ponovo pokazan prognostički pozitivna veza TIL i OS. Kod više infiltracije TIL ukupno preživljavanje je iznosilo 71,4 meseca, za razliku od niže infiltracije, kada je OS bilo 49,8 meseci ($p=0,09$). U istoj studiji, ispitan je i odnos TIL i PD-L1 ekspresije i pokazano da su pacijentkinje sa visokom ekspresijom TIL i niskom ekspresijom PD-L1 imale značajno bolje ukupno preživljavanje ($p=0,001$) (64). Ova činjenica zahteva dodatne analize međusobnog odnosa TIL i PD-L1, s obzirom na to da je visoka ekspresija PD-L1 u istoj studiji bila češće prisutna kod viših stadijuma bolesti. Takođe, definisanjem vremenskog intervala i sleda pojave jednih i drugih, te moguće i različitih signalnih puteva pod uticajem TME, razumeli bismo njihov pravi značaj u karcinogenezi i toku bolesti. Od koristi bi bila analiza unutar visokorizične grupe pacijentkin-

ja, čime bi se dobio odgovor na realniji odnos PD-L1 i preživljavanja, što je u značajnom broju studija bilo teško izvodljivo kako zbog malog uzorka, tako i heterogenosti.

Na iznetim podacima se vide ograničenja ovog istraživanja veličinom uzorka, te nedovoljnom snagom statističkih testova da se dokaže povezanost. Sa druge strane izneti rezultati pružaju uvide i smernice za dalja istraživanja. Takođe, u medicinskim istraživanjima, razlika između statističke i kliničke značajnosti se ne sme zanemariti. Statistička značajnost odnosi se na verovatnoću da su rezultati dobijeni slučajno, dok klinička značajnost razmatra praktičnu važnost i primenljivost rezultata. Iako statistička značajnost ostaje ključni element kvantitativnih istraživanja, klinička relevantnost i primenljivost rezultata su od suštinske važnosti.

Prema dosadašnjim istraživanjima još uvek nije identifikovan prediktivni i prognostički značaj ekspresije PD-L1 kod karcinoma ovarijuma. Razlog ovome možemo tražiti upravo u spomenutom, malom uzorku većine studija. Ovome doprinosi i relativno niska ekspresija ali i nepotpuno poznavanje strukturnih i funkcionalnih karakteristika signalnog puta, u kom učestvuje PD-L1, kao i njegovog odnosa sa faktorima iz mikrookruženja.

Kada je definisan odnos PD-L1 i TIL može se naslutiti da infiltracija TIL prethodi PD-L1 ekspresiji, s obzirom na to da nije zabeležen ni jedan slučaj HGSC bez TIL, koji je bio PD-L1 pozitivan. Opisana je i kvantitativna razlika kada su u pitanju PD-L1 pozitivni uzorci, kod kojih je gustina CD8 TIL bila veća u odnosu na PD-L1 negativne (83). Upravo razumevanje odnosa PD-L1 i TIL je doprineo da nastanu klasifikacije tumorskog mikrookruženja. Teng i sar. su klasifikovali karcinome u četiri tipa na osnovu infiltracije T ćelija i odnosa sa ekspresijom PD-L1 (86). Tabelom 13 su prikazani tipovi mikrookruženja i navedeni odnosi PD-L1 i TIL.

Tabela 13. Klasifikacija TME (86)

Tip TME	PD-L1	TIL
I	+	+
II	-	-
III	+	-

IV

-

+

U studiji Webb i saradnika najčešće zabeležen odnos bio je sa pozitivnim TIL i PD-L1 (tip I) 57,4% i sa oba negativna parametra 51,1% (tip II) (83). Kao razlog ovakvom odnosu nameće se visoka imunogenost shodno karakteristikama tumora, kao i moguće biološko ponšanje i tok bolesti. Prognostički značaj PD-L1 pokazan je samo kod HGSC (HR = 0,4864; 95% CI = 0,3206–0,7378; P = 0,0007) (83). Međutim, prema TME klasifikaciji tip I i tip II su se izdvojili kao prognostički bolji (HR 0,2191, 95% CI 0,06664 - 0,7207) (83). Iznetim rezultatima stavljen je akcenat na međusobni odnos PD-L1 i TIL kao prognostičkim parametrima kod karcinoma ovarijuma i opravdanost za buduća istraživanja u ovom pravcu ali se i dalje ne može zaključiti tačan mehanizam na modeliranje imunog odgovora kod karcinoma ovarijuma. Potvrda za ovo vidi se i na primeru, u ovom pravcu najviše ispitanog, malignog melanoma, koji ima najveću zastupljenost I (oko 38%) i II (oko 41%) tipa karcinoma, sa boljom prognozom i očekivano dobrim odgovorom na monoterapiju checkpoint inhibitorima kod tipa I, gde je odgovor T infiltrišućih limfocita modeliran pod dejstvom PD-L1 (86).

Aktuelni su različiti pokušaji definisanja tumorskog mikrokruženja i međusobnog odnosa pojedinačnih faktora. Tako je u metaanalizi Wanga, u kojoj nije definisana značajna veza PD-L1 i kliničkopatoloških parametara, kao ni prognostička uloga, pokazano da se ovaj odnos razlikuje kada je u pitanju iRNK, čija ekspresija je povezana sa kraćim PFS (87). Alwosaibai i sar. su svoju studiju zasnovali na ulozi stem ćelija i njihov odnos sa ekspresijom PD-L1 (88). Ponovo se susrećemo sa različitim metodama detekcije PD-L1 i graničnim vrednostima. U navedenoj studiji je korišćeno monoklonsko antitelo za PD-L1 22C3, za karcinomske stem ćelije korišćeni su markeri CD44 i LGR5, koji su pokazali značaju ekspresiju kod seroznog karcinoma ($p=0,006$ (CD44) i $p=0,6$ (LGR5)) (88). Komparacija odnosa PD-L1 statusa i TIL i ovde je ukazala na značajnu pozitivnu povezanost, naročito sa CD8 kao markerom ali nije utvrđen njihov međusobni odnos osim pretpostavke da visoka ekspresija moguće ima za posledicu značajnu infiltraciju limfocita u tumor (88). Analizom odnosa karcinomskih stem ćelija i PD-L1 ekspresije zabeležena je značajna ushodna regulacija CD44 i umerena za LGR5 kod PD-L1 pozitivnih pacijentkinja (88). Prgnostički ekspresija CD44 je bila povezana sa boljom prognozom (HR=1,6, 95% CI 0,7-3,7), kao i negativni nalazi PD-L1 (HR=2,4, 95% CI 0,74-7,9)(88).

Navedene studije sa svim svojim prednostima i manama samo su još jedan dokaz koliko je široko i neispitano područje karcinoma ovarijuma. Studije u kojima je pokušana implementacija checkpoint inhibitora u terapiji karcinoma ovarijuma nisu dale očekivane rezultate.

Prethodno sprovedena KEYNOTE-028 pokazala je prihvatljivu toksičnost primene Pembrolizumaba kod PD-L1 pozitivnih pacijentkinja sa karcinomom ovarijuma, sa jednim slučajem (3,8%) neželjenih efekata gradus 3 ali je odgovor na terapiju bio slab (39). Ispitana je ukupna stopa odgovora (ORR), dužina odgovora, PFS i OS. ORR je bio 11,5% (95% CI 2,4-30,2%), a dužina odgovora kod ovih pacijentkinja je bila $\geq 20,5$ meseci (39).

Nakon Keynote-028 usledila je Keynote-100, studija faze II, koja je takođe pokazala umeren odgovor (ORR 8%(95% CI 5,4-11,2)) na monoterapiju Pembrolizumabom (40). Kontrola bolesti je postignuta kod oko 37% ispitivanih pacijentkinja (40). Sa nešto boljim odgovorom kod pacijentkinja u kohorti sa više prethodnih linija hemioterapije. Pomak je načinjen u smislu procene predikcije na terapiju Pembrolizumabom. Pacijentkinje sa CPS > 10 za PD-L1 su imale bolji odgovor (ORR 17,1% (95% CI 9,7-27,0) (40).

Novija istraživanja, kada je u pitanju terapija usmerena su više ka racionalnoj upotrebi kombinacije terapijskih opcija. Studija faze II, MEDIOLA, pokazala je značajan ORR kod pacijentkinja sa platina senzitivnim recidivom karcinoma ovarijuma i germinativnim BRCA mutacijama koje su primale dvojnju terapiju olaparib i durvalumab (92,2% (95% CI 81,1–97,8)), sa kompletnim odgovorom kod 43,1% pacijentkinja (41). U kohorti pacijentkinja kod kojih nisu detektovane germinativne BRCA mutacije, bolji odgovor je postignut kada je navedenoj kombinaciji lekova dodat i bevacizumab 74,2% (90% CI, 58,2–86,5) u odnosu na kohortu koja je primala samo dvojnju terapiju (28,1% (90% CI, 15,5–43,9)) (41). Nisu zabeležene nove toksičnosti vezano za trojnu terapiju. Ono što je možda i najveći nedostatak ove studije, jeste što ne postoji kontrolna grupa pacijentkinja koje su dobijale samo olaparib, čija efikasnost je pokazana u Solo3 studiji (84,6% u odnosu na 61,5% kod pacijentkinja koje su primale hemioterapiju (OR 3,44 (95% CI 1,42-8,54)) (41,42). Za razliku od navedenih studija, u Javelin Ovarian 200 nije dokazana značajna razlika u terapiji avelumabom u odnosu na monoterapiju pegilovanim lipozomalnim doksorubicinom (89).

Aktuelna istraživanja ukazuju na značaj kombinacije lekova, kao što je uticaj oštećenih DNK na veći broj neoantigena i efikasnost checkpoint inhibitora (90).

Nova istraživanja u oblasti tumorskog mikrokruženja i razumevanje signalnih puteva i njihovog međusobnog odnosa doprineće boljem razumevanju patogeneze ali i usmeriti istraživanja u oblasti ciljane terapije karcinoma ovarijuma.

6. ZAKLJUČCI

1. Ekspresija u ispitivanom uzorku bila je prisutna na 53% TIL, 40% tumor asociranih makrofaga i 21% tumorskih ćelija. U grupi pozitivnih ispitanica, za sve ispitivane ćelije, ekspresija je najčešće bila 1-10.
2. S obzirom na to da u početnim stadijumima bolesti nije zabeležena ekspresija PD-L1 na tumorskim ćelijama, moguće je da do ekspresije dolazi u kasnijem toku bolesti, nakon pokretanja imunog odgovora.
3. Ako je inicijalno PD-L1 eksprimiran samo na imunim ćelijama, te nakon aktivacije imunog odgovora i na tumorskim ćelijama, možemo zaključiti da je niža ekspresija na imunim ćelijama kod karcinoma tip 1 potencijalno povezana sa prirodom ovih karcinoma. Takođe, karcinomi tip 2 stvaraju imunogeno okruženje produkcijom velikog broja neoantigena i time dodatno pokreću imuni odgovor.
4. Veza između ekspresija PD-L1 na tumorskim ćelijama i odgovora na terapiju mogla bi se pripisati gore navedenim činjenicama da su ovo tumori koji su agresivnijeg biološkog ponašanja, pa tako i inicijalno osetljiviji na dejstvo hemioterapije.
5. U pogledu preživljavanja, rezultati nam ukazuju na marginalnu značajnost povezanosti PD-1 negativnih pacijentkinja i dužeg preživljavanja. Ako se osvrnemo na tip tumora koji su češće bili PD-L1 pozitivni, upravo njihova agresivna priroda bi mogla da bude odgovor na ovakav ishod, te se navedeno ne može bezrezervno pripisati PD-L1 ekspresiji.

Iako dosadašnje studije nisu opravdale primenu *checkpoint* inhibitora kod karcinoma ovarijuma, ovakva istraživanja nam daju dodatni uvid u njegovu etiopatogenezu i u budućnosti potencijalno deo odgovora na pitanja kako o toku bolesti, tako i mogućoj primeni ciljane terapije.

7. LITERATURA

1. <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/25-Ovary-fact-sheet.pdf>
2. Allemani C et al. Global surveillance of cancer survival 1995–2009: analysis of individual data for 25 676 887 patients from 279 population- based registries in 67 countries (CONCORD-2). *Lancet*. 2015; 385(9972): 977–1010
3. Lindsey A. Torre et al. Ovarian Cancer Statistics, 2018. *CA CANCER J CLIN* 2018;68:284–296
4. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/ovary.html>
5. Giornelli GH. Management of relapsed ovarian cancer: a review. *Springerplus*. 2016; 28;5(1):1197.
6. Liu S, Wu M, Wang F. Research Progress in Prognostic Factors and Biomarkers of Ovarian Cancer. *J Cancer*. 2021 May 13;12(13):3976-3996.
7. Chang LC, Huang CF, Lai MS, Shen LJ, Wu FL, Cheng WF. Prognostic factors in epithelial ovarian cancer: A population-based study. *PLoS One*. 2018 Mar 26;13(3):e0194993.
8. du Bois A, Reuss A, Pujade-Lauraine E, Harter P, Ray-Coquard I, Pfisterer J. Role of surgical outcome as prognostic factor in advanced epithelial ovarian cancer: a combined exploratory analysis of 3 prospectively randomized phase 3 multicenter trials: by the Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie Studiengruppe Ovarialkarzinom (AGO-OVAR) and the Groupe d'Investigateurs Nationaux Pour les Etudes des Cancers de l'Ovaire (GINECO). *Cancer*. 2009;115(6):1234-44.
9. Paoletti AM, Piras B, Pilloni M, Marotto MF, Orrù M, Corda V et al. Epidemiology of Epithelial Ovarian Carcinoma. In: Saba L, Acharya UR, Guerriero S, Suri J editors *Ovarian Neoplasm Imaging*. New York: Springer; 2013. p. 3-12.
10. Sánchez-Prieto M, Sánchez-Borrego R, Lubian-Lopez DM, Pérez-Lopez F. Etiopathogenesis of ovarian cancer. An inflamm-aging entity? *Gynecologic Oncology Reports*. 2022; 42, 101018
11. Pakuła, M., Mały, E., Uruski, P., Witucka, A., Bogucka, M., Jaroszevska, N., Makowska, N., Niklas A., Moszynski, R., Sajdak, S. et al. Correction: Pakuła et al. Deciphering the Molecular Mechanism of Spontaneous Senescence in Primary Epithelial Ovarian Cancer Cells. *Cancers* 2020, 12, 296. *Cancers* **2023**, 15, 937.

12. Rockfield, S., Kee, Y., Nanjundan, M., 2019. Chronic iron exposure and c-Myc/H-ras- mediated transformation in fallopian tube cells alter the expression of EVI1, amplified at 3q26.2 in ovarian cancer. *Oncogenesis* 8 (9).
13. Shigeta, S., Toyoshima, M., Kitatani, K., Ishibashi, M., Usui, T., Yaegashi, N. Transferrin facilitates the formation of DNA double-strand breaks via transferrin receptor 1: the possible involvement of transferrin in carcinogenesis of high-grade serous ovarian cancer. *Oncogene* 2016; 35 (27), 3577–3586.
14. Kurman RJ and Shih I. The Dualistic Model of Ovarian Carcinogenesis Revisited, Revised, and Expanded. *Am J Pathol* 2016; 186: 733e747
15. Wu R, Baker SJ, Hu TC, Norman KM, Fearon ER, Cho KR. Type I to type II ovarian carcinoma progression: mutant Trp53 or Pik3ca confers a more aggressive tumor phenotype in a mouse model of ovarian cancer. *Am J Pathol.* 2013;182(4):1391-9.
16. Keith Y. Terada, Hyeong Jun Ahn, Bruce Kessel. Differences in risk for type 1 and type 2 ovarian cancer in a large cancer screening trial. *J Gynecol Oncol.* 2016; 27(3):e25
17. Kurman RJ, Shih IeM. The origin and pathogenesis of epithelial ovarian cancer: a proposed unifying theory. *Am J Surg Pathol.* 2010 Mar;34(3):433-43. doi: 10.1097/PAS.0b013e3181cf3d79. PMID: 20154587; PMCID: PMC2841791.
18. Terada KY, Ahn HJ, Kessel B. Differences in risk for type 1 and type 2 ovarian cancer in a large cancer screening trial. *J Gynecol Oncol.* 2016 May;27(3):e25. doi: 10.3802/jgo.2016.27.e25. PMID: 27029746; PMCID: PMC4823356.
19. Koshiyama M, Matsumura N, Konishi I. Subtypes of Ovarian Cancer and Ovarian Cancer Screening. *Diagnostics.* 2017; 7(1):12. <https://doi.org/10.3390/diagnostics7010012>
20. Weinberger V, Bednarikova M, Cibula D, Zikan M. Serous tubal intraepithelial carcinoma (STIC) – clinical impact and management. *Expert Review of Anticancer Therapy.* 2016;16(12):1311-1321.
21. Shih I, Wang Y, Wang T, The Origin of Ovarian Cancer Species and Precancerous Landscape. *Am J Pathol.* 2021; 191: 26e39
22. Climent MT, Serra A, Gilabert-Estellés J, Gilabert-Aguilar J, Lluca A. Comparison of Peritoneal Carcinomatosis Scoring Methods in Predicting Resectability and Prognosis in Gynecologic Malignancies. *Journal of Clinical Medicine.* 2021; 10(12):2553. <https://doi.org/10.3390/jcm10122553>

23. Jónsdóttir, B., Lomnytska, M., Poromaa, I.S. *et al.* The Peritoneal Cancer Index is a Strong Predictor of Incomplete Cytoreductive Surgery in Ovarian Cancer. *Ann Surg Oncol.* 2021; **28**, 244–251. <https://doi.org/10.1245/s10434-020-08649-6>
24. Polterauer S, Vergote I, Concin N, et al Prognostic Value of Residual Tumor Size in Patients With Epithelial Ovarian Cancer FIGO Stages IIA–IV: Analysis of the OVCAD Data International Journal of Gynecologic Cancer 2012;22:380-385.
25. Vergote I, Coens C, Nankivell M, Kristensen GB, Parmar MKB, Ehlen T et al; EORTC; MRC CHORUS study investigators. Neoadjuvant chemotherapy versus debulking surgery in advanced tubo-ovarian cancers: pooled analysis of individual patient data from the EORTC 55971 and CHORUS trials. *Lancet Oncol.* 2018;19(12):1680-1687.
26. Ozols RF, Bundy BN, Greer BE, Fowler JM, Clarke-Pearson D, Burger RA et al; Gynecologic Oncology Group. Phase III trial of carboplatin and paclitaxel compared with cisplatin and paclitaxel in patients with optimally resected stage III ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group study. *J Clin Oncol.* 2003;21(17):3194-200.
27. Lheureux S, Braunstein M, Oza AM. Epithelial ovarian cancer: Evolution of management in the era of precision medicine. *CA Cancer J Clin.* 2019;69(4):280-304.
28. Ledermann JA, Matias-Guiu X, Amant F, Concin N, Davidson B, Fotopoulou C et al. ESGO-ESMO-ESP consensus conference recommendations on ovarian cancer: pathology and molecular biology and early, advanced and recurrent disease. *Ann Oncol.* 2024;35(3):248-266.
29. Davis A, Tinker AV, Friedlander M. "Platinum resistant" ovarian cancer: what is it, who to treat and how to measure benefit? *Gynecol Oncol.* 2014 Jun;133(3):624-31. doi: 10.1016/j.ygyno.2014.02.038. Epub 2014 Mar 4. PMID: 24607285.
30. Havasi A, Cainap SS, Havasi AT, Cainap C. Ovarian Cancer-Insights into Platinum Resistance and Overcoming It. *Medicina (Kaunas).* 2023 Mar 10;59(3):544. doi: 10.3390/medicina59030544. PMID: 36984544; PMCID: PMC10057458.
31. Tewari KS, Burger RA, Enserro D, Norquist BM, Swisher EM, Brady MF. Final Overall Survival of a Randomized Trial of Bevacizumab for Primary Treatment of Ovarian Cancer. *J Clin Oncol.* 2019;37(26):2317-2328.

- 32.Oza AM, Cook AD, Pfisterer J, Embleton A, Ledermann JA, Pujade-Lauraine E; ICON7 trial investigators. Standard chemotherapy with or without bevacizumab for women with newly diagnosed ovarian cancer (ICON7): overall survival results of a phase 3 randomised trial. *Lancet Oncol.* 2015;16(8):928-36.
- 33.Ribatti D. Immunosuppressive effects of vascular endothelial growth factor. *Oncol Lett.* 2022;24(4): 369.
- 34.Poveda A, Floquet A, Ledermann JA, Asher R, Penson RT, Oza AM; SOLO2/ENGOT-Ov21 investigators. Olaparib tablets as maintenance therapy in patients with platinum-sensitive relapsed ovarian cancer and a BRCA1/2 mutation (SOLO2/ENGOT-Ov21): a final analysis of a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2021;22(5):620-631.
- 35.DiSilvestro P, Banerjee S, Colombo N, Scambia G, Kim BG, Oaknin A; SOLO1 Investigators. Overall Survival With Maintenance Olaparib at a 7-Year Follow-Up in Patients With Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer and a BRCA Mutation: The SOLO1/GOG 3004 Trial. *J Clin Oncol.* 2023;41(3):609-617.
- 36.Ray-Coquard I., Leary A., Pignata S, Cropet C., Gonzales-Martin A., Marth C. et al. Olaparib plus bevacizumab first-line maintenance in ovarian cancer: final overall survival results from the PAOLA-1/ENGOT-ov25 trial. *Annals of Oncology*, 2023;34 (8): 681-692.
- 37.Swisher EM, Lin KK, Oza AM, Scott CL, Giordano H, Sun J et al. Rucaparib in relapsed, platinum-sensitive high-grade ovarian carcinoma (ARIEL2 Part 1): an international, multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2017;18(1):75-87.
- 38.Mirza MR, Monk BJ, Herrstedt J, Oza AM, Mahner S, Redondo A et al; ENGOT-OV16/NOVA Investigators. Niraparib Maintenance Therapy in Platinum-Sensitive, Recurrent Ovarian Cancer. *N Engl J Med.* 2016;375(22):2154-2164.
- 39.Varga A, Piha-Paul S, Ott PA, Mehnert JM, Berton-Rigaud D, Morosky A, Yang P, Ruman J, Matei D. Pembrolizumab in patients with programmed death ligand 1-positive advanced ovarian cancer: Analysis of KEYNOTE-028. *Gynecol Oncol.* 2019 Feb;152(2):243-250. doi: 10.1016/j.ygyno.2018.11.017. Epub 2018 Dec 3. PMID: 30522700.

40. Matulonis UA, Shapira-Frommer R, Santin AD, Lisyanskaya AS, Pignata S, Vergote I. Antitumor activity and safety of pembrolizumab in patients with advanced recurrent ovarian cancer: results from the phase II KEYNOTE-100 study. *Ann Oncol*. 2019;30(7):1080-1087.
41. Drew Y, Kim JW, Penson RT, O'Malley DM, Parkinson C, Roxburgh P; MEDIOLA Investigators. Olaparib plus Durvalumab, with or without Bevacizumab, as Treatment in PARP Inhibitor-Naïve Platinum-Sensitive Relapsed Ovarian Cancer: A Phase II Multi-Cohort Study. *Clin Cancer Res*. 2024;30(1):50-62.
42. Penson RT, Valencia RV, Cibula D, Colombo N, Leath CA 3rd, Bidziński M. Olaparib Versus Non-platinum Chemotherapy in Patients With Platinum-Sensitive Relapsed Ovarian Cancer and a Germline BRCA1/2 Mutation (SOLO3): A Randomized Phase III Trial. *J Clin Oncol*. 2020;38(11):1164-1174.
43. Cheng H, Zong L, Kong Y, Gu Y, Yang J, Xiang Y. Emerging Targets of Immunotherapy in Gynecologic Cancer. *Onco Targets Ther*. 2020 Nov 18;13:11869-11882.
44. Macpherson AM, Barry SC, Ricciardelli C, Oehler MK. Epithelial Ovarian Cancer and the Immune System: Biology, Interactions, Challenges and Potential Advances for Immunotherapy. *J Clin Med*. 2020 Sep 14;9(9):2967. doi: 10.3390/jcm9092967. PMID: 32937961; PMCID: PMC7564553.
45. Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*. 2012;12(4):252-64.
46. Ohaegbulam KC, Assal A, Lazar-Molnar E, Yao Y, Zang X. Human cancer immunotherapy with antibodies to the PD-1 and PD-L1 pathway. *Trends Mol Med*. 2015 Jan;21(1):24-33. doi: 10.1016/j.molmed.2014.10.009. Epub 2014 Oct 30. PMID: 25440090; PMCID: PMC4282825.
47. Doo DW, Norian LA, Arend RC. Checkpoint inhibitors in ovarian cancer: A review of preclinical data. *Gynecol Oncol Rep*. 2019;29:48-54.
48. Margul D, Yu C, AlHilli MM. Tumor Immune Microenvironment in Gynecologic Cancers. *Cancers (Basel)*. 2023;15(15):3849.
49. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer*. 2009 Jan;45(2):228-47.

50. IBM Corporation. (2017). IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp.
51. R Core Team. (2022). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
52. Torre LA, Trabert B, DeSantis CE, Miller KD, Samimi G, Runowicz CD, Gaudet MM, Jemal A, Siegel RL. Ovarian cancer statistics, 2018. *CA Cancer J Clin.* 2018 Jul;68(4):284-296. doi: 10.3322/caac.21456. Epub 2018 May 29. PMID: 29809280; PMCID: PMC6621554.
53. Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program (www.seer.cancer.gov) SEER*Stat Database: Incidence - SEER 9 Regs Research Data with Delay-Adjustment, Malignant Only, Nov 2016 Sub (1975–2014) <Katrina/Rita Population Adjustment> - Linked To County Attributes - Total U.S., 1969–2015 Counties, 9. National Cancer Institute, DCCPS, Surveillance Research Program, released April 2017, based on the November 2016 submission.
54. Collaborative Group on Epidemiological Studies of Ovarian Cancer, Beral V, Doll R, Hermon C, Peto R, Reeves G. Ovarian cancer and oral contraceptives: collaborative reanalysis of data from 45 epidemiological studies including 23,257 women with ovarian cancer and 87,303 controls. *Lancet* 2008;371:303–314.
55. Collaborative Group on Epidemiological Studies of Ovarian Cancer, Beral V, Gaitskell K, et al. Menopausal hormone use and ovarian cancer risk: individual participant meta-analysis of 52 epidemiological studies. *Lancet* 2015;385:1835–1842.
56. National Cancer Institute. Surveillance, Epidemiology, and End Results Program. Cancer stat facts: ovarian cancer. Available at: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/ovary.html>. (Accessed 30 December 2018).
57. Cabasag CJ, Butler J, Arnold M, Rutherford M, Bardot A, Ferlay J, et al. Exploring variations in ovarian cancer survival by age and stage (ICBP SurvMark-2): A population-based study. *Gynecol Oncol.* 2020 Apr;157(1):234-244.
58. Doubeni CA, Doubeni AR, Myers AE. Diagnosis and Management of Ovarian Cancer. *Am Fam Physician.* 2016 Jun 1;93(11):937-44. PMID: 27281838.
59. Henderson JT, Webber EM, Sawaya GF. Screening for Ovarian Cancer: Updated Evidence Report and Systematic Review for the US Preventive Services Task Force. *JAMA.* 2018;319(6):595–606.

60. Kurman RJ, Shih IeM. The Dualistic Model of Ovarian Carcinogenesis: Revisited, Revised, and Expanded. *Am J Pathol*. 2016 Apr;186(4):733-47.
61. Pavlik EJ, Smith C, Dennis TS, Harvey E, Huang B, Chen Q, West Piecoro D, Burgess BT, McDowell A, Gorski J, et al. Disease-Specific Survival of Type I and Type II Epithelial Ovarian Cancers—Stage Challenges Categorical Assignments of Indolence & Aggressiveness. *Diagnostics*. 2020; 10(2):56.
62. Eymerit-Morin C, Ilenko A, Gaillard T, Varinot J, Compérat E, Bendifallah S, Darai E. PD-L1 expression with QR1 and E1L3N antibodies according to histological ovarian cancer subtype: A series of 232 cases. *Eur J Histochem*. 2021;65(1):3185.
63. Wang Q, Lou W, Di W, Wu X. Prognostic value of tumor PD-L1 expression combined with CD8+ tumor infiltrating lymphocytes in high grade serous ovarian cancer. *Int Immunopharmacol*. 2017 Nov;52:7-14.
64. Xue C, Zhu D, Chen L, Xu Y, Xu B, Zhang D, Jiang J. Expression and prognostic value of PD-L1 and PD-L2 in ovarian cancer. *Transl Cancer Res* 2019;8(1):111- 119.
65. Alwosaibai K, Aalmri S, Mashhour M, Ghandorah S, Alshangiti A, Azam F et al. PD-L1 is highly expressed in ovarian cancer and associated with cancer stem cells populations expressing CD44 and other stem cell markers. *BMC Cancer*. 2023;23(1):13.
66. Jovanović L, Janković R, Čirković A, Jović M, Janjić T, Djuričić S, Milenković S. PD-L1 Expression in Different Segments and Histological Types of Ovarian Cancer According to Lymphocytic Infiltrate. *Medicina (Kaunas)*. 2021;57(12):1309.
67. Martin de la Fuente L, Westbom-Fremer S, Arildsen NS, Hartman L, Malander S, Kannisto P et al. PD-1/PD-L1 expression and tumor-infiltrating lymphocytes are prognostically favorable in advanced high-grade serous ovarian carcinoma. *Virchows Arch*. 2020;477(1):83-91.
68. Cheng B., Liang H., Jiang T., Chen J., & Wang, G. Characterization of PD-L1 expression and its prognostic value in patients with ovarian cancer. *Translational Cancer Research*. 2018; 7(5), 1271-1281.
69. Munari E, Rossi G, Zamboni G, Lunardi G, Marconi M, Sommaggio M et al. PD-L1 Assays 22C3 and SP263 are Not Interchangeable in Non-Small Cell Lung Cancer When Considering Clinically

- Relevant Cutoffs: An Interclone Evaluation by Differently Trained Pathologists. *Am J Sure Pathol.* 2018;42(10):1384-1389.
70. Munari E, Mariotti FR, Quatrini L, Bertoglio P, Tumino N, Vacca P, Eccher A, Ciompi F, Brunelli M, Martignoni G, Bogina G, Moretta L. PD-1/PD-L1 in Cancer: Pathophysiological, Diagnostic and Therapeutic Aspects. *Int J Mol Sci.* 2021;22(10):5123.
71. Marletta S, Fusco N, Munari E, Luchini C, Cimadamore A, Brunelli M, Querzoli G, Martini M, Vignoli E, Colombari R, Girolami I, Pagni F, Eccher A. Atlas of PD-L1 for Pathologists: Indications, Scores, Diagnostic Platforms and Reporting Systems. *J Pers Med.* 2022;12(7):1073.
72. Naumann RW, Hollebecque A, Meyer T, Devlin MJ, Oaknin A, Kerger J et al. Safety and Efficacy of Nivolumab Monotherapy in Recurrent or Metastatic Cervical, Vaginal, or Vulvar Carcinoma: Results From the Phase I/II CheckMate 358 Trial. *J Clin Oncol.* 2019;37(31):2825-2834.
73. Daud, AIHO.; Ribas, A. Antitumor activity of the anti-PD-1 monoclonal antibody MK-3475 in melanoma: Correlation of tumor PD-L1 expression with outcome. AACR Annual Meeting 2014; Abstract CT105. Presented; April 6, 2014;
74. Engerud H, Berg HF, Myrvold M, Halle MK, Bjorge L, Haldorsen IS, Hoivik EA, Trovik J, Krakstad C. High degree of heterogeneity of PD-L1 and PD-1 from primary to metastatic endometrial cancer. *Gynecol Oncol.* 2020;157(1):260-267.
75. Chemnitz JM, Parry RV, Nichols KE, June CH, Riley JL. SHP-1 and SHP-2 associate with immunoreceptor tyrosine-based switch motif of programmed death 1 upon primary human T cell stimulation, but only receptor ligation prevents T cell activation. *J Immunol.* 2004;173(2):945-54.
76. Butte MJ, Peña-Cruz V, Kim MJ, Freeman GJ, Sharpe AH. Interaction of human PD-L1 and B7-1. *Mol Immunol.* 2008;45(13):3567-72.
77. Aust S, Felix S, Auer K, Bachmayr-Heyda A, Kenner L, Dekan S, Meier SM, Gerner C, Grimm C, Pils D. Absence of PD-L1 on tumor cells is associated with reduced MHC I expression and PD-L1 expression increases in recurrent serous ovarian cancer. *Sci Rep.* 2017;7:42929.
78. Parvathareddy SK, Siraj AK, Al-Badawi IA, Tulbah A, Al-Dayel F, Al-Kuraya KS. Differential expression of PD-L1 between primary and metastatic epithelial ovarian cancer and its clinico-pathological correlation. *Sci Rep.* 2021;11(1):3750.

- 79.Xue C, Zhu D, Chen L, Xu Y, Xu B, Zhang D, Jiang J. Expression and prognostic value of PD-L1 and PD-L2 in ovarian cancer. *Transl Cancer Res* 2019;8(1):111- 119. doi: 10.21037/tcr.2019.01.09
- 80.Drakes ML, Mehrotra S, Aldulescu M, Potkul RK, Liu Y, Grisoli A et al. Stratification of ovarian tumor pathology by expression of programmed cell death-1 (PD-1) and PD-ligand- 1 (PD-L1) in ovarian cancer. *J Ovarian Res.* 2018;11(1):43.
- 81.Eymerit-Morin C, Ilenko A, Gaillard T, Varinot J, Comp erat E, Bendifallah S et al. PD-L1 expression with QR1 and E1L3N antibodies according to histological ovarian cancer subtype: A series of 232 cases. *Eur J Histochem.* 2021;65(1):3185.
- 82.Xiao X, Dong D, He W, Song L, Wang Q, Yue J, Xie L. Mismatch repair deficiency is associated with MSI phenotype, increased tumor-infiltrating lymphocytes and PD-L1 expression in immune cells in ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2018;149(1):146-154.
- 83.Webb JR, Milne K, Kroeger DR, Nelson BH. PD-L1 expression is associated with tumor-infiltrating T cells and favorable prognosis in high-grade serous ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2016;141(2): 293-302.
- 84.Kim KH, Choi KU, Kim A, Lee SJ, Lee JH, Suh DS, Kwon BS, Hwang C. PD-L1 expression on stromal tumor-infiltrating lymphocytes is a favorable prognostic factor in ovarian serous carcinoma. *J Ovarian Res.* 2019;12(1):56.
- 85.Martin de la Fuente L, Westbom-Fremer S, Arildsen NS, Hartman L, Malander S, Kannisto P, M sb ack A, Hedenfalk I. PD-1/PD-L1 expression and tumor-infiltrating lymphocytes are prognostically favorable in advanced high-grade serous ovarian carcinoma. *Virchows Arch.* 2020;477(1):83-91.
- 86.Teng MW, Ngiow SF, Ribas A, Smyth MJ. Classifying Cancers Based on T-cell Infiltration and PD-L1. *Cancer Res.* 2015;75(11):2139-45.
- 87.Wang L. Prognostic effect of programmed death-ligand 1 (PD-L1) in ovarian cancer: a systematic review, meta-analysis and bioinformatics study. *J Ovarian Res.* 2019;12(1):37.
- 88.Alwosaibai K, Aalmri S, Mashhour M, Ghandorah S, Alshangiti A, Azam F et al. PD-L1 is highly expressed in ovarian cancer and associated with cancer stem cells populations expressing CD44 and other stem cell markers. *BMC Cancer.* 2023 Jan 5;23(1):13.
- 89.Pujade-Lauraine E, Fujiwara K, Ledermann JA, Oza AM, Kristeleit R, Ray-Coquard IL et al. Avelumab alone or in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone in platinum-resis-

tant or platinum-refractory ovarian cancer (JAVELIN Ovarian 200): an open-label, three-arm, randomised, phase 3 study. *Lancet Oncol.* 2021;22(7):1034-1046.

90. Wang Z, Sun K, Xiao Y, Feng B, Mikule K, Ma X, Feng N, Vellano CP, Federico L, Marszalek JR, Mills GB, Hanke J, Ramaswamy S, Wang J. Niraparib activates interferon signaling and potentiates anti-PD-1 antibody efficacy in tumor models. *Sci Rep.* 2019 Feb 12;9(1):1853. doi: 10.1038/s41598-019-38534-6. PMID: 30755715; PMCID: PMC6372650.

Publikovani radovi iz teze:

1. Gutic B, Bozanovic T, Mandic A, Dugalic S, Todorovic J, Stanisavljevic D, Dugalic MG, Sengul D, Detanac DA, Sengul I, Detanac D, Soares JM Junior. Programmed cell death-1 and its ligands: Current knowledge and possibilities in immunotherapy. Clinics (Sao Paulo). 2023;78:100177. doi: 10.1016/j.clinsp.2023.100177. PMID: 36931099; PMCID: PMC10025950.

M22 IF: 2,7

2. Gutic B, Bozanovic T, Mandic A, Dugalic S, Todorovic J, Dugalic MG, Sengul D, Detanac DA, Sengul I, Detanac D, Kesicioglu T, Soares Junior JM. Preliminary outcomes of five-year survival for ovarian malignancies in profiled Serbian Oncology Centre. Clinics (Sao Paulo). 2023;78:100204. doi: 10.1016/j.clinsp.2023.100204. PMID: 37148829; PMCID: PMC10757273.

M22 IF: 2,7

Rad u Medicinskom podmlatku:

1. Gutić B. Immunotherapy in cervical cancer. Medicinski podmladak. 2026; 77 (2). doi 10.5937/mp77-47050

Biografija

Bojana Gutić, rođena 08.02.1984. u Zemunu

Osnovnu školu i gimnaziju završila u Indiji, odličnim prosekom, nosilac Vukove diplome, potom završen Medicinski Fakultet u Beogradu u predviđenom roku (8,31). Nakon osnovnih, upisane i završene poslediplomske studije (akademske specijalističke studije) iz oblasti humane reprodukcije, a potom i doktorske studije iz iste oblasti. Specijalistički ispit iz ginekologije i akušerstva na Medicinskom Fakultetu u Novom Sadu položen 2018. godine, pre predviđenog roka odličnim uspehom.

Nakon 6 meseci obaveznog staža posle osnovnih studija provodi dve godine u vidu volonterskog staža u GAK KCS, nakon čega prelazi u Institutu za Onkologiju Vojvodine, Klinika za Operativnu Onkologiju, ginekološko odeljenje gde i sada radi.

Tokom studija aktivno učestvovala u naučnoistraživačkom radu iz oblasti ginekologije. Završila kurs prve pomoći, aktivno učestvovala u međunarodnoj saradnji studenata u okviru YuMSIC-a i kao korisnik iste pohađala jednomesečni kurs u vidu razmene iskustava iz oblasti hirurgije, u Španiji. Autor više radova, kao i jedan od koautora u knjizi dijabetes i trudnoća.

Nakon usmeravanja u oblasti onkologije, aktivno se usavršava u zemlji i inostranstvu u ovoj oblasti, od čega se može izdvojiti usavršavanje u Univerzitetnoj klinici u Pragu, kod prof. Dr Cibule i prof. Dr Fišer.

Aktivan je član Udruženja za ginekološku onkologiju (UGOS), Evropskog udruženja ginekologa onkologa (ESGO), Evropskog udruženja medikal-onkologa (ESMO), Međunarodnog udruženja za ginekološke karcinome (IGCS). U četvorogodišnjem period bila je i predstavnik Srbije u Udruženju mladih ginekologa onkologa (ENYGO) u okviru ESGO-a.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора Бојана Гутић

Број индекса ХПН 06/14

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом ”Експресија и прогностички значај лиганда програмиране ћелијске смрти 1 (ПД-Л1) код карцинома јајника”

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршила ауторска права и користила интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора



У Београду, 15.07.2024.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Бојана Гутић

Број индекса ХПН 06/14

Студијски програм Хумана репродукција, перинатологија и неонатологија

Наслов рада ”Експресија и прогностички значај лиганда програмиране ћелијске смрти 1 (ПД-Л1) код карцинома јајника”

Ментор проф. Др Татјана
Божановић

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предала ради похрањивања у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.



Потпис аутора

У Београду, 15.07.2024.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом: ”Експресија и прогностички значај лиганда програмиране ћелијске смрти 1 (ПД-Л1) код карцинома јајника” која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предала сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучила.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство - некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство - некомерцијално - без прерада (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство - без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство - делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци. Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).



Потпис аутора

У Београду, 15.07.2024.