

# Povezanost Ki 67 proliferacijskog indeksa sa metastazama u pazušnim limfnim čvorovima kod karcinoma dojke

---

Čeč, Dora

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:152:217695>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-23**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**  
**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**  
**SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PRIJEDIPLOMSKI I DIPLOMSKI**  
**STUDIJ MEDICINE**

**Dora Čeč**

**POVEZANOST KI 67**  
**PROLIFERACIJSKOG INDEKSA S**  
**METASTAZAMA U PAZUŠNIM LIMFNIM**  
**ČVOROVIMA KOD KARCINOMA DOJKE**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2024.**

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**  
**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**  
**SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PRIJEDIPLOMSKI I DIPLOMSKI**  
**STUDIJ MEDICINE**

**Dora Čeč**

**POVEZANOST KI 67**  
**PROLIFERACIJSKOG INDEKSA S**  
**METASTAZAMA U PAZUŠNIM LIMFNIM**  
**ČVOROVIMA KOD KARCINOMA DOJKE**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2024.**

Rad je ostvaren u KBC-u Osijek na Kliničkom zavodu za patologiju i sudsku medicinu.

Mentorica rada: doc.dr.sc. Jasmina Rajc dr. med.

Rad ima 24 listova, 10 tablica i 1 sliku.

# Sadržaj

1. UVOD.....	1
1.1. Karcinom dojke.....	1
1.1.1. Klasifikacija.....	1
1.1.2. Dijagnostika.....	4
1.1.3. Terapija.....	4
1.2. Proliferacijski indeks Ki 67.....	5
2. CILJEVI.....	6
3. ISPITANICI I METODE.....	7
3.1. Ustroj studije.....	7
3.2. Ispitanici.....	7
3.3. Metode.....	7
4. REZULTATI.....	8
5. RASPRAVA.....	14
6. ZAKLJUČAK.....	17
7. SAŽETAK.....	18
8. SUMMARY.....	19
9. LITERATURA.....	20
10. ŽIVOTOPIS.....	24

## POPIS KRATICA

AJCC – Američki združeni odbor za rak (prema engl. *American Joint Committee on Cancer*)

BCS – poštedna operacija dojke (prema engl. *breast-conserving surgery*)

DCE MRI – dinamička magnetna rezonanca s pojačanim kontrastom (prema engl. *Dynamic contrast-enhanced MRI*)

DNK – deoksiribonukleinska kiselina

ER – estrogenski receptori

HER2 – receptor ljudskog epidermalnog čimbenika rasta 2 (prema engl. *Human Epidermal growth factor Receptor 2*)

KBC – Klinički bolnički centar

MKI67 – proliferacijski marker Ki 67 (prema engl. *Marker of Proliferation Ki 67*)

MR – magnetna rezonanca

MRI – magnetna rezonanca (prema engl. *Magnetic Resonance Imaging*)

NOS – nespecifičan (prema engl. *not otherwise specified*)

NST – nespecifičan (prema engl. *no special type*)

PET – pozitronska emisijska tomografija (prema engl. *Positron Emission Tomography*)

PR – progesteronski receptor

SAD – Sjedinjene Američke Države

SPECT – kompjuterizirana tomografija s jednim fotonom (prema engl. *Single-photon emission computed tomography*)

WHO – Svjetska zdravstvena organizacija (prema engl. *World Health Organization*)

## 1. UVOD

### 1.1. Karcinom dojke

Karcinom dojke najčešće je dijagnosticirani karcinom kod žena s više od 2 milijuna novih slučajeva godišnje u svijetu. Tijekom posljednja tri desetljeća povećala se pojavnost i stopa smrtnosti od raka dojke, a razlog tome su promjene čimbenika rizika, bolje metode praćenja i otkrivanja novih slučajeva karcinoma (1). Rana dijagnoza i primjena odgovarajuće terapije nužni su za pozitivne ishode liječenja (2).

#### 1.1.1. Klasifikacija

Postoje različite podjele karcinoma dojke, a na Internacionalnoj konferenciji za karcinom dojke u St. Gallenu 2011. godine usvojena je imunohistokemijska podjela na pet podtipova prema ekspresiji četiri markera: estrogenskih receptora (ER), progesteronskih receptora (PR), receptora ljudskog epidermalnog čimbenika rasta – 2 (HER2) i Ki 67 (3). Podtipovi i njihove karakteristike prikazani su u Tablici 1 (4).

Tablica 1. Imunohistokemijska klasifikacija

Podtip karcinoma dojke	Karakteristike
Luminalni A	ER i/ili PR pozitivan, HER2 negativan, nizak Ki 67
Luminalni B	ER i/ili PR pozitivan, HER2 negativan, visok Ki 67
Luminalni B HER2-pozitivan	ER i/ili PR pozitivan, povećana ekspresija HER2, bilo koji Ki 67
HER2-pozitivan	ER i PR negativni, povećana ekspresija HER2
Trostruko negativan	ER i PR negativni, HER2 negativan

Osim imunohistokemijske podjele karcinoma dojke postoji i histološka podjela koju su izradili vodeći stručnjaci u području patologije dojke koju je usvojila i Svjetska zdravstvena organizacija (WHO), a razlikuje najmanje 18 različitih histoloških tipova. Najčešći je tip karcinoma, koji se javlja u 40 – 80 % slučajeva, invazivni karcinom dojke nespecifičnog tipa (NOS/NST) (1).

Za određivanje stadija bolesti najčešće se koristi TNM klasifikacija sastavljena od strane Američkog združenog odbora za rak (AJCC) koja uključuje T – veličinu primarnog tumora, N – limfne čvorove i M – metastaze (Tablica 2) (5).

Tablica 2. TNM klasifikacija karcinoma dojke

Oznaka	Opis
Tx	Primarni tumor se ne može izmjeriti, lokalizirati ni napipati.
T0	Nema dokaza primarnog tumora.
Tis	Karcinom in situ: Pagetova bolest dojke.
T1a	Tumor promjera do 0,5 cm.
T1b	Tumor veličine od 0,5 cm do 1 cm.
T1c	Tumor veličine od 1 cm do 2 cm.
T2	Tumor promjera većeg od 2 cm, ali manjeg od 5 cm.
T3	Tumor promjera većeg od 5 cm.
T4	Tumor bilo kojeg promjera koji se izravno širi u kožu ili prsnu stijenku – uključuje inflamatorni karcinom dojke.
T4a	Tumor bilo koje veličine sa širenjem u prsnu stijenku.
T4b	Ulceracije kože, satelitski čvorovi u koži iste dojke, edem kože dojke (uključuje i izgled kore od naranče).
T4c	Uključuje T4a i T4b istodobno.
T4d	Inflamatorni karcinom.
Nx	Regionalni limfni čvorovi ne mogu biti određeni (npr. već su uklonjeni).
N0	Nema metastaza u regionalne limfne čvorove.
N1	Karcinom je proširen u do 3 aksilarna limfna čvora, i/ili su pronađene jako male količine karcinoma u unutarnjim mamarnim limfnim čvorovima za vrijeme biopsije sentinel limfnog čvora veličine od 0,2 mm do 2 mm.
N1a	Karcinomom zahvaćeno do 3 limfna čvora, a najmanje jedno žarište je veće od 2 mm.
N1b	Metastatski depozit u unutarnjim mamarnim limfnim čvorovima ipsilateralno s karcinomom.
N1c	I N1a i N1b.



Oznaka	Opis
N2	Metastatski depozit u 4 do 9 aksilarnih limfnih čvorova s najmanje jednim žarištem većim od 2 mm.
N2b	Metastatski depoziti u jednom ili više intervalnih mamarnih limfnih čvorova i uzrokuje njihovo uvećanje.
N3	Nešto od sljedećeg:
N3a	10 ili više metastatski depoziti u aksilarnih limfnih čvorova i najmanje jednim žarištem većim od 2 mm ili metastatski depozit u infraklavikularnim limfnim čvorovima i najmanje jednim žarištem većim od 2 mm.
N3b	Ili metastatski depoziti u najmanje jednom aksilarnom limfnom čvoru (najmanje jednim žarištem većim od 2 mm) i uvećanim unutarjim mamarnim limfnim čvorovima ili metastatski depoziti u 4 ili više aksilarnih limfnih čvorova (najmanje jedno žarište veće od 2 mm) i mala količina metastatskog depozita u unutarjem mamarnom limfnom čvoru pronađena na biopsiji sentinel limfnog čvora.
M0	Udaljene metastaze nisu pronađene slikovnim dijagnostičkim metodama niti kliničkim (fizikalnim) pregledom.
M1	Postoje udaljene metastaze.

Još jedan oblik klasifikacije karcinoma je i histološki stupanj koji određuje stupanj diferencijacije tumorskih stanica u odnosu na normalne stanice dojke. Prema Nottinghamskoj metodi procjenjuju se tri morfološke karakteristike: stvaranje tubula/žlijezda, nuklearni pleomorfizam i učestalost mitozu. Ova je metoda jednostavna i ekonomična i može se primijeniti na sve slučajeve raka dojke, a provodi se bodovnim sustavom od 1 do 3 za svaku kategoriju (formiranje tubula, nuklearni pleomorfizam i broj mitozu) (Tablica 3) (6).

Tablica 3. Histološki stupanj

Histološki stupanj	Bodovi
Stupanj I	3 – 5
Stupanj II	6 – 7
Stupanj III	8 – 9

### 1.1.2. Dijagnostika

Kao i za sve bolesti, dijagnostika započinje uzimanjem anamneze i kliničkim pregledom pacijenta. U anamnezi je vrlo važno osim potpune osobne anamneze pitati i o karcinomima dojke, jajnika ili nekim drugim neoplazmama u obitelji. Klinički pregled uključuje bimanualnu palpaciju obje dojke, a zatim i palpaciju regionalnih limfnih čvorova (7). Nakon pregleda prelazi se na radiološke (slikovne) pretrage, a definitivna dijagnoza postavlja se na temelju patohistološke obrade. Radiološke pretrage dojke ključne su za otkrivanje, dijagnosticiranje i kliničko liječenje karcinoma. Tri su najčešće korištene slikovne metode mamografija, magnetna rezonanca (MR) i ultrazvuk. Mamografija ima osjetljivosti oko 75 %, ali je ta osjetljivost snižena na 50 % kod osoba koje imaju veću gustoću tkiva. MR ima nižu specifičnost pa je dinamička kontrastno pojačana magnetska rezonancija (DCE MR) koja koristi gadolinium kao kontrastno sredstvo najbolja metoda za otkrivanje. Ultrazvuk uvelike ovisi o sposobnostima doktora koji ga izvodi, ali i o pravilnom odabiru ultrazvučnih parametara (8). Osim ovih metoda koriste se i scintigrafija dojke, kompjuterizirana tomografija s jednim fotonom (SPECT) i pozitronska emisijska tomografija (PET) (2). Patohistološki uzorak dobiva se iglenom biopsijom tkiva najčešće pod kontrolom ultrazvuka, a potrebno ga je uzeti prije početka primjene bilo kakve terapije (7).

### 1.1.3. Terapija

Postoje različiti pristupi u liječenju karcinoma dojke, a njihov odabir ovisi o rezultatima patohistološke obrade, odnosno o vrsti tumora. Terapijski postupci koji se koriste su: kirurško uklanjanje, kemoterapija, radioterapija, hormonska (endokrina) terapija i biološka terapija. Postoje dvije vrste zahvata koji se koriste za uklanjanje tumorskog tkiva dojke, a to su poštedna operacija dojke (BCS) i mastektomija. Kemoterapija je sistemsko liječenje karcinoma koje može biti neoadjuvantno ili adjuvantno, a odabir se temelji na karakteristikama tumora, dok je radioterapija lokalno liječenje karcinoma i obično se primjenjuje nakon kemoterapije i/ili operacije (1).

Na odluku o izboru najprikladnije terapije velik utjecaj ima vrijednost proliferacijskog indeksa Ki 67, a ključan je i za praćenje odgovora na terapijske postupke (9). 2021. na St. Gallenskoj konferenciji odlučeno je da tumori s  $Ki\ 67 \leq 5\ %$  ne trebaju primjenu kemoterapije, dok tumori s  $Ki\ 67 \geq 30\ %$  primaju terapiju. Tu se najčešće radi o tumorima stupnja II i III, kao i o HER2-pozitivnim i trostruko negativnim tumorima, pa se kod njih primjenjuje neoadjuvantna terapija.

Primjena navedene terapije donosi brojne prednosti jer se smanjenjem primarnog tumora mijenjaju i odluke o kasnijim operacijskim postupcima na dojci i u području aksile (10).

### 1.2. Proliferacijski indeks Ki 67

Glavna je karakteristika svakog malignog procesa nekontrolirana stanična proliferacija pa je cilj proći proliferacijski marker kojim bi se lakše otkrio određeni malignitet (11). Jedan od njih je i proliferacijski marker Ki 67 (MKI67) koji ostaje aktivan tijekom faza G1, S, G2 i M u staničnom ciklusu, a prisutan je samo u stanicama s poremećajem popravka deoksiribonukleinske kiseline (DNK). Te karakteristike učinile su ga izvrsnim markerom stanične proliferacije i priznatim obilježjem onkogeneze. Pouzdana prognostika s pomoću Ki 67 potvrđena u nekoliko vrsta karcinoma, a neki od njih su karcinom dojke, prostate, vrata maternice, pluća i drugi (12).

Danas se Ki 67 rutinski određuje u laboratorijima imunohistokemijskom metodom koja korištenjem MIB-1 antitijela omogućuje vizualizaciju stanica u diobi (13). Dobivene vrijednosti Ki 67 koriste se za određivanje podtipova karcinoma s najznačajnijom ulogom u razlikovanju luminalnih A i luminalnih B tumora. Luminalni A karcinomi imaju vrijednosti Ki 67 < 20 % iako su u većini laboratorija *cut-off* vrijednosti niže, najčešće < 14 %. Određivanje točne *cut-off* vrijednosti i pravog podtipa karcinoma ključno je za primjenu prikladne terapije jer bi pacijenti s neotkrivenim agresivnijim luminalnim B podtipom mogli ostati bez pravovremene terapije (14). Vrijednosti kod HER2-pozitivnih i trostruko negativnih tumora nemaju značaja za razlikovanje, a bitno je reći da su kod tih karcinoma vrijednosti Ki 67 visoke što korelira s malignošću i lošijom prognozom ovih tumora.

2. CILJEVI

Ciljevi ovog rada su:

1. ispitati povezanost između vrijednosti Ki 67 i prisutnosti pozitivnih limfnih čvorova, uz razlikovanje između negativnih (N0) i pozitivnih (N1, N2, N3) limfnih čvorova
2. ispitati povezanost između vrijednosti Ki 67 i metastaza u limfnim čvorovima kod različitih imunohistokemijskih podtipova karcinoma dojke – luminalni A, luminalni B HER2 pozitivni, luminalni B HER2 negativni, HER2 pozitivni i trostruko negativni
3. ispitati povezanost između vrijednosti Ki 67 sa: dobi pacijenta (do 50 i iznad 50 godina), veličinom tumora (kategorije T1, T2, T3/T4), histološkim podtipom raka dojke (neodređeni histološki tip (NOS) i ostali histološki podtipovi), histološkim stupnjem tumora, prisutnošću limfovaskularne invazije i *in situ* komponentom.

#### 3. ISPITANICI I METODE

##### 3.1. Ustroj studije

Studija je ustrojena kao presječno istraživanje s povijesnim podacima (15).

##### 3.2. Ispitanici

U istraživanju su prikupljeni patohistološki nalazi pacijenata oboljelih od karcinoma dojke koji su liječeni u KBC-u Osijek u razdoblju od početka 2022. do kraja 2023. godine. Kriterij za uključenje bio je dokazani karcinom dojke i ekstirpirani limfni čvorovi. Ukupan je broj pacijenata (ispitanika) 480.

##### 3.3. Metode

Prikupljeni su arhivski podaci iz patohistoloških nalaza analize tumora, a uključivali su: dob pacijenta, veličinu tumora, pojavnost tumora u drugoj dojci, fokalnost tumora, histološki tip, histološki stupanj, postotak estrogenskih receptora, postotak progesteronskih receptora, HER2 status, Ki 67 proliferacijski indeks, imunofenotip tumora, broj izoliranih limfnih čvorova, broj metastatskih limfnih čvorova (sentinel/disekcija aksile), prisutnost limfovaskularne invazije, *in situ* komponentu tumora i TNM klasifikaciju za svaki tumor.

##### 3.4. Statističke metode

Kategorički podaci predstavljeni su apsolutnim i relativnim frekvencijama. Razlike u kategoričkim varijablama testirale su se  $\chi^2$  testom. Normalnost raspodjele numeričkih varijabli testirana je Shapiro - Wilkovim testom. Kontinuirani podaci opisani su medijanom i granicama interkvartilnog raspona. Metoda ROC krivulje (engl. *Receiver operating characteristic*) odabrana je kao jednostavan način procjene vrijednosti Ki 67 između skupina ispitanika s obzirom na pojavnost metastaza (N0 vs. ostali), a određuje se na temelju specifičnosti i senzitivnosti (16).

Sve su P vrijednosti dvostrane. Razina značajnosti je postavljena na  $\alpha = 0,05$ . Za analizu podataka korišten je statistički program MedCalc® Statistical Software version 22.018 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium; <https://www.medcalc.org>; 2024).

## 4. REZULTATI

Istraživanje je provedeno na 480 bolesnica – žena oboljelih od karcinoma dojke tijekom 2022. i 2023. godine. Medijan dobi bolesnica je 65 godina (interkvartilnog raspona od 56 do 73 godine) u rasponu od najmanje 33 do najviše 93 godine. U dobi iznad 50 godina je 405 (84,4 %) bolesnica. Limfovaskularna invazija bilježi se kod 77 (16 %) bolesnica. Iglena biopsija učinjena je kod njih 281 (58,5 %). Prema fokalnosti solitarnih tvorbi je u 441 (94,8 %) slučaju. Disekcija aksile učinjena je kod 126 (26,3 %) bolesnica (Tablica 4).

Tablica 4. Opća i klinička obilježja bolesnica

	Broj (%) bolesnica
Dob	
do 50	75 (15,6)
iznad 50	405 (84,4)
Limfovaskularna invazija	77 (16)
Prisutna <i>in situ</i> komponenta	233 (48,5)
Iglena biopsija	281 (58,5)
Fokalnost (n = 465)	
solitaran	441 (94,8)
multipli	24 (5,2)
Disekcija aksile	126 (26,3)

Tumor u drugoj dojci ima 13 (2,7 %) bolesnica. Prema histološkom tipu NOS – invazivni karcinom nalazi se u 357 (76,8 %) slučajeva, a najviše tvorbi je stupnja II, 244 (52,9 %), dok je stupanj III zabilježen u 89 (19,3 %) slučajeva (Tablica 5).

Tablica 5. Prisutnost tumora u drugoj dojci te histološki tip i histološki stupanj tumora

	Broj (%) bolesnica
Tumor u drugoj dojci	13 (2,7)
Histološki tip	
NOS – invazivni karcinom	357 (76,8)
ostali	108 (23,2)
Histološki stupanj	
I	128 (27,8)
II	244 (52,9)
III	89 (19,3)

Veličina tumora kretala se od 0,1 mm do 11 mm, a vrijednosti estrogenskih i progesteronskih receptora 0 – 100 %. Broj izoliranih limfnih čvorova kretao se od 1 do 39, a metastatskih od 0 do 20. Medijan proliferacijskog indeksa Ki 67 je 30 % u rasponu od 1 % do 98 % (Tablica 6).

Tablica 6. Mjere sredine i raspršenja veličine tumora, estrogenskog i progesteronskog receptora te proliferacijskog indeks Ki 67 i broj izoliranih limfnih i metastatskih limfnih čvorova

	Medijan (interkvartilni raspon)	Minimum - maksimum
Veličina tumora	1,8 (1,2 – 2,6)	0,1 - 11
Estrogenski receptori (%)	90 (80 – 100)	0 - 100
Progesteronski receptori (%)	60 (0 – 90)	0 - 100
Ki 67	30 (16 – 49,5)	1 - 98
Broj izoliranih limfnih čvorova		1 - 39
Broj metastatskih limfnih čvorova		0 - 20

Estrogenski receptor 10 – 100 % nalazi se u 350 (81,6 %) slučajeva, a progesteronski 10 – 100 % u 284 (66,2 %) slučaja. I u slučaju estrogenskog i progesteronskog receptora, najmanje bolesnica je s vrijednostima 1 – 10 %.

Vrijednosti proliferacijskog indeksa Ki 67 su kod 90 (21 %) bolesnica 50 % i više, dok ih su 202 (47,2 %) s vrijednostima 20 % – 50 % (Tablica 7).

Tablica 7. Raspodjela bolesnica prema estrogenskom i progesteronskom receptoru (%), te proliferacijskom indeksu Ki 67

	Broj (%) bolesnica
<b>Estrogenski receptori %</b>	
<1 %	72 (16,8)
1-10 %	7 (1,6)
10-100 %	350 (81,6)
<b>Progesteronski receptori %</b>	
<1 %	109 (25,4)
1-10 %	36 (8,4)
10-100 %	284 (66,2)
<b>Proliferacijski indeks Ki 67</b>	
1-20 %	136 (31,8)
20-50 %	202 (47,2)
50 % i više	90 (21)

S obzirom na imunofenotip, najviše je luminalnih B, u 198 (45,8 %) slučajeva, luminalnih B HER2 pozitivnih je u 56 (13 %) slučajeva, dok je trostruko negativnih 43 (10 %). Luminalni A tip ima 108 (25 %) bolesnica (Tablica 8).

Tablica 8. Raspodjela prema imunofenotipu

	Broj (%) bolesnica
<b>Imunofenotip</b>	
Luminalni A	108 (25)
Luminalni B HER2 pozitivni	56 (13)
Luminalni B	198 (45,8)
HER2 pozitivni	27 (6,3)
Trostruko negativni	43 (10)

S obzirom na TNM klasifikaciju raka dojke, prema veličini primarnog tumora 210 (58,5 %) bolesnica je s tumorom veličine T1 – manji od 2 cm, dok se u 21 (5,8 %) slučaju radi o tumorima većim od 5 cm ili onima koji su se proširili na prsni koš ili kožu.



Kod 232 (67,1 %) bolesnica nisu pronađene metastaze u regionalnim limfnim čvorovima (N0), dok ih 114 (32,9 %) ima metastaze u aksilarnim limfnim čvorovima ili metastaza u 10 ili više aksilarnih limfnih čvorova, s mogućnosti metastaza u limfnim čvorovima ispod prsne kosti ili oko ključne kosti (Tablica 9).

Tablica 9. Raspodjela prema TNM klasifikaciji raka dojke

	Broj (%) bolesnica
T klasifikacija	
T0	37 (10,3)
T1	210 (58,5)
T2	91 (25,3)
T3/T4	21 (5,8)
N klasifikacija	
N0	232 (67,1)
N1/N2/N3	114 (32,9)

Kod bolesnica s vrijednostima proliferacijskog indeksa Ki 67 od 50 % i više, u odnosu na bolesnice s nižim vrijednostima, značajnije je više prisutna limfovaskularna invazija ( $\chi^2$  test,  $P < 0,001$ ), NOS – invazivni karcinom ( $\chi^2$  test,  $P < 0,001$ ), tumor stupnja III ( $\chi^2$  test,  $P < 0,001$ ). Značajnije su više prema fenotipu HER2 pozitivni ili trostruko negativni ( $\chi^2$  test,  $P < 0,001$ ).

Prema TNM klasifikaciji značajnije su učestalije veličine T3/T4 (tumori veći od 5 cm ili oni koji su se proširili na prsni koš ili kožu) ( $\chi^2$  test,  $P < 0,001$ ), a prema N klasifikaciji značajnije su, uz Ki 67 od 50 % i više, N1/N2/N3 (metastaze u aksilarnim limfnim čvorovima ili metastaza u 10 ili više aksilarnih limfnih čvorova, s mogućnosti metastaza u limfnim čvorovima ispod prsne kosti ili oko ključne kosti) ( $\chi^2$  test,  $P = 0,04$ ).

Estrogenski i progesteronski receptori  $< 1$  % se nalaze značajnije češće kod vrijednosti Ki 67 indeksa od 50 % i više ( $\chi^2$  test,  $P < 0,001$ ).

Ne uočavaju se značajne razlike prisutnosti *in situ* komponente i dobi bolesnica u odnosu na vrijednosti proliferacijskog indeksa Ki 67 (Tablica 10).

Tablica 10. Opća i klinička obilježja u odnosu na vrijednosti proliferacijskog indeksa Ki 67

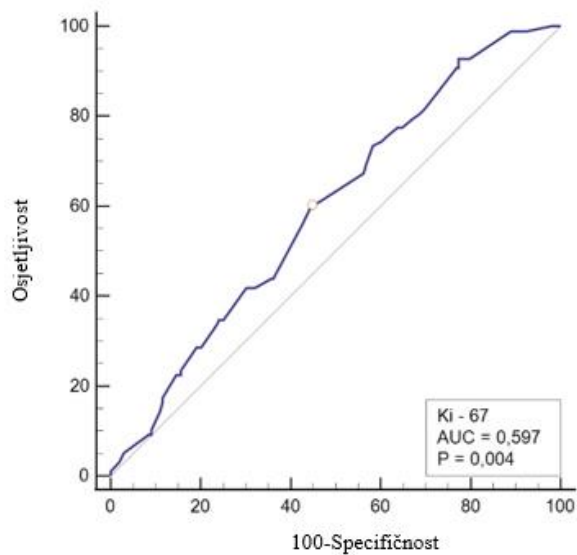
	Broj (%) ispitanika u odnosu na Ki 67				P*
	1 - 20	20 - 50	50 i više	Ukupno	
Dob					
do 50	19 (14)	23 (11,4)	20 (22,2)	62 (14,5)	0,05
iznad 50	117 (86)	179 (88,6)	70 (77,8)	366 (85,5)	
Limfovaskularna invazija	10 (7,5)	33 (17)	27 (32,1)	70 (17)	<b>&lt;0,001</b>
<i>In situ</i> komponenta	65 (47,8)	108 (54)	37 (41,6)	210 (49,4)	0,13
Histološki tip					
NOS	92 (67,6)	150 (74,3)	84 (93,3)	326 (76,2)	<b>&lt;0,001</b>
ostali	44 (32,4)	52 (25,7)	6 (6,7)	102 (23,8)	
Histološki stupanj					
I	80 (58,8)	38 (19)	2 (2,2)	120 (28,2)	
II	54 (39,7)	134 (67)	37 (41,1)	225 (52,8)	<b>&lt;0,001</b>
III	2 (1,5)	28 (14)	51 (56,7)	81 (19)	
Imunofenotip					
Luminalni A	105 (78,9)	2 (1)	0	107 (25,2)	
Luminalni B HER2+	8 (6)	33 (16,3)	15 (16,7)	56 (13,2)	
Luminalni B	15 (11,3)	146 (71,8)	35 (38,9)	195 (45,9)	<b>&lt;0,001</b>
HER2 +	4 (3)	10 (5)	13 (14,4)	27 (6,4)	
Trostruko negativni	1 (0,8)	12 (5,9)	27 (30)	40 (9,4)	
T klasifikacija					
T0	2 (1,9)	7(4,7)	13(24,1)	22 (7,1)	
T1	75 (70,1)	93 (62,4)	23 (42,6)	191 (61,6)	<b>&lt;0,001</b>
T2	29 (27,1)	39 (26,2)	10 (18,5)	78 (25,2)	
T3/T4	1 (0,9)	10 (6,7)	8 (14,8)	19 (6,1)	
N klasifikacija					
N0	77 (76,2)	91 (64,1)	31 (57,4)	199 (67)	<b>0,04</b>
N1/N2/N3	24 (23,8)	51 (35,9)	23 (42,8)	98 (33)	
Estrogenski receptori					
<1 %	5 (3,8)	22 (10,9)	42 (46,7)	69 (16,3)	
1-10 %	0	2 (1)	4 (4,4)	6(1,4)	<b>&lt;0,001</b>
10-100 %	127 (96,2)	177 (88,1)	44 (48,9)	348 (82,3)	
Progesteronski receptori					
<1 %	14 (10,6)	41 (20,4)	49 (54,4)	104 (24,6)	
1-10 %	11 (8,3)	15 (7,5)	10(11,1)	36 (8,5)	<b>&lt;0,001</b>
10-100 %	107 (81,1)	145 (72,1)	31 (34,4)	283 (66,9)	

\* $\chi^2$  test

#### 4. REZULTATI

Kako bi se procijenila vrijednost Ki 67, korištena je metoda izračuna ROC krivulje kojom se stupnjevito mijenjaju vrijednosti koje razlučuju ispitanike, s obzirom na metastaze u limfne čvorove (N0 vs. N1/N2/N3). Mijenjana je točka razlučivanja za pojedinu skupinu ispitanika (*cut-off point*), kako bi se stvaranjem ROC-krivulje moglo objektivno utvrditi koja vrijednost najbolje razlučuje uspoređene skupine.

U ovim podacima, s obzirom na metastaze (N0 vs. N1/N2/N3), Ki 67 je značajan dijagnostički pokazatelj (AUC = 0,597, specifičnost 55,3, osjetljivost 60,2 uz točku razlučivanja (*cut-off*) >26) (Slika 1).



Slika 1. ROC analiza Ki 67 kao dijagnostičkog pokazatelja pojave metastaza (točka razlučivanja Ki 67 > 26)

## 5. RASPRAVA

Karcinom dojke najčešće se javlja kod žena starijih od 50 godina, a Američko društvo za rak (engl. *American Cancer Society*) objavilo je da je medijan dobi u Sjedinjenim Američkim Državama (SAD) 62 godine (17). U ovom istraživanju većina pacijentica također se nalazi u toj dobnoj skupini, a iste rezultate ima i još jedno istraživanje provedeno u Kliničkom bolničkom centru Osijek (KBC Osijek) za petogodišnje razdoblje od 2016. do 2021. godine (18). Radi toga se u Hrvatskoj od 2006. godine, u sklopu Nacionalnog programa ranog otkrivanja raka dojke, provodi probir u kojem se pozivaju žene u dobi od 50 do 69 godina na mamografski pregled svake dvije godine (19).

Prema imunofenotipu u ovom je istraživanju najviše bilo luminalnog B podtipa, a zatim luminalnog A što se razlikuje od istraživanja provedenog u Indiji gdje je 37 % pacijentica imalo luminalni A podtip, a malo manje od 8 % luminalni B (20). Za razlikovanje ova dva podtipa ključna je vrijednost Ki 67 jer luminalni A podtip ima niže vrijednosti (manje od 20 %), dok luminalni B ima više (20 % i više) (21). Također, važno je istaknuti da su trostruko negativni karcinomi dojke bili zastupljeni s oko 10 % od sveukupnog broja karcinoma, što je znak adekvatne imunohistokemijske analize i valjane detekcije pozitiviteta estrogenskih i progesteronskih receptora. U nekim slučajevima, a osobito u slabije razvijenim zemljama, neadekvatna imunohistokemijska analiza tih receptora može rezultirati lažno negativnim rezultatima pa je i postotak trostruko negativnih karcinoma u tom slučaju viši (22).

U brojnim istraživanjima prema histološkoj podjeli NOS – invazivni karcinomi čine između 50 i 80 % svih otkrivenih karcinoma (23), a i u ovom su istraživanju isti rezultati s oko 76 %.

S obzirom na TNM klasifikaciju u ovom su istraživanju bolesnice većinski bile T1 stadij bolesti odnosno tumor veličine do 2 cm, a drugačije rezultate dobio je V. Özmen u turskom istraživanju gdje je veličina tumora prosječno bila 2.5 cm što bi odgovaralo stadiju T2 (24). Isto tako postoje i razlike u postotku bolesnica sa zahvaćenim limfnim čvorovima koji je u tom istraživanju iznosio 50 %, a u KBC-u Osijek zabilježeno je oko 33 % (24). Ovi rezultati potvrđuju uspješnost otkrivanja bolesti u ranoj fazi zahvaljujući učinkovitom programu probira za rano otkrivanje karcinoma dojke i visokoj razini svijesti i brige o zdravlju među pacijenticama.

Ki 67, kao marker proliferacije stanica, tradicionalno je povezan s lošijim kliničko-patološkim parametrima, što je potvrđeno i u ovom istraživanju. Povezan je s većom veličinom tumora, višim histološkim stupnjem, limfovaskularnom invazijom i većim brojem zahvaćenih pazušnih limfnih čvorova. Također, veće vrijednosti Ki 67 prisutne su kod slabije diferenciranih karcinoma dojke, uključujući HER2 pozitivne i trostruko negativne karcinome (12).

Postoje brojni radovi koji su također proučavali povezanost vrijednosti Ki 67 s karakteristikama tumora. Jedno od tih istraživanja proveo je G. Kanyılmaz i suradnici gdje se najznačajnija povezanost vidjela s histološkim stupnjem. Tumori nižeg histološkog stupnja imali su niže vrijednosti Ki 67 i obrnuto, a takvi su rezultati i u ovome istraživanju. Osim toga, u tom je istraživanju bila značajna i povezanost između prisutnosti limfovaskularne invazije i visokih vrijednosti Ki 67 što se također podudara s prethodno prikazanim rezultatima (25).

U istraživanju provedenom u Egiptu, rezultati su pokazali povezanost viših vrijednosti Ki 67 s tumorima veće veličine, višim histološkim stupnjem i pozitivnim limfnim čvorovima (26). Ovi rezultati upućuju na povezanost viših vrijednosti Ki 67 s većom agresivnošću tumora, a to je vidljivo i u ovome istraživanju. Imunofenotipski agresivniji oblici tumora kao što su HER2 pozitivni i trostruko negativni javljali su se uz vrijednosti Ki 67 od 50 % i više, a iste su rezultate dobili i N. A. Soliman i suradnici. Osim viših vrijednosti Ki 67, u tom je istraživanju zabilježena i učestalija pojava metastaza i recidiva tumora što ukazuje na agresivnije oblike bolesti (27).

U usporedbi s devet nedavno provedenih istraživanja, samo tri su potvrdila povezanost između Ki 67 i dobi pacijentica. U preostalih šest, kao i u ovom istraživanju, nije pronađena značajna poveznica između tih parametara (25).

Isto tako, u ovom radu nije pronađena povezanost između postojanja *in situ* komponente tumora i vrijednosti Ki 67. Međutim, istraživanje provedeno u Kini pokazalo je da su niže vrijednosti Ki 67 bile povezane s invazivnim karcinomima koji su imali *in situ* komponentu, dok su više vrijednosti Ki 67 bile prisutne kod invazivnih karcinoma bez *in situ* komponente (28).

Poveznica između vrijednosti Ki 67 i pozitivnih limfnih čvorova razlikuje se među provedenim istraživanjima. U istraživanjima koja su proveli H. Kamranzadeh i sur. (29) i A. A. Hashmi i sur. (30) nije pronađena značajna povezanost. Za razliku od prethodno spomenutih istraživanja, istraživanje u Njemačkoj, kao i ovo istraživanje, pokazali su da postoji značajna poveznica između vrijednosti

Ki 67 i pozitivnih limfnih čvorova (31). Važno je naglasiti da je u njemačkom istraživanju zbog velikog broja pacijentica s negativnim limfnim čvorovima dokazana poveznica između negativnih limfnih čvorova i niskih vrijednosti Ki 67. Suprotno tome, u ovom je istraživanju dokazana povezanost vrijednosti Ki 67 od 50 % i više s većom učestalošću pozitivnih limfnih čvorova.

Kao što je već spomenuto, u ovom je radu najveći broj karcinoma pripadao skupini luminalnih B koja se ističe svojom heterogenošću i nepredvidivošću kliničkog tijeka, uključujući i metastaze u pazušne limfne čvorove i odgovor na neoadjuvantnu terapiju. Zbog toga je dodatno provedena ROC analiza kojom je statistički utvrđena granična vrijednost Ki 67 od 26 % za pojavu metastaza u pazušne limfne čvorove.

Ovaj je rezultat značajan i može biti vrlo koristan za predviđanje tijeka bolesti i donošenje odluka o odabiru liječenja, što se posebno odnosi na odluke o provođenju neoadjuvantne terapije kod luminalnih B karcinoma. One se temelje na kliničko-patološkim parametrima, uključujući Ki 67 proliferacijski indeks, a naročito kada je status pazušnih limfnih čvorova nepoznat. Na taj se način dobiva dodatni kriterij za odluku o vrsti liječenja i povećava se mogućnost za bolji ishod liječenja kod bolesnika s karcinomom dojke.

6. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Veće vrijednosti Ki 67 (50 % i više) povezane su s većom zahvaćenošću limfnih čvorova, a *cut-off* vrijednost je Ki 67 veći od 26 %.
2. Veće vrijednosti Ki 67 (50 % i više) učestalije su kod HER2 pozitivnih i trostruko negativnih tumora.
3. Prema TNM klasifikaciji, tumori iz kategorije T3 i T4 povezuju se s višim vrijednostima Ki 67 (50 % i više).
4. Prema histološkoj podjeli, NOS invazivni karcinom dojke učestaliji je kod viših vrijednosti Ki 67 (50 % i više).
5. Vrijednosti Ki 67 50 % i više povezane su s prisutnošću limfovaskularne invazije.
6. Dob pacijentica i *in situ* komponenta ne mogu se povezati s vrijednostima proliferacijskog markera Ki 67.

## 7. SAŽETAK

**Cilj istraživanja:** Ispitati povezanost između vrijednosti Ki 67 s metastazama u limfne čvorove, imunofenotipom karcinoma dojke, dobi, veličinom tumora, histološkim podtipom, limfovaskularnom invazijom i *in situ* komponentom.

**Nacrt studije:** presječno istraživanje

**Ispitanici i metode:** U istraživanju su prikupljeni patohistološki nalazi pacijenata oboljelih od karcinoma dojke koji su liječeni u KBC-u Osijek u razdoblju od početka 2022. do kraja 2023. godine, a ukupan broj pacijenata bio je 480. Za statističku obradu podataka korišten je  $\chi^2$  test, Shapiro - Wilkovim test i metoda ROC krivulje.

**Rezultati:** U istraživanju je 84 % bolesnica bilo starije od 50 godina, a prema histološkom tipu 76 % je imalo NOS – invazivni karcinom dojke. S obzirom na imunofenotip najviše je bilo luminalnih B karcinoma. Uz vrijednosti Ki 67 od 50 % i više povezuju se učestalije HER2 pozitivni i trostruko negativni karcinomi, T3 i T4 stadij bolesti prema TNM klasifikaciji i prisutnost metastaza u limfne čvorove (N1, N2, N3). Nisu postojale razlike u prisutnosti *in situ* komponente i dobi bolesnica u odnosu na vrijednosti Ki 67.

**Zaključak:** Vrijednosti Ki 67 50 % i više povezuju se s većom zahvaćenošću limfnih čvorova i agresivnijim oblicima karcinoma, kao što su HER2 pozitivni i trostruko negativni. *Cut-off* vrijednost Ki 67 za metastaze u limfne čvorove bila je 26 % i ona označava vrijednost od koje se povećava broj pozitivnih limfnih čvorova.

**Ključne riječi:** biomarkeri; karcinom dojke; Ki 67 antigen; metastaze u limfne čvorove



## 8. SUMMARY

**Association between Ki 67 proliferation index and axillary lymph node metastasis in breast cancer**

**Objectives:** Examine the correlation between Ki 67 values and lymph node metastases, immunophenotype of breast cancer, age, tumor size, histological subtype, lymphovascular invasion, and in situ component.

**Study design:** cross-sectional study

**Participants and methods:** The study collected pathological reports of patients with breast cancer treated at the University Hospital Center Osijek from the beginning of 2022 to the end of 2023, with a total number of patients being 480. The  $\chi^2$  test, the Shapiro-Wilk test, and the ROC curve method were used for statistical analysis.

**Results:** In the study, 84 % of the patients were older than 50 years, and according to histological type, 76 % had NOS invasive breast carcinoma. Regarding immunophenotype, luminal B carcinomas were the most prevalent. Ki-67 values of 50 % and higher were associated with more frequent HER2-positive and triple-negative carcinomas, T3 and T4 stages of disease according to TNM classification, and the presence of lymph node metastases (N1, N2, N3). There were no differences in the presence of *in situ* components and patient age relative to Ki-67 values.

**Conclusion:** Ki-67 values of 50 % and higher are associated with greater lymph node involvement and more aggressive forms of carcinoma, such as HER2-positive and triple-negative cancers. The cut-off value of Ki-67 for lymph node metastases was 26 %, which indicates the value from which the number of positive lymph nodes increases.

**Keywords:** biomarkers; breast cancer; Ki 67 antigen; lymphatic metastasis

## 9. LITERATURA

1. Łukasiewicz S, Czezelewski M, Forma A:BJ, Sitarz R, Stanisławek A. Breast Cancer—Epidemiology, Risk factors, Classification, Prognostic Markers, and Current Treatment Strategies—An Updated Review. *Cancers*. 2021;13(17):4287.
2. Bhushan A, Gonsalves A, Menon JU. Current State of Breast Cancer Diagnosis, Treatment, and Theranostics. *Pharmaceutics*. 2021 May;13(5):723.
3. Li J, Chen Z, Su K, Zeng J. Clinicopathological classification and traditional prognostic indicators of breast cancer. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015 Jul;8(7):8500-5.
4. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thürlimann B, Senn HJ, i sur. Strategies for subtypes--dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. *Ann Oncol*. 2011 Aug;22(8):1736-47.
5. Sparano JA. Medscape. Dostępno na: <https://emedicine.medscape.com/article/2007112-overview>. Datum pristupa: 24. 5. 2024.
6. van Dooijeweert C, van Diest PJ, Ellis IO. Grading of invasive breast carcinoma: the way forward. *Virchows Arch*. 2022 Jan;480(1):33-43.
7. Cardoso F, Kyriakides S, Ohno S, Penault-Llorca F, Poortmans P, Rubio IT, i sur. Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2019 Aug;30(8):1194-1220.
8. Iranmakani S, Mortezaazadeh T, Sajadian F. A review of various modalities in breast imaging: technical aspects and clinical outcomes. *Egypt J Radiol Nucl Med*. 2020 Apr;51(57).

9. Zhang A, Wang X, Fan C, Mao X. The Role of Ki67 in Evaluating Neoadjuvant Endocrine Therapy of Hormone Receptor-Positive Breast Cancer. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021 Nov;(12).
10. Burstein HJ, Curigliano G, Thürlimann B, Weber WP, Poortmans P, Regan MM, i sur. Customizing local and systemic therapies for women with early breast cancer: the St. Gallen International Consensus Guidelines for treatment of early breast cancer 2021. *Ann Oncol*. 2021 Oct;32(10):1216-1235.
11. Meermira D, Swain M, Gowrishankar S. Study of Ki-67 index in the molecular subtypes of breast cancer: Inter-observer variability and automated scoring. *Indian Journal of Cancer*. 2020 Jul;57(3):289-295.
12. Davey MG, Hynes SO, Kerin MJ, Miller N, Lowery AJ. Ki-67 as a Prognostic Biomarker in Invasive Breast Cancer. *Cancers*. 2021 Sep;13(17):4455.
13. Bergman R, Malkin L, SE, Kerner H. MIB-1 monoclonal antibody to determine proliferative activity of Ki-67 antigen as an adjunct to the histopathologic differential diagnosis of Spitz nevi. *J Am Acad Dermatol*. 2001 Mar;44(3):500-4.
14. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart M, Thürlimann B, i sur. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol*. 2013 Sep;24(9):2206-23.
15. Marušić M. Uvod u znanstveni rad u medicini. 5. izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2013.
16. Ivanković D, Božikov J, Kern J, Kopjar B, Luković G. Osnove statističke analize za medicinare. Zagreb: Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu; 1988.

17. American Cancer Society. Key Statistics for Breast Cancer. Dostupno na: <https://www.cancer.org/cancer/types/breast-cancer/about/how-common-is-breast-cancer.html>. Datum pristupa: 8. 6. 2024.
18. Gudelj R. Prognostički čimbenici kod luminalnih A i luminalnih B intrinzičnih podtipova karcinoma dojke [diplomski rad]. [Osijek]: Medicinski fakultet Osijek; 2021.
19. Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Odjel za programe probira raka dojke. Dostupno na: <https://www.hzjz.hr/sluzba-epidemiologija-prevencija-nezaraznih-bolesti/odjel-za-programe-probira-raka-dojke/>. Datum pristupa: 8. 6. 2024.
20. Pandit P, Patil R, Palwe V, Gandhe S, Patil R, Nagarkar R. Prevalence of Molecular Subtypes of Breast Cancer: A Single Institutional Experience of 2062 Patients. *Eur J Breast Health*. 2019 Nov;16(1):39-43.
21. Sheri A, Dowsett M. Developments in Ki67 and other biomarkers for treatment decision making in breast cancer. *Ann Oncol*. 2012 Sep;23(10):219-27.
22. Tiscoski KA, Giacomazzi J, Rocha MS, Gössling G, Werutsky G. Real-world data on triple-negative breast cancer in Latin America and the Caribbean. *Ecancermedicalsecience*. 2023 Nov;(17):1635.
23. Weigelt B, Geyer FC, Reis-Filho JS. Histological types of breast cancer: how special are they? *Mol Oncol*. 2010 Jun;4(3):192-208.
24. Özmen V. Breast Cancer in Turkey: Clinical and Histopathological Characteristics (Analysis of 13.240 Patients). *J Breast Health*. 2014 Apr;10(2):98-105.

25. Kanyılmaz G, Yavuz BB, Aktan M, Karaağaç M, Uyar M, Fındık S. Prognostic Importance of Ki-67 in Breast Cancer and Its Relationship with Other Prognostic Factors. *Eur J Breast Health*. 2019 Oct;15(4):256-261.
26. Ragab HM, Samy N, Afify M, El Maksoud NA, Shaaban HM. Assessment of Ki-67 as a potential biomarker in patients with breast cancer. *J Genet Eng Biotechnol*. 2018 Dec;16(2):479-484.
27. Soliman NA, Yussif SM. Ki-67 as a prognostic marker according to breast cancer molecular subtype. *Cancer Biol Med*. 2016 Dec;13(4):496-504.
28. Wong H, Lau S, Yau T. Presence of an in situ component is associated with reduced biological aggressiveness of size-matched invasive breast cancer. *Br J Cancer*. 2010 Apr;102:1391-1396.
29. Kamranzadeh H, Ardekani RM, Kasaeian A, Sadighi S, Maghsudi S, Jahanzad I, i sur. Association between Ki-67 expression and clinicopathological features in prognosis of breast cancer: A retrospective cohort study. *J Res Med Sci*. 2019 Apr;24(30).
30. Hashmi AA, Hashmi KA, Irfan M, Khan SM, Edhi MM, Ali JP, i sur. Ki67 index in intrinsic breast cancer subtypes and its association with prognostic parameters. *BMC Res Notes*. 2019 Sep;12(1):605.
31. Thangarajah F, Enninga I, Malter W, Hamacher S, Markiefka B, Richters L, i sur. A Retrospective Analysis of Ki-67 Index and its Prognostic Significance in Over 800 Primary Breast Cancer Cases.. *Anticancer Res*. 2017 Apr;37(4):1957-1964.

10. ŽIVOTOPIS

Opći podaci:

Ime i prezime: Dora Čeč

Datum i mjesto rođenja: 13. kolovoza 1998., Osijek, Republika Hrvatska

Adresa stanovanja: Osječka 174, Tenja, Republika Hrvatska

Telefon: +385 95 395 9054

E-mail: [doracec13@gmail.com](mailto:doracec13@gmail.com)

Obrazovanje:

2005. – 2013. Osnovna škola Tenja, Tenja

2013. – 2017. III. gimnazija Osijek, Osijek

2017. – 2024. Sveučilišni integrirani prijediplomski i diplomski studij medicine, Medicinski fakultet Osijek

Aktivnosti:

- sudjelovanje na 6. studentskom kongresu OSCON u Osijeku, 2024. (aktivno)
- održavanje predavanja u srednjim školama u sklopu *The talk* projekta, 2023./2024.
- sudjelovanje na 5. studentskom kongresu OSCON u Osijeku, 2023. (pasivno)
- asistent Lokalnog dužnosnika za profesionalne razmjene CroMSIC Osijek, 2018.-2021.
- demonstratura na kolegiju Anatomija, Katedra za anatomiju i neuroznanost, 2018./2019.