

# Imunohistokemijske metode u diferencijaciji raka pluća ne malih stanica (NSCLC)

---

Alduk, Klara

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2017**

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:764615>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-25**



Repository / Repozitorij:

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



**SVEU ILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**  
**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**Sveu ilišni preddiplomski studij medicinsko laboratorijske  
dijagnostike**

**Klara Alduk**

**IMUNOHISTOKEMIJSKE METODE  
U DIFERENCIJACIJI RAKA PLU A  
NE-MALIH STANICA**

**Završni rad**

**Osijek, 2017.**

**SVEU ILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**  
**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**Sveu ilišni preddiplomski studij medicinsko laboratorijske  
dijagnostike**

**Klara Alduk**

**IMUNOHISTOKEMIJSKE METODE  
U DIFERENCIJACIJI RAKA PLU A  
NE-MALIH STANICA**

**Završni rad**

**Osijek, 2017.**

Rad je ostvaren u Klini kom zavodu za patologiju i sudsku medicinu Klini kog bolni kog centra u Osijeku.

Mentor rada: prof.dr.sc. Branko Dmitrović, dr. med.

Rad ima 28 listova, 7 tablica i 7 slika.

*Veliku zahvalnost u prvom redu dugujem mentoru prof.dr.sc. Branku Dmitrovi u na predloženoj temi, ukazanom povjerenju, pruženoj prilici za suradnju, potpori u mom stru nom i znanstvenom usavršavanju te brojnim savjetima pri realizaciji rada.*

*Zahvaljujem svim svojim prijateljima i kolegama koji su mi olakšali tijek studiranja te ga u inili ugodnijim i ljepšim.*

*Posebnu zahvalnost iskazujem svojoj obitelji koja je sve ove godine bila uz mene, nesobi no mi pružala potporu i bez koje ništa od ovoga ne bi imalo istu težinu. Hvala vam od srca!*

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
1.1. Rak plu a.....	1
1.1.1. Epidemiologija .....	2
1.1.2. Etiologija i patogeneza .....	2
1.1.3. Podjela raka plu a.....	3
1.1.4. Otkrivanje raka plu a .....	4
1.1.5. Stupnjevanje raka plu a.....	5
2. CILJ .....	6
3. MATERIJALI I METODE.....	7
3.1. Ustroj studije .....	7
3.2. Materijali .....	7
3.3. Metode.....	7
3.3.1. Imunohistokemija .....	7
3.3.2. Priprema uzorka u imunohistokemiji.....	8
3.3.3. Korišteni biljezi u imunohistokemiji .....	10
3.4. Statisti ke metode .....	11
4. REZULTATI .....	12
5. RASPRAVA .....	19
6. ZAKLJU AK.....	22
7. SAŽETAK .....	23
8. SUMMARY .....	24
9. LITERATURA .....	25
10. ŽIVOTOPIS .....	28

## **POPIS KRATICA:**

**SCLC** - karcinom plu a malih stanica

**NSCLC** - karcinom plu a ne-malih stanica

**CK 5/6** - citokeratin 5/6

**p63** - protein 63

**TTF-1** - faktor transkripcije štitnja e 1

**CT** - kompjuterizirana tomografija

**MR** - magnetna rezonancija

**PET** - pozitronska emisijska tomografija

**BAL** - bronhoalveolarni obrisak

**PAP** - peroksidaza anti-peroksidaza

**CK7** - citokeratin 7

**KBC** - Klini ki bolni ki centar

**HE** – hematoksilin i eozin

## 1. UVOD

Rak ili zlo udni tumor, patološka je tvorba, potencijalno opasna za život. To je zlo udna novotvorina koja nastaje nekontroliranom proliferacijom abnormalnih stanica (1). Predstavlja neobuzdanu rastu u masu transformiranih stanica (2).

Rast zlo udnih stanica možemo opisati kao:

- **Nesvrhovit** - nema biološke svrhe, organizam ne koristi tumorske stanice koje u većini slučaja mogu biti štetne.
- **Autonoman** - rast novotvorina ne ovisi o fiziološkim kontrolnim mehanizmima. Tumorske stanice abnormalno reagiraju na stimulaciju faktora rasta, hormona te ostalih biološki aktivnih tvari u krvi i u zdravim tkivima.
- **Parazitski** - same novotvorine iskorištavaju domaće do krajinjih granica, poput parazita, gdje iz krvotoka istog, izvlače bitne sastojke za vlastiti život, poput kisika i hormona.
- **Nepravilan i neorganiziran** - tumorske stanice rastu nepravilno, neorganizirano i bez kontaktne inhibicije te zbog toga ne stvaraju tkiva ili organe. Esto se ne diferenciraju u zrele stanice koje se nalaze u normalnim tkivima pa se još nazivaju nediferencirane ili atipi ne stanice.

Stvaranje presadnica ili metastaza jedno je od glavnih obilježja zlo udnih tumora. Tumorske stanice prodiru u krvne i limfne žile, šire se tijelom i zauzimaju okolna tkiva direktnim rastom, invazijom (1, 2).

Osim simptoma zahvaćenih organa, zlo udni tumori mogu uzrokovati i sustavne simptome poput opere slabosti, naglog gubitka tjelesne mase, temperature, mijalgije, artralgije i slično. Ta pojava je poznata kao paraneoplastični sindrom (3).

### 1.1. Rak pluća

Rak pluća nastaje zlo udnom preobrazbom epitelnih stanica, bronha i bronhiola (1). Kod većine, rak pluća nastaje u bronhima (95 %) slučaju, dok ostatak (3-5 %) slučaju otpada na alveole. Karcinomi pluća su vrlo invazivni i brzo se šire na druge organe (4). Preobrazbu stanica uzrokuju imbenici poput pušenja, udisanja one ili enog zraka koji je usko vezano za

pojedine profesije te idiopatska plu na fibroza kod koje je primije ena poja ana u estalost samog raka plu a. Rak plu a posjeduje tendenciju širenja u ranoj fazi nakon formiranja te ga ta osobitost ini izrazito opasnim po život i teškim za lije enje. Presadnice (metastaze) mogu zahvatiti skoro svaki organ ili organski sustav. Ima sposobnost širenja krvlju, limfom, izravno te pleurom. Hematogenim putem širenja dospijeva u jetru, mozak, bubrege, nadbubrežne žlijezde, slezenu i kosti. Limfnim širenjem metastazira u traheobronhalne, pazušne, natklju ne, vratne i trbušne limfne vorove. Tijekom izravnog metastaziranja, prvo se širi u najbliže strukture kao što su hilarni limfni vorovi, kralješci, prsna stijenka te pleura (1, 2, 3).

### **1.1.1. Epidemiologija**

Rak plu a predstavlja naj eš i karcinom u svijetu. Prema podacima iz 2008. procjenjuje se da je 2008. od raka plu a oboljelo 1,61 milijun ljudi, što ini 12,7 % svih novodijagnosticiranih zlo udnih tumora u toj godini (5). Prema podacima Registra za rak Republike Hrvatske iz 2011., rak plu a naj eš i je uzrok smrtnosti od zlo udnih novotvorina kod muškaraca i kod žena. Rak plu a naj eš e se pojavljuje u dobi izme u 40 i 70 godina života, nešto eš e u muškaraca nego kod žena. Važna je injenica da je pušenje sve više prisutno u mla ih osoba te kod žena pa se karcinom sve eš e dijagnosticira u ovim skupinama (2, 3). Nakon prestanka pušenja, rizik za rak plu a znatno se smanji unutar prve dvije godine, a nakon toga polako se smanjuje u narednih 15 godina, ali nikad ne padne na razinu nepuša a (2). Samo 5-15 % bolesnika otkrije bolest u asimptomatskoj fazi (3). Ve ina karcinoma otkriva se u uznapredovalom, neoperabilnom stadiju, zbog nepostojanja u inkovitih metoda probira, te zbog toga što ne postoje dovoljno specifi ni biomarkeri za rano otkrivanje (1). Posljedi no je preživljjenje bolesnika kratko i ne poboljšava se. Petogodišnje preživljjenje u Europi i Americi iznosi oko 15 %, promatrano zajedno za sve tipove karcinoma plu a i stadije (6).

### **1.1.2. Etiologija i patogeneza**

Pušenje cigareta, cigara i lula pokazalo se kao imbenik rizika koji ima najve e zna enje za razvoj raka plu a (5). Nikotin ima važnu ulogu u patogenezi samog raka. Visoko kancerogeni nikotinski derivati stvaraju se u cigaretnom dimu. Stanice raka plu a svih histoloških tipova na svojoj površini iskazuju receptore za nikotin koji su veoma sli ni nikotinskim acetilkolinским receptorima. Iz navedenih razloga, postoji mogu nost da nikotin direktno ulazi u patogenezu raka plu a (3). Primije ena je izravna povezanost izme u u estalosti

nastanka raka plu a i broja popušenih cigareta. Primjerice, oni koji na dan puše 30 cigareta i više, imaju 22 puta veći rizik za razvoj raka plu a od onih koji nikad nisu pušili (5). Iako se rak plu a kod ljudi ne smatra genetskom bolešću, ispitivanja provedena pomoći u molekularne genetike, pokazala su kako su same stanice raka plu a stekle određen broj genetskih mutacija koje sudjeluju u nastanku i progresiji raka. Zapravo, izgleda da stanice raka plu a trebaju prikupiti veći broj (možda 10 ili više) takvih mutacija, da bi rak postao klinički uočljiv (2, 3). Osim već spomenutih kancerogena koje pronađavamo u dimu cigareta, postoje i oni koji se nalaze u ispušnim plinovima iz automobila, industrijskih postrojenja i termoelektrana te je incidencija raka plu a povećana na području s velikom zagađenošću zraka. Također, postoji i povezanost između izloženosti azbestu te raka plu a. Povećan rizik javlja se nakon višegodišnje izloženosti, obično 20 i više godina. Prehrana koja je bogata zasićenim mastima i kolesterolom, a uključuje malo voće i povrće koji sadrže vitamine A, C i E, -karoten, selen i cink također povećava rizik od nastanka raka plu a (6). Imbenik rizika za nepušače je izloženost radonu koji nastaje prirodnim raspadom urana (3).

### 1.1.3. Podjela raka plu a

Rak plu a može se podijeliti na:

- **Karcinom plu a malih stanica (SCLC)** kod kojega pušenje, kao imbenik rizika, igra važnu ulogu te su gotovo svi bolesnici pušaci. Pri dijagnosticiranju, dvije trećine bolesnika imaju udaljene metastaze. Čini od 10 do 20 % karcinoma plu a.
- **Karcinom plu a ne-malih stanica (NSCLC)** javlja se znatno češće od karcinoma plu a malih stanica te čini od 80 do 90 % karcinoma plu a. U skupinu NSCLC tumora plu a svrstani su:
  - Planocelularni karcinom - 20-30 %
  - Adenokarcinom - 30-40 %
  - Velikostani ni karcinom - 10 %.

Planocelularni karcinom pokazuje visoku povezanost s pušenjem i javlja se obično kod starijih muškaraca (3). Udaljene metastaze javljaju se nešto kasnije nego kod ostalih karcinoma plu a ne-malih stanica. Karcinogeneza predstavlja proces koji započinje metaplazijom bronhialnog epitela pri čemu se isti pretvoriti u plastični epitel. Nakon toga pretvorba ide u smjeru displastičnog plastičnog epitela te u preinvazivni karcinom, a zatim invazivni planocelularni karcinom (1). Uz njega se veže i nastanak Pancoastovog sindroma

kojega obilježava bol u ramenu koja se širi ulnarnom stranom ruke (3). Ukoliko nema barem jedne od navedenih mikroskopskih karakteristika, potrebno je imunohistokemijski, upotreboom protutijela (CK 5/6 ili p63) dokazati plo astu diferencijaciju (1).

Adenokarcinom plu a je naj eš i tip karcinoma plu a ne-malih stanica te ini oko 40 % karcinoma plu a. Razvija se u mukoznim žlijezdama plu a, može se javiti kod puša a i nepuša a. S obzirom da nastaje u mukoznim žlijezdama, neki od tumora imaju sposobnost stvaranja sluzi, ali sama koli ina sluzi u tumoru varira. Adenokarcinom se može javiti zajedno s planocelularnim karcinomom plu a ne-malih stanica. Poseban podtip adenokarcinoma je bronhioalveolarni karcinom. Ako ne nalazimo jasne dijagnosti ke elemente koji bi upu ivali da se radi o adenokarcinomu, potrebno je koristiti protutijela koja su pozitivna u adenokarcinomu plu a (TTF-1, CK7) (1, 2, 3).

Velikostani ni karcinom tvori velike vorove koji su esto prožeti krvlju i nekroti ni. ini svega 10 % karcinoma plu a. Definiran je kao slabo diferencirani, ne-sitnostani ni karcinom plu a bez jasne žljezdane, plo aste ili neuroendokrine diferencijacije (1).

#### **1.1.4. Otkrivanje raka plu a**

Prilikom borbe protiv raka plu a, cilj je otkriti bolest u što ranijem stadiju kako bi lije enje bilo što uspješnije. Nažalost, u mnogim slu ajevima pacijenti se prekasno jave što uvelike otežava lije enje i pove ava smrtnost (1). Simptomi koji prate karcinom plu a su progresivni nedostatak daha (dispneja), kašalj, bol u prsim, promuklost, hemoptiza (iskašljavanje krvi), pneumonija. U odnosu na ostale tipove karcinoma plu a ne-malih stanica, adenokarcinom se esto dijagnosticira slu ajno jer za razliku od ostalih karcinoma plu a ne-malih stanica on je eš e bez simptoma. Zbog izrazite brzine nastanka metastaza, bolesnici s karcinomom plu a malih stanica esto imaju simptome koji dolaze od strane udaljenih organa. Simptomi koji su povezani s diseminiranom bolesti uklju uju gubitak tjelesne težine, abdominalnu bol uslijed metastaza u jetri, adrenalnim žlijezdama i guštera i te bol uslijed metastaza u kosti (koštanu srž). Paraneoplasti ni simptomi su esti kod pacijenata s karcinomom plu a. Endokrini i paraneoplasti ni sindromi su rje i kod adenokarcinoma u odnosu na ostale histološke tipove karcinoma plu a (1, 5, 7). U otkrivanju raka plu a koristimo se: anamnezom i fizikalnim pregledom, rendgenskom snimkom, kompjuteriziranom tomografijom (CT-om), magnetnom rezonancijom (MR-om), pozitronskom emisijskom tomografijom (PET), scintigrafijom

kostiju pri sumnji na koštane metastaze, citologijom iskašljaja, bronhoalveolarnim obriskom (BAL-om), biopsijom i torakocentezom (3).

### **1.1.5. Stupnjevanje raka plu a**

Ovisno o lokalizaciji i tipu raka plu a, bolest možemo podijeliti u nekoliko stadija. Karcinomi plu a ne-malih stanica i malih stanica imaju zasebne stadije.

Karcinom plu a svrstavamo u pojedini stadij na temelju TNM klasifikacije, pri čemu slovo T predstavlja primarni tumor, slovo N regionalne limfne vorove, a slovo M udaljene metastaze (3).

Karcinom plu a ne-malih stanica dijelimo na:

**I. stadij** - karcinom je ograničen na plu ni parenhim

**II. i III. stadij** - karcinom se širi na strukture koje su lokalizirane u prsnom košu

**IV. stadij** - karcinom se širi na druge, udaljene strukture.

Karcinom plu a malih stanica dijelimo na:

**I. stadij** - karcinom je ograničen na plu ni parenhim

**II. stadij** - karcinom se širi na strukture izvan prsnog koša (8).

## **2. CILJ**

Ciljevi ovog istraživanja su:

1. Utvrditi u estalost svih tipova karcinoma plu a u jednogodišnjem biopti kom materijalu Klini kog zavoda za patologiju i sudsku medicinu KBC-a Osijek.
2. Utvrditi u estalost osnovnih podtipova raka plu a u istraživanom materijalu (raka plu a malih i ne-malih stanica).
3. Utvrditi u estalost adenokarcinoma plu a u podskupini karcinoma plu a ne-malih stanica.
4. Utvrditi u estalost primjene imunohistokemijskih metoda u patohistološkoj dijagnostici adenokarcinoma plu a.

### **3. MATERIJALI I METODE**

#### **3.1. Ustroj studije**

Istraživanje u završnom radu je provedeno kao retrospektivna studija (9). Prikupljeni su patohistološki nalazi i stakalca tumorskog tkiva ispitanika s dijagnozom raka plu a iz arhiva Klini kog zavoda za patologiju i sudsku medicinu Klini kog bolni kog centra Osijek u razdoblju od jedne godine (1. svibanj 2016. - 30. travanj 2017.) te su izdvojeni ispitanici s dijagnozom raka plu a.

#### **3.2. Materijali**

Tijekom provo enja studije, iz arhiva Klini kog zavoda za patologiju i sudsku medicinu izvraeni su biopti ki materijali ispitanika s karcinomom plu a. Svaki je pacijent voen pod šifrom broja biopsije tako da se nigdje ne spominje bolesnikovo ime. Obrada materijala na bilo koji način nije utjecala na dijagnozu i liječenje bolesnika, iji se biopti ki materijal koristio u studiji. Ispitanici iji je biopti ki materijal korišten, birani su po ključu u karcinoma plu a u jednoj godini neovisno o dobi i spolu.

#### **3.3. Metode**

Iz formirane baze podataka pacijenata s karcinomom plu a, izdvojeni su bolesnici s rakom plu a malih i ne-malih stanica. Nakon toga, iz skupine raka plu a ne-malih stanica, izdvojeni su pacijenti s adenokarcinomom plu a, a u posebnu podskupinu svrstani su adenokarcinomi ija je dijagnoza potvrđena imunohistokemijskim metodama.

##### **3.3.1. Imunohistokemija**

Imunohistokemija je metoda koja predstavlja spoj imunologije i histologije te se koristi principom u kojem se protutijelo veže za ciljni antigen, a nakon tog vezanja protutijela slijedi otkrivanje signala koji je rezultat obilježavanja protutijela kromogenima (10). Zahvaljujući i

specifi nosti reakcije antigena i antitijela, imunohistokemijske metode su vrlo osjetljive, reproducibilne i jednostavne. Direktna je metoda jednostavnija od indirektne jer lokalizira antigene uporabom specifi nog protutijela za taj antigen. Indirektna je metoda složenija jer sadrži primarna i sekundarna protutijela, ali je zna ajno jeftinija u rutinskoj dijagnostici koj primjeni. Prvo se za antigen veže primarno protutijelo, koje nije obilježeno, a na njega se veže obilježeno, sekundarno protutijelo (11). Iz tih je razloga pronašla svoje mjesto u medicini, osobito patologiji, kao snažno dijagnostičko sredstvo. Osim u dijagnostici, imunohistokemija se koristi i u sferi znanstveno-istraživačkih radova. Pomoću principa imunohistokemije možemo lokalizirati specifi ne antigene u uzorcima. Imunohistokemija ne zamjenjuje histokemijske metode, već predstavlja pomoćno sredstvo kojim se proširuje izbor staničnih komponenata koje možemo dokazati (10).

### 3.3.2. Priprema uzorka u imunohistokemiji

Imunohistokemiji prethodi priprema uzorka koja uključuje: fiksaciju, dehidriranje i prosvjetljavanje, uklapanje, rezanje i bojenje.

**Fiksacija** je najvažniji korak tijekom obrade tkiva. Provodi se kako bi se izbjegla razgradnja tkiva enzimima ili bakterijama te zaštitila samog fizičkog izgleda tkiva. Komadi tkiva brzo se i prikladno fiksiraju, koliko je moguće ranije, nakon vađenja iz tijela. Prije samog postupka fiksacije potrebno ih je usitniti radi lakšeg prodora fiksativa. Postupak fiksacije izvodi se tako što se tkivo uroni u otopinu tvari, fiksative (živin klorid, glutaraldehid, formalin...), koji djeluju i na proteine u tkivu očuvaju molekularne i morfološke karakteristike. Kao fiksativ, najčešće se koristi formalin, odnosno njegova 10 %-tina otopina (12).

**Uklapanje** je postupak koji omogućuje rezanje preparata mikrotomom. Kao sredstvo za uklapanje, najčešće se koristi parafin te u nekim slučajevima plastične smole zbog određenih prednosti, kao što su tanji rezovi. Određeni antigeni koje pokušavamo dokazati imunohistokemijskim metodama ne mogu podnijeti postupak fiksacije uklapanjem u parafin pa se tkivo samo smrzava. Dva su pripremna postupka koja prethode uklapanju: **dehidriranje i prosvjetljavanje**. Dehidriranje se provodi na način da se iz fiksiranih i ispranih komadija tkiva prvo uklanja voda. Postupak se sastoji od uzastopnog prenošenja tkiva u sve koncentriranije mješavine etanola i vode, krenuvši od manjih koncentracija (70 %-tni etanol)

ka ve im koncentracijama (apsolutni etanol). Korak koji slijedi iza toga je zamjena etanola otapalom za sredstvo za uklapanje. Kada se parafin koristi kao sredstvo za uklapanje, etanol se zamjenjuje ksilolom. Kada se tkivo prožme otapalom, ono obično postane prozirno, u skladu s tim ovaj se postupak naziva prosvjetljavanje. Nakon toga se može staviti u otopljeni parafin u termostatu, na temperaturi od 58 do 60°C. Inkubiranjem dolazi do isparavanja otapala te se prostori u tkivu ispunjavaju parafinom. Kada se tkivo uklapa u plastične smole, prvi korak je dehidriranje u etanolu, zatim se prožme otapalom za plastiku te se uklopi u plastičnu masu koja zamjeni otapalo i stvarne se na sobnoj temperaturi (12).

**Rezanje** se vrši tako da dobivene blokove tkiva rezemo rotacijskim ili kliznim mikrotomom pomoću elastičnih ili staklene oštice na rezove debljine od 1 do 10µm. Izrezani preparat se pomoću kista prenese na površinu tople vode te se izravna i nakon toga, izrezani, ravni uzorci stavljaju se na predmetno staklo. Kod smrznutih se tkiva za dobivanje rezova koristi kriostat kod kojega je nedostatak loša morfologija, teži proces rezanja, slaba rezolucija na velikim površinama te su teži uvjeti spremanja i čuvanja (12).

**Bojenje** je postupak koji omogućuje isticanje bezbojnih tkivnih dijelova koja se inaktivira teško opažaju i pregledavaju pod svjetlosnim mikroskopom. Većina boja ima kisela ili bazična svojstva. Najčešće se upotrebljava kombinacija **hematoksilin - eozin** (HE) jer je tehniku jednostavnija za izvođenje i jasno prikazuje tkivne strukture. Hematoksilin je bazična boja koja plavo oboji sastojke tkiva bogata kiselinama (stanične jezgru i organelle sa mnogo ribonukleinske kiseline). Eozin je kisela boja koja razlikuje nijansama crvene oboji sastojke tkiva bogata bjelančevinama (citoplazmu i kolagen) (12).

**Razotkrivanje antigena** omogućuje reakciju protutijela s antigenima na fiksiranom tkivu. Enzimatska digestija i razotkrivanje epitopa toplinom, najčešće su metode koje se koriste za razotkrivanje antigena. **Enzimatskom digestijom** skida se parafin, rehidrira tkivo te se ispira u vodi. Nakon što se tkivo ispralo u vodi, uroni se u otopinu proteaznog pufera i enzima te se inkubira na sobnoj temperaturi ili 37°C. Najčešći korišteni enzimi su tripsin i pepsin, a sama se reakcija dodatno može ubrzati koenzimom (kalcijevim kloridom). Pri **razotkrivanju antigena toplinom** koristi se mikrovalna pečica, autoklav te iskuhanje stakalca pod visokim tlakom. Povećana temperatura uzrokuje pucanje veza između samih proteina, iako točan mehanizam nije u potpunosti razjašnjen (10).

**Imunodetekcija antigena** slijedi nakon razotkrivanja, priemu se antigeni imunohistokemijski ozna uju kako bi ih se moglo detektirati. Metode kojima se mogu detektirati su direktna metoda, indirektna metoda, PAP metoda i neke druge koje se rijetko koriste (10).

### 3.3.3. Korišteni biljezi u imunohistokemiji

Tumorski biljezi ili tumorski markeri predstavljaju razliite proteine, enzime, hormone, receptore te druge stani ne produkte koji se pojamno stvaraju u malignim stanicama. Najčešći su normalni sastojci stanica. Maligne stanice rastu brzo i progresivno te se na taj način znaju povišuje količina tumorskih biljega, kako lokalno u samom tkivu tumora tako i u cirkulaciji.

Tumorski biljezi se u praksi najviše koriste pri procjeni uspješnosti terapije za pojedine tumore te pri ranom otkrivanju recidiva. Specifični biljezi esto predstavljaju ciljna mesta djelovanja pojedinih lijekova (13).

Tijekom provedenog istraživanja u kojem je razlučen adenokarcinom od ostalih karcinoma pluća ne-malih stanica, korišteni su sljedeći biljezi: p63, CK 5/6, TTF-1, CK7. Ekspresija biljega p63 i CK 5/6 upućuje na planocelularni imunofenotip, dok pozitivnost TTF-1 i CK7 upućuje na adenokarcinomski imunofenotip raka pluća.

**p63** je član p53 obitelji tumor supresorskih gena kojeg tipično pronalazimo na stanicama planocelularnog karcinoma pluća, ali se još može javiti i na stanicama drugih tumora (planocelularni karcinom jednjaka, kože, glave i vrata rodnice) (14, 15).

**CK 5/6**, odnosno citokeratini 5 i 6 su strukturni proteini epitelnih stanica koje normalno nalazimo u određenim stanicama, ali su povezani i s planocelularnim karcinomom pluća te ih pronalazimo kod karcinoma dojke i mezotelioma (14).

**TTF-1**, odnosno tiroidni transkripcijski faktor 1 je protein koji tijekom embriogeneze sudjeluje u regulaciji ekspresije gena u štitnjači, međumozgu i plućima. Osim u normalnim stanicama, možemo ga pronaći i u stanicama adenokarcinoma pluća. TTF-1 je visoko specifičan marker za primarne adenokarcinome pluća i treba biti uključen u panel antitijela za diferencijalnu dijagnozu između primarnih i metastatskih adenokarcinoma pluća (15, 16).

**CK7**, citokeratin 7 je strukturni protein kojega osim u zdravim stanicama, pronalazimo još i u stanicama adenokarcinoma pluća te u hepatocelularnom karcinomu i karcinomu prostate (17).

Postupak imunohistokemijskog bojenja proveden je na aparatu Ventana BenchMark Ultra. Antitijela koja su korištena za imunohistokemijsko bojenje:

1. Anti-p63 antitijelo - Ze je poliklonalno antitijelo (18)
2. Anti-CK 5/6 antitijela - Mišja monoklonalna antitijela (19)
3. Anti-TTF1 antitijelo - Ze je monoklonalno antitijelo (20)
4. Anti-CK7 antitijelo - Mišje monoklonalno antitijelo (21).

#### **3.4. Statističke metode**

Korištene su metode deskriptivne statistike. Kategorijski su podaci analizirani Fisherovim egzaktnim testom. Numerički su podaci prikazani medijanom i interkvartilnim rasponom, dok je za usporedbe između grupa korišten Kruskal-Wallis test. Razina značajnosti je postavljena na  $\alpha=0,05$ . Za statističku analizu korišteni su programi SPSS (verzija 16.0, SPSS Inc., Chicago, IL, SAD).

## 4. REZULTATI

Broj biopsija u razdoblju koje je promatrano (1. 5. 2016. - 30. 4. 2017.) je 16498, od čega je 61 biopsija pluća koje su napravljene zbog sumnje na tumor. Zbog neodgovarajućih uzoraka, njih 32 nije uzeto u obzir u koja su uključena i 2 karcinoma pluća malih stanica (SCLC) jer nisu bila predmet istraživanja. Istraživanje je provedeno na 29 pacijenata. U skupini od 29 pacijenata, bio je 21 muškarac i 8 žena. Odnos muškaraca i žena je 2,6:1. (Tablica 1.).

*Tablica 1. Spolna raspodjela ispitanika*

Spol	Broj
<b>Muškarci</b>	21
<b>Žene</b>	8
<b>Ukupno</b>	29

Dob ispitanika kretala se od 49 do 81 godine (Tablica 2.).

*Tablica 2. Medijan i raspon godina ispitanika*

	<b>Muškarci</b>	<b>Žene</b>	<b>Ukupno</b>
<b>Medijan</b>	63	60	63
<b>Raspon</b>	od 49 do 81	od 52 do 79	od 49 do 81

Prema distribuciji s obzirom na tip NSCLC-a, adenokarcinom je najzastupljeniji kod oba spola (Tablica 3.).

Tablica 3. Distribucija s obzirom na podjelu NSCLC-a

		<b>Broj ispitanika</b>
<b>Podjela NSCLC-a</b>	<b>Planocelularni</b>	10
	<b>Adenokarcinom</b>	17
	<b>Velikostani ni</b>	2
	<b>Ukupno</b>	29

Kod podjele NSCLC-a s obzirom na spol ispitanika, nije uočena statistički značajna razlika (Tablica 4.).

Tablica 4. Podjela NSCLC-a s obzirom na spol ispitanika

		<b>Podjela NSCLC</b>			<b>p*</b>
		Planocelularni	Adenokarcinom	Velikostani ni	
<b>Spol</b>	<b>Muškarac</b>	8	12	1	<b>0,694</b>
	<b>Žena</b>	2	5	1	
<b>Ukupno</b>		10	17	2	

\*Fisherov egzaktni test

Iz tablice 5. može se išitati kod kolikog je broja pacijenata rečena imunohistokemija.

Tablica 5. Dijagnostika karcinoma imunohistokemijom

		<b>Broj ispitanika</b>
<b>Imunohistokemija</b>	Ra ena je	19
	Nije ra ena	10
	Ukupno	29

Nije uo ena statisti ki zna ajna razlika kod imunohistokemije s obzirom na podjelu NSCLC-a, što je detaljno prikazano tablicom 6.

Tablica 6. Imunohistokemija s obzirom na podjelu NSCLC-a

		<b>Podjela NSCLC-a</b>			<b>p*</b>
		Planocelularni	Adenokarcinom	Velikostani ni	
<b>Imunohistokemija</b>	Ra ena je	7	10	2	<b>0,592</b>
	Nije ra ena	3	7	0	
<b>Ukupno</b>		10	17	2	

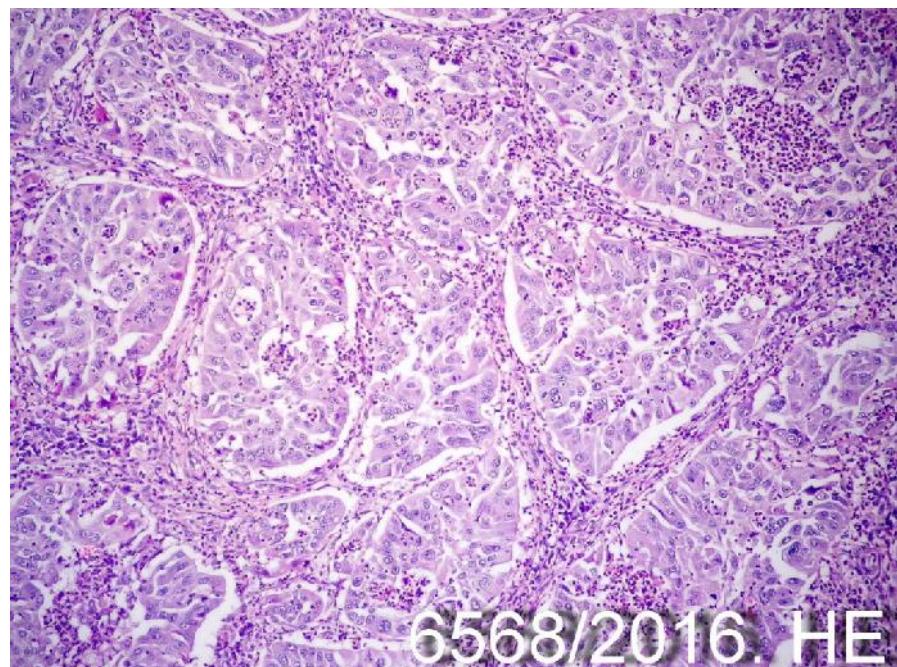
\*Fisherov egzaktni test

Za dob ispitanika s obzirom na podjelu NSCLC-a nije uo ena statisti ki zna ajna razlika u pojavnosti (Kruskal-Wallis test, p=0,060).

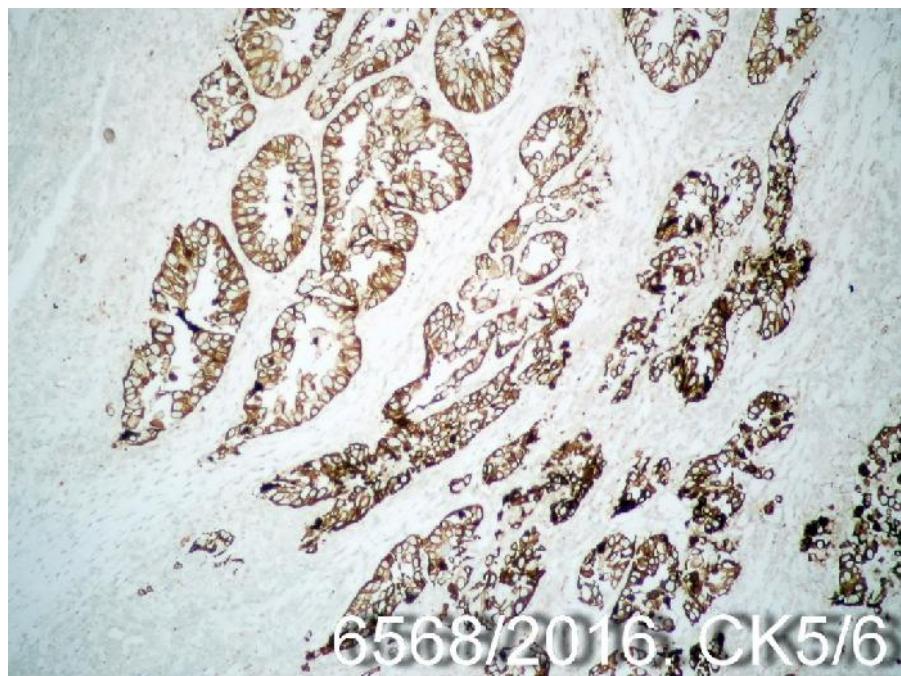
Tablica 7. Testiranje razlike s obzirom na podjelu NSCLC-a

	<b>Medijan (interkvartilni raspon)</b>				
	Planocelularni	Adenokarcinom	Velikostani ni	Ukupno	<b>p*</b>
<b>Dob</b>	69,00 (62,25 - 74,25)	60,00 (53,00 - 64,50)	70,50 (60,00 - .)	63,00 (58,50 - 70,50)	<b>0,060</b>

\*Kruskal-Wallis



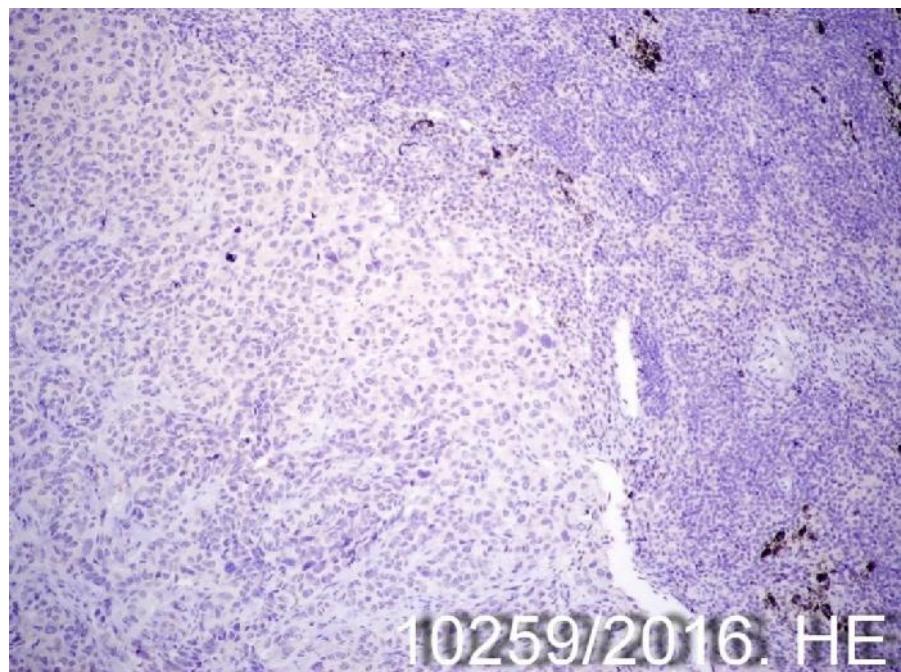
**Slika 1.** Planocelularni karcinom plu a, biopsija broj 6568/2016. Hematoksilin - eozin, pove anje 100 puta. (Izvor: Zavod za patologiju i sudske medicinu KBC-a Osijek, arhivski materijal).



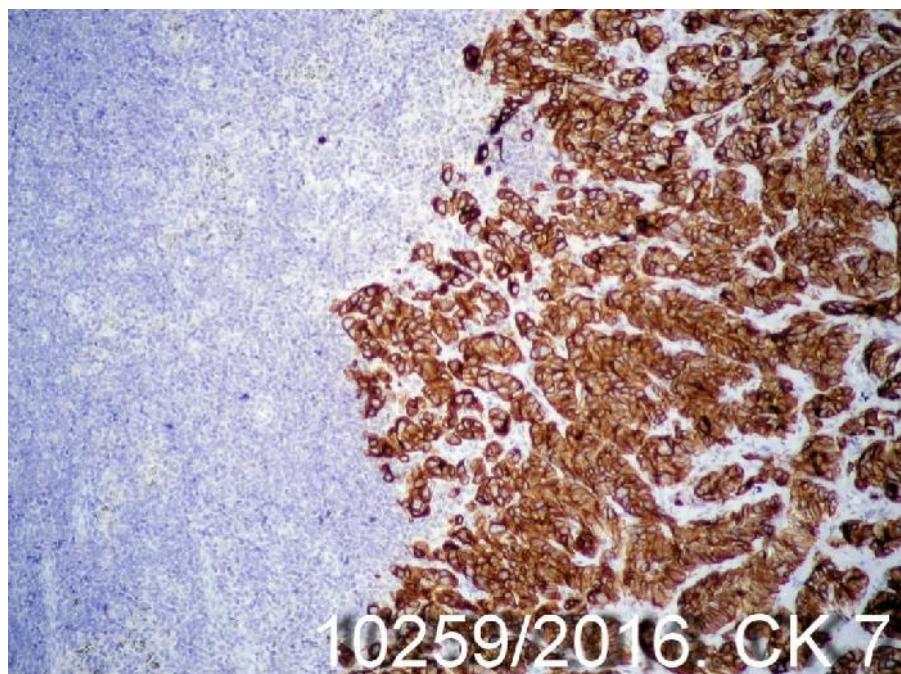
**Slika 2.** Pozitivni nalaz CK 5/6. Planocelularni karcinom plu a, biopsija broj 6568/2016. Hematoksilin, anti-CK 5/6, pove anje 100 puta. (Izvor: Zavod za patologiju i sudsku medicinu KBC-a Osijek, arhivski materijal).



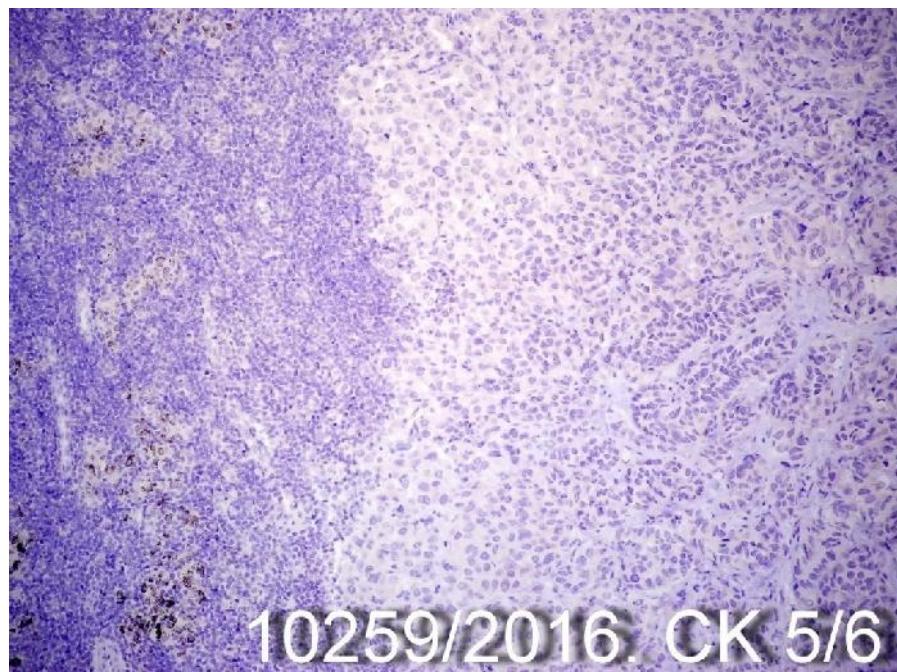
**Slika 3.** Pozitivni nalaz p63. Planocelularni karcinom plu a, biopsija broj 6568/2016. Hematoksilin, anti-p63, pove anje 100 puta. (Izvor: Zavod za patologiju i sudsku medicinu KBC-a Osijek, arhivski materijal).



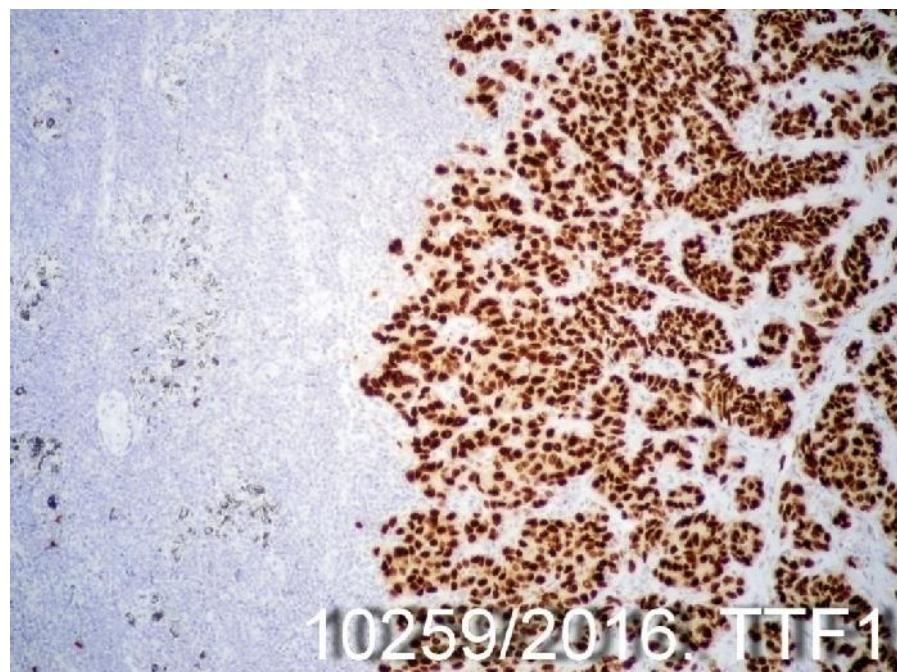
**Slika 4.** Adenokarcinom plu a, biopsija broj 10259/2016. Hematoksilin - eozin, pove anje 100 puta. (Izvor: Zavod za patologiju i sudsku medicinu KBC-a Osijek, arhivski materijal).



**Slika 5.** Pozitivan nalaz CK 7. Adenokarcinom plu a, biopsija broj 10259/2016. Hematoksilin, anti-CK 7, pove anje 100 puta. (Izvor: Zavod za patologiju i sudsku medicinu KBC-a Osijek, arhivski materijal).



**Slika 6.** Negativan nalaz CK 5/6. Adenokarcinom plu a, biopsija broj 10259/2016. Hematoksilin, anti-CK 5/6, pove anje 100 puta. (Izvor: Zavod za patologiju i sudsku medicinu KBC-a Osijek, arhivski materijal).



**Slika 7.** Pozitivan nalaz TTF-1. Adenokarcinom plu a, biopsija broj 10259/2016. Hematoksilin, anti-TTF-1, pove anje 100 puta. (Izvor: Zavod za patologiju i sudsku medicinu KBC-a Osijek, arhivski materijal).

## 5. RASPRAVA

Svrha ovog istraživanja bila je utvrditi u stalost svih tipova karcinoma plu a u jednoj godini (1. 5. 2016. - 30. 4. 2017.), utvrditi u stalost osnovnih podtipova raka plu a u istraživanom materijalu, utvrditi u stalost adenokarcinoma plu a u podskupini karcinoma plu a ne-malih stanica te utvrditi u stalost adenokarcinoma plu a potvr enih imunohistokemijom.

Istraživanje je obuhvatilo 61 bolesnika, pri emu je njih 32 isklju eno zbog neodgovaraju ih dijagnoza (upale, hamartomi, metastaze), me u koje spadaju i 2 karcinoma plu a malih stanica, ali oni nisu bili predmet istraživanja te je ono provedeno na 29 ispitanika sa karcinomom plu a ne-malih stanica. U skupini izdvojenih i istraživanih bolesnika nalazio se ve i broj muškaraca, njih 21 te 8 žena. Odnos muškaraca i žena je 2,6:1. Ta je razlika uo ena i u literaturi, s obzirom na to da je karcinom plu a eš i kod muškaraca u odnosu na žene. U Hrvatskoj je 2008. rak plu a u muškaraca bio prvi po incidenciji (18 % svih zlo udnih bolesti) i mortalitetu, a u žena etvrti po incidenciji (6 % svih zlo udnih bolesti), a tre i po mortalitetu (5). Prema podacima Registra za rak, u Hrvatskoj je 2013. godine dijagnosticirano 2753 novooboljelih od raka plu a, od ega 2031 muškarac i 722 žene (22).

Središnja vrijednost (medijan) dobi bolesnika bila je 63 godine s rasponom od 49 do 81 godine. Ovi rezultati poklapaju se s istraživanjem koje su proveli Foucault i suradnici 2013. godine u Francuskoj, gdje navode da je srednja dob pacijenata bila 62,6 godina (23). Raspon godina muških bolesnika kretao se od 49 do 81 godine, a ženskih bolesnica od 52 do 79 godina života. Iz tih je rezultata uo ljivo kako se karcinom plu a ne-malih stanica javlja u ranijoj životnoj dobi kod muškaraca u odnosu na žene (24). Ti su rezultati suglasni s podatcima iz literature o naj eš oj pojavi karcinoma plu a ne-malih stanica u dobi izme u 40. i 70. godine života (1).

Prema podacima literature vidljivo je kako se planocelularni te adenokarcinom plu a, s obzirom na dob, javljaju od 65. godine života (25, 26). Ovaj podatak slaže se s dobivenim rezultatima istraživanja u kojemu se planocelularni karcinom plu a ne-malih stanica javlja u dobi od 62,3 do 74,3 godine. Kod bolesnika koji su bili uklju eni u ovo istraživanje, adenokarcinom se javlja u dobi od 53 do 65 godina, što se ne poklapa s literaturnim navodima za dob. Razlog najvjerojatnije leži u malom uzorku ispitivanih bolesnika. Literatura dalje navodi kako se velikostani ni karcinom plu a ne-malih stanica naj eš e javlja u dobi od

60 godina (27). Ovaj navod poklapa se s rezultatima provedenog istraživanja u kojemu je dob bolesnika tako da iznosila 60 godina. No, iako se rezultati poklapaju, ne može se donijeti presudan zaključak s obzirom na mali uzorak (njih 2) ispitivanih bolesnika.

Od 29 bolesnika, njih 17 imalo je adenokarcinom. Ovi rezultati potvrđuju kako je adenokarcinom danas najčešći tip karcinoma pluća a ne-malih stanica (1). Drugi po pojavnosti bio je planocelularni od kojega je bilo 10 bolesnika, dok je velikostani ni bio najčešći zastupljen, sa samo 2 bolesnika. Rezultati dobiveni istraživanjem odgovaraju literaturnom navodu koji kaže kako je adenokarcinom prvi po zastupljenosti, drugi po pojavnosti je planocelularni, a najčešći je velikostani ni karcinom pluća a ne-malih stanica (28).

Podjela karcinoma pluća a ne-malih stanica s obzirom na spol dala je rezultate u kojima se vidi kako je pojavnost adenokarcinoma češća kod žena (5/8) u odnosu na muškarce (4/7). Ti se rezultati podudaraju s publiciranim nalazima pojavnosti adenokarcinoma (1). Adenokarcinom je najčešći tip karcinoma pluća a ne-malih stanica kod žena koje puše i kod onih koje ne puše te je u stalnom porastu, a kod muškaraca je zabilježena stagnacija (29, 30). Planocelularni karcinom javlja se s većom učestalostu kod muškaraca (8/21) u odnosu na žene (1/4). Ove navode potvrđuju i literatura u kojoj se navodi kako je planocelularni tip karcinoma pluća a ne-malih stanica češća i kod muškaraca u odnosu na žene (31). Velikostani ni karcinom pluća a ne-malih stanica češća i je kod muškaraca nego kod žena i u prošlosti se javlja puno češće nego danas, zato što su se pojedini adenokarcinomi i planocelularni karcinomi pluća a ne-malih stanica svrstavali u velikostani ne. Ta incidencija je u opadanju zato što se primjenjuju novije i modernije metode detekcije koje razlikuju adenokarcinom te planocelularni karcinom od velikostanih karcinoma pluća a ne-malih stanica (32). Istraživanjem koje je provedeno na 29 bolesnika, velikostani ni karcinom pluća a ne-malih stanica bio je češći kod žena u odnosu na muškarce, no ovaj podatak ne može nam dati točan uvid u incidenciju zbog malog uzorka. To nije, u istraživanju su uključena samo dva bolesnika s velikostanim karcinomom pluća a ne-malih stanica, jedan muškarac i jedna žena.

Imunohistokemija je od velike pomoći i igra važnu ulogu pri dijagnosticiranju morfološki nedovoljno diferenciranih karcinoma. Torlakovic i suradnici isti u iskoristivost i inkorporiranost imunohistokemije u rutinskoj dijagnostici patološke anatomije (33, 34). Imunohistokemijska dijagnostika obrada patohistoloških uzoraka provedena je u 19 od 29 pacijenata, što je skoro dvostruko više uzoraka. Kod preostalih 10 pacijenata imunohistokemija nije računa jer je pregledom patohistoloških preparata na stakalcima obojenim rutinskim

hematoksilinskim i eozinskim (HE) bojenjem procijenjeno kako je karcinom dovoljno diferenciran da se može bez poteško a prepoznati je li rije o adenokarcinomu ili nekom drugom karcinomu iz skupine NSCLC-a. S obzirom na dobivene rezultate, imunohistokemija je postala dio rutinske dijagnostike karcinoma plu a ne-malih stanica KBC-a Osijek, što se slaže s literaturnim navodima o njezinoj sve u estalijoj primjeni (33, 34).

Posljednjih godina postalo je važno dobro izdiferencirati karcinome skupine NSCLC-a zbog mogu nosti primjene novih lijekova, posebice tirozinkinoznih inhibitora. Zbog toga je na važnosti dobila i imunohistokemijska obrada uzoraka, posebice slabije diferenciranih karcinoma koji se ni pažljivim pregledom na rutinski HE obojenim preparatima ne uspijevaju svrstati u podskupine adenokarcinom, planocelularni karcinom ili velikostani ni karcinom. U ve ini slu ajeva, izražaj biljega p63 i CK 5/6 upu uje na planocelularni tip karcinoma plu a, dok pozitivna ekspresija TTF-1 i CK7 upu uje na adenokarcinom (1, 35).

Upravo zbog toga je i promatrano razdoblje od 1. 5. 2016. do 30. 4. 2017. jer se tada rutinski zapravo s molekularnom dijagnostikom EGFR i ALK mutacija na adenokarcinomima plu a u Laboratoriju za molekularnu dijagnostiku Klini kog zavoda za patologiju i sudsku medicinu KBC-a Osijek, što je temelj primjene novih oblika terapije karcinoma plu a.

Terapiju karcinoma plu a možemo podijeliti na kurativnu i palijativnu terapiju (8). Kurativna terapija koristi se u vidu izlje enja, a ako izlje enje nije mogu e, koristi se palijativna terapija kako bi se smanjili simptomi te olakšale tegobe pacijenta. Uspješnost terapije karcinoma plu a ponajprije ovisi o njegovom stadiju i proširenosti. Ukoliko se prekasno dijagnosticira, uvelike je smanjena vjerojatnost izlje enja. Metode koje se koriste tijekom lije enja su radioterapija, kemoterapija, radiokemoterapija te operativno lije enje. Problem kod operativnog lije enja je taj što karcinom plu a raste infiltrativno te u poodmaklim fazama onemogu uje kompletno odstranjenje. Stoga se operativno odstranjenje koristi u po etnim fazama bolesti.

Nedostatci se operativnog lije enja nadokna uju kombiniranjem s radioterapijom i/ili kemoterapijom. Kemoterapija podrazumijeva primjenu lijekova koji djeluju na stanice raka tako što ih uništavaju i inhibiraju njihovu proliferaciju vežu i se na receptore koji se nalaze na površini karcinomskih stanica. Otkri e i primjena imunohistokemijskih metoda omogu ila je i uvelike olakšala provo enje ciljne terapije „pametnim lijekovima“ (6).

## **6. ZAKLJUČAK**

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

1. U jednoj godini obavljeno je 16 498 biopsija, od kojih je 61 (0,37 %) biopsija pluća.
2. Utvrđeno je 29 karcinoma pluća ne-malih stanica (93,5 %) i 2 karcinoma pluća malih stanica (6,5 %).
3. Ustalost adenokarcinoma u odnosu na ostale tipove karcinoma pluća ne-malih stanica iznosila je 58,6 %.
4. Od 17 adenokarcinoma u promatranom razdoblju, njih 10 (58,8 %) potvrđeno je imunohistokemijski, dok je 7 (41,2 %) potvrđeno histološki.

## 7. SAŽETAK

**Cilj istraživanja:** Utvrditi u estalost svih tipova karcinoma plu a u jednogodišnjem biopti kom materijalu Klini kog zavoda za patologiju i sudske medicinu KBC-a Osijek, utvrditi u estalost osnovnih podtipova raka plu a u istraživanom materijalu, utvrditi u estalost primjene imunohistokemijskih metoda u patohistološkoj dijagnostici adenokarcinoma plu a.

**Nacrt studije:** Retrospektivna studija.

**Materijali i metode:** U istraživanje su uklju eni ispitanici iji su podaci uzeti iz arhiva Klini kog zavoda za patologiju i sudske medicinu KBC-a Osijek. Izdvojeni su bolesnici s rakom plu a malih i ne-malih stanica. Nakon toga, iz skupine raka plu a ne-malih stanica izdvojeni su pacijenti s adenokarcinomom plu a, a u posebnu podskupinu svrstani su adenokarcinomi ija je dijagnoza potvr ena imunohistokemijom.

**Rezultati:** U istraživanje je uklju eno 29 karcinoma plu a ne-malih stanica. Me u oboljelima bio je 21 muškarac i 8 žena. Prosje na dob bolesnika iznosila je 63,8 godina. Od 29 NSCLC-a bilo je 17 adenokarcinoma, 10 planocelularnih i 2 velikostani na karcinoma. U ovom istraživanju adenokarcinom je naj eš i tip NSCLC-a u oba spola. Imunohistokemija je ra ena kod 19 bolesnika, dok je u njih 10 dijagnoza postavljena na rutinskim patohistološkim preparatima, bez uporabe imunohistokemije.

**Zaklju ak:** U ovom je istraživanju potvr eno kako je u istraživanoj populaciji adenokarcinom naj eš i tip NSCLC-a, ija je pojavnost bila eš a kod žena u odnosu na muškarce. Tako er je utvr eno kako je imunohistokemijska potvrda dijagnoze provedena u 65,5 % bolesnika. Radi statisti ke signifikantnosti, nužno bi bilo provesti istraživanje na ve em uzorku.

**Klju ne rije i:** Adenokarcinom; imunohistokemija; karcinom ne-malih stanica plu a; tumorski biljezi.

## 8. SUMMARY

### Immunohistochemical methods in the differentiation of non-small cell lung cancer

**Objectives:** The aim of this study is to determine the rate of all types of lung carcinoma in one year biopsy material of the Department of Pathology and Forensic Medicine of the University Hospital Centre Osijek; to determine the rate of basic types of lung carcinoma in the researched material; to determine the rate of confirmed lung adenocarcinoma by immunohistological methods of pathohistological diagnostics.

**Study design:** Retrospective study.

**Materials and Methods:** This study included patients whose data were taken from the archive of the Department of Pathology and Forensic Medicine of the University Hospital Centre Osijek.

**Results:** 29 non-small cell lung carcinomas are included in the study, 21 of which are men and 8 women. Average age of patients was 63.8 years. Out of 29 NSCLC, 17 were adenocarcinomas, 10 were planocellular and 2 were macrocellular carcinomas. In this study adenocarcinoma is the most common type of NSCLC in both genders. Immunohistochemistry was made in 19 patients, and 10 patients were diagnosed histologically, with no use of immunohistochemistry.

**Conclusion:** In this study, it was proven that adenocarcinoma is the most common type of NSCLC, which can more often be found in women than men. Immunohistochemistry was performed in 65.5% of cases. Due to statistical significance, this study should be carried out on a larger sample.

**Key words:** adenocarcinoma; immunohistochemistry; non-Small cell lung cancer; tumour markers.

## 9. LITERATURA

1. Damjanov I, Seiwerth S, Jukić S, Nola M. Patologija 4. 4. izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2014. str. 149-191; 379-417.
2. Mršić-Krmpotić Z, Roth A. Internistička onkologija. Zagreb: Medicinska naklada; 2004. str. 4-7; 195-219.
3. Vrhovac B, Jakšić B, Reiner Ž, Vučelić B. Interna medicina. 4. izdanje. Zagreb: Naklada Ilevak; 2008. str. 683-685; 706-714.
4. Grbac I, Bašić-Grbac M, Ostojić J. Rak polumjesta. Medicus. 2001;10:179-190.
5. Vrdoljak E, Šamija M, Kusić Z, Petković M, Gugić D, Krajina Z. Klinička onkologija. Zagreb: Medicinska naklada; 2013. str. 117-125.
6. Bešlija S, Vrbanec D. Medicinska/internistička onkologija. Sarajevo: Medicinski fakultet; 2014. str. 455-467.
7. Travis WD, Brambilla E, Müller-Hermelink HK, Haris CC. Pathology and Genetics of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. Lyon: IARCPress; 2004.
8. Hrvatska liga protiv raka. Rak polumjesta. Dostupno na adresi: <http://hlpr.hr/rak/vijest/rak-pluca>. Datum pristupa: 14. 8. 2017.
9. Marušić M. Uvod u znanstveni rad u medicini. 5.izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2013. str. 38-55.
10. Dabbs DJ. Diagnostic Immunohistochemistry: theranostic and genomic applications. 4th. ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2014. str. 1-41.
11. Vorvić D, Čepelak I. Štrausova Medicinska biokemija. 3. izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2009. str. 192-198.
12. Junqueira LC, Carneiro J. Osnove histologije udžbenik i atlas. 10. izd. Zagreb: Školska knjiga; 2005. str. 1-21.
13. Cybermed. Tumorski biljezi (tumorski markeri). Dostupno na adresi: [http://www.cybermed.hr/clanci/tumorski\\_biljezi\\_tumorski\\_markeri](http://www.cybermed.hr/clanci/tumorski_biljezi_tumorski_markeri). Datum pristupa: 20. 8. 2017.
14. Whithaus K, Fukuoka J, Pritchard TJ, Jagirdar J. Evaluation of napsin A, cytokeratin5/6, p63, and thyroid transcription factor 1 in adenocarcinoma versus squamous cell carcinoma of the lung. Arch Pathol Lab Med. 2012;136(2):155-62.
15. Sethi S, Geng L, Shidham VB, Archuleta P, Bandyopadhyay S, Feng J, i sur. Dual color multiplex TTF-1 + Napsin A and p63 + CK5 immunostaining for subcategorizing of

- poorly differentiated pulmonary non-small carcinomas into adenocarcinoma and squamous cell carcinoma in fine needle aspiration specimens. *Cytojournal.* 2012;9:10.
- 16.** Reis-Filho JS, Carrilho C, Valenti C, Leitão D, Ribeiro CA, Ribeiro SG, i sur. Is TTF1 a good immunohistochemical marker to distinguish primary from metastatic lung adenocarcinomas? *PatholResPract.* 2000;196(12):835-40.
- 17.** Luo HT, Liang CX, Luo RC, Gu WG. Identification of relevant prognostic values of cytokeratin 20 and cytokeratin 7 expressions in lung cancer. *Biosci Rep.* 2017.
- 18.** Abcam. Anti-p63 antibody [EPR5701] (ab124762). Dostupno na adresi:  
<http://www.abcam.com/p63-antibody-epr5701-ab124762.html>. Datum pristupa:  
21. 8. 2017.
- 19.** Abcam. Anti-Cytokeratin 5+6 antibody [D5/16 B4] (ab17133). Dostupno na adresi:  
<http://www.abcam.com/cytokeratin-5-6-antibody-d516-b4-ab17133.html>. Datum pristupa:  
21. 8. 2017.
- 20.** Abcam. Anti-TTF1 antibody [EP1584Y] (ab76013). Dostupno na adresi:  
<http://www.abcam.com/ttf1-antibody-ep1584y-ab76013.html>. Datum pristupa:  
21. 8. 2017.
- 21.** Abcam. Anti-Cytokeratin 7 antibody [RCK105] (ab9021). Dostupno na adresi:  
<http://www.abcam.com/cytokeratin-7-antibody-rck105-ab9021.html>. Datum pristupa:  
21. 8. 2017.
- 22.** Onkologija.hr. Rak plu a - statistika. Dostupno na adresi: <http://www.onkologija.hr/rak-pluca/rak-pluca-statistika/>. Datum pristupa: 22. 8. 2017.
- 23.** Foucault C, Mordant P, Grand B, Achour K, Arame A, Dujon A, i sur. Unexpected extensions of non-small-cell lung cancer diagnosed during surgery: revisiting exploratory thoracotomies and incomplete resections. *Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery.* 2013; 16(5):667-672.
- 24.** Cancernetwork. Non-Small-Cell Lung Cancer. Dostupno na adresi:  
<http://www.cancernetwork.com/cancer-management/non-small-cell-lung-cancer> Datum pristupa: 23. 8. 2017.
- 25.** DoveMed. Squamous Cell Carcinoma of Lung. Dostupno na adresi:  
<http://www.dovemed.com/diseases-conditions/squamous-cell-carcinoma-lung/>. Datum pristupa: 25. 8. 2017.
- 26.** DoveMed. Invasive Adenocarcinoma of Lung. Dostupno na adresi:  
<http://www.dovemed.com/diseases-conditions/invasive-adenocarcinoma-lung/>. Datum pristupa: 25. 8. 2017.

- 27.** DoveMed. Large Cell Carcinoma of Lung. Dostupno na adresi:  
<http://www.dovemed.com/diseases-conditions/large-cell-carcinoma-lung/>. Datum pristupa: 26. 8. 2017.
- 28.** Radiopaedia. Lung cancer. Dostupno na adresi: <https://radiopaedia.org/articles/lung-cancer-3>. Datum pristupa: 26. 8. 2017.
- 29.** Cheng TY, Cramb SM, Baade PD, Youlden DR, Nwogu C, Reid ME. The International Epidemiology of Lung Cancer: Latest Trends, Disparities, and Tumor Characteristics. *J Thorac Oncol*. 2016; 11(10):1653-71.
- 30.** Lortet-Tieulent J, Soerjomataram I, Ferlay J, Rutherford M, Weiderpass E, Bray F. International trends in lung cancer incidence by histological subtype: adenocarcinoma stabilizing in men but still increasing in women. *Lung Cancer*. 2014; 84(1):13-22.
- 31.** Verywell. Squamous Cell Carcinoma of the Lungs. Dostupno na adresi:  
<https://www.verywell.com/squamous-cell-carcinoma-of-the-lungs-in-depth-2249367>  
Datum pristupa: 27. 8. 2017.
- 32.** Lungevity. Large Cell Lung Cancer. Dostupno na adresi:  
<https://www.lungevity.org/about-lung-cancer/lung-cancer-101/types-of-lung-cancer/large-cell-lung-cancer>. Datum pristupa: 27. 8. 2017.
- 33.** Matos LL, Trufelli DC, de Matos MG, da Silva Pinhal MA. Immunohistochemistry as an important tool in biomarkers detection and clinical practice. *Biomark Insights*. 2010;5:9-20.
- 34.** Torlakovic EE, Nielsen S, Vyberg M, Taylor CR. Getting controls under control: the time is now for immunohistochemistry. *J Clin Pathol*. 2015;68(11):879-882.
- 35.** Hasanovic A, Rekhtman N, Sigel CS, Moreira AL. Advances in Fine Needle Aspiration Cytology for the Diagnosis of Pulmonary Carcinoma. *Patholog Res Int*. 2011;2011:1-7.

## 10. ŽIVOTOPIS

Klara Alduk, studentica 3. godine preddiplomskog studija Medicinsko laboratorijske dijagnostike na Medicinskom fakultetu Osijek.

### Osobni podatci:

Datum rođenja: 1. 4. 1995., Vinkovci.

Adresa: Matije Gupca 39, Prvlaka, 32251.

E-mail: klaraalduk@gmail.com.

Telefon: 099 570 33 50.

### Obrazovanje:

2002.-2010. Osnovna škola Stjepana Antolovića, Prvlaka.

2010.-2014. Gimnazija Matije Antuna Reljkovića, Vinkovci.

2014.-2017. Sveučilišni preddiplomski studij Medicinsko laboratorijske dijagnostike, Osijek.

### Osobne vještine:

Materinski jezik: hrvatski.

Strani jezici: engleski.

Godinama se aktivno bavim sportom, plesom i pilatesom.