

Povezanost računskih hematoloških upalnih pokazatelja uoči primjene kemoterapije kod bolesnica s rakom dojke s ishodom bolesti

Koržinek, Martha

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:701010>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-05**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Martha Koržinek

**Povezanost računskih hematoloških upalnih
pokazatelja uoči primjene kemoterapije kod
bolesnica s rakom dojke s ishodom bolesti**

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2021.

Ovaj diplomski rad je prijavljen na kolegiju Klinička biokemija organa i organskih sustava, Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen u Zavodu za medicinsku biokemiju i hematologiju i Klinici za tumore KBC Sestre milosrdnice pod stručnim vodstvom izv. prof. dr. sc. Donatelle Verbanac i suvoditeljstvom dr. sc. Ljiljane Mayer.

Zahvaljujem se svojoj mentorici izv. prof. Donatelli Verbanac na pruženoj prilici za izradu diplomskog rada pod njezinim voditeljstvom i svom uloženom vremenu i trudu te brojnim savjetima koji su mi omogućili izradu ovog diplomskog rada. Nadalje se želim zahvaliti komentorici dr. sc. Ljiljani Mayer na pruženoj mogućnosti za istraživanjem u laboratoriju Klinike za tumore KBC Sestre milosrdnice te na svom uloženom trudu i angažmanu oko realizacije ovog diplomskog rada.

Zahvaljujem se svojim roditeljima, Meliti i Nenadu te ostatku obitelji na podršci koju su mi pružili tijekom svih godina studiranja i što su mi omogućili bezbrižno studiranje.

Zahvaljujem se svojim prijateljima koji su bili uz mene na svoj podršci i lijepim trenucima koje smo proveli zajedno tijekom zajedničkog studiranja.

Sadržaj

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | UVOD | 1 |
| 1.1 | Karcinom dojke | 1 |
| 1.2 | Incidencija, mortalitet i stanje u Republici Hrvatskoj | 1 |
| 1.3 | Etiologija karcinoma dojke | 2 |
| 1.4 | Genetska komponenta i obiteljska anamneza | 2 |
| 1.5 | Ostali rizični čimbenici | 2 |
| 1.6 | Patofiziologija i histološki subtipovi karcinoma dojke | 3 |
| 1.6.1 | Preinvazivni/karcinom in situ | 4 |
| 1.6.2 | Duktalni karcinom in situ | 4 |
| 1.6.3 | Lobularni karcinom in situ | 4 |
| 1.6.4 | Invazivni duktalni karcinom | 5 |
| 1.6.5 | Luminal A karcinom dojke | 5 |
| 1.6.6 | Luminal B karcinom dojke | 5 |
| 1.6.7 | HER2 karcinom dojke | 5 |
| 1.6.8 | Trostruko-negativan karcinom dojke | 6 |
| 1.7 | Kemoterapija | 6 |
| 1.7.1 | Doksorubicin | 6 |
| 1.7.2 | Ciklofosfamid | 7 |
| 1.7.3 | Epirubicin | 7 |
| 1.7.4 | Tamoksifen | 8 |
| 1.7.5 | Letrozol | 8 |
| 1.8 | Histološki gradus, status limfnih čvorova i vaskularna invazija | 10 |
| 1.8.1 | Histološki gradus | 10 |
| 1.8.2 | Status limfnih čvorova | 10 |
| 1.8.3 | Vaskularna invazija | 11 |
| 1.9 | NLR, SII i PLR | 12 |
| 1.9.1 | NLR (omjer neutrofila i limfocita) | 12 |
| 1.9.2 | SII (Sustavno imunosno-upalni odgovor/ indeks) | 12 |
| 1.9.3 | PLR (omjer trombocita i limfocita) | 13 |
| 2 | OBRAZLOŽENJE TEME | 14 |
| 3 | MATERIJALI I METODE | 15 |
| 4 | REZULTATI I RASPRAVA | 16 |
| 4.1 | Rezultati | 16 |
| 4.1.1 | Deskriptivna statistika osnovnih hematoloških parametara | 16 |

| | | |
|------------|---|-----------|
| 4.1.2 | Statistika izvedenih hematoloških parametrov (NLR, PLR, SII) | 17 |
| 4.1.3 | Povezanost kliničko-patoloških faktorov i različnih skupin pacientov s izvedenimi hematološkimi parametri (NLR, PLR, SII) | 17 |
| 4.2 | Rasprava | 27 |
| 4.2.1 | Povezanost izvedenih hematoloških parametrov i kliničko-patoloških faktorov | 28 |
| 5 | ZAKLJUČKI | 31 |
| 6 | LITERATURA | 32 |
| 7 | SAŽETAK/SUMMARY | 34 |
| 8 | PRILOG | 36 |
| 9 | Temeljna dokumentacijska kartica | |

1 UVOD

1.1 Karcinom dojke

Najučestalija maligna bolest u žena je karcinom dojke. Točan uzrok razvoja karcinoma je nepoznat, ali postoje različiti čimbenici koji povećavaju rizik razvoja karcinoma dojke. Postoje različiti tipovi karcinoma dojke te je za sve tipove važna rana dijagnostika. Žene iznad 50 godina češće obolijevaju od karcinoma i radi toga se ženama u toj dobnoj skupini preporučuju redovni pregledi. Najbolji način za rano otkrivanje karcinoma dojke je redovna mamografija i samopregled dojke. Karcinom dojke rijetko se javlja kod muškaraca. Incidencija karcinoma dojke kod muškaraca je 1% (Gucalp i sur., 2018). Uočene su sličnosti, ali i razlike između karcinoma dojke kod muškaraca i žena. Postoje razlike u genetskim obilježjima karcinoma kao i epigenetskim karakteristikama.

1.2 Incidencija, mortalitet i stanje u Republici Hrvatskoj

Karcinom je jedan od vodećih uzroka smrti u svijetu. Loša prehrana i sjedilački način života pridonijeli su sve većoj incidenciji karcinoma. Statistički podaci pokazuju da je u 2020. godini nešto više od 19 200 000 ljudi oboljelo od neke vrste maligne bolesti. Prema statistici Svjetske Zdravstvene Organizacije u 2020. godini incidencija karcinoma dojke bila je 11.7%, a mortalitet je iznosio 6.9%. Karcinom pluća imao je najveći mortalitet od 18% (slika 1). Incidencija karcinoma dojke razlikuje se između pojedinih država. Do razlike dolazi zbog različitog socioekonomskog statusa, načina života, prehrane i mnogih drugih čimbenika. Najveća incidencija karcinoma dojke je u Australiji, sjevernoj i zapadnoj Europi te Sjevernoj Americi. Najveću incidenciju u Europi, ali i svijetu ima Belgija (gco.iarc.fr). Prema statistici iz 2018. godine u Hrvatskoj je oboljelo 25 623 osoba od karcinoma od čega je nešto više muškaraca nego žena. U Hrvatskoj je 24% žena oboljelo od karcinoma dojke od ukupnog broja žena oboljelih od maligne bolesti. Prema istoj statistici 2018. godine stopa mortaliteta od karcinoma iznosila je 33.7%. Stopa mortaliteta od karcinoma dojke iznosila je 37.3% što je iznad europskog prosjeka koji iznosi 21% (HZJZ, 2018).



Slika 1. Incidencija i mortalitet pojedinih sijela raka 2020. godine
(Preuzeto i prilagođeno prema: *gco.iarc.fr*)

1.3 Etiologija karcinoma dojke

Iako se ne zna točan uzrok, postoje različiti čimbenici koji povećavaju rizik od razvoja karcinoma. Do razvoja karcinoma dojke primarno dolazi zbog mutacije ili oštećenja DNA u stanicama dojke. Promjene na DNA dovode do povećane proliferacije stanica i njihovog nakupljanja u tkivu dojke. Čimbenik koji najviše utječe na razvoj karcinoma dojke je genetska komponenta. Osim gena postoje i ostali čimbenici kao što su stil života, pretilost i mnogi drugi.

1.4 Genetska komponenta i obiteljska anamneza

Genetska komponenta je čimbenik koji najviše povećava rizik od razvoja karcinoma dojke. Mutacije gena BRCA-1 i BRCA-2 najviše pridonose povećanju rizika. Istraživanja pokazuju da 55%-65% pacijentica s mutacijom na BRCA-1 genu razviju karcinom dojke prije 70-e godine. Taj postotak za mutaciju BRCA-2 gena nešto je manji, a iznosi 45% (Momenimovahed i Salehiniya, 2019). Obiteljska anamneza olakšava dijagnostiku i može služiti kao dobar prediktivni faktor. Ženama s obiteljskom povijesti karcinoma dojke preporuča se redovan pregled i genetsko testiranje. Rizik od oboljenja povećava se 11 puta kod žena s obiteljskom povijesti karcinoma dojke (Momenimovahed i Salehiniya, 2019). Navedena statistika odnosi se na žene bez BRCA mutacija.

1.5 Ostali rizični čimbenici

Pretilost je jedan od čimbenika koji je najviše istražen zbog sve veća incidencije. Pretilost je stanje koje utječe i na razvoj dijabetesa, hipertenzije i arterioskleroze. Mnoga istraživanja potvrdila su kako pretilost povećava rizik od razvoja karcinoma dojke kod žena u postmenopauzi. Jedan od načina kako pretilost djeluje na razvoj karcinoma dojke je povećana proizvodnja estrogena. Nakon menopauze i prestanka rada jajnika dolazi do proizvodnje estrogena u perifernim tkivima, a najviše u adipoznom tkivu. Pošto pretile žene imaju veće količine adipoznog tkiva dolazi do pojačane sinteze estrogena koji povećava rizik od razvoja karcinoma dojke. Pretile žene u postmenopauzi imaju niži postotak ukupnog preživljavanja kao i preživljavanja bez bolesti.

Obilježja prve trudnoće imaju značajan utjecaj na povećanje rizika od karcinoma. Obilježja koja su povezana s karcinom dojke su: starost majke pri prvoj trudnoći, laktacija i pobačaj. Jedan od čimbenika koji je pokazao najveću povezanost je kasna prva donesena trudnoća. Žene koje rode dijete u starijoj dobi imaju povećan rizik od razvoja karcinoma. Nadalje, žene koje su rodile više puta imaju manji rizik od oboljenja. Laktacija je čimbenik koji je pokazao protektivan utjecaj na mogućnost razvoja karcinoma dojke. Naime, laktacija smanjuje rizik od razvoja karcinoma dojke (Momenimovahed i Salehiniya, 2019).

Prehrana je vrlo bitan dio ljudske svakodnevice i uvelike utječe na stanje organizma. Povećan unos pojedinih vrsta mesa, prerađenih mesnih proizvoda i zasićenih masnih kiseline povećava rizik od razvoja karcinoma dojke. Uvijek se u prevenciji karcinoma i kroničnih degenerativnih bolesti, preporuča smanjene unosa prerađenog mesa i povećan unos vlakana i povrća. Nadalje, brojna istraživanja pokazala su kako povećana fizička aktivnost nakon dijagnosticiranja karcinoma dojke smanjuje rizik od smrti i pomaže pacijentima pri oporavku.

Konačno, postoje brojni čimbenici koji mogu povećati rizik oboljenja od karcinoma dojke, međutim, pravilnom predikcijom i prevencijom nastanka bolesti može se uvelike umanjiti pojavnost same bolesti. Iznimno je važno da pacijenti budu dobro upućeni u faktore rizika te da ukoliko im je dijagnosticiran karcinom što više čimbenika rizika svedu na minimum.

1.6 Patofiziologija i histološki subtipovi karcinoma dojke

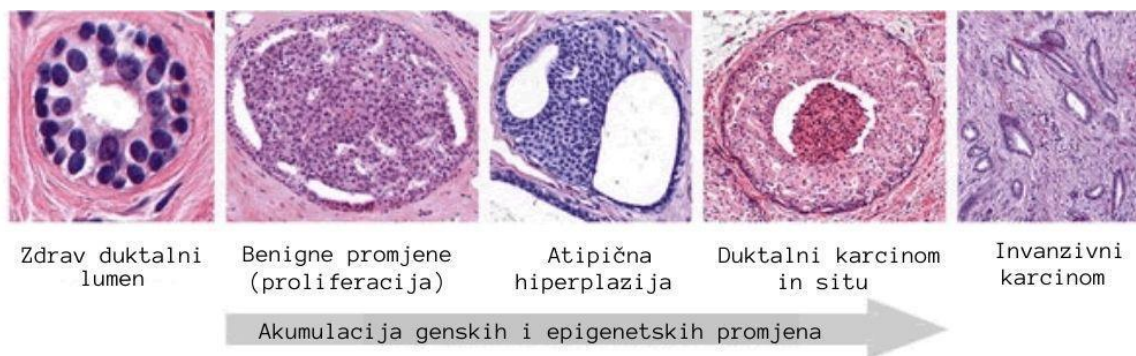
Karcinom dojke je heterogena bolest te je često teško odrediti točan tip karcinoma. Postoji nekoliko histoloških subtipova karcinoma dojke. Svaki tip karcinoma dojke ima svoja karakteristična obilježja koja pomažu pri dijagnostici i liječenju. Vrlo je važno točno odrediti tip karcinoma zbog daljnjeg postupka liječenja i mogućih operativnih postupaka. Svakoj malignoj bolesti pristupa se individualno i određuje se najbolji postupak liječenja za pacijenta.

1.6.1 Preinvazivni/karcinom in situ

Karcinom in situ odnosi se na neinvazivni tip karcinoma. In situ tip karcinom ne širi se na okolna tkiva te je lokaliziran na jednom mjestu unutar dojke. Dolazi do lokalizirane proliferacije unutar granice bazalne membrane kanalića, terminalnih duktusa ili lobula (Šamija i sur., 2007). Najčešće se liječi operativnim postupkom uklanjanja karcinoma uz očuvanje dojke ili mastektomijom. Ovaj tip karcinoma ima najveći postotak preživljavanja.

1.6.2 Duktalni karcinom in situ

Duktalni karcinom in situ smatra se podtipom karcinoma in situ. Dolazi do rasta tumora unutar mliječnih kanalića dojke koji se nazivaju duktusi. Karcinom je lokaliziran i ne širi se na okolna tkiva, ali ima mogućnost prelaska u invazivni tip karcinoma (slika 2). Nadalje, tijekom godina, incidencija ovog karcinoma je rasla zbog ranog probira i bolje mamografije (Zheng i sur., 2020).



Slika 2. Histološke razlike tkiva kod tumora
(Preuzeto i prilagođeno s: www.gastricbreastcancer.com)

1.6.3 Lobularni karcinom in situ

Kod lobularnog karcinom in situ dolazi do rasta tumora unutar mliječnih žlijezdi koje se nazivaju lobuli. Kao i duktalni karcinom in situ ima mogućnost prelaska u invazivni tip karcinoma. Najčešće zahvaća obje dojke, a rizik od oboljenja smanjuje se nakon menopauze (Wen i Brongi, 2018).

1.6.4 Invazivni duktalni karcinom

Invazivni duktalni karcinom nastaje iz duktalnog karcinoma in situ koji se kreće širiti na okolno tkivo tj. izvan duktusa. Incidencija ovog tipa je 80% što ga čini najčešćim tipom karcinoma (Pilewskie i Morrow, 2018). Najčešće se otkrije tijekom redovne mamografije nakon čega slijedi biopsija tkiva. Ovisno o stadiju i o proširenosti tumora postoji nekoliko pristupa liječenju pri čemu se najčešće primjenjuju mastektomija i lumpektomija.

1.6.5 Luminal A karcinom dojke

Luminal A tip karcinom dojke je tumor dojke pozitivan na hormonske receptore. Ima veću prevalenciju od luminalnog B tipa, ali je manje agresivan. Ovaj tip karcinoma pozitivan je na estrogenske i progesteronske receptore, ali je HER2 negativan. Nadalje, još jedno važno obilježje je niska koncentracija proteina Ki-67. Luminal A tip karcinoma sporije raste, često se otkriva u ranim fazama rasta i ima najbolju prognozu (Gao i Swain, 2018).

1.6.6 Luminal B karcinom dojke

Luminal B tip karcinoma je, kao i luminal A tip, pozitivan na hormonske receptore. Luminal B tip je pozitivan na estrogenske i progesteronske receptore, ali i na HER2 receptore. Karakterizira ga visoka koncentracija proteina Ki-67 što je povezano s bržim rastom tumora. Zbog ovih karakteristika ovaj tip tumora je agresivniji od luminalnog A tipa i ima lošiju prognozu (Ades i sur., 2014).

1.6.7 HER2 karcinom dojke

HER2 karcinom dojke karakterističan je po tome što je pozitivan na HER2 receptore, ali ne i na progesteronske i estrogenske receptore. Često se brzo širi i povezan je s lošijom prognozom. Iako je agresivniji od luminalnog tipa često se uspješno liječi s ciljanom terapijom na HER2 receptore (www.breastcancer.org).

1.6.8 Trostruko-negativan karcinom dojke

Za razliku od luminalnog tipa i HER2 tipa, ovaj tip karcinom je hormonski negativan. Karakteristika trostruko-negativnog karcinoma dojke je da je negativan na progesteronske, estrogenske i HER2 receptore. Ovaj tipa karcinoma je agresivan i često je povezan s lošijom prognozom zbog nedjelotvornosti hormonske i ciljane terapije (Bergin i Loi, 2019).

1.7 Kemoterapija

Kemoterapija se primjenjuje za uništavanje stanica raka, sprječavanje njihovog rasta i proliferacije te se može primjenjivati prije ili poslije kirurškog zahvata. Kemoterapija koja se primjenjuje prije operacije naziva se neoadjuvantna terapija, a ona koja se primjenjuje poslije operacije adjuvantna terapija. Adjuvantna terapije je važna kako bi se uništile stanice karcinoma koje su zaostale u organizmu nakon operacije. Stanice koje nakon operacije ostanu u organizmu imaju mogućnost daljnjeg rasta i proliferacije te može doći do ponovnog razvitka karcinoma. Neoadjuvantna terapija koristi se prije operacije kako bi se smanjio primaran tumor i time se lakše odstranio operacijom.

Kemoterapija može se primijeniti intravenozno ili peroralno. Nadalje, kemoterapija se često koristi kod pacijenata s visokim tumorskim stadijem ili s postojećim metastazama. U praksi se često koristi kombinacija keoterapeutika jer je takva terapija pokazala najbolji učinak na karcinom dojke.

Postoje različite kombinacije lijekova koje se primjenjuju u liječenju karcinoma dojke. Kemoterapeutici se primjenjuje u različitim dozama i u različitom vremenskom periodu ovisno o stanju pacijenta i tipu raka. Neki od lijekova koji se najčešće primjenjuju kod raka dojke su : tamoksifen, letrozol, doksorubicin, ciklofosamid i epirubicin (podaci o lijekovima preuzeti s : www.drugbank.com i www.webmd.com).

1.7.1 Doksorubicin

Doksorubicin je lijek koji se često koristi u kombinaciji s ciklofosfamidom. Ova kombinacija koristi se i kao adjuvantna i neoadjuvantna terapija. Osim kod karcinoma dojke koristi se i za karcinom ovarija, prostate, želuca, štitnjače, pluća i jetre. Također se koristi kod multipli mijeloma, limfoma i Hodgkinove bolesti. Kod karcinoma dojke koristi se kod liječenja primarnog tumora, metastaza i kod lokalno uznapredovalog tumora dojke. Primjenjuje se intravenozno kroz šest ciklusa. Mehanizam djelovanja mu je vezanje na DNA i sprječavanje biosinteze DNA. Sprječava djelovanje topoizomeraze II koja je važna za relaksaciju DNA strukture. Doksorubicin stabilizira kompleks topoizomeraze II i DNA te time sprječava kidanje DNA lanaca i daljnju proliferaciju. Najvećim dijelom se izlučuje putem žuči te djelomično urinom. Nuspojave ovog lijeka tipične su za kemoterapiju te najčešće dolazi do alopecije, mučnine i vrtoglavice.

1.7.2 Ciklofosfamid

Ciklofosfamid jedan je od oralnih kemoterapeutika koji se koristi kod različitih vrsta karcinoma. Neke od indikacija ciklofosfamida su: multipli mijelom, karcinom dojke, neuroblastom i adenokarcinom jajnika. Pripada skupini alkilirajućih kemoterapeutika zbog svoje sposobnosti alkilacije različitih meta. Ciklofosfamid sprječava proliferaciju tumorskih stanica pomoću dva mehanizma djelovanja. Jedan mehanizam djelovanja temelji se na alkilaciji DNA što dovodi do njezine fragmentacije. Do fragmentacije DNA dolazi zbog pokušaja popravka DNA pomoću enzima te se time sprječava sinteza DNA i transkripcija. Drugi mehanizam djelovanja ciklofosfamida je stvaranje križnih veza u molekuli DNA što dovodi do njenog oštećenja. Osim oštećenja DNA, križne veze sprječavaju odvajanje DNA lanaca i time koče proces transkripcije. Ciklofosfamid najviše se izlučuje urinom u obliku metabolita. Najčešće nuspojave ciklofosfamida su alopecija, mučnina i povraćanje. Često se koristi u kombinaciji s drugim kemoterapeuticima poput 5-fluorouracila. Kombinacija ciklofosfamida, 5-fluorouracila i metotreksata često se koristi kao adjuvantna terapija ili kod liječenja primarnog tumora koji se nije proširio na limfne čvorove. Ovaj oblik terapije primjenjuje se intravenozno kroz nekoliko ciklusa liječenja.

1.7.3 Epirubicin

Epirubicin je kemoterapeutik koji se koristi za liječenje uznapredovalog karcinoma dojke. Koristi se kao adjuvantna terapija kada se karcinom proširi na aksilarne limfne čvorove. Epirubicin pripada skupini antraciklina te se primjenjuje intravenozno. Jedan je od kemoterapeutika koji sprječava mitozu stanice te uz to ima i citotoksičnu aktivnost. Mehanizam djelovanja epirubicina sličan je mehanizmu doksorubicina. Epirubicin dovodi do inhibicije djelovanja topoizomeraze II i sprječava kidanje DNA lanaca. Sprječavanjem odvajanja DNA lanaca zaustavlja se mitozu i proliferaciju stanice. Osim inhibicije topoizomeraze II dovodi i do inhibicije DNA helikaze. Inhibicijom DNA helikaze sprječava DNA replikaciju i transkripciju. Nuspojave epirubicina tipične su nuspojave kemoterapije. Najčešće nuspojave su mučnina, povraćanje, dijareja i abdominalna bol. Osim ovih nuspojava može doći i do pojave crvenkastog urina zbog crvene boje otopine lijeka. Pojava crvenkastog urina je bezopasna i najčešće nestaje unutar 2 dana te se ne smije zamijeniti za krv u urinu. Često se koristi u kombinaciji s ciklofosfamidom, 5-fluorouracilom i metotreksatom. Kombinacija epirubicina i ciklofosfamida koristi se za liječenje primarnog tumora te kao neoadjuvantna terapija. Osim toga može se koristiti i kod pacijenata s lokalno uznapredovalim tumorom ili lokalnom rekurencijom. Ovaj oblik terapije primjenjuje se intravenozno najčešće kroz šest ciklusa.

1.7.4 Tamoksifen

Tamoksifen je jedan od najčešće korištenih lijekova za neoadjuvantnu terapiju. Može se primjenjivati i kao adjuvantna terapija nakon operacije ili kod metastaziranja tumora. Pripada skupini antagonista estrogenskih receptora. Koristi se kao neoadjuvantna terapija kod karcinoma dojke pozitivnog na estrogenske receptore. Primjenjuje se za smanjenje tumora karcinoma dojke i kao prevencija od razvitka karcinoma dojke u visokorizičnim skupinama. Kao antagonist estrogenskih receptora inhibira djelovanje estrogenskih receptora čime sprječava rast i proliferaciju stanice. Mehanizam djelovanja tamoksifena temelji se na kompetitivnoj inhibiciji estrogena. Svojim djelovanjem tamoksifen sprječava vezanje estrogena na estrogenske receptore. Tako tamoksifen dovodi do pada koncentracije tumorskog faktora rasta α i faktora rasta sličnom inzulinu 1. Nadalje, dovodi do povećanja koncentracije globulina koji veže spolne hormone. Tim djelovanjem tamoksifen usporava daljnji rast stanice. Osim što djeluje na staničan rast dovodi i do brže apoptoze stanice. Tamoksifen

uzrokuje apoptozu na način da inhibira protein kinazu C, što posljedično uzrokuje inhibiciju sinteze DNA stanice karcinoma.

1.7.5 Letrozol

Letrozol pripada skupini treće generacije inhibitora aromataze. Najčešće se koristi kod ranog stadija tumora pozitivnog na hormonske receptore i kod žena u postmenopauzi s ranim stadijem tumora koje su prošle liječenje s tamoksifenom. Primjenjuje se kao neoadjuvantna terapija u ranim stadijima tumora. Mehanizam djelovanja temelji se na inhibiciji aromataze tipa II. Inhibiranjem aromataze tipa II sprječava sintezu estrogena iz androgena. Opisani mehanizam sprječava rast tumora zato što je ER+ tumorima potreban estrogen za daljnji rast i proliferaciju. Primjenjuje se kao oralna terapija te tek nakon što se terapija tamoksifenom pokazala neučinkovitom.

1.8 Histološki gradus, status limfnih čvorova i vaskularna invazija

1.8.1 Histološki gradus

Histološki gradus karcinoma je način procjenjivanja izgleda tumorski stanica. Tumorske stanice procjenjuju se u odnos na zdrave stanice odnosno promatra se koliko tumorske stanice nalikuju na zdrave i prema tome im se određuje gradus. Određivanje gradusa je važno jer se pomoću njega može odrediti agresivnost tumora i brzina njegovog širenja. Gradus tumora određuje se mikroskopskim pregledom stanica tumora te ima 3 stupnja.

Histološki gradus:

gradus 1 (G1): stanice raka izgledom su vrlo slične normalnim stanicama i rastu sporo, gradus jedan je najniži stupanj i upućuje na najmanje agresivan tumor

gradus 2 (G2): stanice raka ne nalikuju potpuno na normalne stanice, ali nisu ni u potpunosti abnormalne, stanice brže rastu od zdravih stanica

gradus 3 (G3): najviši stupanj gradusa, stanice su abnormalne (bitno se razlikuju od zdravih stanica) i imaju veliku brzinu proliferacije

GX: neodređeni gradus, označava da doktor nije bio u mogućnosti odrediti gradus stanica

S histološkim gradusom povezan je i stupanj diferencijacije stanica. Ukoliko su stanice tumora slične zdravim stanicama znači da su dobro diferencirane i da se sporo dijele to odgovara stanicama gradusa 1. Stanice koje su loše diferencirane i dijele se srednjom brzinom često odgovaraju stanicama gradusa 2, dok stanice koje se nediferencirane i abnormalne odgovaraju stanicama gradusa 3. Kod procjenjivanja gradusa raka dojke koristi se Scarff-Bloom-Richardson sustav bodovanja koji se sastoji od tri kategorije procjene. Kategorije procjene su: stupanj diferencijacije stanice, izgled jezgre (jezgrin pleomorfizam) i mitotička aktivnost. Svaka kategorija boduje se od 1 do 3 te se na kraju bodovi zbrajaju kako bi se dobio konačan histološki gradus. G1 odgovaraju vrijednosti 3-5, G2 6-7 ,a G3 8-9 (Champion i Wallace, 1971).

1.8.2 Status limfnih čvorova

Status limfnih čvorova važan je prognostički faktor kod karcinoma dojke zato što opisuje zahvaćenost limfnih čvorova tumorskim stanicama. Status limfnih čvorova usko je povezan s prognozom i vjerojatnosti preživljavanja pacijenta. Kod karcinoma postoji pozitivan i

negativan nalaz limfnih čvorova. Ukoliko je nalaz negativan znači da u limfnim čvorovima nisu pronađene tumorske stanice dok ukoliko je nalaz pozitivan znači da su tumorske stanice pronađene. Nadalje, na temelju toga koliko je limfnih čvorova zahvaćeno može se odrediti N status tumora. Pri čemu je N oznaka za regionalne limfne čvorove koji se nalaze u blizini primarnog tumora.

N status:

N0: znači da nisu pronađene tumorske stanice u regionalnim limfnim čvorovima

N1: stanice tumora pronađene su na 1-3 limfna čvora

N2: stanice tumora pronađene su na 4-9 limfna čvora

N3: stanice tumora pronađene su na više od 10 limfnih čvorova

Ukoliko je tumor napredovao na lokalne limfne čvorove smatra se da je uznapredovali tumor in situ i po tome se razlikuje od metastaziranja tumora. Širenje tumora na okolne limfne čvorove povezano je s lošijom prognozom (Prema - www.cancer.gov).

1.8.3 Vaskularna invazija

Vaskularna invazija je pojava koja opisuje prisutnost tumorskih stanica u lumenu krvnih ili limfnih žila. Ukoliko je uočena vaskularna invazija povećan je rizik od metastaziranja i širenja tumora. Utvrđivanje vaskularne invazije pokazalo je prognostičku vrijednost kod karcinoma dojke, kolona i cerviksa. Mnoga istraživanja pokušala su utvrditi točnu povezanost vaskularne invazije i razvoju tumora, ali točna povezanost još uvijek nije utvrđena.

Visoki uzrok smrtnosti kod karcinoma dojke povezan je s mogućnosti metastaziranja karcinoma i njegovog širenja na okolne organe. Iz toga razloga vaskularna invazija može pomoći pri utvrđivanju tumora koji imaju visok potencijal metastaziranja.

Koraci metastaze karcinoma su: odvajanje stanice od primarnog tumora, invazija i migracija kroz izvanstanični matriks, ulazak u krvotok ili limfu, izbjegavanje imunološkog odgovora domaćina, ekstravazacija iz krvotoka ili limfe na novo mjesto i rast tumora na novom mjestu. Najvažniji korak te kaskade je invazija limfnih i krvnih žila te je radi toga važno utvrđivanje stanica u endotelu žila.

Utvrđivanje vaskularne invazije provodi se bojanjem uzorka primarnog karcinoma pomoću eozina i hematoksilina. Uzorak koji se koristi za navedenu metodu mora se nalaziti u blizini krvnih ili limfnih žila. Problem ovakvog određivanja je teška diferencijalna dijagnostika. Često je vrlo teško uočiti razliku između vaskularne invazije i okolnog tkiva i utvrditi radi li se o invaziji krvnih ili limfnih žila. Istraživanja su pokazala kako utvrđivanje vaskularne

invazije ima značaj u praćenju invazivnosti tumora dojke i metastaziranju. Novije metode omogućavaju bolju diferencijaciju između limfne i krvne invazije te je utvrđeno da je kod karcinoma dojke značajnija vaskularna invazija limfe (Pinder i sur., 1993).

1.9 NLR, SII i PLR

1.9.1 NLR (omjer neutrofila i limfocita)

NLR je omjer neutrofila i limfocita. Može se računati kao omjer apsolutnog broja neutrofila i limfocita ili kao omjer postotka neutrofila i limfocita. Uloga NLR-a u liječenju pacijenta nije u potpunosti istražena. Zbog toga što je novi biljeg u medicini ne postoji točan referentni interval. Iako još uvijek nema strogo definirani referentni interval smatra se da su povišene vrijednosti NLR-a povezane s lošijom prognozom. Mnoga istraživanja proučila su povezanost NLR-a i karcinoma želuca, pluća, jetre i pankreasa.

Postoje nekoliko istraživanja koja povezuju NLR s karcinomom dojke. Istraživanja su provedena na različitim tipovima pacijenata te su određene različite referentne vrijednosti NLR-a. Povišene vrijednosti NLR-a povezane su s lošijom prognozom, povećanim mortalitetom te smanjenim ukupnim preživljavanjem. Retrospektivno istraživanje provedeno na pacijenticama koje su podvrgnute neoadjuvantnoj terapiji, utvrdilo je graničnu vrijednost NLR-a od 2,1. Žene s vrijednosti NLR > 2,06 pokazale su lošiji odgovor na neoadjuvantnu terapiju te povećan mortalitet (Chen i sur., 2016).

Različiti faktori mogu utjecati na vrijednost NLR-a. Menopauza, sjelo karcinoma i stadij karcinoma, samo su neki od faktora koji mogu utjecati na NLR. Sniženi NLR uočen je kod pacijentica oboljelih od trostruko-negativnog karcinoma dojke, dok je povišena vrijednost uočena kod pacijentica s višim stadijem karcinoma (Chen i sur., 2016). Iako još uvijek nije u potpunosti istražen NLR ima velik potencijal kao prognostički biljeg mortaliteta, odgovora na terapiju i samog stanja pacijenta.

1.9.2 SII (Sustavno imunosno-upalni odgovor/ indeks)

Sustavno imunosno-upalni indeks određuje se na temelju NLR-a i broja trombocita te predstavlja novi prognostički biljeg kod karcinoma. Računa se kao umnožak NLR-a i broja trombocita. Zbog toga što je novi prognostički biljeg jako je malo istražen. Istraživanja su provedena na različitim vrstama karcinoma kao što su karcinom dojke, pluća, ezofagusa i prostate. Postoji veliki raspon granične vrijednosti koji su utvrdila različita istraživanja.

Granična vrijednost SII-a varirala je od 422 do 836 u istraživanjima za karcinom dojke (Zhang i sur., 2020).

Različita istraživanja utvrdila su povezanost SII i ukupnog preživljavanja, preživljavanja bez bolesti i tumorskim stadijem. Uočeno je da je visok SII povezan s visokim stadijem tumora, metastazama na limfnim čvorovima i višim histopatološkim gradusom karcinoma dojke (Zhang i sur., 2020).

Zbog toga što je novi prognostički biljeg teško je utvrditi točnu povezanost SII-a i ostalih parametara. Postoje različita istraživanja koja su uočila da je najveća korist SII-a kao prognostičkog biljega ukoliko se koristi zajedno s NLR-om. Iako se još uvijek istražuje kao prognostički biljeg postoji velik potencijal za njegovo korištenje.

1.9.3 PLR (omjer trombocita i limfocita)

PLR je omjer broja trombocita i limfocita. PLR je novi prognostički biljeg isto kao i SII i NLR. Istraživanja o PLR-u provedena su na raznim karcinomima kao što su karcinom dojke, želuca i pluća. Osim na karcinomima istraživanja su provedena i na drugim upalnim stanjima poput pretilosti i plućne embolije. Pošto je PLR relativno neistražene ne postoji točna granična vrijednost. U većini istraživanja pacijenti su podijeljeni na one koji imaju višu ili nižu vrijednost PLR-a bez točno određene granice. Iako granična vrijednost nije točno utvrđena jedno od istraživanja, provedeno na karcinomu dojke, navodi kako je njihova granična vrijednost PLR-a iznosila ≤ 143.36 (Yeon Kim i sur., 2019).

Istraživanja još uvijek ne mogu utvrditi točnu prediktivnu vrijednost PLR-a kao prognostičkog biljega. Nekoliko istraživanja potvrđuje njegovu prediktivnu vrijednost dok postoje i ona koja nisu uspjela naći povezanost NLR-a i različitih kliničko-patoloških karakteristika karcinoma. Istraživanje provedeno na ženama s karcinomom dojke koje su bile podvrgnute neoadjuvantnoj terapiji utvrdilo je povezanost PLR-a i preživljavanja pacijentica. Pacijentice koje su imale nisku vrijednost PLR-a imale su viši postotak preživljavanja bez bolesti (Yeon Kim i sur., 2019). Povećane vrijednosti PLR-a povezane su s povećanim mortalitetom i povećanim rizikom od ponovnog povratka karcinoma dojke (Guo i sur., 2019). Mnoga istraživanja još uvijek utvrđuju pravu vrijednost PLR-a. Iako točno nije utvrđeno postoji li prava prognostička vrijednost ili ne, većina istraživanja ističe kako PLR ima najveći potencijal ukoliko se promatra zajedno s NLR-om.

2 OBRAZLOŽENJE TEME

Karcinom dojke jedan je od najčešćih karcinoma. Zbog visoke stope incidencije i mortaliteta važno je istraživati biljege koji mogu pomoći u ranoj dijagnostici i praćenju karcinoma. Kemoterapija utječe na promjenu krvne slike kod pacijenata. Ovisno o tome koje se kemoterapija koristi postoje različite nuspojave. Najčešće promjene u krvnoj slici su nizak broj leukocita, trombocita i eritrocita. Promatrani parametri u istraživanju opisanom u ovom radu bili su NLR, SII i PLR. NLR je omjer broja neutrofila i limfocita, PLR trombocita i limfocita, a SII se računa na temelju NLR-a i trombocita. Pošto se sva tri markera računaju na temelju broja trombocita, limfocita i neutrofila korisno je ispitati jesu li uopće i na koji način povezani s karakteristikama karcinoma i ukupnim preživljavanjem pacijenata.

Promatrani parametri još uvijek se aktivno ne koriste kao prediktivni markeri. Nekoliko istraživanja potvrdilo je povezanost parametara s različitim čimbenicima tumora dojke. Sva tri parametra mogu se dobiti iz lako dobavljenih podataka, obzirom da su komponente kompletne krvne slike. Izračun ovih parametara je iz tog razloga vrlo jednostavan i nema potrebe za novim metodama mjerenja. Iz svih ovih razloga vrlo je bitno ispitati točnu povezanost parametara s različitim karakteristikama tumora dojke

Povišene vrijednosti sva tri markera najčešće su povezana s lošijom prognozom, visokim stupnjem mortaliteta i višim tumorskim stadijem. NLR kao marker bolje je istražen kod adjuvantne terapije dok je neoadjuvantna terapija manje istražena i nije pronađena snažna korelacija između NLR-s i karakteristika karcinoma (Corbeau i sur., 2020). PLR pokazao je bolju povezanost ukupnog preživljavanja kod pacijentica koje su podvrgnute neoadjuvantnoj terapiji. SII je najmanje istražen parametar. Smatra se da SII pokazuje upalno stanje organizma. Kao najmanje istražen parametar nema utvrđenu točnu i jasnu poveznicu s karakteristikama karcinoma dojke. Neka istraživanja pokazala su povezanost SII s višim tumorskim stadijem i histopatološkim gradusom. Najveća korist od ovog markera pokazala se ukoliko se koristi zajedno s NLR-om.

Cilj ovog rada bio je ispitati povezanost novih prediktivnih markera i različitih karakteristika tumora kod pacijentica uoči kemoterapije. Kao metoda korišteno je retrospektivno prikupljanje podataka dobivenih iz nalaza pacijenata. Podaci koji su korišteni u radu

promatrali su se unazad pet godina. Razdoblje prikupljenih podataka je od 2015. do 2021. godine.

3 MATERIJALI I METODE

Za potrebe ovog diplomskog rada provedeno je pregledavanje baze podataka u Klinici za tumore Zagreb i ispisivanje podataka iz Laboratorijskog informacijskog sustava. Uz korištenje navedenih baza podataka u svrhu ovog rada pregledavana je znanstvena i stručna literatura na temu karcinoma dojke, NLR-a, PLR-a i SII-a. Razdoblje prikupljenih podataka za ovaj diplomski rad je od 12.5.2015 do 9.6.2021. Podaci koji su se prikupljali u navedenom razdoblju su dob pacijenata, broj neutrofila, limfocita, trombocita i leukocita te molekularni podtip karcinoma dojke, stadij tumora, status limfnih čvorova, histološki gradus, status vaskularne invazije, status estrogenskih i progesteronskih receptora, HER2 status i postotak Ki-67. Za potrebe ovog diplomskog rada prikupljeni su podaci pacijentica uoči kemoterapije. Za pacijentice nisu dostupni podaci o kojoj se točno kemoterapiji radi.

Broj pacijentica kojima su prikupljeni navedeni podaci je 90. Minimalna dob je 24 godine, maksimalna 79 godina, a medijan iznosi 58 godina. Programi korišteni u svrhu statističke obrade podataka su Medcalc (verzija 19.8) i Microsoft Excel. Pacijenti bez potpunih podataka isključeni su iz statističke obrade.

4 REZULTATI I RASPRAVA

4.1 Rezultati

4.1.1 Deskriptivna statistika osnovnih hematoloških parametara

U svrhu utvrđivanja povezanosti NLR-a, PLR-a i SII-a s pojedinim karakteristikama karcinoma dojke učinjena je temeljna statistička analiza osnovnih hematoloških parametara. Praćeni hematološki parametri bili su broj leukocita, neutrofila, limfocita i trombocita. Učinjena je deskriptivna statistika te su podaci obrađeni pomoću Kolmogorov-Smirnovog testa normalnosti distribucije. Statistički značajna P-vrijednost dobivena je za broj limfocita i trombocita. P-vrijednost broja trombocita iznosi 0,046, a limfocita 0,024. Medijan broja limfocita iznosi $3,89 \cdot 10^9/L$ u rasponu od 1,73-9,87, a broja trombocita $255 \cdot 10^9/L$ u rasponu od 109-511. Statistički značajna P-vrijednost u Kolmogorov-Smirnovom testu pokazuje kako vrijednosti limfocita i trombocita ne prate normalnu razdiobu već je razdioba specifična za našu skupinu podataka. Statistički podaci za osnovne hematološke parametre prikazani su u tablici 1.

Tablica 1. Deskriptivna statistika osnovnih hematoloških parametara

| | Medijan (min-max) | 95% interval pouzdanosti za medijan | Interkvartilni raspon (Q1-Q3) | P-vrijednost* |
|--------------------------------|-------------------|-------------------------------------|-------------------------------|---------------|
| Leukociti ($\cdot 10^9/L$) | 6,96(3,36-13,33) | 6,53-7,37 | 5,82-8,23 | >0,100 |
| Neutrofilii ($\cdot 10^9/L$) | 1,97 (0,96-3,81) | 1,87-2,15 | 1,62-2,44 | 0,069 |
| Limfociti ($\cdot 10^9/L$) | 3,89 (1,73-9,78) | 3,64-4,33 | 3,21-4,94 | 0,024 |
| Trombociti ($\cdot 10^9/L$) | 255 (109-511) | 234-269 | 213-291 | 0,046 |

*Kolmogorov-Smirnov test normalnosti distribucije

4.1.2 Statistika izvedenih hematoloških parametara (NLR, PLR, SII)

Na promatranim računskim/izvedenim hematološkim parametrima provedena je deskriptivna statistika te su podaci obrađeni pomoću Kolmogorov-Smirnovog testa normalnosti distribucije. Kod sva tri parametra utvrđena je statistički značajna P-vrijednost. Statistički je utvrđeno da parametri prate specifičnu krivulju, a ne normalnu distribuciju. Utvrđeni medijan NLR-a je 2,05, PLR-a 125,87, a SII-a 492. NLR se kretao u rasponu 0,70-4,82, PLR 60,43-390,08, a SII 155-550. Nadalje, utvrđena P-vrijednost za NLR je 0,018, PLR <0,001, a SII 0,006. Deskriptivna statistika izvedenih hematoloških parametara prikazana je u tablici 2.

Tablica 2. Deskriptivna statistika izvedenih hematoloških parametara

| | Medijan (min-max) | 95% interval pouzdanosti za medijan | Interkvartilni raspon (Q1-Q3) | P-vrijednost* |
|-----|--------------------------|---|----------------------------------|---------------|
| NLR | 2,05 (0,70-4,82) | 1,80-2,19 | 1,61-2,44 | 0,018 |
| PLR | 125,87 (60,43-390,08) | 117,49-132,24 | 100,00-165,22 | <0,001 |
| SII | 492 (155-550) | 443-551 | 366-692 | 0,006 |

*Kolmogorov-Smirnov test normalnosti distribucije

4.1.3 Povezanost kliničko-patoloških faktora i različitih skupina pacijentica s izvedenim hematološkim parametrima (NLR,PLR,SII)

Ukupan broj uključenih pacijentica je 90. Medijan dobi je 58 godina u rasponu 24-79 godine. Postotak pacijentica u dobi <51 godinu iznosi 37%, a postotak pacijentica u dobi >51 godinu iznosi 63%. Pacijenticama su određeni promatrani hematološki parametri u svrhu utvrđivanja povezanosti s kliničko-patološkim faktorima. Praćeni kliničko-patološki faktori su: dob, molekularni podtip karcinoma, stadij tumora (T), status limfnih čvorova (N stadij), histološki gradus, peritumorska vaskularna invazija, status estrogenskih i progesteronskih receptora, HER-2 status i postotak Ki-67 proteina. Statistička obrada provedena je na sva tri promatrana računski hematološka parametra.

Statistički značajna P-vrijednost dobivena je za PLR i SII. Korišteni statistički test je Hi-kvadrat test ovisnosti. Test je odabran zato što se želi utvrditi postojanje povezanosti između dvije varijable. Statistički značajna P-vrijednost dobivena je za PLR i stadij tumora, dok za druge parametre nije utvrđena statistički značajna P-vrijednost. Dobivena granična vrijednost za PLR iznosi 88,23. Broj pacijentica s PLR-om $\leq 88,23$ iznosi 13 odnosno 14%, a broj pacijentica s PLR-om $> 88,23$ je 77 odnosno 86%. Broj pacijentica s stadijem tumora I iznosi 49 odnosno 54%, a broj pacijentica sa stadijem tumora II iznosi 40 odnosno 44%. Jedna pacijentica imala je stadij tumora III što zapravo iznosi 1%. I ovih podataka vidljivo je da najveći broj pacijentica ima stadij tumora I i II. Broj pacijentica s tumorskim stadijem I i PLR-om $> 88,23$ iznosi 46. Broj pacijentica s tumorskim stadijem II i PLR-om $> 88,23$ iznosi 30. Dobivena χ^2 vrijednost za PLR iznosi 6,521, a dobivena P-vrijednost iznosi 0,038. Opisane vrijednosti prikazane su u tablici 3.

Tablica 3. Povezanost stadija tumora i različitih skupina pacijentica na temelju granične vrijednosti omjera trombocita i limfocita (PLR)

| Kliničko-patološke značajke | N (%) | PLR \leq 88,23 N=13 (14%) | PLR $>$ 88,23 N=77 (86%) | χ^2 | P-vrijednost* |
|-----------------------------|----------|--------------------------------|-----------------------------|----------|---------------|
| Stadij tumora (T) | N=90 | | | | |
| I | 49 (54%) | 3 | 46 | 6,521 | 0,038 |
| II | 40 (44%) | 10 | 30 | | |
| III | 1 (1%) | 0 | 1 | | |

*Hi-kvadrat test

Statistički značajna P-vrijednost dobivena je za SII i stadij tumora, dok za druge parametre nije utvrđena statistički značajna P-vrijednost. Dobivena granična vrijednost za SII iznosi 547. Broj pacijentica s SII ≤ 547 je 52 odnosno 58%, a broj pacijentica s SII > 547 je 38 odnosno 42%. Broj pacijentica s tumorskim stadijem I i SII > 547 iznosi 26, a broj pacijentica s tumorskim stadijem II i SII ≤ 547 iznosi 29. Dobivena χ^2 vrijednost za SII iznosi 7,282, a dobivena P-vrijednost iznosi 0,026. Opisane vrijednosti prikazane su u tablici 4.

Tablica 4. Povezanost stadija tumora i različitih skupina pacijentica na temelju granične vrijednosti indeksa imunoso-upalnog odgovora (SII)

| Kliničko-patološke značajke | N (%) | SII ≤ 547 N=52 (58%) | SII > 547 N=38 (42%) | χ^2 | P-vrijednost* |
|-----------------------------|----------|-------------------------|-------------------------|----------|---------------|
| Stadij tumora (T) | N=90 | | | | |
| I | 49 (54%) | 23 | 26 | 7,282 | 0,026 |
| II | 40 (44%) | 29 | 11 | | |
| III | 1 (1%) | 0 | 1 | | |

Povezanost ostalih kliničko-patoloških faktora i različitih skupina pacijentica na temelju granične vrijednosti PLR-a prikazana je u tablici 5, a SII-a u tablici 6.

Tablica 5. Povezanost kliničko-patoloških faktora i različitih skupina pacijentica na temelju granične vrijednosti omjera trombocita i limfocita (PLR)

| Kliničko-patološke značajke | N (%) | PLR ≤ 88,23 N=13 (14%) | PLR > 88,23 N=77 (86%) | χ^2 | P-vrijednost* |
|-----------------------------------|----------|---------------------------|---------------------------|----------|---------------|
| Dob (godine) | N=90 | | | | |
| <51 | 33 (37%) | 2 | 31 | 2,931 | 0,087 |
| >51 | 57 (63%) | 11 | 46 | | |
| Molekularni podtip | N=90 | | | | |
| Luminalni tip A | 5 (6%) | 1 | 4 | 2,061 | 0,725 |
| Luminalni tip B/HER-2- | 37 (41%) | 4 | 33 | | |
| Luminalni tip B/HER-2+ | 20 (22%) | 2 | 18 | | |
| Neluminalni tip(HER-2+) | 8 (9%) | 2 | 6 | | |
| Bazalni tip (trostruko negativan) | 20 (22%) | 4 | 16 | | |
| Stadij tumora (T) | N=90 | | | | |
| I | 49 (54%) | 3 | 46 | 6,521 | 0,038 |
| II | 40 (44%) | 10 | 30 | | |
| III | 1 (1%) | 0 | 1 | | |
| Status limfnih | N=90 | | | | |

| | | | | | |
|---|----------|----|----|-------|-------|
| čvorova (N stadij) | | | | | |
| 0 | 47 (52%) | 8 | 39 | 1,385 | 0,709 |
| I | 26 (29%) | 2 | 24 | | |
| II | 12 (13%) | 2 | 10 | | |
| III | 5 (6%) | 1 | 4 | | |
| Histološki gradus | N=90 | | | | |
| I | 4 (4%) | 1 | 3 | 3,911 | 0,142 |
| II | 36 (40%) | 2 | 34 | | |
| III | 50 (56%) | 10 | 40 | | |
| Peritumorska vaskularna invazija | N=88** | | | | |
| Odsutna | 69 (78%) | 12 | 57 | 1,721 | 0,190 |
| Prisutna | 19 (22%) | 1 | 18 | | |
| Status estrogenskih receptora | N=90 | | | | |
| Negativan | 28 (31%) | 6 | 22 | 1,586 | 0,208 |
| Pozitivan | 62 (69%) | 7 | 55 | | |
| Status progesteronskih receptora | N=90 | | | | |
| Negativan | 38 (42%) | 7 | 31 | 0,832 | 0,362 |
| Pozitivan | 52 (58%) | 6 | 46 | | |
| HER-2 status | N=90 | | | | |
| Negativan | 62 (69%) | 9 | 53 | 0,001 | 0,977 |
| Pozitivan | 28 (31%) | 4 | 24 | | |
| Ki-67 (%) | N=90 | | | | |
| <14,0 | 8 (9%) | 2 | 6 | 0,783 | 0,376 |
| >14,0 | 82 (91%) | 11 | 71 | | |

*Hi-kvadrat test

**Isključene dvije pacijentice zbog nedostatka podataka

Tablica 6. Povezanost kliničko-patoloških faktora i različitih skupina pacijentica na temelju granične vrijednosti indeksa imunosno-upalnog odgovora (SII)

| Kliničko-patološke značajke | N (%) | SII ≤ 547 N=52 (58%) | SII > 547 N=38 (42%) | χ^2 | P-vrijednost* |
|--|----------|-------------------------|-------------------------|----------|---------------|
| Dob (godine) | N=90 | | | | |
| ≤51 | 33 (37%) | 16 | 17 | 1,824 | 0,177 |
| >51 | 57 (63%) | 36 | 21 | | |
| Molekularni podtip | N=90 | | | | |
| Luminalni tip A | 5 (6%) | 4 | 1 | 1,399 | 0,844 |
| Luminalni tip B/HER-2- | 37 (41%) | 20 | 17 | | |
| Luminalni tip B/HER-2+ | 20 (22%) | 11 | 9 | | |
| Neluminalni tip(HER-2+) | 8 (9%) | 5 | 3 | | |
| Bazalni tip (trostruko negativan) | 20 (22%) | 12 | 8 | | |
| Stadij tumora (T) | N=90 | | | | |
| I | 49 (54%) | 23 | 26 | 7,282 | 0,026 |
| II | 40 (44%) | 29 | 11 | | |
| III | 1 (1%) | 0 | 1 | | |
| Status limfnih čvorova (N stadij) | N=90 | | | | |
| 0 | 47 (52%) | 27 | 20 | 0,802 | 0,849 |
| I | 26 (29%) | 16 | 10 | | |
| II | 12 (13%) | 7 | 5 | | |
| III | 5 (6%) | 2 | 3 | | |
| Histološki gradus | N=90 | | | | |
| I | 4 (4%) | 2 | 2 | 0,328 | 0,849 |
| II | 36 (40%) | 22 | 14 | | |
| III | 50 (56%) | 28 | 22 | | |
| Peritumorska vaskularna invazija | N=88** | | | | |
| Odsutna | 69 (78%) | 43 | 26 | 2,470 | 0,116 |
| Prisutna | 19 (22%) | 8 | 11 | | |

| | | | | | |
|---|----------|----|----|-------|-------|
| Status estrogenskih receptora | N=90 | | | | |
| Negativan | 28 (31%) | 17 | 11 | 0,142 | 0,706 |
| Pozitivan | 62 (69%) | 35 | 27 | | |
| Status progesteronskih receptora | N=90 | | | | |
| Negativan | 38 (42%) | 21 | 17 | 0,169 | 0,681 |
| Pozitivan | 52 (58%) | 31 | 21 | | |
| HER-2 status | N=90 | | | | |
| Negativan | 62 (69%) | 36 | 26 | 0,007 | 0,935 |
| Pozitivan | 28 (31%) | 16 | 12 | | |
| Ki-67 (%) | N=90 | | | | |
| <14,0 | 8 (9%) | 4 | 4 | 0,215 | 0,643 |
| >14,0 | 82 (91%) | 48 | 34 | | |

*Hi-kvadrat test

**Isključene dvije pacijentice zbog nedostatka podataka

NLR nije pokazao statistički značajnu povezanost s fizičko-patološkim karakteristikama pacijentica. Dobivena granična vrijednost NLR-a je 2,13. Broj pacijentica s NLR-om $\leq 2,13$ iznosi 53 odnosno 59%, a broj pacijentica s NLR-om $> 2,13$ iznosi 37 odnosno 41%. Iako NLR nije pokazao statistički značajnu povezanost važno je navesti dobivene rezultate zbog toga što je najdulje korišten omjer i jer se daljnja statistika temelji se na sva tri promatrana parametra. Povezanost fizičko-patoloških faktora i različitih skupina pacijentica na temelju granične vrijednosti NLR-a prikazana je u tablici 7.

Tablica 7. Povezanost kliničko-patoloških faktora i različitih skupina pacijentica na temelju granične vrijednosti omjera neutrofila i limfocita (NLR)

| Kliničko-patološke značajke | N (%) | NLR $\leq 2,13$ N=53 (59%) | NLR $>2,13$ N=37 (41%) | χ^2 | P-vrijednost* |
|-----------------------------|----------|-------------------------------|---------------------------|----------|---------------|
| Dob (godine) | N=90 | | | | |
| <51 | 33 (37%) | 18 | 15 | 0,402 | 0,526 |
| >51 | 57 (63%) | 35 | 22 | | |
| Molekularni podtip | N=90 | | | | |

| | | | | | |
|--|----------|------------|------------|-------|-------|
| Luminalni tip A | 5 (6%) | 4 | 1 | 2,731 | 0,604 |
| Luminalni tip B/HER-2- | 37 (41%) | 24 | 14 | | |
| Luminalni tip B/HER-2+ | 20 (22%) | 12 | 8 | | |
| Neluminalni tip(HER-2+) | 8 (9%) | 3 | 9 | | |
| Bazalni tip (trostruko negativan) | 20 (22%) | 11 | 9 | | |
| Stadij tumora (T) | N=90 | | | | |
| I | 49 (54%) | 27 | 22 | 2,340 | 0,310 |
| II | 40 (44%) | 26 | 14 | | |
| III | 1 (1%) | 0 | 1 | | |
| Status limfnih čvorova (N stadij) | N=90 | | | | |
| 0 | 47 (52%) | 25 | 22 | 3,530 | 0,317 |
| I | 26 (29%) | 19 | 7 | | |
| II | 12 (13%) | 7 | 5 | | |
| III | 5 (6%) | 2 | 3 | | |
| Histološki gradus | N=90 | | | | |
| I | 4 (4%) | 4 | 0 | 5,324 | 0,070 |
| II | 36 (40%) | 24 | 12 | | |
| III | 50 (56%) | 25 | 25 | | |
| Peritumorska vaskularna invazija | N=88** | N=52 (59%) | N=36 (41%) | | |
| Odsutna | 69 (78%) | 44 | 25 | 2,859 | 0,091 |
| Prisutna | 19 (22%) | 8 | 11 | | |
| Status estrogenskih receptora | N=90 | | | | |
| Negativan | 28 (31%) | 14 | 14 | 1,312 | 0,252 |
| Pozitivan | 62 (69%) | 39 | 23 | | |
| Status progesteronskih receptora | N=90 | | | | |

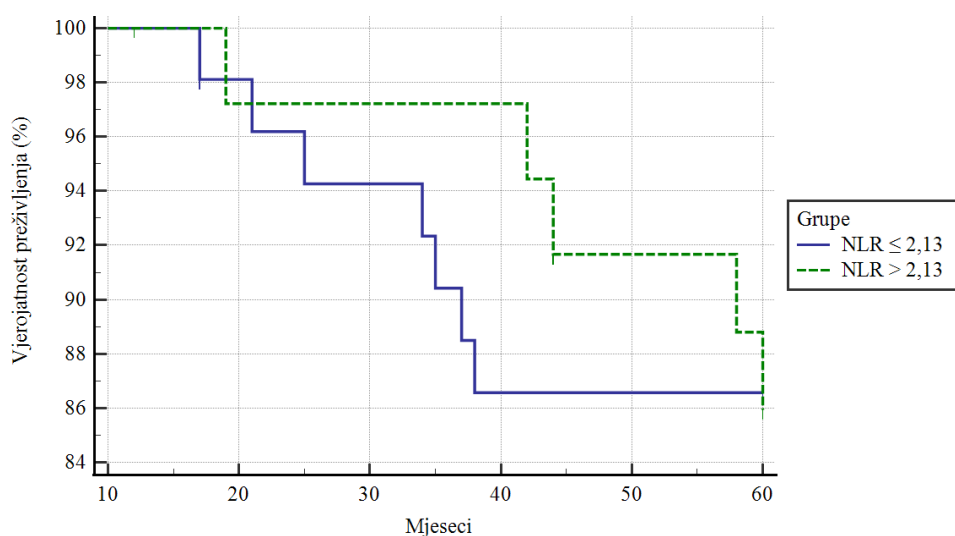
| | | | | | |
|---------------------|----------|----|----|-------|-------|
| Negativan | 38 (42%) | 21 | 17 | 0,353 | 0,552 |
| Pozitivan | 52 (58%) | 32 | 20 | | |
| HER-2 status | N=90 | | | | |
| Negativan | 62 (69%) | 38 | 24 | 0,469 | 0,943 |
| Pozitivan | 28 (31%) | 15 | 13 | | |
| Ki-67 (%) | N=90 | | | | |
| <14,0 | 8 (9%) | 5 | 3 | 0,047 | 0,829 |
| >14,0 | 82 (91%) | 48 | 34 | | |

*Hi-kvadrat test

**Isključene dvije pacijentice zbog nedostatka podataka

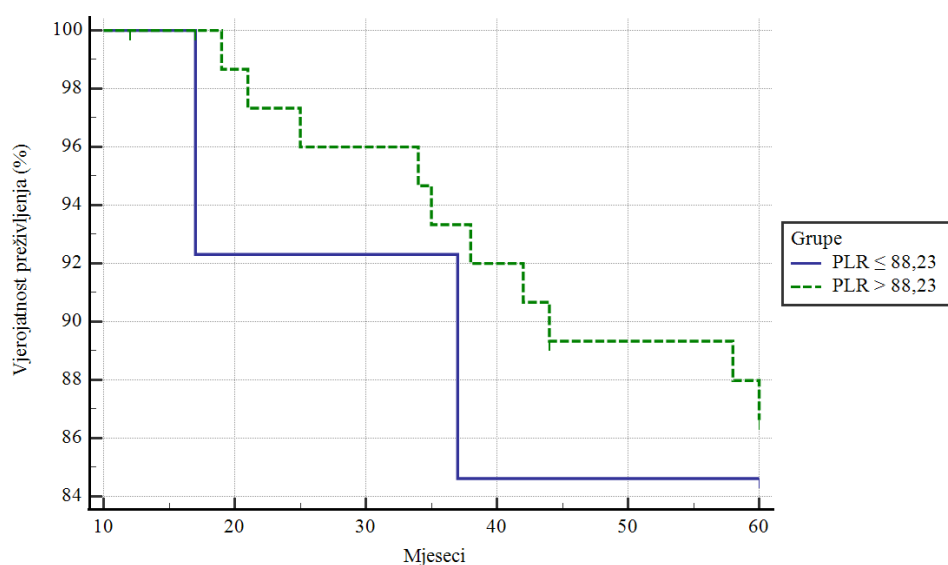
Za sva tri izvedena hematološka parametra učinjena je Kaplan-Meier krivulja. Pacijenti su praćeni tijekom 60 mjeseci. Granične vrijednosti izvedenih hematoloških parametara su: NLR 2,13, PLR 88,23 i SII 547. Za usporedbu krivulja preživljavanja korišten je Log Rank test. Ukupan broj pacijentica iznosio je 90, dok je do kraja praćenja cenzurirano 78 pacijentica što iznosi 86.67 %.

Pacijentice s NLR-om većim od 2,13 pokazale su viši stupanj preživljavanja od onih s nižim NLR-om. Učinjen je Hi-kvadrat test te dobivena P-vrijednost iznosi 0,9880. Najveća razlika u preživljavanju vidi se u 40-om mjesecu. Postotak preživljavanja za pacijentice s NLR-om > 2,13 u 40-om mjesecu je 97%, dok je s NLR-om < 2,13 je približno 86,5%. Dobivena P-vrijednost nije statistički značajna. Slika 3. prikazuje Kaplan-Meier krivulju sveukupnog preživljavanja pacijentica za NLR.



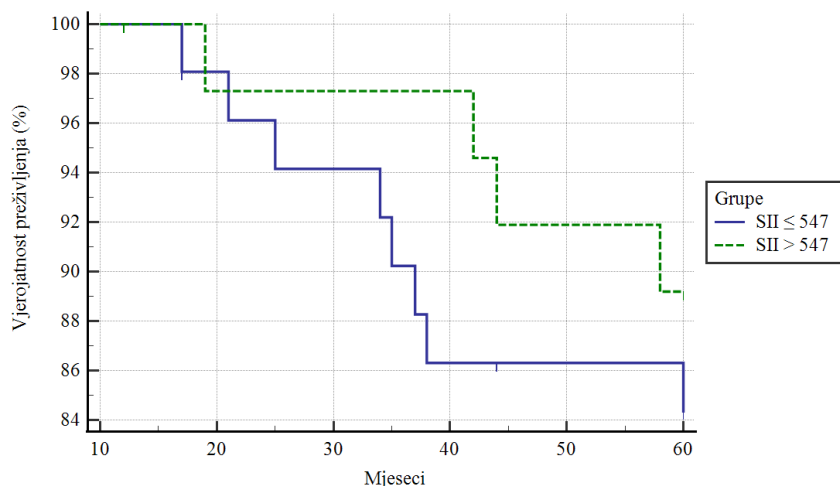
Slika 3. Kaplan-Meier krivulja sveukupnog preživljenja skupine pacijentica s niskim i visokim NLR

Dobivena granična vrijednost za PLR je 88,23. Pacijentice s PLR-om većim od 88,23 pokazale su viši stupanj preživljavanja od pacijentica s PLR-om nižim od 88,23. Najveća razlika u stopi preživljavanja vidi se u 50-om mjesecu. Pacijentice s PLR-om $> 88,23$ u 50-om tjednu pokazale su postotak preživljavanja približno 89% dok su pacijentice s PLR-om $< 88,23$ pokazale postotak preživljavanja 84%. Dobivena P-vrijednost nije se pokazala statistički značajnom te iznosi 0,8029. Slika 4. prikazuje Kaplan-Meier krivulju sveukupnog preživljavanja pacijentica za PLR.



Slika 4. Kaplan-Meier krivulja sveukupnog preživljenja skupine pacijentica s niskim i visokim PLR

Dobivena granična vrijednost SII iznosi 547. Pacijentice s SII višim od 547 pokazale su veći stupanj preživljavanja od pacijentica s SII nižim od 547. Kao i kod NLR-a najveća razlika u postotku preživljavanja vidljiva je u 40-om mjesecu. Pacijentice s SII > 547 su 40-om mjesecu pokazale su postotak preživljavanja 97% dok su pacijentice sa SII < 547 pokazale postotak preživljavanja 86%. Dobivena P-vrijednost nije se pokazala statistički značajnom te iznosi 0,4871. Slika 5 prikazuje Kaplan-Meier krivulju sveukupnog preživljavanja pacijentica za SII.



Slika 5. Kaplan-Meier krivulja sveukupnog preživljenja skupine pacijentica s niskim i visokim SII

4.2 Rasprava

U svrhu izrade diplomskog rada analizirani su podaci pacijentica uoči kemoterapije. Pacijentice su imale različite tumorske stadije i tipove tumora. Molekularni podtipovi tumora koji su zabilježeni su: luminalni tip A, luminalni B/HER-2-, luminalni tip B/HER-2+, neluminalni tip i bazalni tip (trostruko negativan). Najveći postotak pacijentica imao je luminalni B/HER-2- tip karcinoma dojke iako je statistički luminalni tip A karcinom dojke puno češći. Broj pacijentica s luminalnim B tipom karcinoma dojke iznosio je 37 odnosno 41%. U istraživanju opisanom u ovom radu tumor se klasificirao pomoću TNM sustava za određivanje tumorskog stadija. Najviše pacijentica imalo je stadij tumora I. Postotak pacijentica s prvim stadijem tumora iznosio je 54%. Dob pacijentica kretala se između 24-79 godina. Rizik od razvitka karcinom dojke raste s dobi te se najčešće javlja kod žena u menopauzi. Najviše žena koje razviju karcinom dojke su one u dobi od 50 i više godina. Iz tog razloga granična vrijednost dobi u ovom istraživanju iznosi 51. Postotak pacijentica u dobi od 51 godinu i više iznosio je 63%.

Tijekom istraživanja koja su predmet ovog rada, promatrana su tri izvedena hematološka parametra: NLR, PLR i SII. Statistička obrada provedena na izvedenim hematološkim parametrima pokazala je da parametri prate specifičnu razdiobu za navedenu skupinu podataka. Praćeni hematološki parametri izvedeni su iz sakupljenih podataka. Podaci koji su prikupljeni u svrhu izračuna navedenih parametara su: broj neutrofila, limfocita i trombocita. Izračun hematoloških parametara napravljen je pomoću Microsoft Excela na temelju formula

za promatrane parametre. NLR se računao kao omjer broja neutrofila i limfocita, PLR kao omjer broja trombocita i limfocita, a SII kao omjer NLR-a i broja trombocita. Utvrđene granične vrijednosti za navedene parametre iznosile su : NLR 2,13, PLR 88,23 i SII 547. Mnoga istraživanja pokazala su povezanost promatranih parametara s različitim karakteristikama karcinoma dojke. Kliničko-patološki faktori promatrani u istraživanjima opisanim u ovom radu bili su: dob, molekularni podtip, stadij tumora, status limfnih čvorova, histološki gradus, peritumorska vaskularna invazija, status estrogenskih i progesteronskih receptora, HER-2 status i postotak Ki-67 proteina. Parametri koji su pokazali statistički značajnu P-vrijednost su SII i PLR.

Za sva tri hematološka parametra učinjena je Kaplan-Meier krivulja sveukupnog preživljavanja. Od ukupno 90 pacijentica, 78 ih je bilo cenzurirano u vremenu od 60 mjeseci. Sva tri parametra pratila su sličan trend u sveukupnom preživljavanju.

4.2.1 Povezanost izvedenih hematoloških parametara i kliničko-patoloških faktora

Pronađena je statistički značajna povezanost između vrijednosti SII-a i PLR-a sa stadijem tumora. PLR nije pokazao statistički značajnu povezanost ni s jednim promatranim fizičko-patološkim faktorom. Utvrđena granična vrijednost za SII odgovara procijenjenoj graničnoj vrijednosti koju navode znanstveni radovi. U promatranim istraživanjima granična vrijednost za SII za karcinom dojke varirala je od 422 do 836, dok je granična vrijednost u ovom istraživanju iznosila 547 (Zhang i sur., 2020).

Granična vrijednost PLR-a u istraživanju opisanom u ovom radu, iznosila je 88,23. Dobivena granična vrijednost nešto se razlikuje od granične vrijednosti dobivene u istraživanju rađenom na raku dojke. Dobivena granična vrijednost iznosila je 143.36. Broj pacijentica s PLR-om većim od 88,23 iznosio je 77 odnosno 86%. Iz tog podatak vidimo da je znatno veći broj pacijentica imao PLR iznad utvrđene granične vrijednosti. Od 77 pacijentica 46 imalo je utvrđeno tumor prvog stadija, dok je samo 1 pacijentica imala utvrđen tumor trećeg stadija. Iz ovih podataka možemo zaključiti da je u našem slučaju povišena vrijednost PLR-a povezana s nižim tumorskim stadijem. Retrospektivno istraživanje provedeno na 793 pacijentice s nemetastatskim karcinomom dojke nije utvrdilo povezanost PLR-a i tumorskog stadija. Navedeno istraživanje koristilo je podatke o pacijenticama koje su liječene između 1999 i

2004 godine. U navedenom istraživanju utvrđena granična vrijednost PLR-a iznosila je 292. Istraživanje navodi povezanost između PLR-a i tumorskog gradusa, statusa limfnih čvorova i ER- tumora, ali povezanost nije pronađena s dobi, T stadijem, status progesteronskih receptora i HER2 ekspresijom (Krenn-Pilko i sur., 2014). U promatranim istraživanjima nije pronađena povezanost između tumorskog stadija i PLR-a. Nadalje, u ovom diplomskom radu utvrđeno je da je viši PLR povezan s boljim preživljavanjem pacijentica. Prema Kaplan-Meier krivulji pacijentice s PLR-om većim od granične vrijednosti imale su veći postotak preživljavanja. Dobiveni rezultati razlikuju se od promatranih znanstvenih istraživanja. Retrospektivno istraživanje provedeno na 105 pacijentica pokazalo je da je povišen PLR povezan s nižim stupnjem preživljavanja. Navedeno istraživanje koristilo je podatke prikupljene u razdoblju od 2009 do 2017 godine. Granična vrijednost PLR-a utvrđena u navedenom istraživanju iznosila je 143,36. Istraživanje je pokazalo da povišeni PLR zajedno s povišenim NLR-om upućuju na niži stupanj preživljavanja. Nadalje, u radu navode kako bi PLR bilo najbolje promatrati zajedno s NLR-om jer se tako povećava njegova prediktivna vrijednost (Yeon Kim i sur., 2019). Važno je napomenuti da oba rada imaju različite karakteristike pacijenata od pacijenata obrađenih u ovom diplomskom radu te se stoga podaci moraju kritički promatrati.

Broj pacijentica sa SII-om većim od dobivene granična vrijednosti iznosio je 38 odnosno 42%. Od 38 pacijentica 26 je imalo utvrđen tumor prvog stadija dok je 1 pacijentica imala utvrđen tumor trećeg stadija. Iz ovih podataka možemo zaključiti da je u našem slučaju povećana vrijednost SII-a povezana s nižim tumorskih stadijem. Dobiveni rezultati razlikuju se od rezultata navedenim u promatranim znanstvenim radovima. Meta analiza provedena na 2642 pacijentice utvrdila je povezanost povećanog SII-a i različitih kliničko-patoloških faktora. Istraživanje je provedeno analiziranjem literature i znanstvenih radova s različitih baza podataka (PubMed, Web of Science, EMBASE). Granična vrijednost SII u navedenom istraživanju iznosila je 600. Statistička analiza učinjena na 1966 pacijenata pokazala je povezanost povišenog SII-a i višeg tumorskog stadija. Također, navedeno istraživanje pokazalo je povezanost između povišenog SII-a i metastaze limfnih čvorova, TNM klasifikacije i histološkog gradusa (Zhang i sur., 2020). Nadalje, u ovom diplomskom radu utvrđeno je da je viša vrijednost SII-a povezana s boljim preživljavanjem pacijentica. Prema Kaplan-Meier krivulji pacijentice s SII-om većim od granične vrijednosti imale su veći postotak preživljavanja. Dobiveni rezultati razlikuju se od rezultata u promatranim znanstvenim radovima. U već navedenom znanstvenom radu utvrđeno je da povišena

vrijednost SII korelira sa manjim stupnjem preživljavanja. U radu navode kako je povišen SII povezan s lošijom prognozom i povećanim mortalitetom kod pacijentica s trostruko negativnim tumorom i HER-2+ tumorom. U radu navode kako se dobiveni rezultati moraju promatrati kritički zbog velike heterogenosti grupe pacijenata na kojim je analiza provedena.

Granična vrijednost NLR-a u istraživanju navedenom u ovom radu, iznosila je 2,13. Dobivena granična vrijednost NLR-a odgovara graničnim vrijednostima navedenim u znanstvenim istraživanjima. Retrospektivno istraživanje provedeno na pacijenticama koje su podvrgnute neoadjuvantnoj terapiji, utvrdilo je graničnu vrijednost NLR-a od 2,1. NLR nije pokazao statistički značajnu povezanost s promatranim fizičko-patološkim faktorima. Retrospektivno istraživanje provedeno na 215 pacijentica pokazalo je povezanost povišenog NLR-a i lošije prognoze. Istraživanje je provedeno na pacijenticama koje su primale neoadjuvantnu terapiju. U navedenom istraživanju uočeno je da je viši NLR povezan s višim tumorskim stadijem i povećanim mortalitetom. Nadalje, u ovom diplomskom radu utvrđeno je da je viša vrijednost NLR-a povezana s boljim preživljavanjem pacijentica. Prema Kaplan-Meier krivulji pacijentice s NLR-om većim od utvrđene granične vrijednosti imale su veći postotak preživljavanja. Dobiveni rezultati razlikuju se od rezultata navedenih u promatranim znanstvenim istraživanjima. Prema već navedenom istraživanju pacijentice s NLR-om > 2,1 imale su veći stupanj mortaliteta. Osim što je pronađena povezanost s mortalitetom, u istraživanju navode kako je viši NLR povezan i s višim tumorskim stadijem, povećanom koncentracijom CRP-a, TNM stadijem i povećanom pojavom relapsa karcinoma.

Dobiveni rezultati u ovom diplomskom radu razlikuju se od rezultata u promatranim istraživačkim radovima. Razlika u rezultatima može se objasniti malim brojem ispitanika i velikoj heterogenosti promatrane grupe. U promatranoj grupi broj pacijentica s višim stadijem tumora bio je malen stoga je teško zaključiti kako se navedeni hematološki parametri odnose na tu skupinu pacijentica. Moguće da je velik broj pacijentica s nižim tumorskim stadijem utjecao na dobivenu statistiku. Nadalje, u ovom diplomskom radu raspon dobi pacijentica bio je širok odnosno dob pacijentica kretala se između 24 i 79 godina. Većina promatranih radova odnosila se na pacijentice u kritičnoj dobi za rak dojke odnosno na dob iznad 50 godina. Zbog svih navedenih razloga rezultati u ovom diplomskom radu moraju se promatrati u kontekstu ovog rada i mora im se kritički pristupiti.

5 ZAKLJUČCI

- Karcinom dojke je najučestalija maligna bolest kod žena. Velik broj čimbenika utječe na razvoj karcinom dojke - od genetskih čimbenika, okoliša, prehrane te pretilosti.
- Liječenje karcinoma dojke odvija se pomoću kemoterapije i operacije. Kemoterapija se primjenjuje za uništavanje stanica raka, sprječavanje njihovog rasta i proliferacije te se može primjenjivati prije ili poslije kirurškog zahvata.
- Novi parametri za praćenje karcinoma dojke koji se istražuju su NLR, SII i PLR. Sva tri parametra mogu se dobiti iz lako dobavljivih podataka koji se nalaze u kompletnoj krvnoj slici. Izračun ovih parametara je iz tog razloga vrlo jednostavan i nema potrebe za novim metodama mjerenja.
- U promatranim istraživanjima uočeno je da su povišene vrijednosti navedenih parametara povezane s višim tumorskim stadijem, postojanjem metastaza, smanjenim ukupnim preživljavanjem i u globalu s lošijom prognozom.
- U ovom diplomskom radu statistički značajna P-vrijednost dobivena je za NLR i SII. Rezultati pokazuju kako je niži tumorski stadij povezan s višim vrijednostima navedenih parametara.
- U ovom diplomskom radu dobiveni rezultati razlikuju se od rezultata u promatranim znanstvenim istraživanjima. Razlika u rezultatima može se objasniti malim brojem ispitanika i velikoj heterogenosti promatrane grupe
- Iako se navedeni parametri još uvijek ne koriste u dijagnostici, korisno je ispitati njihovu točnu povezanost s karakteristikama tumora dojke kako bi se u budućnosti mogao donijeti sud o opravdavanju njihovog uvođenja u širu rutinsku primjenu.

6 LITERATURA

Gucalp A, Traina TA, Eisner JR, Parker JS, Selitsky SR, Park BH, Elias AD, Baskin-Bay ES, Cardoso F. Male breast cancer: a disease distinct from female breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 2019, 173, 37–48.

HZJZ, Incidencija raka u Hrvatskoj 2018, Bilten 43, 2020

Momenimovahed Z, Salehiniya H. Epidemiological characteristics of and risk factors for breast cancer in the world. *Breast Cancer (Dove Med Press)*, 2019, 11, 51–164

Gao JJ, Swain SM. Luminal A Breast Cancer and Molecular Assays: A Review. *Oncologist*, 2018, 23, 556–565.

Ades F, Zardavas D, Božović-Spasojević I, Pugliano L, Fumagalli D, Azumbuja E, Viale G, Sotiriou C, Piccart M. Luminal B breast cancer: molecular characterization, clinical management, and future perspectives. *Journal of Clinical Oncology*, 2014, 32, 2794-2803

Champion HR, Wallace WJ. Breast cancer grading. *Br J Cancer*, 1971, 25, 441–448

Pinder SE, Ellis IO, Galea M, Rouke SO, Blamey RW, Elston CW. Pathological prognostic factors in breast cancer.III. Vascular invasion: relationship with recurrence and survival in a large study with long-term follow-up. *Histopathology*, 1994, 24, 41-47

Chen Y, Chen K, Xiao X, Nie Y, Qu S, Gong C, Su F, Song E. Pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio is correlated with response to neoadjuvant chemotherapy as an independent prognostic indicator in breast cancer patients: a retrospective study/*BMC Cancer*, 2016, 16, 320

Zhang Y, Sun Y, Zhang Q. Prognostic value of the systemic immune-inflammation index in patients with breast cancer: a meta-analysis. *Cancer Cell Int*, 2020, 20, 224

Kim HY, Kim TH, Yoon HK, Lee A. The Role of Neutrophil-lymphocyte Ratio and Platelet-lymphocyte Ratio in Predicting Neoadjuvant Chemotherapy Response in Breast Cancer. *J Breast Cancer*, 2019, 22, 425-438

Guo W, Lu X, Liu Q, Zhang T, Li P, Qiao W, Deng M. Prognostic value of neutrophil-to-lymphocyte ratio and platelet-to-lymphocyte ratio for breast cancer patients: An updated meta-analysis of 17079 individuals. *Cancer Medicine*, 2019, 8, 4135–4148

Corbeau I, Jacot W, Guiu S. Neutrophil to Lymphocyte Ratio as Prognostic and Predictive Factor in Breast Cancer Patients: A Systematic Review. *Cancers (Basel)*. 2020, 12, 958

Krenn-Pilko S, Langsenlehner U, Thurner EM. The elevated preoperative platelet-to-lymphocyte ratio predicts poor prognosis in breast cancer patients. *Br J Cancer*, 2014, 110, 2524–2530

M. Šamija, S. Juzbašić, V. Šeparović, V.D. Vrdoljak. Tumori dojke. Zagreb, Medicinska naklada, Hrvatsko onkološko društvo, 2007, 132 str.

Zheng J, Yu J, Zhou T. Clinical characteristics of breast ductal carcinoma in situ with microinvasion: a narrative review. *J Int Med Res*, 2020,48

Pilewskie M, Morrow M. Margins in breast cancer: How much is enough?. *Cancer*, 2018,124

Wen HY, Brogi E. Lobular Carcinoma In Situ. *Surg Pathol Clin*, 2018,11, 123-145

Bergin ART, Loi S. Triple-negative breast cancer: recent treatment advances. *F1000Res*, 2019, 8

Doxorubicin, <https://www.drugbank.com/>, pristupljeno 15.03.2021.

Cyclophosphamide, <https://www.drugbank.com/>, pristupljeno 15.03.2021.

Epirubicin, <https://www.drugbank.com/>, pristupljeno 15.03.2021.

Tamoxifen, <https://www.drugbank.com/>, pristupljeno 11.05.2021.

Letrozole, <https://www.drugbank.com/>, pristupljeno 11.05.2021.

Doxorubicin, <https://www.webmd.com/>, pristupljeno 15.03.2021.

Cyclophosphamide, <https://www.webmd.com/>, pristupljeno 15.03.2021.

Epirubicin, <https://www.webmd.com/>, pristupljeno 15.03.2021.

Tamoxifen, <https://www.webmd.com/>, pristupljeno 11.05.2021.

Letrozole, <https://www.webmd.com/>, pristupljeno 11.05.2021.

Cancer today, <https://gco.iarc.fr/>, pristupljeno 10.02.2021.

Pathobiologic Events Associated with Ductal Carcinoma in Situ, www.gastricbreastcancer.com, pristupljeno 28.02.2021.

Molecular Subtypes of Breast Cancer, <https://www.breastcancer.org/>, pristupljeno 16.02.2021

7 SAŽETAK/SUMMARY

Cilj istraživanja: Cilj ovog rada bio je ispitati povezanost novih prediktivnih markera NLR-a, SII-a i PLR-a te različitih karakteristika tumora kod pacijentica uoči kemoterapije. Podaci koji su se prikupljali u navedenom razdoblju su dob pacijenata, broj neutrofila, limfocita, trombocita i leukocita te molekularni podtip karcinoma dojke, stadij tumora, status limfnih čvorova, histološki gradus, status vaskularne invazije, status estrogenskih i progesteronskih receptora, HER-2 status i postotak Ki-67

Metoda: Kao metoda korišteno je retrospektivno prikupljanje podataka dobivenih iz nalaza pacijenata. Podaci koji su korišteni u radu promatrali su se unazad pet godina. Razdoblje prikupljenih podataka je od 2015. do 2021. godine.

Rezultati: Broj pacijentica kojima su prikupljeni podaci bio je 90. Minimalna dob je 24 godine, maksimalna 79 godina, a medijan iznosi 58 godina. Postotak pacijentica u dobi <51 godinu iznosi 37%, a postotak pacijentica u dobi >51 godinu iznosi 63%. Statistički značajna P-vrijednost dobivena je za PLR i stadij tumora, dok za druge parametre nije utvrđena statistički značajna P-vrijednost. Dobivena granična vrijednost za PLR iznosi 88,23. Broj pacijentica s PLR <88,23 iznosi 13 odnosno 14%, a broj pacijentica s PLR >88,23 je 77 odnosno 86%. Dobivena χ^2 vrijednost za PLR iznosi 6,521, a dobivena P-vrijednost iznosi 0,038. Osim za PLR, statistički značajna P-vrijednost dobivena je i za SII i stadij tumora, dok za druge parametre nije utvrđena statistički značajna P-vrijednost. Dobivena granična vrijednost za SII iznosi 547. Broj pacijentica s SII \leq 547 je 52 odnosno 58%, a broj pacijentica s SII >547 je 38 odnosno 42%. Dobivena χ^2 vrijednost za SII iznosi 7,282, a dobivena P-vrijednost iznosi 0,026. NLR nije pokazao statistički značajnu povezanost s fizičko-patološkim karakteristikama pacijentica. Dobivena granična vrijednost NLR-a je 2,13. Broj pacijentica s NLR \leq 2,13 iznosi 53 odnosno 59%, a broj pacijentica s NLR > 2,13 iznosi 37 odnosno 41%. Za sva tri izvedena hematološka parametra učinjena je Kaplan-Meier krivulja. Pacijentice s vrijednostima NLR-a, PLR-a i SII-a većim od graničnih vrijednosti pokazale su veći stupanj preživljavanja. P-vrijednost za povezanost parametra sa stupnjem preživljavanja nije se pokazala statistički značajnom.

Zaključak: Značajna povezanost pronađena je između tumorskog stadija i NLR-s te SII-a. Pacijentice s višim vrijednostima navedenih parametara imale su niži tumorski stadij.

Aim of the study: The aim of this study was to examine the relationship between new predictive parameters NLR, SII and PLR and different tumor characteristics in a patient prior to chemotherapy. Data collected in this period was: patients age, number of neutrophils, lymphocytes, platelets and leukocytes and molecular subtype of breast cancer, tumor stage, lymph node status, histological grade, vascular invasion status, estrogen and progesterone receptor status, HER-2 status and percentage of Ki-67.

Method: Retrospective collection of data obtained from patient findings was used as a method. The data used in the paper were observed back five years. The period of collected data is from 2015 to 2021.

Results: The number of patients for whom data were collected was 90. The minimum age was 24 years, the maximum was 79 years, and the medium was 58 years. The percentage of patients aged <51 years is 37% and the percentage of patients aged > 51 years is 63%. A statistically significant P-value was obtained for PLR and tumor stage, while no statistically significant P-value was found for other parameters. The obtained limit value for PLR is 88.23. The number of patients with PLR <88.23 is 13 which is 14% and the number of patients with PLR > 88.23 is 77 respectively 86%. The obtained χ^2 value for PLR is 6.521, and the obtained P-value is 0.038. Except for PLR, a statistically significant P-value is obtained for both SII and tumor stage, while for other parameters no statistically significant P-value was determined. The obtained limit value for SII is 547. The number of patients with SII \leq 547 is 52 which is 58% and the number of patients with SII > 547 is 38 respectively 42%. The obtained χ^2 value for SII is 7.282, and the obtained P-value is 0.026. NLR did not show a statistically significant association with the physico-pathological characteristics of the patients. The obtained limit value of NLR is 2.13. The number of patients with NLR \leq 2.13 is 53 which is 59% and the number of patients with NLR > 2.13 is 37 which is 41%. A Kaplan-Meier curve was performed for all three derived hematological parameters. Patients with NLR, PLR, and SII values greater than the cut-off values showed a higher survival rate. The P-value for the association of parameters with survival rate was not shown to be statistically significant.

Conclusion: A significant association was found between tumor stages and NLR and SII. Patients with higher values of these parameters had a lower tumor stage.

8 PRILOG

Kratice:

1. NLR: omjer neutrofila i limfocita
2. PLR: omjer trombocita i limfocita
3. SII: sustavno imunosno-upalni odgovor/indeks
4. TNM: klasifikacija malignih tumora
5. ER: estrogenski receptori
6. PR: progesteronski receptori
7. HER2: humani epidermalni faktor rasta 2

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Medicinska biokemija
Zavod za medicinsku biokemiju i hematologiju
Kneza Domagoja 2, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

Povezanost računskih hematoloških upalnih pokazatelja uoči primjene kemoterapije kod bolesnica s rakom dojke s ishodom bolesti

Martha Koržinek

SAŽETAK

Zbog visoke stope incidencije i mortaliteta karcinoma dojke važno je istraživati biljege koji mogu pomoći u ranoj dijagnostici i praćenju karcinoma. Novi parametri za praćenje karcinoma dojke koji se istražuju su NLR, SII i PLR. NLR je omjer neutrofila i limfocita. Može se računati kao omjer apsolutnog broja neutrofila i limfocita ili kao omjer postotka neutrofila i limfocita. PLR je omjer broja trombocita i limfocita. Sustavno imunosno-upalni indeks (SII) određuje se na temelju NLR-a i broja trombocita. Računa se kao umnožak NLR-a i broja trombocita. Cilj ovog rada bio je ispitati povezanost novih prediktivnih markera i različitih karakteristika tumora kod pacijentica uoči kemoterapije. Kao metoda korišteno je retrospektivno prikupljanje podataka dobivenih iz nalaza pacijenata. Razdoblje prikupljenih podataka je od 2015. do 2021. godine. Podaci koji su se prikupljali u navedenom razdoblju su dob pacijenata, broj neutrofila, limfocita, trombocita i leukocita te molekularni podtip karcinoma dojke, stadij tumora, status limfnih čvorova, histološki gradus, status vaskularne invazije, status estrogenskih i progesteronskih receptora, HER-2 status i postotak Ki-67. Utvrđene granične vrijednosti za navedene parametre iznosile su : NLR 2,13, PLR 88,23 i SII 547. Statistički značajna P-vrijednost dobivena je za PLR i SII te stadij tumora, dok za druge parametre nije utvrđena statistički značajna P-vrijednost. Za sva tri hematološka parametra učinjena je Kaplan-Meier krivulja sveukupnog preživljavanja. Od ukupno 90 pacijentica, 78 ih je bilo cenzurirano u vremenu od 60 mjeseci. Sva tri parametra pratila su sličan trend u sveukupnom preživljavanju. PLR nije pokazao statistički značajnu povezanost ni s jednim promatranim fizičko-patološkim faktora. Dobiveni podaci pokazali su da je u našem slučaju povećana vrijednost SII-a povezana s nižim tumorskih stadijem kao i vrijednost NLR-a. Dobiveni rezultati u ovom diplomskom radu razlikuju se od rezultata u promatranim istraživačkim radovima. Razlika u rezultatima može se objasniti malim brojem ispitanika i velikoj heterogenosti promatrane grupe. Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta

Rad sadrži: 35 stranica, 5 grafičkih prikaza, 7 tablica i 28 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: NLR, SII, PLR, fizičko-patološki faktori, karcinom dojke

Mentor: **Dr. sc. Donatella Verbanac**, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta*

Komentor: **Dr. sc. Ljiljana Mayer**, *suradnik Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Donatella Verbanac**, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta*

Dr. sc. Ljiljana Mayer, *suradnik Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta*

Dr. sc. Lidija Bach-Rojecky, *redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: Lipanj 2021.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Medical Biochemistry
Department of medical biochemistry and hematology
Kneza Domagoja 2, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diploma thesis

Relationship between computed haematological inflammatory parameters prior to chemotherapy in breast cancer patients with disease outcome

Martha Koržinek

SUMMARY

Because of the high incidence and mortality rates of breast cancer, it is important to investigate markers that can help in the early diagnosis and monitoring of carcinomas. New parameters for monitoring breast cancer that are being investigated are NLR, SII and PLR. NLR is the ratio of neutrophils to lymphocytes. It can be calculated as the ratio of the absolute number of neutrophils and lymphocytes or as the ratio of the percentage of neutrophils and lymphocytes. PLR is the ratio of platelet to lymphocyte count. The systemic immune-inflammatory index (SII) is determined based on NLR and platelet count. It is calculated as the product of NLR and platelet count. The aim of this study was to examine the association between new predictive markers and different tumor characteristics in patients prior to chemotherapy. Retrospective collection of data obtained from patient findings was used as a method. The period of collected data is from 2015 to 2021. Data collected during this period are age of patients, number of neutrophils, lymphocytes, platelets and leukocytes and molecular subtype of breast cancer, tumor stage, lymph node status, histological grade, vascular invasion status, estrogen and progesterone receptor status, HER-2 status and the percentage of Ki-67. The established limit values for the stated parameters were: NLR 2.13, PLR 88.23 and SII 547. Statistically significant P-value was obtained for PLR and SII and tumor stage, while for other parameters no statistically significant P-value was determined. A Kaplan-Meier overall survival curve was performed for all three hematological parameters. Out of a total of 90 patients, 78 were censored over a period of 60 months. All three parameters followed a similar trend in overall survival. PLR did not show a statistically significant association with any of the observed physico-pathological factors. The obtained data showed that in our case the increased SII value was associated with a lower tumor stage as well as the NLR value. The results obtained in this thesis differ from the results in the observed research papers. The difference in the results can be explained by the small number of patients and the large heterogeneity of the observed group.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 35 pages, 5 figures, 7 tables and 28 references. Original is in Croatian language.

Keywords: NLR, SII, PLR, physico-pathological factors, breast cancer

Mentor: **Donatella Verbanac, Ph.D.** *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Co-mentor: **Ljiljana Mayer, Ph.D.** *Associate*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Donatella Verbanac, Ph.D.** *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Ljiljana Mayer, Ph.D. *Associate*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Lidija Bach-Rojecky, Ph.D. *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis accepted: June 2021.