

# Prognostički značaj predoperativnih računskih hematoloških upalnih parametara kod pacijentica s karcinomom dojke

---

Popović, Karmela Ana

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:687852>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-04-02**



Repository / Repozitorij:

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



**Karmela Ana Popović**

**Prognostički značaj predoperativnih računskih  
hematoloških upalnih parametara kod  
pacijentica s karcinomom dojke**

**DIPLOMSKI RAD**

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2021.

Ovaj diplomski rad je prijavljen na kolegiju Kliničke biokemije organa i organskih sustava 2 Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen u Klinici za tumore KBC Sestre milosrdnice pod stručnim vodstvom izv. prof. dr. sc. Donatelle Verbanac i suvoditeljstvom doc. dr. sc. Ivana Milasa.

*Zahvaljujem mentorici izv. prof. dr. sc. Donatelli Verbanac na iskazanoj pomoći, brojnim stručnim, ali i prijateljskim savjetima, strpljenju i potpori pri oblikovanju ideje i izradi ovoga diplomskog rada.*

*Također zahvaljujem komentoru doc. dr. sc. Ivanu Milasu na njegovoj pomoći pri izboru teme, koja je bila izuzetno zanimljiva i nadam se, u budućnosti na korist ženama oboljelima od karcinoma dojke.*

*Zahvaljujem na susretljivosti te savjesnom i stručnom vođenju kroz proces izrade diplomskog rada dr. sc. Ljiljani Mayer, koja mi je u ključnim trenucima pisanja diplomskog rada pomogla savjetima i nabavkom stručne literature, znanstvenih članaka i potrebnih informacija. Osim toga velika zahvala magistri Mihaeli Gaće i magistri Milici Šostarić na odvojenom vremenu i uloženom trudu u prikupljanje i obradu statističkih podataka te cijelom biokemijskom laboratoriju Klinike za tumore na ugodnoj i prijateljskoj radnoj atmosferi.*

*Posebna zahvala i svim mojim prijateljicama i prijateljima, koji su me pratili kroz ovih pet godina studiranja, koji su se sa mnom veselili i stvarali lijepu uspomenu, ali i tiješili me i olakšali one teške trenutke.*

*Veliko hvala i mom dragom Filipu, koji je sa mnom proživio i preživio četiri godine uspona i padova, veselio se svakom mom uspjehu i pružio mi oslonac kada mi je to najviše trebalo.*

*Naposljetku najveća zahvala mojim divnim roditeljima i obitelji koji su me podržavali i ponosili se sa mnom tokom čitavog mog školovanja, a posebice mi pružali podršku i vjerovali u mene i moj uspjeh tokom studija medicinske biokemije.*

*Od srca vam svima zahvaljujem jer ste uljepšali i obilježili ovo cijelo razdoblje!*

## Sadržaj

|   |    |
|---|----|
| 1. Uvod   |    |
| 1.1 Incidencija karcinoma dojke .....   | 1  |
| 1.2 Etiopatogeneza karcinoma dojke .....  | 1  |
| 1.3 Uloga okolišnih čimbenika i načina života na etiopatologiju karcinoma dojke ..... | 4  |
| 1.4 Populacijski probir i dijagnostički slijed .....                                  | 6  |
| 1.5 Tumorski biljezi .....  | 9  |
| 1.5.1 Patohistološki biljezi .....  | 9  |
| 1.5.2 Cirkulirajući tumorski biljezi .....  | 11 |
| 1.6 Histološki podtipovi i klinička slika karcinoma dojke .....                       | 12 |
| 1.7 Metastatski karcinom dojke .....  | 14 |
| 1.8 Hematološki parametri u praćenju žena s karcinomom dojke .....                    | 15 |
| 1.8.1 Izravno mjereni hematološki parametri .....                                     | 16 |
| 1.8.2 Neizravni hematološki parametri – izvedeni računskim putem .....                | 18 |
| 2. Obrazloženje teme .....  | 19 |
| 3. Materijali i metode .....  | 20 |
| 4. Rezultati i rasprava   |    |
| 4.1 Rezultati statistike .....  | 22 |
| 4.2 Rasprava .....  | 36 |
| 5. Zaključci .....  | 48 |
| 6. Literatura .....   | 49 |
| 7. Sažetak / Summary .....  |    |
| 7.1 Sažetak .....   | 64 |
| 7.2 Summary .....   | 65 |
| 8. Temeljna dokumentacijska kartica / Basic documentation card .....                  |    |
| 8.1 Temeljna dokumentacijska kartica .....  | 66 |
| 8.2 Basic documentation card .....  | 67 |

## 1. Uvod

### 1.1 Incidencija karcinoma dojke

Karcinomi su u svjetskim razmjerima vodeći javnozdrastveni problem. Pojavnost karcinoma različitih organa raste iz godine u godinu radi niza čimbenika poput: udjela starije populacije, loših navika (pušenje, prekomjerna konzumacija alkohola), nezdrave prehrane, prekomjerne tjelesne težine, fizičke neaktivnosti, stresa, velike primjene lijekova, hormonske terapije (Topić i sur., 2018).

Prema procjeni podataka GLOBOCAN (baza podataka Svjetske zdravstvene organizacije o pojavnosti, učestalosti i smrtnosti karcinoma u svijetu) u 2020. godini, na svjetskoj razini, novodijagnosticirano je 19,3 milijuna pacijenata s karcinomima, 10 milijuna pacijenata je preminulo od karcinoma, a oko 50 milijuna živi s tom dijagnozom unazad 5 godina. Karcinom dojke (24,5%) nalazi se u 1 od 4 žena kod kojih je dijagnosticirana neka vrsta karcinoma. Time je karcinom dojke po prvi puta postao najčešće dijagnosticirani karcinom u svijetu, čak češći od karcinoma pluća ([www.uicc.org](http://www.uicc.org)).

Prema Registru za rak Republike Hrvatske u 2018. godini je novodijagnosticirano 25 623 zloćudnih bolesti, od kojih 13 952 u muškaraca, a 11 671 u žena. Stopa pojavnosti iznosila je 628,8/100 000. U Republici Hrvatskoj je u 2018. godini od karcinoma umrlo 13 809 osoba, 8 049 muškaraca i 5 760 žena, pa je stopa smrtnosti iznosila 337,8/100 000. Pet najčešćih sijela karcinoma u žena čine 53% svih karcinoma u žena: dojka (24%, 2 845), traheja, bronh i pluća (9%, 998), kolon (8%, 929), tijelo maternice (7%, 778) i štitnjača (5%, 580). Gruba stopa pojavnosti karcinoma dojke u Hrvatskoj u 2018. godini iznosila je 134,7/100 000, a standardna stopa pojavnosti karcinoma dojke u Europskoj uniji 94,4/100 000. Gruba stopa smrtnosti karcinoma dojke u Hrvatskoj za 2018. godinu iznosila je 37,3/100 000, dok je standardna stopa smrtnosti karcinoma dojke u Europskoj uniji iznosila 21,0/100 000 ([www.hzjz.hr](http://www.hzjz.hr)).

### 1.2 Etiopatogeneza karcinoma dojke

Fiziološki zdrave i normalne stanice pri oštećenju DNA ili popravljaju oštećenje raznim mehanizmima i enzimima ili stanica signalnim putevima ulazi u proces apoptoze, tj. kontrolirane stanične smrti – stanični dijelovi se razgrađuju i ponovno iskorištavaju. Karcinom započinje kada stanica unatoč oštećenju DNA nastavlja svoj rast i diobu bez popravka oštećenja. Dolazi do nekontroliranog rasta i diobi stanice koja svoje greške u DNA prenosi na iduću generaciju stanica kćeri. Postoje dvije vrste gena koji sudjeluju i potpomažu proces prelaska u patološki promijenjenu stanicu: onkogeni i mutirani tumorsupresori. Protoonkogeni u svojem normalnom obliku miruju i ne stvaraju probleme stanici. Međutim, promjena

protoonkogeni u onkogene dovodi do povećane i/ili nenormalne aktivnosti koja pogoduje malignom razvoju stanice. Tumorsupresori su normalno aktivni geni koji sudjeluju u reguliranju normalnog rasta i razvoja stanice. Njihova glavna funkcija je sprečavanje nekontroliranog rasta i razvoja stanica s greškama u DNA. U slučaju mutacije ili promjene u tumorsupresorskim genima njihova aktivnost se smanjuje ili dolazi do potpunog gubitka njihove funkcije, što značajno pridonosi karcinogenezi. Onkogeni, njih oko stotinjak, i mutirani tumorsupresori, njih oko dvadesetak, nalaze se u raznim karcinomskim stanicama i sudjeluju u regulaciji staničnog ciklusa, prijenosu signala, apoptozi i angiogenezi. Proces angiogeneze važan je za rast i razvoj karcinomskih stanica, jer nove krvne žile omogućuju redovitu i ujednačenu opskrbu hranjivim tvarima ([www.cancerworld.info](http://www.cancerworld.info); Hesketh, 1997).

Karcinom dojke je patološki proces u kojem stanice pojedinog tkiva dojke počinju nekontrolirano rasti i dijeliti se. Najčešće potječe od epitelnih stanica duktusa ili epitelnih stanica lobula. Važnu ulogu u patogenezi karcinoma dojke igraju signalni putevi estrogenskih i progesteronskih receptora. To su hormonski receptori u jezgri stanica koji vezanjem hormona aktiviraju promotore replikacije DNA i na taj način reguliraju diobu stanica. 2/3 postmenopausalnih karcinoma dojke imaju pozitivan nalaz estrogenskih receptora ([www.cancerworld.info](http://www.cancerworld.info)).

*BRCA1* (engl. *breast cancer 1*) i *BRCA2* (engl. *breast cancer 2*) su tumorsupresijski geni kojima je fiziološka uloga regulacija transkripcije i staničnog ciklusa. *BRCA1* gen leži na 21. lokusu dugog kraka 17. kromosoma (17q21) i obuhvaća 24 egzona, a kodira za protein od 190 kDa. *BRCA2* gen leži na 13. lokusu dugog kraka 13. kromosoma (13q13) i obuhvaća 27 eksona, a kodira za protein od 280 kDa. Mutacijom u *BRCA* genima dolazi do povećanog rizika od razvoja karcinoma dojke i jajnika kod žena, te karcinoma dojke i prostate kod muškaraca. Također je i veća vjerojatnost karcinoma dojke u kontralateralnoj dojci kod žena s izliječenim primarnim karcinomom dojke. Poznate su na stotine mutacija: više od 500 različitih mutacija na *BRCA1* genu te više od 300 različitih mutacija na *BRCA2* genu. Mutacije su prisutne po cijelome genu pa nema „hot-spotova“. Međutim, zajedničko svim mutacijama je da dovode do skraćivanja *BRCA* proteina, što onemogućuje ili smanjuje njegovu mogućnost stvaranja kompleksa s drugim popravnim proteinima. Mutacije se nasljeđuju autosomno, a vjerojatnost nasljeđivanja bez obzira na spol iznosi 50:50. Oba *BRCA* gena posjeduju po 2 alela, jedan naslijeđen od oca, jedan naslijeđen od majke. Zaštitna funkcija tumorsupresijskih gena očuvana je ukoliko je barem jedan alel normalan, tj. prisutna je heterozigotnost. Zaštitna funkcija tumorsupresijskih gena se gubi kada su oba alela mutirani ili ako je jedan mutiran, a drugi alel bude deletiran. Ako dijete naslijedi već jedan mutirani alel, puno je veća vjerojatnost nastanka

mutacije i na drugom alelu. Učestalost urođenih mutacija u *BRCA* genima u općoj populaciji iznosi 0,2-0,3%, tj. 1 u 400 osoba. 55-72% žena s mutacijom u *BRCA1* genu i 45-69% žena s mutacijom u *BRCA2* genu će do 80. godine života razviti karcinom dojke ([www.mgz-muenchen.de](http://www.mgz-muenchen.de); [www.cancer.gov](http://www.cancer.gov); Perou i sur., 2000; Conghlin i sur., 1999).

*HER2* gen (engl. *human epidermal growth factor receptor 2*) kodira za protein koji je po funkciji receptor na stanicama dojke. Ovisno je li na veznom mjestu vezan njegov ligand ili nije, taj receptor kontrolira rast, diobu i popravke u genomu stanice. U 10-20% karcinoma dojke *HER2* gen je mutiran i proizvodi previše svojih kopija – dolazi do amplifikacije *HER2* gena. Taj višak *HER2* gena daje stanicama dojke signal za pojačanu proizvodnju *HER2* proteina, zbog čega dolazi do prekomjerne ekspresije *HER2* proteina, tj. *HER2* receptora. Velik broj receptora na stanicama dojke dovodi do pojačanog rasta i diobe stanica dojki. *HER2* pozitivan karcinom dojke stoga brže rasta, lakše se širi u okolno ili i udaljeno tkivo te je veća vjerojatnost recidiva u odnosu na *HER2* negativan karcinom dojke ([www.breastcancer.org](http://www.breastcancer.org)).

*PALB2* gen (engl. *partner and localizer of BRCA2*) kodira protein koji se udružuje s *BRCA2* proteinom i u fiziološkim uvjetima popravljiva oštećenja u DNA lancu. Ukoliko su gen i sintetizirani protein funkcionalni, spriječen je nastanak karcinoma. Mutacija *PALB2* gena povećava rizik od nastanka karcinoma: dojke, gušterače i jajnika. Vjerojatnost nastanka karcinoma dojke do 50. godine života s *PALB2* mutacijom iznosi oko 14%, a do 70. godine života čak 33-58%. Mutacija se nasljeđuje autosomno, tj. neovisno o spolu pa je vjerojatnost da će dijete naslijediti mutaciju ukoliko je roditelj nosilac 50:50 ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov); Preobrazhenskaya i sur., 2021; Antoniou i sur., 2014).

*CHEK2* gen (engl. *checkpoint kinase 2*) kodira za tumorsupresijski protein koji sprječava stanicu od prebrzog rasta i prečeste diobe. U slučaju oštećenja ili puknuća DNA lanca, *CHEK2* protein se povezuje s *TP53* proteinom i koči daljnju diobu stanice. Na taj način je onemogućen prijenos oštećene DNA na sljedeću generaciju stanica kćeri. Mutacija u genu *CHEK2* povećava rizik od razvoja raznih karcinoma uslijed Li-Fraumeni sindroma: dojke, jajnika, prostate, kolona, bubrega, štitnjače, mozga i osteosarkoma. Vjerojatnost nastanka karcinoma dojke do 80. godine života kod žena s mutacijom u *CHEK2* gena iznosi 20-31%, a vjerojatnost pojave recidiva nakon prvog karcinoma dojke unutar 10 godina i do 29%. Tip nasljeđivanja mutacije je autosomno, a vjerojatnost prijenosa iznosi 50:50 ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov); Kriege i sur., 2014; Weischer i sur., 2012; Weischer i sur., 2008).

*CDK1* gen (engl. *cyclin dependet kinase 1*) kodira za protein koji je katalitička podjedinica visoko konzerviranog proteina kinaznog kompleksa, tzv. M-faze promovirajućeg faktora (MPF). *CDK1* protein ubraja se u porodicu serin/treonin kinaza. MPF kompleks

omogućuje eukariotskoj stanici prelazak iz G1 faze u S fazu te iz G2 faze u M fazu staničnog ciklusa. Aktivnost CDK1 enzima regulirana je nakupljanjem i razgradnjom ciklina tijekom staničnog ciklusa. Deregulacija CDK1 enzima pronađena je u stanicama karcinoma dojke i za posljedicu ima povećanu staničnu proliferaciju (Izadi i sur., 2020; [www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)).

*STK11* (engl. *serine/threonine kinase 11*) ili *LKB1* je gen koji kodira za enzim serin/treonin kinazu 11. Fiziološki aktivan STK11 protein ima nekoliko uloga: tumorsupresor je i sprječava nekontrolirani rast i prebrzu diobu stanica, pomaže određenim stanicama ispravno pozicioniranje u tkivima, pomaže u određivanju koliko energije troši pojedina stanica te potiče jednu vrstu apoptoze. U osoba s mutacijom u *STK11* genu razvija se Peutz-Jegherov sindrom, stanje kod kojeg dolazi do nekarcinomskih, a ponekad i karcinomskih promjena u stanicama. Najčešće je zahvaćen gastrointestinalni trakt, ali povećan je rizik od nekoliko vrsta karcinoma: dojke, kolona, gušterače, želuca, tankog crijeva, cerviksa, endometrija, jajnika, testisa, pluća i melanoma. Žene koje boluju od Peutz-Jegherovog sindroma u dobi od 40 godina imaju 8% vjerojatnost nastanka karcinoma dojke, dok u dobi od 60 godina čak 31%. Poznato je nekoliko stotina mutacija, ali zajedničko im je svima da zaustavljaju tumorsko-supresijsku funkciju enzima i na taj način omogućuju nekontrolirani rast i diobu stanica (Hardie i sur., 2013; Hearle i sur., 2006; Zhuang i sur., 2006).

### 1.3 Uloga okolišnih čimbenika i načina života na etiopatologiju karcinoma dojke

Veliki utjecaj na rizik nastanka karcinoma dojke ima duljina izloženosti djelovanju estrogenu. Što je dulja izloženost ženskog organizma estrogenu, veća je vjerojatnost razvoja karcinoma dojke. Stoga se rani nastup menarhe (prije 12. godine života), kasni nastup menopauze (poslije 55. godine života) i nerađanje ili starija dob pri prvoj iznesenoj trudnoći (poslije 30. godine života) smatraju najznačajnijim čimbenicima rizika koji povećavaju vjerojatnost nastanka karcinoma dojke. Štoviše, hormoni lučeni tijekom trudnoće potiču diferencijaciju epitelnih stanica dojke, a time je tkivo otpornije na djelovanje karcinogena. Žene koje prvi put rode u dobi između 30. i 35. godine života imaju 4 puta veći rizik nastanka karcinoma dojke u odnosu na žene koje su prvu trudnoću imale u dobi između 20. i 25. godine života. Osim toga je broj trudnoća i porođaja obrnuto proporcionalan riziku nastanka karcinoma dojke, što znači da višestruke majke imaju manji rizik od karcinoma dojke. Studije su pokazale kako prirodni i sintetski estrogenu usporavaju staničnu diferencijaciju u doba formiranja mliječnih žlijezda i produljuju period u kojem je epitelno tkivo podložno djelovanju kancerogena (Vrdoljak i sur., 2013; Birnbaum i sur., 2003; Russo i sur., 2001).



Drugi značajni čimbenik rizika za karcinom dojke jest udio masnog tkiva, posebice oko struka, u postmenopauzalnih žena. Konverzija androgenog hormona androstendiona, koji se akumulira u masnom tkivu, čini glavni endogeni izvor estrogena u postmenopauzi. Osim androgenih hormona u masnom tkivu se akumuliraju i lipofilne i liposolubilne tvari poput lijekova, dodataka prehrani, karcinogena iz hrane, endogenih metabolita i drugih steroida koji svi mogu nepovoljno utjecati na epitelno tkivo dojke. Ne smije se zaboraviti da je i sama dojka izgrađena od visokog udjela masnog tkiva pa stoga može biti spremište liposolubilnih tvari, ali i metaboličkih reakcija egzogenih spojeva. Prema preporukama prevencije redovita tjelesna aktivnost i održavanje idealne tjelesne težine smanjuju rizik nastanka karcinoma dojke (Vrdoljak i sur., 2013; Friedenreich, 2001).

Osim endogenih spolnih hormona na patogenezu karcinoma dojke značajan utjecaj imaju i oralni kontraceptivi te hormonska nadomjesna terapija u postmenopauzalnih žena. Mnogo studija, a i studija Svjetske zdravstvene organizacije na 67 milijuna žena diljem svijeta, dokazale su kako dulje uzimanje oralnih kontraceptiva (dulje od 4 godine), pogotovo u dobi mlađoj od 25 godina, povećava rizik nastanka karcinoma dojke u dobi između 40 i 50 godina i do 84%. Osim toga je utvrđeno da žene liječene kombinacijom estrogena i progesterona imaju veći rizik obolijevanja u odnosu na žene liječene samo estrogenom. Nadomjesna hormonska terapija u postmenopauzalnih žena povećava rizik nastanka karcinoma dojke za 36%, ali i vjerojatnost otkrivanja karcinoma dojke u uznapredovanoj fazi. Preporuka je stoga uvijek odvagati prednosti (smanjenje menopauzalnih tegoba, smanjena učestalost osteoporoze) i mane primjene hormonske nadomjesne terapije (Vrdoljak i sur., 2013 ; Hulka i Stark, 1995; Hulka i sur., 1994; WHO, 1990).

Prehrambenim čimbenicima se pripisuje i do 60% ukupnog obolijevanja od karcinoma u razvijenim zemljama svijeta. Epidemiološke studije su ukazale na povezanost karcinoma dojke i sadržaja masnoća životinjskog podrijetla u prehrani kao što se nalaze u mesu i mliječnim proizvodima. Većina studija ukazuje na činjenicu kako ne šteti određena namjernica ili njezin sastojak, već je čimbenik rizika razvoja karcinoma dojke preveliki unos kalorija. Općenito vrijedi kako heterociklički amini koji nastaju pri prženju hrane (npr. mesa ili ribe na roštilju) imaju karcinogena svojstva. Također je zamijećena slaba povezanost konzumacije prekomjernih količina alkohola i obolijevanja od karcinoma dojke. Prema nekim studijama sa svakih dodatnih 10 grama alkohola na dan rizik od karcinoma dojke se povećava za 10%. Iako biološki mehanizam štetnog djelovanja alkohola na nastanak karcinoma dojke nije u potpunosti razjašnjen, postoje dvije hipoteze: djelovanje je vezano uz prehrambene deficite koji prate alkoholizam ili uz povećanu propusnost sluznice probavnog sustava za druge karcinogene. S

druge strane prehrana može imati i preventivni utjecaj: antioksidativni utjecaj na slobodne radikale, poticati probavu i brže izlučivanje štetnih tvari, vezati i konjugirati karcinogene u našem organizmu te aktivirati razne enzime koji sudjeluju u metabolizmu i detoksikaciji egzogenih spojeva. Preporuča se svakodnevno 5 obroka različitog voća i povrća kako bi unijeli dovoljno vitamina, minerala i drugih oligoelemenata za potrebe našeg organizma. Osim toga dnevni unos 20 – 30 grama biljnih vlakana prehranom, smanjenje količine zasićenih masti i konzumacija crvenog mesa samo jednom tjedno, smanjuju rizik za nastanak karcinoma (Vrdoljak i sur., 2013; Reddy i sur., 2003; Sun i Lotan, 2002; McPherson i sur., 2000; Rock i sur., 2000; Greenwald, 1996; Sugimura i sur., 1994; Boyd i sur., 1993; Kelsey, 1993).

Jedini vanjski čimbenik koji potvrđeno ima utjecaj na patofiziologiju karcinoma dojke jest ionizirajuće zračenje. Epidemiološke studije pratile su žene koje su preživjele i bile izložene zračenju tijekom nuklearnog rata i padu atomskih bombi na Hiroshimu i Nagasaki 1945. godine. Dokazana je povećana pojavnost karcinoma dojke i uz latenciju od 20 godina. Prosječno se karcinomi izazvani radijacijom razviju nakon razdoblja latencije od 5 do 10 godina. Druge studije su dokazale kako terapijsko ili dijagnostičko zračenje srednjim do visokim dozama prsnog koša prije 40. godine života također povisuje rizik od nastanka karcinoma dojke. Oko utjecaja vrlo niskih doza zračenja pri dijagnostičkim postupcima i profesionalnoj izloženosti, ne postoje jednoznačni rezultati. Zaključno se može reći kako ključnu ulogu kod djelovanja ionizirajućeg zračenja imaju doza zračenja i dob u kojoj je osoba izložena zračenju. Što je doza zračenja viša, a dob osobe izložena zračenju manja, veća je vjerojatnost nastanka karcinoma (Vrdoljak i sur., 2013; Weiderpass i sur., 1999; Kelsey, 1993).

#### **1.4 Populacijski probir i dijagnostički slijed**

Populacijski probir za karcinom dojke izuzetno je važan radi ranog otkrivanja i pravovremenog početka liječenja zahvaćenih pacijentica. Ako se karcinom dojke otkrije dovoljno rano, petogodišnja stopa preživljenja iznosi 97%. Nacionalni programi unutar Europe vrlo su različito organizirani. U nekim zemljama se provode nacionalni probiri, dok su u drugima na snazi regionalni probiri. Zajedničko većini zemalja je ciljna skupina: žene u dobi od 50 do 69 godina. Ali kao i organizacija, tako i postotak odaziva žena na probir jako varira: od vrlo niskog do skoro 100% (npr. Finska). Osnovni cilj i dokaz o uspješnosti programa probira je prekinuti razvoj karcinoma dojke prije nego što prijeđe u metastatski oblik (Stanec i sur., 2011; Šamija i sur., 2007).

Samopregled dojki jedna je od metoda probira. Iako se prema nekim istraživanjima 70% svih vrsta karcinoma dojke otkriju upravo samopregledom, njegova primjena je dvojbena.

Naime, 8 od 10 zadebljanja su dobroćudne kvržice i nepotrebno opterećuju pacijentice daljnjim, djelomično i invazivnim pretragama. Osim toga, nema dokaza kako metoda učinkovito smanjuje morbiditet ili mortalitet karcinoma dojke (Vrdoljak i sur., 2013; Šamija i sur., 2007).

Klinički pregled dojki sastoji se od uzimanja anamneze, kako osobne tako i obiteljske te vizualne inspekcije. Anamnezom se nastoji utvrditi pojava simptoma i znakova karcinoma dojke te duljina njihova trajanja. Vizualnom inspekcijom proučava se simetričnost dojke i utvrđuje postojanje nepravilnosti ili kvržica u području dojki, regionalnih limfnih čvorova i pazušne šupljine (Vrdoljak i sur., 2013).

Mamografija je radiološka dijagnostička pretraga koja se koristi x-zrakama niskih energija za oslikavanje tkiva dojki. Svrha joj je prikazati dojku visokim kontrastom i visokom rezolucijom, uz što manju primljenu dozu zračenja, čime je rizik od indukcije karcinoma dojke samom mamografijom zanemariv. Standardno se snima u dvije projekcije (kraniokaudalnoj i mediolateralnoj), što omogućuje analizu svih dijelova dojki te lociranje i karakterizaciju lezija u dojci. Smatra se najvažnijom metodom oslikavanja i primjenjuje se za ranu detekciju karcinoma dojke (nepalpabilnih tumora) ili za potvrdu palpabilnog nalaza (kvržica). Jedina je metoda probira koja dokazano smanjuje smrtnost od karcinoma dojke za 25 do 30%. Odlikuje se visokom osjetljivošću (90%) i specifičnošću (90%) u postmenopauzalnih žena. U ženama mlađih od 50 godina upitna je korisnost, jer dojkama dominira žljezdani parenhim pa dojke izgledaju mamografski „guste“, što dovodi do teškog uočavanja malignih promjena. U starijih žena dojke se involutivno mijenjaju pa prevladava masno tkivo, a žlijedani parenhim postepeno atrofira, što dovodi do lakog uočavanja karcinoma. Važno je uspoređivati mamografske nalaze s prethodnima jer se dojke u mnogome razlikuju između dviju žena iste dobi, ali i u iste žene u različitoj dobi. Mamografski negativan nalaz nije dovoljan za isključenje maligniteta u klinički simptomatske pacijentice, jer oko 10% palpabilnih oblika karcinoma dojke nije vidljivo na mamografiji. U takvim slučajima potrebna je daljnja dijagnostika ultrazvukom, magnetskom rezonancom i biopsijom. Suvremeni uređaji su izuzetno osjetljiva metoda pri otkrivanju karcinoma s mikrokalcifikacijama, koji čine oko 50% svih karcinoma dojki, jer je moguća detekcija mikrokalcifikacija promjera 200–300 µm. Samo 1% svih mamografija daje lažno pozitivan rezultat (Vrdoljak i sur., 2013; Šimunić i sur., 2001; Hezwang-Koebrunner i sur., 2001; Friedrich i Sikeles, 2000; Kopans, 1998).

Ultrazvučni pregled dojki manje je osjetljiv i specifičan u odnosu na mamografiju kod postmenopauzalnih žena, jer ne može doprijeti duboko kroz masno tkivo. S druge strane je vrlo pogodna metoda za pregled mladih žena i trudnica, u kojih je žljezdani parenhim obilan i dojke su mamografski „guste“. Ultrazvukom se u tim slučajevima mogu lako uočiti lezije (sitne ciste

i solidne lezije) koje se na mamografiji ne mogu definirati zbog visoke gustoće parenhima. Iz navedenih je razloga metoda izbora, uz klinički pregled, u ranoj dijagnozi karcinoma dojke u premenopausalnih žena. Sama pretraga je za ženu ugodna, nema štetnih djelovanja (poput zračenja) i može se ponavljati koliko god puta je potrebno. Vrlo je važno prikazati sve dijelove dojke, ali svejedno nije moguć prikaz mikrokalifikacija kao najranijeg znaka karcinoma dojke. Ima visoku stopu lažno pozitivnih nalaza, zbog čega je potrebno sve pozitivne nalaze potvrditi biopsijom ili punkcijom. Sama punkcija lezije može se izvoditi pod nadzorom ultrazvuka, što omogućuje točno praćenje prolaza igle kroz tkivo dojke i samo prodiranje u leziju iz koje se uzima materijal za daljnju obradu. Iako prikaz malignih tumora dojke jako slični benignim lezijama, postoje relativno karakteristični znakovi maligniteta: hipoehogenost karcinoma, nepravilni rubovi, heterogeni unutarnji odjeci i stražnja akustična muklina (Vrdoljak i sur., 2013; Fajdić i sur., 2001; Hezwang-Koebrunner i sur., 2001; Friedrich i Sickles, 2000; Kopans, 1998; Stavros i sur., 1995; Madjar i sur., 1993).

Za postavljanje točne dijagnoze neophodno je uzimanje uzorka stanica i tkiva s odgovarajućeg mjesta lezije. Postoje tri metode: citološka punkcija (engl. *fine-needle aspiration biopsy*), perkutana biopsija (engl. *core biopsy*) i biopsija (engl. *core-needle biopsy*). Citološka punkcija provodi se uvođenjem tanke igle u leziju, aspiriraju se stanice i potom radi razmaz uzetih stanica. Same karcinomske stanice dojke imaju manju koheziju od fizioloških stanica dojke te se stoga lako mogu aspirirati tankom iglom. Perkutana biopsija je češće primjenjivana metoda i sama punkcija se vrši pod nadzorom slikovnih tehnika, najčešće ultrazvuka. Uzorak tkiva dobiven ovom metodom pregledava se pod mikroskopom, što omogućuje utvrđivanje histopatoloških obilježja, vrste receptora itd. Ukoliko lezija ima tipičan ultrazvučni nalaz karcinoma dojke, dovoljno je napraviti citološku punkciju za potvrdu dijagnoze. U morfološki dvojbena lezija bolje i pouzdanije je napraviti biopsiju, jer između 20 i 30% aspirata uzetih citološkom punkcijom nije zadovoljavajuće. Biopsijom dojke moguće je dobiti puno više informacija, što omogućuje pouzdano prijeoperacijsko postavljanje dijagnoze. Sam zahvat zahtijeva inciziju kože i lokalnu anesteziju pa je stoga traumatičnije iskustvo za bolesnicu te traje dulje i skuplja je metoda (Obenauer i sur., 2002; Fajdić i sur., 2001; Friedrich i Sickles, 2000; Kopans, 1998).

Postoje još i magnetska rezonanca, scintimamografija i pozitronska emisijska tomografija kao dijagnostičke metode kod karcinoma dojke, ali su šetnije ili znatno skuplje u odnosu na mamografiju i ultrazvuk pa se ne koriste u rutinske svrhe (Topić i sur., 2018; Vrdoljak i sur., 2013; Brem i sur., 2002; Khalkhali i Itti, 2002; Rose i sur., 2020; Siegmann i sur., 2002; Friedrich i Sickles, 2000; Kopans, 1998).

Nakon što se utvrdi postojanje primarnog karcinoma dojke, a prije inicijacije liječenja, potrebno je napraviti i neke laboratorijske pretrage poput: kompletne krvne slike (KKS), diferencijalne krvne slike (DKS) te biokemijske pretrage krvi. Za isključenje, odnosno dokazivanje udaljenih presadnica (metastaza) potrebno je napraviti i rentgensko snimanje pluća te ultrazvuk abdomena. Ako postoji sumnja na metastaze u određeni organ, provode se usmjerene pretrage, poput scintigrafije (Vrdoljak i sur., 2013).

## 1.5 Tumorski biljezi

Tumorski biljezi su molekule koje sintetiziraju karcinomske stanice ili zdrave tjelesne stanice u prisutnosti karcinoma. Putem tumorskih biljega moguće je utvrditi prisutnost karcinoma ili pridobiti dodatne informacije o ponašanju karcinoma (npr. progresija, odgovor na terapiju). Postoje različite podjele ovisno o etiologiji, strukturi ili kliničkoj primjeni. Prema etiologiji tumorske biljege dijelimo na humoralne (molekule koje se nalaze u serumu, mokraći ili drugih tjelesnim tekućinama) i stanične (antigeni na staničnoj membrani, hormonski receptori, receptori faktora rasta). Prema strukturi razlikujemo: serumske proteine, onkofetalne antigene, hormone, metabolite, receptore, enzime. Najčešće primjenjivana klasifikacija je prema kliničkoj primjeni: tumorski biljezi za procjenu rizika nastanka karcinoma, dijagnostički tumorski biljezi (probir), prediktivni (odabir terapije) i prognostički (prognoza tijeka bolesti) tumorski biljezi te tumorski biljezi za praćenje učinkovitosti onkološke terapije i za otkrivanja recidiva (Topić i sur., 2018).

### 1.5.1. Patohistološki biljezi

Patohistološki biljezi su molekule specifične za tumorske stanice. To mogu biti geni ili proteini koje zdrava tjelesna stanica ne sadrži ili sadrži u drugačijem obliku ili manjem broju. Važni su u dijagnostici i klasifikaciji karcinoma dojke, jer se liječenje razlikuje ovisno o nalazu. Kod sumnje na karcinom dojke i detekciju sumnjive mase slikovnim tehnikama, potrebno je uzeti uzorak tkiva dojke citološkom punkcijom ili biopsijom. Histološki preparat podložan je mnogim čimbenicima, kao što su uzorkovanje, vremensko trajanje ishemije, kateterizacija, zamrzavanje-odmrzavanje, fiksacija..., stoga je važna standardizacija predanalitičkih postupaka za što kvalitetniji uzorak, a time i točniji nalaz. Za određivanje histopatoloških biljega mogu se koristiti razne metode molekularne dijagnostike, kao što su: imunohistokemijska analiza (engl. *immunohistochemistry* – IHC), in situ hibridizacija, reverzna lančana reakcija polimeraze (PCR) (McDonald i sur., 2016).

Estrogenski (ER) i progesteronski (PR) receptori rutinski se određuju kod svih pacijentica s novodijagnosticiranim karcinom dojke kao prediktivni i prognostički patohistološki biljezi. Prediktivno služe za odabir terapije za karcinom dojke jer pozitivni nalaz receptora otvara mogućnost liječenja hormonskom terapijom i ima bolju prognozu. Što je veća prisutnost receptora, tj. što su brojniji, to je jača njihova reakcija na ciljanu terapiju i jači je odgovor. U slučaju da je nalaz na estrogenske receptore negativan, ali nalaz na progesteronske receptore pozitivan, treba razmatrati endokrinu terapiju kao opciju liječenja. Ukoliko su obje vrste receptora negativne treba primijeniti kemoterapiju, ciljanu terapiju ili imunoterapiju. Za predviđanje ishoda bolesti nisu pouzdani i nemaju kliničku vrijednost. Određuju se imunohistokemijski pa osim definiranja hormonske osjetljivosti treba navesti i kvantitativni pozitivitet, odnosno postotak izraženosti receptora na tumorskim stanicama (Topić i sur., 2018; Fugua i sur., 2005).

Receptor za humani epidermalni faktor rasta HER2/neu je transmembranski protein kodiran onkogenom na 17. kromosomu. Pripada porodici receptora za epidermalni faktor rasta. Receptor je građen od intracelularne, transmembranske i ekstracelularne domene. Prekomjerna količina HER2/neu gena ili proteina nalazi se u 20% svih karcinoma dojke. Koncentraciju, tj. izraženost HER2/neu na tumorskim stanicama moguće je mjeriti imunohistokemijskim metodama u tumorskom tkivu uz pomoć specifičnih protutijela na HER-2 ili fluorescentnom hibridizacijom in situ (engl. *FISH*). Rezultati se bilježe kao negativni (0 ili +), granični (2+) ili pozitivni (3+) kod imunohistokemijske metode ili kao pozitivni (prisutno je umnožavanje HER2 gena) ili negativni (nije prisutno umnožavanje HER2 gena) kod FISH-a. Osnovna klinička važnost određivanja HER2/neu statusa karcinoma dojke je definiranje prognoze pacijentice, odnosno odabir terapije. Ukoliko je HER2/neu status pozitivan, pacijentica ima korist od ciljane anti-HER2 terapije – protutijela usmjerena na ekstracelularnu ili unutarstaničnu domenu receptora. Prema smjernicama NCCN-a (engl. *National Comprehensive Cancer Network*, neprofitno udruženje 31 klinika za tumore u svrhu liječenja, istraživanja i edukacije) svakoj pacijentici s novodijagnosticiranim karcinomom dojke, kao i pacijenticama s recidivom bolesti potrebno je odrediti HER2/neu status (Topić i sur., 2018; Leonard i sur., 2002; Kaptain i sur., 2001; Slamon i sur., 2001; Vogel i sur., 2001).

Ki-67 proliferacijski indeks koristi se kao prognostički patohistološki biljeg. Određuje se ekspresija jezgrinog antigena Ki-67 na 10. kromosomu. Njegova razina ekspresije varira ovisno o staničnom ciklusu. U G1 i ranoj S-fazi staničnog ciklusa ima nisku razinu ekspresije, a potom progresivno raste i svoj maksimum postiže u mitozu. Nagli pad njegove ekspresije događa se u anafazi i telofazi, te potom ciklus kreće ispočetka. Ki-67 proliferacijski indeks

može dati tri rezultata: nizak indeks – označava ekspresiju do 15%; intermedijarni indeks – označava ekspresiju između 15 i 30%; te visoki indeks – označava ekspresiju iznad 30%. Što je viši Ki-67 indeks to je lošija prognoza bolesti, ali veća vjerojatnost uspješne kemoterapije. Studije na miševima također su pokazale kako hormonska terapija tamoksifenom kod karcinoma dojke znatno smanjuje ekspresiju Ki-67 te dovodi do masovne apoptoze i regresije tumorskih stanica. Prognostička vrijednost Ki-67 proliferacijskog indeksa dokazana je u karcinomima prostate, mozga i dojke te u svima visoki indeks korelira s lošijom prognozom i ranijim recidivima (Vrdoljak i sur., 2013).

### 1.5.2. Cirkulirajući tumorski biljezi

Cirkulirajući tumorski biljezi su molekule koje sintetiziraju karcinomske stanice ili zdrave tjelesne stanice u prisutnosti karcinoma, a izlučuju se u krvotok. Putem cirkulirajućih tumorskih biljega moguće je utvrditi prisutnost karcinoma ili pridobiti dodatne informacije o ponašanju karcinoma (npr. progresija, odgovor na terapiju). Prisutnošću u krvi lako se mogu kvalitativno i kvantitativno određivati u laboratoriju. Međutim, otkriveno je kako se povećana koncentracija cirkulirajućih tumorskih biljega ne javljaju samo kod pojave karcinoma, već i kod drugih bolesti, benignih stanja (npr. trudnoća) i u nekih zdravih ljudi. (Topić i sur., 2018).

Ugljikohidratni antigen CA 15-3 je glikoprotein kodiran iz epitelnog mucinskog gena 1, a eksprimiran u luminalnom epitelnom sloju. Još se naziva i PEM (engl. *polymorphic epithelial mucin*), EMA (engl. *epithelial membran antigen*) i episalin. Po strukturi je transmembranski glikoprotein građen od velike izvanstanične, hidrofobne membranske i citoplazmatske domene, koji sudjeluje u adheziji i međustaničnim interakcijama. CA 15-3 omota kadherin E koji sudjeluje u adheziji stanica-stanica pa se stoga smatra kako povećane koncentracije CA 15-3 indirektno pridnose metastaziranju. Ima nisku osjetljivost, jer su moguće niske i normalne koncentracije i kod prisutnosti karcinoma. Osjetljivost mu je veća u uznapređenoj fazi bolesti. Određuje se imunokemijskom metodom, a granična vrijednost za serumske koncentracije u zdravih žena ovisi o metodi. Ne preporučuje se za rutinsko ispitivanje u slučaju asimptomatskih bolesnica. Glavna primjena mu je kao tumorski biljeg u definiranju odgovora na liječenje recidiva, osobito diseminiranog. Europska grupa za tumorske biljege preporučuje praćenje koncentracije CA 15-3 u žena s metastazama prije svakog ciklusa kemoterapije i svakih 3 mjeseca u onih na hormonskoj terapiji. Nacionalna akademija kliničke biokemije definira dva uzastopna povećanja kao upozorenje na vjerojatnu progresiju bolesti. CA 15-3 najčešći je korišten mucinski antigen, a lažno pozitivni rezultati javljaju se u jetrenim i bubrežnim bolestima. Umjereno povećanje koncentracija CA 15-3 moguće je i kod cista na

jajnicima, infektivnih plućnih bolesti i nekih autoimunih bolesti (Topić i sur., 2018; Duffy, 2013; Duffy, 1999).

Karcinoembrionski antigen (CEA) čine polipeptidni lanaci s različitim udjelom ugljikohidrata (45-55% ukupne mase). Zapravo je riječ o heterogenoj porodici molekula, srodnih glikoproteina koji su većinom kodirani genima na kromosomu 19. C-terminalni dio molekule vezan je za staničnu membranu pa se stoga CEA nalazi na površini mnogobrojnih stanica. Koja mu je točno funkcija nije poznato, međutim postoje hipoteze kako sudjeluje u mehanizmima prepoznavanja stanica, adheziji stanica ili u procesu apoptoze. Fiziološki se sintetizira tijekom embrionskog i fetalnog razvoja, a nakon rođenja mu je sinteza potisnuta, stoga je pravi primjer onkofetalnog antigena. Analiza se može vršiti na različitim analizatorima, iako rezultati zbog razlika u metodama određivanja nisu usporedivi. Granična vrijednost u zdravih osoba kreće se do 5 mg/L. Povećane koncentracije CEA-e javljaju se u mnogim zloćudnim bolestima: kolorektalni karcinom, karcinom želuca, dojke i pluća; ali i u nizu dobroćudnih bolesti. Kod karcinoma dojke preporuke su mjeriti koncentracije CEA i CA 15-3 u kombinaciji za rano otkrivanje povratka bolesti u slučaju asimptomatskih pacijentica. Također je moguće pratiti učinkovitost lokalno uznapredovale i diseminirane bolesti. Lažno pozitivni nalazi mogu biti posljedica bubrežnih, jetrenih (ciroza), plućnih (emfizem, upala pluća, tuberkuloza) i gastrointestinalnih bolesti (ulcerozni kolitis, divertikulitis, Crohnova bolest, polipi kolona i rektuma) (Topić i sur., 2018; Vrdoljak i sur., 2013).

## 1.6 Histološki podtipovi i klinička slika karcinoma dojke

Osnovna podjela karcinoma dojke je na neinvazivni karcinom *in situ* i invazivni karcinom. Neinvazivni karcinom *in situ* ne prodire bazalnu membranu dojke, dok invazivni karcinom dojke prodire kroz bazalnu membranu i širi se po ostatku tkiva dojke ili čak na udaljena mjesta u organizmu. Osim toga se karcinom dojke može podijeliti prema mjestu nastanka na duktalni i lobularni ([www.cancerworld.info](http://www.cancerworld.info); Šamija i sur., 2007).

Duktalni karcinom *in situ* ima prevalenciju od 5 do 44% - velika razlika u postotku može se objasniti napretkom programa probira. Naime duktalni karcinom *in situ* je jedini podtip karcinoma *in situ* za koji postoji jasna poveznica kako prelazi u invazivni karcinom. Programom probira i osjetljivijom mamografijom omogućeno je otkriti duktalni karcinom dojke dok je još u fazi *in situ* (Liff i sur., 1991; Hellman i sur., 1991; Ciatto i sur., 1990; Page i Dupont, 1990a; Page i Dupont, 1990b; Swain, 1989).

Na invazivni duktalni karcinom dojke otpada najveći udio: 68% svih karcinoma dojke. Njegova dijagnoza postavlja se isključivanjem, jer je to karcinom čija histološka (citološka)



slika ne odgovara kriterijima ni jednog drugog podtipa karcinoma dojke. Klinička slika može biti nepalpabilna lezija pa sve do velikog tumora koji je uvukao ili ulcerirao kožu. Prevalencija pojedinačnih karcinomskih stanica u razmazima povezana je s povećanom incidencijom udaljenih metastaza (Berg i Hutter, 1995; Layfield i sur., 1992).

Lobularni karcinom *in situ* obuhvaća 5% svih karcinoma dojke, a kao *in situ* lezija nalazi se u 0,5-2,5% svih benignih biopsija. Međutim, između 20 i 30% žena s *in situ* lezijom razvit će kad-tad invazivni oblik karcinoma dojke različitog histološkog tipa koji se može širiti u ispsilateralnu ili kontralateralnu dojku, zbog čega je česta multifokalna ili bilateralna bolest. Kod ovog podtipa karcinoma dojke prisutna je i visoka stopa povratka bolesti te iznosi čak do 35%. Lobularni karcinom *in situ* češće se javlja u premenopauzalnih žena, a rizik oboljenja smanjuje se nakon nastupanja menopauze (Page i sur., 1991; Salvadori i sur., 1991; Gump, 1990; Swain, 1989).

Invazivni lobularni karcinom dojke čini 5-10% svih invazivnih karcinoma dojke. Kao i lobularni karcinom *in situ* česta je bilateralna i/ili multicentrična bolest. Tumorske stanice imaju tendenciju linearnog ili kružnog slaganja oko duktusa (Corkill i sur., 1990).

Triple-negativni karcinom dojke je podtip karcinoma dojke koji je negativan na estrogenske i progesteronske receptore kao i na HER2/neu protein. Obuhvaća 10-20% karcinoma dojke, a nema koristi niti od liječenja hormonskom terapijom niti ciljanom terapijom na HER2/neu receptore. Ima lošiju prognozu i smatra se agresivnijim podtipom karcinoma dojke, jer se brzo širi i lakše metastazira, zbog nedostatka ciljane i djelotvorne terapije. Također je zapažena tendencija otkrivanja ovog podtipa karcinoma dojke već u uznapredovaloj fazi, što dodatno pogoršava prognozu liječenja i preživljenja. Triple-negativni karcinom dojke češći je u mlađih pacijentica (< 50 godina) i kod osoba s BRCA1 mutacijom (70% triple-negativnih imaju urođenu BRCA1 genetsku mutaciju) ([https://www.breastcancer.org/symptoms/diagnosis/trip\\_neg](https://www.breastcancer.org/symptoms/diagnosis/trip_neg)).

Luminalni A karcinom dojke je podtip karcinoma dojke s pozitivnim estrogenskim i/ili progesteronskim receptorima, a negativnim HER2/neu receptorima. Ovaj podtip karcinoma dojke ima niske koncentracije proteina Ki-67. Luminalni A podtip uglavnom se rano otkriva, sporo raste i sporo se širi u organizmu, zbog čega ima najbolje prognoze (<https://www.breastcancer.org/symptoms/types/molecular-subtypes>).

Luminalni B karcinom dojke je podtip karcinoma dojke s pozitivnim estrogenskim i/ili progesteronskim receptorima, pozitivnim ili negativnim HER2/neu receptorima, ali s visokim koncentracijama proteina Ki-67. Raste nešto brže od luminalnog A podtipa i zbog toga ima lošije prognoze (<https://www.breastcancer.org/symptoms/types/molecular-subtypes>).

HER2 karcinom dojke je podtip karcinoma dojke s negativnim estrogenskim i progesteronskim receptorima, ali pozitivnim HER2/neu receptorima. Raste brže od luminalnog A i luminalnog B podtipa pa ima lošiju prognozu. Liječenje se zasniva na ciljanoj terapiji protutijelima usmjerenim na HER2/neu receptor (<https://www.breastcancer.org/symptoms/types/molecular-subtypes>).

## 1.7 Metastatski karcinom dojke

Metastatski karcinom dojke podrazumijeva širenje tumorskih stanica u druge dijelove organizma. Gotovo svaki organ u organizmu može biti zahvaćen metastazama, ali neka najčešća sjela kod karcinoma dojke su: kosti, pluća, mozak i jetra. Može doći i do širenja u regionalne limfne čvorove i kontralateralnu dojku. Tumorske stanice u pravilu su agresivnije i teže ih je liječiti, a šire se organizmom putem krvožilnog i limfnog sustava. Pojava metastaza moguća je i mjesecima nakon postavljanja primarne dijagnoze i početka terapije. Opći simptomi kod metastaza karcinoma dojke su: stalno povišenje tjelesne temperature ( $>38^{\circ}\text{C}$ ), noćno znojenje, umor i smanjena mogućnost opterećenja te gubitak na tjelesnoj težini bez jasno vidljivog razloga ([https://www.breastcancer.org/symptoms/types/recur\\_metast](https://www.breastcancer.org/symptoms/types/recur_metast); <https://www.gynecology-guide.com/brustkrebs/brustkrebs-metastasen/>; [www.cancerworld.info](http://www.cancerworld.info); Page, 1986).

Metastaze na kostima najčešće su sjelo metastaza karcinoma dojke (35-40%), a šire se isključivo hematogenim putem jer zdrava kost nema limfne žile. Očituju se bolovima, najčešće u kralježnici, rebrima, prsnoj kosti ili lubanji. Javljaju se i lomovi kostiju na neobičnim mjestima ili bez poznatog razloga. Daljnji simptomi su umor, zbunjenost i poremećaji srčanog ritma, koji su svi posljedica visokih koncentracija kalcija u krvi zbog pojačane razgradnje kostiju (<https://www.gynecology-guide.com/brustkrebs/brustkrebs-metastasen/>; Batson, 1940).

Metastaze na plućima su drugo najčešće sjelo karcinoma dojke. Manifestiraju se kroničnim kašljem, krvavim ispljuvkom sluzi i nedostatkom zraka pri naporu ili čak pri mirovanju te je smanjena tolerancija na opterećenje bolesnice (<https://www.gynecology-guide.com/brustkrebs/brustkrebs-metastasen/>; Kamby i sur., 1988).

Karcinom dojke je drugi najčešći karcinom, nakon karcinoma pluća, koji metastazira na mozak (14-20% ukupnog broja moždanih sekundarizama). Češće se javljaju u premenopausalnih žena s agresivnim i uznapredovanim karcinomom dojke te kod karcinoma s negativnim estrogenskim receptorima. Metastaze na mozgu većim dijelom nastaju hematogenim putem, a najčešće nastaju u hemisferama velikog mozga (80%), 15% u malom mozgu, a svega 5% u moždanom deblu. Uzrokuju jake glavobolje koje se ne popravljaju niti prolaze. Također može doći do pojave zbunjenosti i dezorijentiranosti, izrazitog umora te

gubitka pojedinih moždanih funkcija (vida, govora, mobilnosti ruku i nogu) (<https://www.gynecology-guide.com/brustkrebs/brustkrebs-metastasen/>; Šamija i sur., 2007; Flowers i Levin, 1993; Stewart i sur., 1981).

Metastaze na jetri uglavnom nemaju nikakve simptome. Ako se manifestiraju onda kroničnim pritiskom i bolovima u desnom gornjem dijelu trbuha te kroničnim umorom. Može doći do žutog obojenja očnih jabučica jer se bilirubin više ne može razgraditi u jetri i dolazi do nakupljanja. Izolirane metastaze u jetri rijetka su pojava i znak značajno diseminirane bolesti, stoga ne čudi podatak kako su najčešći uzrok smrti (20%) u pacijentica s metastatskim karcinomom dojke (<https://www.gynecology-guide.com/brustkrebs/brustkrebs-metastasen/>; Šamija i sur., 2007; Zinser i sur., 1987).

Oko 30% (20-40%) pacijentica s karcinomom dojke u nekom trenutku razvije metastaze. Kod polovice žena oboljelih od karcinoma dojke metastaze se razvijaju unutar prvih 5 godina od postavljanja dijagnoze. Jedina svrha liječenja metastatskog karcinoma dojke jest maksimalno očuvanje kakvoće pacijentičina života. U primjeni su različite terapijske mogućnosti: kemoterapija, hormonska terapija, imunoterapija, tirozin-kinazni inhibitori, angiostatična terapija, radioterapija... Duljina preživljenja pacijentice s metastatskim karcinomom dojke ovisi o nekoliko čimbenika, poput pacijentičinu statusu i dobi, stupnju diseminacije bolesti i obilježjima tumora, broju zahvaćeni organa i zahvaćenosti parenhima dotičnih organa... U prosjeku pacijentice s metastatskim karcinomom dojke prežive oko 3 godine (<https://www.gynecology-guide.com/brustkrebs/brustkrebs-metastasen/>; Vrdoljak i sur., 2013).

Unatoč programu probira i informiranosti žena o nastanku karcinoma dojke i dalje postoji značajan udio onih pacijentica kod kojih se otkrije već uznapredovali stadij s metastazama. Takav stadij karcinoma dojke najčešće je neoperabilan jer je tumor veći od 5 cm, zahvatio već i slojeve kože, infiltrirao prsni koš ili metastazirao u supraklavikularne limfne čvorove ili neki drugi organ. Karcinom dojke s metastazama liječi se uglavnom zračenjem tumora, preostalog tkiva dojke i stijenke prsnog te primjenom sistemskom neoadjuvatnom terapijom ako je moguće (Šamija i sur., 2007).

## 1.8 Hematološki parametri u praćenju žena s karcinomom dojke

Razna istraživanja na području epidemiologije i kliničke onkologije pokazala su značajan utjecaj imunskog sustava na karcinogenezu. Procesi kronične upale u mikrookolišu karcinoma pridonose progresiji, proliferaciji, invaziji i metastaziranju samih tumorskih stanica. Istraživanja su potvrdila kako stanice uključene u upalne procese i imunski odgovor organizma, možemo detektirati i pratiti pomoću krvne slike (KKS – kompletna krvna slika i

DKS – diferencijalna krvna slika), koja se ionako rutinski radi prije kontrolnog posjeta liječniku, početka terapije, prije i poslije operacije i sl. Krvna slika je jeftina, brza, ponovljiva i relativno neinvazivna metoda (u usporedbi npr. s biopsijom), što ju sve čini povoljnom pretragom za predikciju upalnog odgovora u pacijenata s karcinomima. Kompletna krvna slika (KKS) sastoji se od sljedećih parametara: broja leukocita, broja eritrocita, koncentracije hemoglobina, hematokrita, MCV (prosječni volumen eritrocita), MCH (prosječan sadržaj hemoglobina u eritrocitu), MCHC (prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu), RDW (raspodjela eritrocita po volumenu) i broja trombocita. Diferencijalna krvna slika (DKS) nadopuna je KKS i sastoji se od sljedećih parametara: ukupnog broja leukocita, apsolutnog i relativnog broja neutrofila, apsolutnog i relativnog broja limfocita, apsolutnog i relativnog broja monocita, apsolutnog i relativnog broja eozinofila, apsolutnog i relativnog broja bazofila te apsolutnog i relativnog broja nezrelih granulocita (Chen i sur., 2020; Shilpa i sur., 2020; Lee i sur., 2018).

### 1.8.1 Izravno mjereni hematološki parametri

Leukociti ili bijele krvne stanice heterogena su skupina krvnih stanica koja se sastoji od pet skupina stanica: neutrofil, limfocit, monocit, eozinofil i bazofil. Najveći utjecaj na ukupni broj leukocita odražavaju promjene u broju neutrofila i limfocita (Chen i sur., 2020).

Neutrofil ili polimorfonuklearni leukocit najbrojnija su skupina leukocita u perifernoj krvi. Sudjeluju u najranijim fazama upalnih reakcija, izbacujući jednu od dvije vrste granula iz svoje citoplazme. Specifične granule ispunjene su enzimima, poput lizozima, kolagenaza i elastaza. Azurofilne granule su lizosomi ispunjeni enzimima i drugim molekulama, poput defenzina i katelicidina koji uništavaju mikroorganizme. Neutrofile karakterizira brz dolazak i prodiranje na mjesto upale, ali nakon ulaska u tkivo i aktivacije umiru kroz dan-dva. Do promjena u broju neutrofila, a time i do promjena u ukupnom broju leukocita, može doći uslijed različitih faktora: cirkadijalne dnevne promjene, trudnoća, fizički napor, tuširanje, obrok, nagle promjene temperature... Postoje patološka stanja u kojima broj neutrofila raste: akutne upale, teške traume, karcinomi, akutno otrovanje i sl.; ali i patološka stanja u kojima broj neutrofila pada: infekcije Gram-negativnim bacilima ili sepsa. U karcinogenezi neutrofil mogu pridonijeti razvoju tumorske mase potpomažući migraciju, invazivnost i prelazak bazalne membrane tumorskim stanicama (Chen i sur., 2020; Abbas i sur., 2018).

Limfociti su jedinstvene stanice adaptivne imunosti koje posjeduju sposobnost sinteze raznih protutijela na mikroorganizme ili tvari od kojih se organizam treba obraniti. Morfološki nije moguće razlikovati različite skupine limfocita, svedeno se odlikuju velikom heterogenosti

i funkcionalnom raznolikošću. Imaju dvojaku ulogu u karcinogenezi. CD8+ citotoksični limfociti T (CTL) najvažniji su zaštitini mehanizam adaptivne imunosti protiv karcinoma – ubijaju tumorske stanice. CTL nemaju samo sposobnost uništenja, već imaju i nadzornu funkciju prepoznavanja i uništavanja potencijalno zloćudnih stanica s tumorskim antigenima. Funkcija CD4+ pomagačkih limfocita T u protutumorskom imunom odgovoru nije razjašnjena. Pretpostvalja se kako bi one mogle imati važnu funkciju za diferencijaciju naivnih CD8+ limfocita T u izvršne i memorijske CTL otpuštajući potrebne citokine. Izlučivanjem raznih citokina, poput TNF i IFN- $\gamma$ , ne samo da potpomažu diferencijaciju CTL, već i povećavaju osjetljivost tumorskih stanica na razaranje od strane CTL i makrofaga. S druge strane postoje istraživanja koja su potvrdila kako regulacijski limfociti T mogu potisnuti imunski odgovor organizma na tumorske stanice. Patološki porast broja limfocita može biti posljedica: infektivne bolesti, akutne ili kronične limfatične leukemije, limfoma i odbacivanje transplantanta. Patološki pad broja limfocita javlja se kod izlaganje organizma radijaciji te imunodeficijencija (Chen i sur., 2020; Lee i sur., 2018; Abbas i sur., 2018a; Abbas i sur., 2018b).

Trombociti ili krvne pločice, iako po građi nisu prave stanice, jer ne sadrže jezgru, imaju vrlo važnu ulogu u početnom odgovoru na oštećenja krvnih žila i u odražavanju hemostaze. Svojim morfološkim karakteristikama i širokoj rasprostranjenosti duž stijenki krvnih žila, omogućeni su im lako uočavanje oštećenja (fragmenti bazalne membrane ili dijelovi matriksa) i brza reakcija (formiranje filopodija, pojačano izražavanje adhezijskih receptora te visoko reaktivni umrežen citoskelet). Raznim signalnim molekulama (proteini, faktori rasta, bioaktivni lipidi, reaktivni kisikovi spojevi, ioni magnezija i kalcija) pokreću kaskadu zgrušavanja, vazokonstrikciju i upalni odgovor, što u konačnici sve doprinosi bržem i efikasnijem popravku oštećenog tkiva. Trombocitopenija se uglavnom javlja samo u dva slučaja: primarnom manjku i prekomjernoj reaktivnosti. Primarni manjak trombocita uobičajen je kod mijeloproliferativnih bolesti, dok se prekomjerna reaktivnost javlja kod akutnih infekcija, hemolize i neoplastičnih bolesti. Karcinom putem interleukina potiče jetru na pojačanu sintezu trombopoetina koji za posljedicu ima trombocitozu. Porast broja trombocita u krvotoku može dovesti do diseminirane intravaskularne koagulacije, dolazi do burnih hemodinamskih i upalnih reakcija koje pridonose karcinogenezi i metastaziranju, a trombociti se troše. Mikrookoliš karcinoma obiluje krvnim žilama, što oštećenim, što novostvorenim angiogenezom. Brojnost slabih i lomljivih krvnih žila olakšava prodiranje trombocitima u samu blizinu tumorskih stanica. Razni kemokini, citokini i faktori rasta izlučeni iz trombocita pridonose rastu i razvoju tumora, nastavku angiogeneze te prodiranju tumorskih stanica u krvotok na sličan način kao i mutacije u signalnim kaskadama.

U krvotoku se tumorske stanice okružuju trombocitima koji im onda pomažu u metastaziranju štiteći ih od ubilačkih stanica imunskog sustava, olakšavajući tumorskim stanicama adheziju na stijenkama krvnih žila na udaljenim mjestima, prodiranje u perivaskularno, a potom i u ekstravaskularno tkivo te daljnji rast i razvoj na sekundarnom mjestu (Chen i sur., 2020; Menter i sur., 2017; Franco i sur., 2015).

### 1.8.2 Neizravni hematološki parametri – izvedeni računskim putem

Omjer neutrofila i limfocita (NLR) dobar je pokazatelj cjelovitog imunskog odgovora organizma. U NLR su objedinjeni neutrofili kao rani reaktanti akutne faze upale, ali i limfociti kao komponenta adaptivne imunosti specifično usmjerene na uništenje karcinoma. Pokazao se kao korisnim prognostičkim biljekom u karcinomima nazofaringsa, želuca, kolona i melanoma. Općenito se smatra kako su visoke vrijednosti NLR omjera prije operacije povezane s lošijim ishodom liječenja i većom stopom smrtnosti (Chen i sur., 2020; Shilpa i sur., 2020; Azab i sur., 2013).

Omjer trombocita i limfocita (PLR) sličan je neizravni hematološki parametar kao NLR koji pokazuje imunski odgovor organizma na karcinom. U PLR su obuhvaćeni trombociti kao komponente imunskog sustava i krvotoka koji pomažu i olakšavaju tumorskim stanicama rasta, razvoj, invaziju i metastaziranja, naspram limfocita koji ih nastoje uništiti. Prema jednom istraživanju se kod karcinoma gušterače i želuca NLR smatra boljim prognostičkim biljekom u odnosu na PLR. U drugom istraživanju se pak pokazalo kako je kod karcinoma jajnika i gušterače PLR bolji prognostički biljeg u odnosu na NLR. Općenito se smatra kako su visoke vrijednosti PLR omjera povezane s lošijim ishodom bolesti te često ukazuju na prisutne metastaze u limfnim čvorovima (Chen i sur., 2020; Azab i sur., 2013).

Indeks sustavnog imunsko-upalnog odgovora (SII) je omjer umnoška neutrofila (N) i trombocita (T) prema limfocitima (L) ( $SII = N \times T / L$ ). U odnosu na prijašnje neizravne hematološke parametre (NLR, PLR), SII obuhvaća sve tri komponente imunskog odgovora na prisutni karcinom: neutrofile, limfocite i trombocite. Prema novijim istraživanjima smatra se boljim prognostičkim biljekom od dosadašnjih upalnih i računskih parametara te se već pokazao korisnim biljekom kod karcinoma jetre, gušterače i želuca (Jiang i sur., 2020).

## 2. **Obrazloženje teme**

Istraživanjem se nastojalo utvrditi povezanost i mogućnost predikcije ishoda liječenja i preživljenja u pacijentica s karcinomom dojke na temelju hematoloških parametara. Cilj je bio postići vezu između parametara krvne slike i određenih omjera parametara krvne slike uz pomoć kojih bi se prije operacije mogao predvidjeti ishod operativnog zahvata, ali i budući tijek bolesti i mogućnosti liječenja. Na taj način bi se mogle prevenirati komplikacije i pojava recidiva koji bi se inače lako previdjeli i prekasno utvrdili.

### 3. Materijali i metode

U ovom radu su prikupljeni i obrađeni podaci pacijentica s karcinom dojke koje su liječene na Klinici za tumore KBC Sestre milosrdnice u Zagrebu u razdoblju od 12. svibnja 2015. do 18. svibnja 2021. godine, tj. datuma isteka 5 godina od operacije zadnje priključene pacijentice. Razmatrani su sljedeći podaci: dob, dijagnoza, molekularni podtip, stadij tumora, status limfnih čvorova, histološki gradus, status peritumorske vaskularne invazije, status hormonskih receptora (estrogenskih i progesteronskih) i HER2/neu te proliferacijski indeks Ki-67. Pacijentice uključene u istraživanje imale su karcinom dojke, liječene su operacijom i kemoterapijom, stoga su u arhivi bili dostupni gore navedeni podaci. Isključni kriteriji su bili: liječenje samo operacijom ili samo kemoterapijom, liječene radioterapijom, smrtni ishod ili gubitak kontakta s pacijenticom unutar tih 5 godina. Primjenom navedenih isključnih kriterija na ukupni broj pacijentica s dijagnosticiranim karcinomom dojke u 2015. godini u retrogradno istraživanje uključeno je 192 žene.

Klinički podaci pacijentica kao i parametri krvne slike prikupljeni su iz bolničkog informacijskog sustava (BIS) i laboratorijskog informatičkog sustava (SAMSON, KlinLab). Parametri krvne slike određivani su na dva hematološka analizatora u laboratoriju na Klinici za tumore: Sysmex XN-1000 i Sysmex XN-550. Za statističku obradu podataka korišteni su Medcalc (verzija 19.8) i Microsoft Excel.

Načinjena je deskriptivna statistika osnovnih hematoloških parametara (broj leukocita, neutrofila, limfocita i trombocita) kao i deskriptivna statistika izvedenih hematoloških parametara (omjer neutrofila i limfocita – NLR, omjer trombocita i limfocita – PLR, indeks sustavnog imunosno-upanog odgovora – SII). Pomoću Kolmogorov-Smirnovog testa ispitana je normalnost distribucije. Parametri krvne slike i navedeni omjeri prikupljeni su i izračunati u dvije vremenske točke: i) prije operacije te ii) prije tretmana kemoterapije. U nastavku će se razmatrati prognostička vrijednost podataka prikupljenih prije operacije po pitanju tijeka bolesti i liječenja te ukupnog preživljenja. Povezanost kliničko-patoloških faktora različitih skupina pacijentica na temelju granične vrijednosti omjera neutrofila i limfocita (NLR), omjera trombocita i limfocita (PLR) te indeksa sustavnog imunosno-uplanog odgovora (SII) utvrđivale su se Hi-kvadrat testom, pri čemu su isključene tri pacijentice zbog nedostatka podataka o peritumorskoj vaskularnoj invaziji. Granične vrijednosti za NLR omjer, PLR omjer i SII indeks za statističku obradu preuzete su iz istraživanja Jiang *i sur.* „Systemic Immune-Inflammation Index Is Superior to Neutrophil to Lymphocyte Ratio in Prognostic Assessment of Breast Cancer Patients Undergoing Neoadjuvant Chemotherapy“ iz 2020. godine. Za određivanje sveukupnog preživljenja skupine pacijentica s niskim i visokim NLR omjerom, niskim i



visokim PLR omjerom te niskim i visokim SII indeksom korištene su Kaplan-Meier krivulje. Za usporedbu krivulja preživljenja dviju skupina pacijentica (s niskim i visokim NLR omjerom, niskim i visokim PLR omjerom te niskim i visokim SII indeksom) korišten je Logrank test. Nakon satističke obrade podataka utvrđena je potreba za daljnjim ispitivanjima graničnih vrijednosti NLR omjera te su stoga dodane nove granične vrijednosti iz istraživanja Huszno i Kolosza „Prognostic value of the neutrophil-lymphocyte, platelet-lymphocyte and monocyte-lymphocyte ratio in breast cancer patients“ iz 2019., iz istraživanja Forget *i sur.* „Intraoperative use of ketorolac or diclofenac is associated with improved disease-free survival and overall survival in conservative breast cancer surgery“ iz 2014. te iz istraživanja Hernandez *i sur.* „Usefulness of lymphocyte-to-monocyte, neutrophil-to-monocyte and neutrophil-to-lymphocyte ratios as prognostic markers in breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy“ iz 2018. godine.

## 4. Rezultati i rasprava

### 4.1 Rezultati statistike

Medijan dobi 192 pacijentice uključenih u istraživanje iznosio je 53 (24-84). U Tablici 1. prikazana je deskriptivna statistika osnovnih hematološki parametara (broj leukocita, neutrofila, limfocita i trombocita). Vrijednosti leukocita, neutrofila i limfocita ne slijede normalnu distribuciju ( $P < 0,05$ ), dok vrijednosti trombocita slijede normalnu distribuciju ( $P > 0,05$ ). U Tablici 2. prikazana je deskriptivna statistika izvedenih hematoloških parametara (omjer neutrofila i limfocita – NLR, omjer trombocita i limfocita – PLR, indeks sustavnog imunosno-upalnog odgovora – SII). Vrijednosti svih izvedenih hematoloških parametara (NLR, PLR, SII) ne slijede normalnu distribuciju ( $P < 0,05$ ).

Tablica 1. Deskriptivna statistika osnovnih hematoloških parametara (broj leukocita, neutrofila, limfocita i trombocita)

|                                 | Medijan<br>(95% CI)   | Min - max    | Interkvartilni raspon<br>(Q1-Q3) | P-vrijednost* |
|---------------------------------|-----------------------|--------------|----------------------------------|---------------|
| Leukociti ( $\times 10^9/L$ )   | 6,66<br>(6,41 – 6,97) | 3,71 – 13,92 | 5,54 – 7,79                      | 0,012         |
| Neutrofilii ( $\times 10^9/L$ ) | 4,04<br>(3,70 – 4,21) | 1,64 – 10,62 | 3,19 – 4,96                      | < 0,001       |
| Limfociti ( $\times 10^9/L$ )   | 1,80<br>(1,73 – 1,92) | 0,56 – 3,58  | 1,54 – 2,24                      | < 0,001       |
| Trombociti ( $\times 10^9/L$ )  | 252<br>(238 - 259)    | 116 – 450    | 209 - 286                        | > 0,100       |

\*Kolmogorov-Smirnov test normalnosti distribucije

Tablica 2. Deskriptivna statistika izvedenih hematoloških parametara (omjer neutrofila i limfocita - NLR, omjer trombocita i limfocita - PLR, indeks sustavnog imunosno-upalnog odgovora - SII)

|     | Medijan (95% CI)      | Min - max   | Interkvartilni raspon<br>(Q1-Q3) | P-vrijednost* |
|-----|-----------------------|-------------|----------------------------------|---------------|
| NLR | 2,08<br>(1,97 – 2,28) | 0,77 – 7,34 | 1,64 – 3,00                      | < 0,001       |

|     |                             |               |                 |         |
|-----|-----------------------------|---------------|-----------------|---------|
| PLR | 134,33<br>(125,56 – 143,55) | 47,21 – 587,5 | 104,51 – 167,83 | 0,002   |
| SII | 500<br>(479 - 587)          | 118 – 2203    | 374 - 782       | < 0,001 |

\*Kolmogorov-Smirnov test normalnosti distribucije

U Tablici 3. prikazana je povezanost kliničko-patoloških faktora i različitih skupina pacijentica na temelju granične vrijednosti omjera neutrofila i limfocita (NLR). U mlađih pacijentica prevladavao je viši NLR omjer (30/48, 62.5%), dok je kod starijih pacijentica bilo pretežito nižih NLR omjera (81/144, 65.3%) (P=0,025). Sve ostale ispitivane kliničko-patološke značajke nisu pokazale ovisnost prema NLR omjeru: molekularni podtip (P=0,541), stadij tumora (P=0,572), status limfnih čvorova (P=0,944), histološki gradus (P=0,896), peritumorska vaskularna invazija (P=0,463), status estrogenskih receptora (P=0,698), status progesteronskih receptora (P=0,689), HER-2 status (P=0,231) i Ki-67 (P=0,961).

Tablica 3. Povezanost kliničko-patoloških faktora i različitih skupina pacijentica na temelju granične vrijednosti omjera neutrofila i limfocita (NLR)

| Kliničko-patološke značajke       | N (%)     | NLR ≤ 2,13   | NLR > 2,13   | χ <sup>2</sup> | P-vrijednost* |
|-----------------------------------|-----------|--------------|--------------|----------------|---------------|
| Dob (godine)                      | N = 192   | N = 99 (52%) | N = 93 (48%) |                |               |
| ≤ 51                              | 48 (25%)  | 18           | 30           | 5,041          | 0,025         |
| > 51                              | 144 (75%) | 81           | 63           |                |               |
| Molekularni podtip                | N = 192   | N = 99 (52%) | N = 93 (48%) |                |               |
| Luminalni tip A                   | 64 (33%)  | 35           | 29           | 3,101          | 0,541         |
| Luminalni tip B/HER-2-            | 64 (33%)  | 30           | 34           |                |               |
| Luminalni tip B/HER-2+            | 31 (16%)  | 18           | 13           |                |               |
| Neluminalni tip (HER-2+)          | 9 (5%)    | 6            | 3            |                |               |
| Bazalni tip (trostruko negativan) | 24 (13%)  | 10           | 14           |                |               |
| Stadij tumora (T stadij)          | N = 192   | N = 99 (52%) | N = 93 (48%) |                |               |

|                                   |           |              |              |       |       |
|-----------------------------------|-----------|--------------|--------------|-------|-------|
| I                                 | 125 (65%) | 61           | 64           | 1,118 | 0,572 |
| II                                | 62 (32%)  | 35           | 27           |       |       |
| III i IV                          | 5 (3%)    | 3            | 2            |       |       |
| Status limfnih čvorova (N stadij) | N = 192   | N = 99 (52%) | N = 93 (48%) |       |       |
| 0                                 | 120 (63%) | 61           | 59           | 0,380 | 0,944 |
| I                                 | 42 (22%)  | 21           | 21           |       |       |
| II                                | 23 (12%)  | 13           | 10           |       |       |
| III                               | 7 (4%)    | 4            | 3            |       |       |
| Histološki gradus                 | N = 192   | N = 99 (52%) | N = 93 (48%) |       |       |
| I                                 | 28 (15%)  | 15           | 13           | 0,219 | 0,896 |
| II                                | 101 (53%) | 53           | 48           |       |       |
| III                               | 63 (33%)  | 31           | 32           |       |       |
| Peritumorska vaskularna invazija  | N = 189** | N = 97 (51%) | N = 92 (49%) |       |       |
| Odsutna                           | 154 (81%) | 81           | 73           | 0,538 | 0,463 |
| Prisutna                          | 35 (19%)  | 16           | 19           |       |       |
| Status estrogenskih receptora     | N = 192   | N = 99 (52%) | N = 93 (48%) |       |       |
| Negativan                         | 33 (17%)  | 16           | 17           | 0,150 | 0,698 |
| Pozitivan                         | 159 (83%) | 83           | 76           |       |       |
| Status progesteronskih receptora  | N = 192   | N = 99 (52%) | N = 93 (48%) |       |       |
| Negativan                         | 50 (26%)  | 27           | 23           | 0,160 | 0,689 |
| Pozitivan                         | 142 (74%) | 72           | 70           |       |       |
| HER-2 status                      | N = 192   | N = 99 (52%) | N = 93 (48%) |       |       |
| Negativan                         | 152 (79%) | 75           | 77           | 1,433 | 0,231 |
| Pozitivan                         | 40 (21%)  | 24           | 16           |       |       |
| Ki-67 (%)                         | N = 192   | N = 99 (52%) | N = 93 (48%) |       |       |
| ≤ 14,0                            | 41 (21%)  | 21           | 20           | 0,002 | 0,961 |
| > 14,0                            | 151 (79%) | 78           | 73           |       |       |

\* Hi-kvadrat test

\*\* Isključene tri pacijentice zbog nedostatka podataka o peritumorskoj vaskularnoj invaziji

U Tablici 4. prikazana je povezanost kliničko-patoloških faktora i različitih skupina pacijentica na temelju granične vrijednosti omjera trombocita i limfocita (PLR). PLR omjer nije pokazao ovisnost prema niti jednoj kliničko-patološkoj značajki prema kojima su pacijentice bile razvrstane u skupine: dob (P=0,126), molekularni podtip (P=0,590), stadij tumora (P=0,657), status limfnih čvorova (P=0,802), histološki gradus (P=0,637), peritumorska vaskularna invazija (P=0,346), status estrogenih receptora (P=0,639), status progesteronskih receptora (P=0,594), HER-2 status (P=0,570) i Ki-67 (P=0,534).

Tablica 4. Povezanost kliničko-patoloških faktora i različitih skupina pacijentica na temelju granične vrijednosti omjera trombocita i limfocita (PLR)

| Kliničko-patološke značajke              | N (%)     | PLR ≤ 88,23  | PLR > 88,23   | χ <sup>2</sup> | P-vrijednost* |
|--|-----------|--------------|---------------|----------------|---------------|
| <b>Dob (godine)</b>                      | N = 192   | N = 19 (10%) | N = 173 (90%) |                |               |
| ≤ 51                                     | 48 (25%)  | 2            | 46            | 2,344          | 0,126         |
| > 51                                     | 144 (75%) | 17           | 127           |                |               |
| <b>Molekularni podtip</b>                | N = 192   | N = 19 (10%) | N = 173 (90%) |                |               |
| Luminalni tip A                          | 64 (33%)  | 4            | 60            | 2,810          | 0,590         |
| Luminalni tip B/HER-2-                   | 64 (33%)  | 9            | 55            |                |               |
| Luminalni tip B/HER-2+                   | 31 (16%)  | 2            | 29            |                |               |
| Neluminalni tip (HER-2+)                 | 9 (5%)    | 1            | 8             |                |               |
| Bazalni tip (trostruko negativan)        | 24 (13%)  | 3            | 21            |                |               |
| <b>Stadij tumora (T stadij)</b>          | N = 192   | N = 19 (10%) | N = 173 (90%) |                |               |
| I  | 125 (65%) | 13           | 112           | 0,841          | 0,657         |
| II                                       | 62 (32%)  | 5            | 57            |                |               |
| III i IV                                 | 5 (3%)    | 1            | 4             |                |               |
| <b>Status limfnih čvorova (N stadij)</b> | N = 192   | N = 19 (10%) | N = 173 (90%) |                |               |
| 0  | 120 (63%) | 12           | 108           | 0,998          | 0,802         |

|   |           |              |               |       |       |
|---|-----------|--------------|---------------|-------|-------|
| I                                       | 42 (22%)  | 5            | 37            |       |       |
| II                                      | 23 (12%)  | 2            | 21            |       |       |
| III                                     | 7 (4%)    | 0            | 7             |       |       |
| <b>Histološki gradus</b>                | N = 192   | N = 19 (10%) | N = 173 (90%) |       |       |
| I                                       | 28 (15%)  | 2            | 26            | 0,903 | 0,637 |
| II                                      | 101 (53%) | 9            | 92            |       |       |
| III                                     | 63 (33%)  | 8            | 55            |       |       |
| <b>Peritumorska vaskularna invazija</b> | N = 189** | N = 19 (10%) | N = 170 (90%) |       |       |
| Odsutna                                 | 154 (81%) | 17           | 137           | 0,889 | 0,346 |
| Prisutna                                | 35 (19%)  | 2            | 33            |       |       |
| <b>Status estrogenskih receptora</b>    | N = 192   | N = 19 (10%) | N = 173 (90%) |       |       |
| Negativan                               | 33 (17%)  | 4            | 29            | 0,220 | 0,639 |
| Pozitivan                               | 159 (83%) | 15           | 144           |       |       |
| <b>Status progesteronskih receptora</b> | N = 192   | N = 19 (10%) | N = 173 (90%) |       |       |
| Negativan                               | 50 (26%)  | 6            | 44            | 0,284 | 0,594 |
| Pozitivan                               | 142 (74%) | 13           | 129           |       |       |
| <b>HER-2 status</b>                     | N = 192   | N = 19 (10%) | N = 173 (90%) |       |       |
| Negativan                               | 152 (79%) | 16           | 136           | 0,324 | 0,570 |
| Pozitivan                               | 40 (21%)  | 3            | 37            |       |       |
| <b>Ki-67 (%)</b>                        | N = 192   | N = 19 (10%) | N = 173 (90%) |       |       |
| ≤ 14,0                                  | 41 (21%)  | 3            | 38            | 0,387 | 0,534 |
| > 14,0                                  | 151 (79%) | 16           | 135           |       |       |

\* Hi-kvadrat test

\*\* Isključene tri pacijentice zbog nedostatka podataka o peritumorskoj vaskularnoj invaziji

U Tablici 5. prikazana je povezanost kliničko-patoloških faktora i različitih skupina pacijentica na temelju granične vrijednosti indeksa sustavnog imunološkog-upalnog odgovora (SII). U mlađih pacijentica prevladavao je viši SII indeks (36/48, 75.0%), dok je u starijih pacijentica prevladavao niži SII indeks (93/144, 64.6%) (P<0,001). Između ostalih kliničko-patoloških značajki i SII indeksa nije nađena povezanost: molekularni podtip (p=0,248), stadij

tumora (P=0,079), status limfnih čvorova (P=0,862), histološki gradus (P=0,623), peritumorska vaskularna invazija (P=0,636), status estrogenskih receptora (P=0,715), status progesteronskih receptora (P=0,382), HER-2 status (P=0,142) i Ki-67 (P=0,227).

Tablica 5. Povezanost kliničko-patoloških faktora i različitih skupina pacijentica na temelju granične vrijednosti indeksa sustavnog imunoso-upalnog odgovora (SII)

| Kliničko-patološke značajke              | N (%)     | SII ≤ 547     | SII > 547    | χ <sup>2</sup> | P-vrijednost* |
|--|-----------|---------------|--------------|----------------|---------------|
| <b>Dob (godine)</b>                      | N = 192   | N = 105 (55%) | N = 87 (45%) |                |               |
| ≤ 51                                     | 48 (25%)  | 12            | 36           | 22,644         | < 0,001       |
| > 51                                     | 144 (75%) | 93            | 51           |                |               |
| <b>Molekularni podtip</b>                | N = 192   | N = 105 (55%) | N = 87 (45%) |                |               |
| Luminalni tip A                          | 64 (33%)  | 33            | 31           | 5,403          | 0,248         |
| Luminalni tip B/HER-2-                   | 64 (33%)  | 35            | 29           |                |               |
| Luminalni tip B/HER-2+                   | 31 (16%)  | 18            | 13           |                |               |
| Neluminalni tip (HER-2+)                 | 9 (5%)    | 8             | 1            |                |               |
| Bazalni tip (trostruko negativan)        | 24 (13%)  | 11            | 13           |                |               |
| <b>Stadij tumora (T stadij)</b>          | N = 192   | N = 105 (55%) | N = 87 (45%) |                |               |
| I  | 125 (65%) | 61            | 64           | 5,081          | 0,079         |
| II                                       | 62 (32%)  | 41            | 21           |                |               |
| III i IV                                 | 5 (3%)    | 3             | 2            |                |               |
| <b>Status limfnih čvorova (N stadij)</b> | N = 192   | N = 105 (55%) | N = 87 (45%) |                |               |
| 0  | 120 (63%) | 66            | 54           | 0,749          | 0,862         |
| I  | 42 (22%)  | 21            | 21           |                |               |
| II                                       | 23 (12%)  | 14            | 9            |                |               |
| III                                      | 7 (4%)    | 4             | 3            |                |               |
| <b>Histološki gradus</b>                 | N = 192   | N = 105 (55%) | N = 87 (45%) |                |               |
| I  | 28 (15%)  | 13            | 15           | 0,947          | 0,623         |

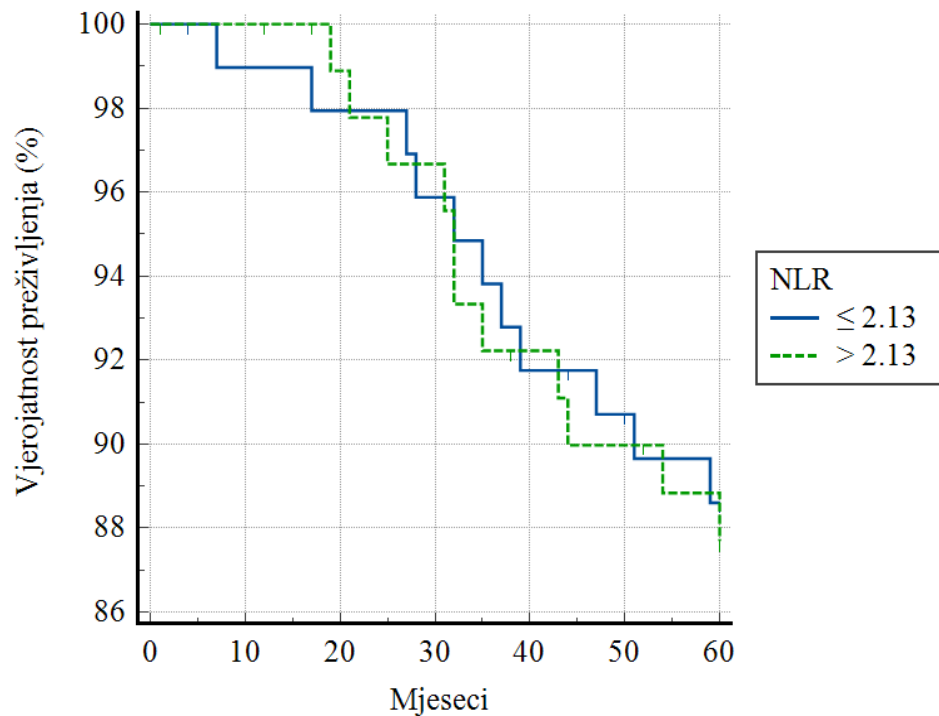
|   |           |               |              |       |       |
|---|-----------|---------------|--------------|-------|-------|
| II                                      | 101 (53%) | 56            | 45           |       |       |
| III                                     | 63 (33%)  | 36            | 27           |       |       |
| <b>Peritumorska vaskularna invazija</b> | N = 189** | N = 104 (55%) | N = 85 (45%) |       |       |
| Odsutna                                 | 154 (81%) | 86            | 68           | 0,223 | 0,636 |
| Prisutna                                | 35 (19%)  | 18            | 17           |       |       |
| <b>Status estrogenskih receptora</b>    | N = 192   | N = 105 (55%) | N = 87 (45%) |       |       |
| Negativan                               | 33 (17%)  | 19            | 14           | 0,133 | 0,715 |
| Pozitivan                               | 159 (83%) | 86            | 73           |       |       |
| <b>Status progesteronskih receptora</b> | N = 192   | N = 105 (55%) | N = 87 (45%) |       |       |
| Negativan                               | 50 (26%)  | 30            | 20           | 0,766 | 0,382 |
| Pozitivan                               | 142 (74%) | 75            | 67           |       |       |
| <b>HER-2 status</b>                     | N = 192   | N = 105 (55%) | N = 87 (45%) |       |       |
| Negativan                               | 152 (79%) | 79            | 73           | 2,157 | 0,142 |
| Pozitivan                               | 40 (21%)  | 26            | 14           |       |       |
| <b>Ki-67 (%)</b>                        | N = 192   | N = 105 (55%) | N = 87 (45%) |       |       |
| ≤ 14,0                                  | 41 (21%)  | 19            | 22           | 1,458 | 0,227 |
| > 14,0                                  | 151 (79%) | 86            | 65           |       |       |

\* Hi-kvadrat test

\*\* Isključene tri pacijentice zbog nedostatka podataka o peritumorskoj vaskularnoj invaziji

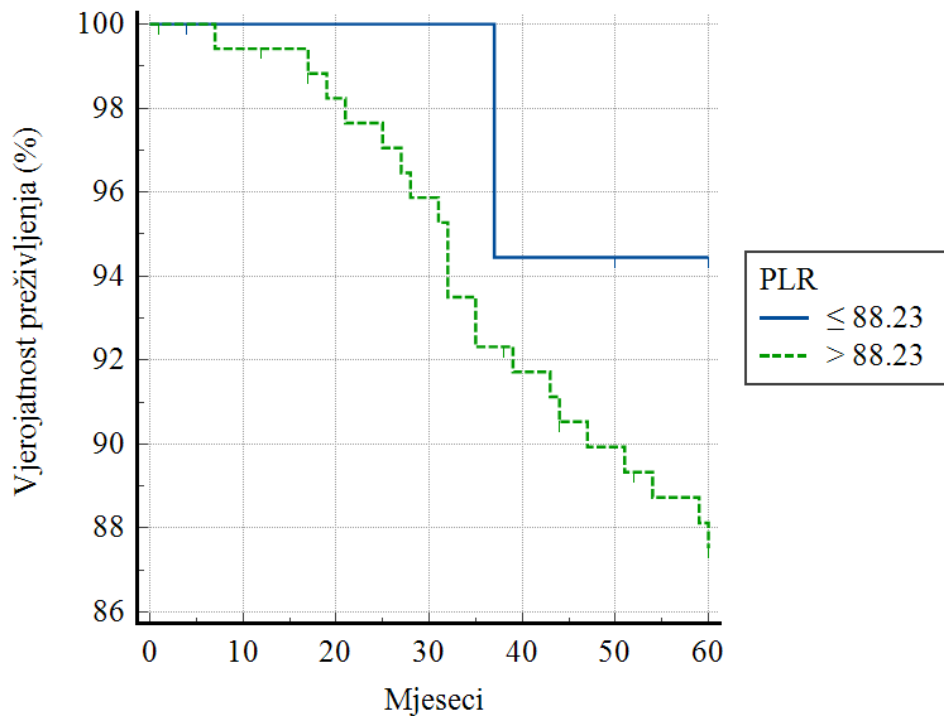


Slika 1. prikazuje Kaplan-Meier krivulju sveukupnog preživljenja skupine pacijentica s niskim i visokim NLR omjerom pri graničnoj vrijednosti 2,13. Između skupine pacijentica s niskim NLR omjerom i skupine pacijentica s visokim NLR omjerom nema značajne razlike u svukupnom preživljenju (Logrank test:  $P=0,8549$ ). Skupina pacijentica s niskim NLR omjerom pri graničnoj vrijednosti 2,13 ima vjerojatnost preživljenja oko 89%, dok skupina pacijentica s visokim NLR omjerom pri graničnoj vrijednosti 2,13 ima vjerojatnost preživljenja oko 88%.



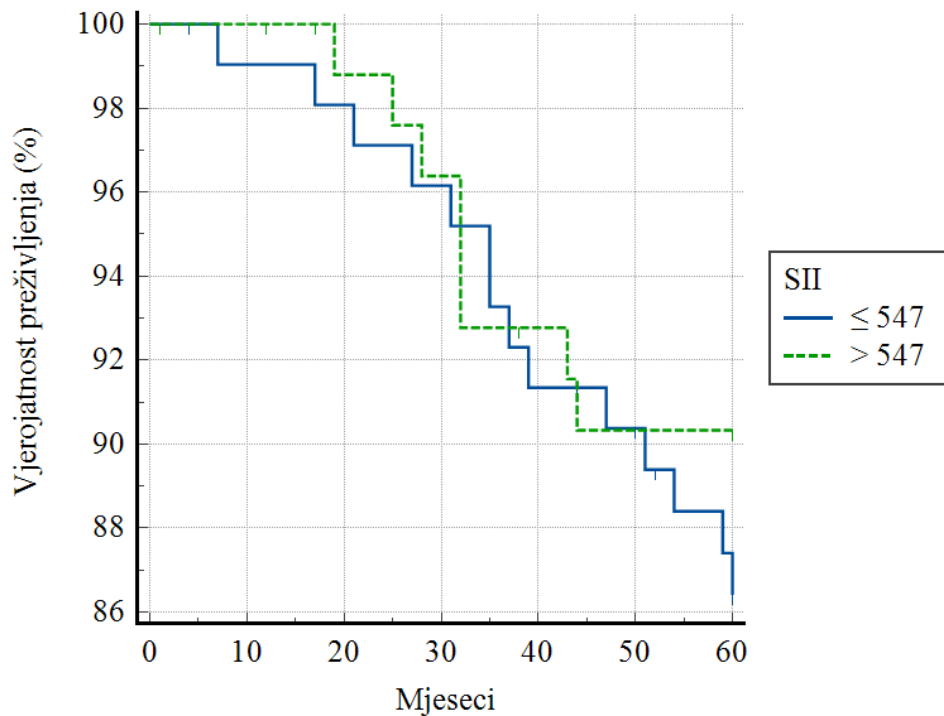
Slika 1. Kaplan-Meier krivulja sveukupnog preživljenja skupine pacijentica s niskim i visokim NLR omjerom pri graničnoj vrijednosti 2,13

Slika 2. prikazuje Kaplan-Meier krivulju sveukupnog preživljenja skupine pacijentica s niskim i visokim PLR omjerom. Između skupine pacijentica s niskim PLR omjerom i skupine pacijentica s visokim PLR omjerom prema izgledu grafa ima razlike, međutim nema statistički značajne razlike u sveukupnom preživljenju (Logrank test:  $P=0,3983$ ). Skupina pacijentica s niskim PLR omjerom ima vjerojatnost preživljenja oko 94%, dok skupina pacijentica s visokim PLR omjerom ima vjerojatnost preživljenja oko 87%.



Slika 2. Kaplan-Meier krivulja sveukupnog preživljenja skupine pacijentica s niskim i visokim PLR omjerom

Slika 3. prikazuje Kaplan-Meier krivulju sveukupnog preživljenja skupine pacijentica s niskim i visokim SII indeksom. Između skupine pacijentica s niskim SII indeksom i skupine pacijentica s visokim SII indeksom prema izgledu grafa ima male razlike, međutim nema statistički značajne razlike u sveukupnom preživljenju (Logrank test:  $P=0,4365$ ). Skupina pacijentica s niskim SII indeksom ima vjerojatnost preživljenja oko 86%, dok skupina pacijentica s visokim SII indeksom ima vjerojatnost preživljenja oko 90%.



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

U Tablici 6. prikazana je usporedba izvedenih hematoloških parametara (omjer neutrofila i limfocita – NLR, omjer trombocita i limfocita – PLR, indeks sustavnog imunosnog odgovora – SII) prije (okomite vrijednosti) i nakon (vodoravne vrijednosti) operacije. Klasifikacija pacijentica prema NLR i PLR omjerima ostala je bez promjene u trenutku prije i poslije operacije (NLR: P=0,058, PLR: P=0,146). Klasifikacije pacijentica prema SII indeksu pokazuje pad vrijednosti SII indeksa nakon operacije (P<0,001). 46 pacijentica koje su bile prije operacije klasificirane kao SII>547, nakon operacije su klasificirane u skupinu SII≤547. 44 pacijentice koje su bile prije operacije klasificirane kao SII≤547, klasificirane su i nakon operacije u skupinu SII≤547. Niti jedna pacijentica nije bila prije operacije klasificirana u skupinu SII≤547, a nakon operacije u skupinu SII>547. Također, niti jedna pacijentica nije bila klasificirana i prije i poslije operacije u skupinu SII>547.

Tablica 6. Usporedba izvedenih hematoloških parametara (NLR, PLR, SII) prije i nakon operacije ispitana McNemarovim testom

|            |             |            |            | Razlika (%) | 95% CI              | P-vrijednost* |
|------------|-------------|------------|------------|-------------|---------------------|---------------|
| <b>NLR</b> | ≤ 2,13      | > 2,13     | N (%)      | - 13,33     | - 25,73 – (- 0,94)  | 0,058         |
| ≤ 2,13     | 30          | 11         | 41 (45,6%) |             |                     |               |
| > 2,13     | 23          | 26         | 49 (54,4%) |             |                     |               |
| N (%)      | 53 (58,9%)  | 37 (41,1%) | N = 90     |             |                     |               |
| <b>PLR</b> | ≤ 88,23     | > 88,23    | N (%)      | - 6,67      | - 14,08 – 0,75      | 0,146         |
| ≤ 88,23    | 4           | 3          | 7 (7,8%)   |             |                     |               |
| > 88,23    | 9           | 74         | 83 (92,2%) |             |                     |               |
| N (%)      | 13 (14,4%)  | 77 (85,6%) | N = 90     |             |                     |               |
| <b>SII</b> | ≤ 547       | > 547      | N (%)      | - 51,11     | - 61,44 – (- 40,78) | < 0,001       |
| ≤ 547      | 44          | 0          | 44 (48,9%) |             |                     |               |
| > 547      | 46          | 0          | 46 (51,1%) |             |                     |               |
| N (%)      | 90 (100,0%) | 0 (0,0%)   | N = 90     |             |                     |               |

U Tablici 7. prikazana je usporedba NLR omjera s različitim graničnim vrijednostima prije (okomite vrijednosti) i nakon (vodoravne vrijednosti) operacije. Klasifikacija pacijentica prije i poslije opracije značajno se razlikuje ovisno o graničnim vrijednosti NLR omjera. Ukoliko se uzme 2,13 kao granična vrijednost NLR omjera nema statističke značajne razlike u

klasifikaciji pacijentica prije i poslije operacije ( $P=0,058$ ), ali pri graničnim vrijednostima 2,65 i 3,30 postoje statističke značajne razlike.

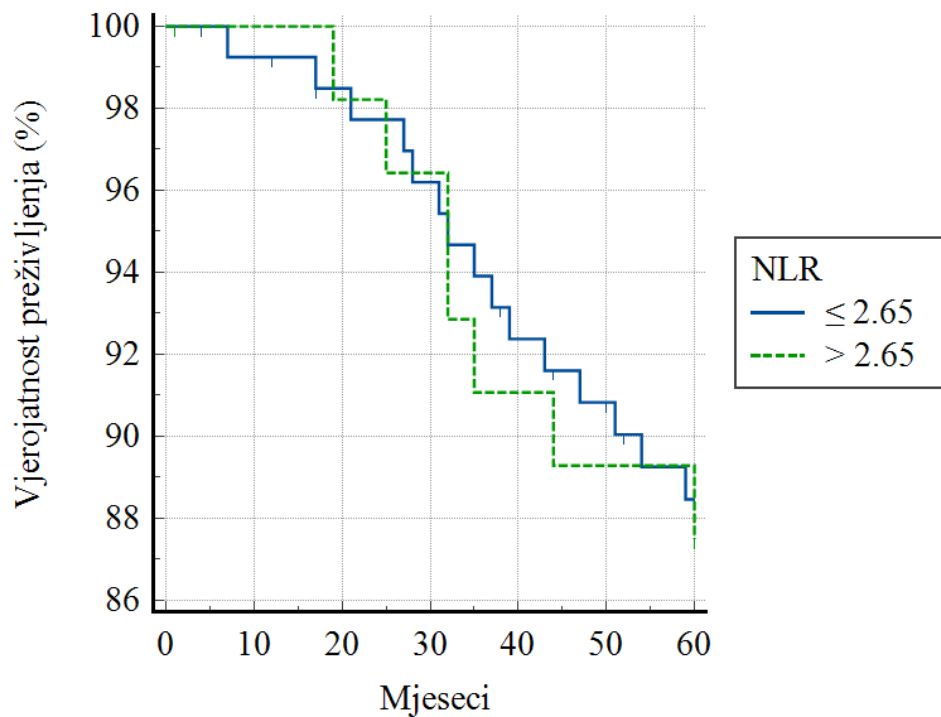
Ukoliko se uzme 2,65 kao granična vrijednost NLR omjera postoji tendencija pada vrijednosti NLR omjera nakon operacije ( $P=0,001$ ). Od 54 pacijentica koje su prije operacije bile klasificirane kao  $NLR \leq 2,65$  njih 50 je i nakon operacije klasificirano kao  $NLR \leq 2,65$ , a samo njih 4 je imalo porast NLR omjera ( $NLR > 2,65$ ). Od 36 pacijentica koje su prije operacije bile klasificirane kao  $NLR > 2,65$  čak 21 pacijentica je nakon operacije klasificirana kao  $NLR \leq 2,65$ , a 15 pacijentica je i nakon operacije klasificirano kao  $NLR > 2,65$ .

Ukoliko se uzme 3,30 kao granična vrijednost NLR omjera postoji još veća tendencija pada vrijednosti NLR omjera nakon operacije ( $P < 0,001$ ). Od 68 pacijentica koje su prije operacije bile klasificirane kao  $NLR \leq 3,30$  njih 67 je i nakon operacije klasificirano kao  $NLR \leq 3,30$ , a samo jedna je imala porast NLR omjera ( $NLR > 3,30$ ). Od 22 pacijentica koje su prije operacije bile klasificirane kao  $NLR > 3,30$ , čak 17 pacijentica je nakon operacije klasificirano kao  $NLR \leq 3,30$ , a samo 5 pacijentica je i nakon operacije klasificirano kao  $NLR > 3,30$ .

Tablica 7. Usporedba NLR-omjera s različitim graničnim vrijednostima prije i nakon operacije ispitana McNemarovim testom

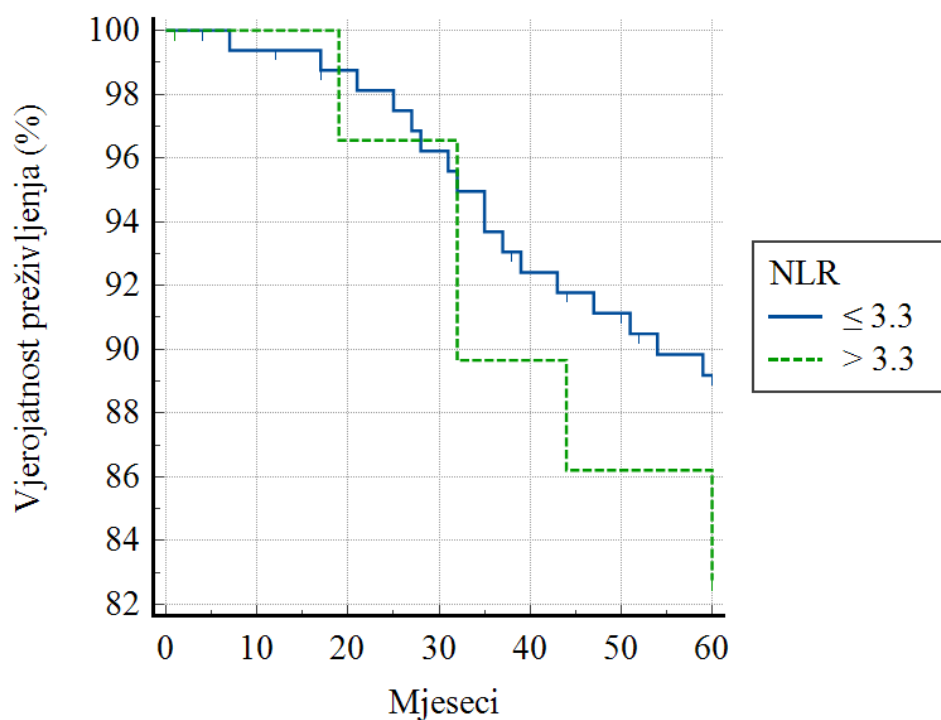
|             |             |            |            | Razlika (%) | 95% CI            | P-vrijednost* |
|-------------|-------------|------------|------------|-------------|-------------------|---------------|
| NLR         | $\leq 2,13$ | $> 2,13$   | N (%)      | - 13,33     | - 25,73 – (-0,94) | 0,058         |
| $\leq 2,13$ | 30          | 11         | 41 (45,6%) |             |                   |               |
| $> 2,13$    | 23          | 26         | 49 (54,4%) |             |                   |               |
| N (%)       | 53 (58,9%)  | 37 (41,1%) | N = 90     |             |                   |               |
| NLR         | $\leq 2,65$ | $> 2,65$   | N (%)      | - 18,89     | - 29,05 – (-8,72) | 0,001         |
| $\leq 2,65$ | 50          | 4          | 54 (60,0%) |             |                   |               |
| $> 2,65$    | 21          | 15         | 36 (40,0%) |             |                   |               |
| N (%)       | 71 (78,9%)  | 19 (21,1%) | N = 90     |             |                   |               |
| NLR         | $\leq 3,30$ | $> 3,30$   | N (%)      | - 17,78     | - 26,26 – (-9,30) | $< 0,001$     |
| $\leq 3,30$ | 67          | 1          | 68 (75,6%) |             |                   |               |
| $> 3,30$    | 17          | 5          | 22 (24,4%) |             |                   |               |
| N (%)       | 84 (93,3%)  | 6 (6,7%)   | N = 90     |             |                   |               |

Slika 4. prikazuje Kaplan-Meier krivulju sveukupnog preživljenja skupine pacijentica s niskim i visokim NLR omjerom pri graničnoj vrijednosti od 2,65. Između skupine pacijentica s niskim NLR omjerom i skupine pacijentica s visokim NLR omjerom nema značajne razlike u sveukupnom preživljenju (Logrank test:  $P=0,8507$ ). Skupina pacijentica s niskim NLR omjerom pri graničnoj vrijednosti od 2,65 ima vjerojatnost preživljenja oko 89%, dok skupina pacijentica s visokim NLR omjerom pri graničnoj vrijednosti 2,65 ima vjerojatnost preživljenja oko 87%.



Slika 4. Kaplan-Meier krivulja sveukupnog preživljenja skupine pacijentica s niskim i visokim NLR omjerom pri graničnoj vrijednosti 2,65

Slika 5. prikazuje Kaplan-Meier krivulju sveukupnog preživljenja skupine pacijentica s niskim i visokim NLR omjerom pri graničnoj vrijednosti od 3,30. Između skupine pacijentica s niskim NLR omjerom i skupine pacijentica s visokim NLR omjerom pri graničnoj vrijednosti 3,30 prema izgledu grafa ima male razlike, međutim nema statistički značajne razlike u sveukupnom preživljenju (Logrank test:  $P=0,3321$ ). Skupina pacijentica s niskim NLR omjerom pri graničnoj vrijednosti 3,30 ima vjerojatnost preživljenja oko 89%, dok skupina pacijentica s visokim NLR omjerom pri graničnoj vrijednosti 3,30 ima vjerojatnost preživljenja oko 82%.



Slika 5. Kaplan-Meier krivulja sveukupnog preživljenja skupine pacijentica s niskim i visokim NLR omjerom pri graničnoj vrijednosti 3,30

## 4.2 Rasprava

Karcinom se često definira kao kronično upalno stanje zahvaćenog tkiva, koje obiluje imunosnim stanicama. Kao i kod drugih upalnih reakcija, postoje faktori koji pridonose napredovanju i rastu upale, tj. karcinoma, a s druge strane postoje faktori koji se tome odupiru i sprječavaju širenje patoloških promjena. Preslika upalne reakcije, njezinih sudionika i poremećene ravnoteže jasno je vidljiva u pretragama KKS i DKS – kompletna i diferencijalna krvna slika. Neutrofili su vrsta leukocita koja obiluje granulama različitog sadržaja. Prisutnost i aktivnost neutrofila dovodi do oslobađanja enzima (poput metaloproteinaza, elastaza, kolagenaza), čimbenika rasta (npr. VEGF, engl. *vascular endothelial growth factor*) te slobodnih kisikovih radikala, što sve dovodi do remodeliranja matriksa, a time do rasta i razvoja primarnog karcinoma, angiogeneze te metastaziranja i na udaljenija sekundarna mjesta u organizmu (Walz i Cayabyab, 2017; Tan i sur., 2013; Queen i sur., 2005). S druge strane upalne reakcije nalaze se limfociti, koji čine tumor-specifični imunosni odgovor (Chen i sur., 2020). Limfociti posjeduju nekoliko mehanizma kojima nastoje zaustaviti širenje i uništiti karcinom. Jedan način poticanja apoptoze jest lučenje interleukina (IL-6, IL-8 i IL-17) kojima je inhibiran daljnji rast tumorskih stanica (Kuang i sur., 2011; Waugh i Wilson, 2008). Sljedeća dva mehanizma uništavanja tumorskih stanica djeluju preko CD8<sup>+</sup> citotoksičnih limfocita. Prema literaturi, u prvom načinu djelovanja, CD8<sup>+</sup> citotoksični limfociti potiču apoptozu lučenjem proteina perforina i granzima. Perforini narušavaju strukturu membrane tumorske stanice te omogućuju ulazak međustanične tekućine, dok su granzimi po funkciji serinske proteaze i cijepaju razne proteine u tumorskim stanicama te mogu dodatno aktivirati kaspaze. Drugi način djelovanja CD8<sup>+</sup> citotoksičnih limfocita odvija se putem CD95 ili Fas receptora koji je široko rasprostranjen. CD95L, ligand na citotoksičnom limfocitu T, stupa u interakciju s CD95 receptorom na tumorskoj stanici i opet pokreće aktivnost kaspaza koje dovode do apoptoze tumorskih stanica (Abbas i sur., 2018).

Važnu ulogu u imunosnom odgovoru osim različitih skupina leukocita imaju i trombociti. Pod utjecajem različitih signalnih molekula tumorskih stanica dolazi do povećane trombopojeze u koštanoj srži koja dovodi do trombocitoze u krvotoku. Uslijed povećanog broja cirkulirajućih trombocita povećan je rizik za diseminiranu intravaskularnu koagulaciju. Svojom fiziološkom ulogom popravka oštećenog endotela krvnih žila mogu imati dvojaki utjecaj: zaustaviti ili potpomognuti širenje tumorskih stanica. Vazokonstrikcija, stvaranje ugruška i poticanje upalnog odgovora suprotstavljaju se karcinogenezi. Međutim, remodeliranje matriksa, pojačana ekspresija adhezijskih receptora te lučenja kemokina i citokina doprinose lakšem prodiranju tumorskih stanica u međustanični prostor i krvotok, a samim time pogoduju



karcinogenezi i metastaziranju. Osim toga dolazi do formiranja ugrušaka između tumorskih stanica i trombocita koji olakšavaju preživljavanje tumorskih stanica u krvotoku (Fidler, 2003).

Na Klinici za tumore KBC Sestre milosrdnice u Zagrebu određivanjem molekularnog podtipa karcinoma dojke, pacijenticama je utvrđena raspodjela molekularnih podtipova koja odgovara udjelima u literaturi. Karcinom dojke luminalnog tipa A prisutan je kod jedne trećine pacijentica, dok je karcinom dojke luminalnog tipa B s negativnim HER-2 statusom prisutan kod druge trećine pacijentica. 16% pacijentica boluje od karcinoma dojke luminalnog tipa B s pozitivnim HER-2 statusom, a svega 5% pacijentica ima neluminalni tip s pozitivnim HER-2 statusom. Trostruko negativni karcinom dojke, molekularni podtip s jednom od najlošijih prognoza, zbog nemogućnost niti hormonalnog niti ciljanog liječenja na HER-2 receptore te učestalosti pojave kod mlađih žena, ima čak 13% pacijentica.

Statističkom obradom podataka o stadiju tumora i statusu limfnih čvorova pacijentica na Klinici za tumor KBC Sestre milosrdnice u Zagrebu između ostaloga neizravno je potvrđena uspješnost populacijskog probira u Republici Hrvatskoj. Više od polovice pacijentica (N=125, 65%) imalo je karcinom dojke u prvom stadiju tumora, a samo 5 pacijentica (3%) bolovalo je od trećeg ili četvrtog stadija tumora. Tome u prilog ide i činjenica da su skoro dvije trećine pacijentica (N=120, 63%) imale negativan status limfnih čvorova, a manje od 20% pacijentica (II: N=23, 12%; III: N=7, 4%) imale opsežnije zahvaćene regionalne limfne čvorove tumorskim stanicama. Iako bi se prema stadiju tumora i statusu limfnih čvorova očekivao i niži histološki gradus, tj. nalikovanje tumorskih stanica što sličnije fiziološki zdravim, diferenciranim stanicama tkiva dojke, to u ispitivanih pacijentica nije slučaj. Malo više od polovice pacijentica (N=101, 53%) imalo je karcinom dojke drugog histološkog gradusa, a jedna trećina pacijentica bolovala je od karcinoma dojke trećeg histološkog gradusa (N=63, 33%). Visoki stupnjevi histološkog gradusa govore nam o zloćudnosti i slaboj diferenciranosti samih tumorskih stanica, što znatno otežava liječenje i smanjuje izgleda na dobru prognozu i potpunu remisiju.

Omjer neutrofila i limfocita (NLR) dokazao se kao jeftin, lako dobavljen i prognostički koristan biljeg u raznim upalnim bolestima te karcinomima raznih tkiva i organa. Obuhvaća dvije najznačajnije i najbrojnije skupine leukocita koje sudjeluju u tumorogenezi u svim fazama od rasta i razvoja, preko invazije u okolno tkivo pa sve do metastaziranja, ali i imunosnom odgovoru protiv karcinoma. Na Klinici za tumore se više od 2 godine u dogovoru s liječnicima specijalistima anesteziologije, reanimacije i intenzivnog liječenja koristi NLR omjer u praćenju pacijenata nakon operacijskog zahvata. Više puta se zahvaljujući, između ostaloga, povišenju

vrijednosti NLR omjera (koji je dobavljiv u kratkom TAT-u, engl. *turnaround time*) pravovremeno reagiralo te je inicirana reoperacija ili promjena antibiotske terapije. Na osnovu iskustva stečenog prilikom praćenja sličnih primjera i nakon pregleda stručne literature, utvrđeno je kako većina znanstvenih radova NLR omjer razmatra samo kao prediktivni biljeg prije kemoterapije u pacijentica s karcinomom dojke. U ovom radu istražena je prediktivna značajnost NLR omjera u pacijentica s karcinom dojke uoči operacije na Klinici za tumore KBC Sestre milosrdnice u Zagrebu.

Prediktivna značajnost NLR omjera dokazana je u pacijenata s hepatocelularnim karcinomom (Mouchli i sur., 2020) i karcinomom pluća (Ozyurek i sur., 2017; Cedrés i sur., 2012). Mouchli i sur. (2020) pokazali su ne samo ovisnost ishoda liječenja i sveukupnog preživljenja u pacijenata s hepatocelularnim karcinomom s vrijednostima NLR omjera, već je pronađena i ovisnost vrijednosti NLR omjera i raširenosti tumora, peritumorske vaskularne invazije, povišenih koncentracija  $\alpha$ -fetoproteina, ciroze i prisutnosti S-antigena hepatitisa B. Time su potvrdili neupitnu vrijednost i važnost uvrštavanja NLR omjera u dijagnostiku i praćenje terapije hepatocelularnog karcinoma (Mouchli i sur., 2020). Cedrés i sur. (2012) dokazali su da pacijenti koji boluju od karcinoma pluća nemalih stanica s NLR omjerom  $<5$  imaju skoro dvostruko duže sveukupno preživljenje u odnosu na pacijente s NLR omjerom  $\geq 5$  (11,1 mjeseci vs. 5,6 mjeseca,  $P=0,017$ ). Ozyurek i sur. (2017) došli su do sličnog zaključka, ali s nižim graničnim vrijednostima NLR omjera: pacijenti s karcinomom pluća nemalih stanica s NLR omjerom  $<3$  imali su median sveukupnog preživljenja od 31,1 mjeseci, za razliku od pacijenata s NLR omjerom  $\geq 3$  čiji je median sveukupnog preživljenja iznosio 18 mjeseci ( $P=0,003$ ).

Deskriptivnom statistikom podataka prikupljenih o pacijenticama na Klinici za tumore KBC Sestre milosrdnice u Zagrebu dokazano je odstupanje vrijednosti NLR omjera od normalne distribucije ( $P<0,005$ ), što nije začuđujuće s obzirom da niti apsolutni broj leukocita ( $P=0,012$ ), niti apsolutni broj neutrofila ( $P<0,001$ ) ne slijede normalnu distribuciju. Hi-kvadrat testom utvrđena je povezanost između dobi pacijentice i NLR omjera: starije pacijentice (81/144, 56%) su imale niže vrijednosti NLR omjera u odnosu na mlađe pacijentice (18/48, 38%) ( $P=0,025$ ). Povezanost NLR omjera i dobi pacijentice usklađeno je s istraživanjem Huszno i Kolosza (2019) – mlađe pacijentice imale su više vrijednosti NLR omjera ( $NLR>2,65$  pri medianu dobi 47,7 vs. 53,5 godina;  $P=0,021$ ). Pošto se karcinom smatra trajno upalnim stanjem zahvaćenog tkiva, očekivala bi se povezanost stadija tumora, statusa limfnih čvorova i histološkog gradusa s NLR omjerom. Međutim, pacijentice s istim stadijem tumora, istog statusa limfnih čvorova te istog histološkog gradusa imale su podjednako niske i visoke

vrijednosti NLR omjera (stadij tumora  $P=0,572$ ; status limfnih čvorova  $P=0,944$ ; histološki gradus  $P=0,896$ ).

Istraživanje Jiang i sur. (2020) je izabrano za postavljanje kriterija graničnih vrijednosti u prvom redu radi sličnosti dizajna (u odnosu na uključene pacijentice) s provedenim istraživanjem u sklopu ovog rada. Premda je u Jiang-ovo istraživanje uključen veći broj pacijentica ( $N=249$ ), ovo istraživanje ima komparativnu prednost. Riječ je o činjenici da se tijekom istraživanja raspolagalo s podacima dobivenim iz dvije vremenske točke uzorkovanja: prije operacije i prije tretmana kemoterapije, tj. poslije operacije. Jiang i sur. razmatrali su samo utjecaj NLR omjera prije početka kemoterapije, dok je u ovom radu proučavana prediktivna vrijednost NLR omjera i prije operacije i prije početka kemoterapije. Iz prikupljenih podataka o pacijenticama uključenim u istraživanje utvrđena je značajna statistička ovisnost NLR omjera prema dobi pacijentica: mlađe pacijentice su imale više NLR omjere u odnosu na starije pacijentice ( $P=0,025$ ). Za razliku od dobivenih podataka tijekom ovog istraživanja, Jiang i sur. utvrdili su značajnu statističku povezanost između NLR omjera i HER-2 statusa: niži NLR omjer u pacijentica s negativnim HER-2 statusom ( $P=0,027$ ). Dok ovim radom nije utvrđena značajna statistička razlika u sveukupnom preživljenju različitih skupina pacijentica ( $P=0,8549$ ), Jiang i sur. su dokazali značajno duže sveukupno preživljenje u pacijentica s nižim NLR omjerom: 64 vs. 50 mjeseci ( $P\leq 0,001$ ) (Jiang i sur., 2020).

Cupp i sur. (2020) napravili su pregledni rad u kojem su obuhvatili 204 meta-analiza iz 86 istraživanja u vremenskom periodu od samog početka istraživanja i primjene NLR omjera do 29. svibnja 2020. godine koja su tražila povezanost NLR omjera ili TAN-a (engl. *tumour-associated neutrophils*) s ishodom liječenja karcinoma. Heterogenost između različitih istraživanja značajno je otežala i djelomično onemogućila izravnu usporedivost rezultata i zaključaka. Od 156 meta-analiza koje su objavile podatke o graničnim vrijednostima NLR omjera, njih 97 (62%) pokazalo je pozitivnu ovisnost NLR omjera i veličine učinka, ali samo 14 (11%) i statističku značajnost. Preostalih 59 meta-analiza pokazalo je negativnu ovisnost NLR omjer i veličine učinka, ali opet samo 3 (5%) pokazuju i statističku značajnost. Cupp i sur. zatim su napravili pregled povezanosti NLR omjera i ishoda liječenja karcinoma u ovisnosti o razini dokaza. Podijelili su ispitivane meta-analize s obzirom na jaku, vrlo sugestivnu, sugestivnu i slabu razinu dokaza. Visoku razinu dokaza za ovisnost NLR omjera i lošije prognoze liječenja imalo je 18 meta-analiza (9%) kod karcinoma mjehura, nazofaringsa, prostate, endometrija i sarkoma. Vrlo sugestivnu razinu dokaza za ovisnost povišenog NLR omjera i lošije prognoze liječenja imale su 42 meta-analize (21%) kod karcinoma želuca, kolona, gušterače, maternice, jajnika, dojke, jetre i bilijarnog trakta, pluća, glave i vrata,

bubrega i mokraćnog sustava te kronične mijeloične leukemije. Sugestivnu razinu dokaza za ovisnost visokog NLR omjera i lošije prognoze liječenja karcinoma imala je 51 meta-analiza (25%). Cupp i sur. preporučili su daljnja istraživanja o ovisnosti NLR omjera i sveukupnog preživljenja te preživljenja bez progresije bolesti u raznim karcinomima na temelju jake razine dokaza povezanosti tih faktora u kolorektalnom karcinomu (Cupp i sur., 2020). Međutim, Kaplan-Meier krivulja sveukupnog preživljenja pacijentica s karcinomom dojke na Klinici za tumore KBC Sestre milosrdnice u Zagrebu prema skupinama s niskim i visokim NLR omjerom (Slika 1.) opovrgava zaključke Cupp i sur. (2020). Naime, niti grafički, niti numerički (niski NLR: 89% vs. visoki NLR: 88% preživljenja), niti statistički ( $P=0,8549$ ) nije ustanovljena razlika u sveukupnom preživljenju ispitivanih pacijentica s obzirom na vrijednosti NLR omjera.

Uspoređujući rezultate literature o prediktivnoj vrijednosti NLR omjera i vrijednosti NLR omjera dobivenih na Klinici za tumore KBC Sestre milosrdnice u Zagrebu, odlučeno je proširiti istraživanje za dvije dodatne granične vrijednosti NLR omjera. Koristeći graničnu vrijednost od 2,65 za NLR omjer prema istraživanju Huszno i Kolosza (2019) izrađena je dodatna Kaplan-Meier krivulja sveukupnog preživljenja skupina pacijentica s niskim i visokim NLR omjerom – i dalje nije utvrđena statistički značajna razlika ( $P=0,8507$ ). Primjenom nove granične vrijednosti od 2,65 za NLR omjer u Tablici 7., tj. pri usporedbi vrijednosti NLR omjera prije i poslije operacije, utvrđena je statistički značajna promjena ( $P=0,001$ ). Čak 21 pacijentica, koja je prije operacije bila uvrštena u skupinu visokih vrijednosti NLR omjera ( $NLR>2,65$ ), vrijednosti NLR omjera su pale i ona je nakon operacije uvrštena u skupinu pacijentica s niskim vrijednostima NLR omjera ( $NLR\leq 2,65$ ). Koristeći graničnu vrijednost od 3,30 za NLR omjer prema istraživanjima Forgeta i sur. (2014) te Hernandezza i sur. (2017) također je izrađena dodatna Kaplan-Meier krivulja sveukupnog preživljenja skupina pacijentica s niskim i visokim NLR omjerom. Međutim, niti pri graničnoj vrijednosti od 3,30 nije utvrđena statistička značajna razlika u Kaplan-Meier krivulji sveukupnog preživljenja skupina pacijentica s niskim i visokim NLR omjerom ( $P=0,3321$ ). Primjenom nove granične vrijednosti od 3,30 za NLR omjer u Tablici 7., tj. pri usporedbi vrijednosti NLR omjera prije i poslije operacije, utvrđena je statistički značajna promjena ( $P<0,001$ ). Od 22 pacijentica koje su prije operacije bile klasificirane u skupinu visokih vrijednosti NLR omjera ( $NLR>3,30$ ), čak 17 pacijentica je nakon operacije klasificirano u skupinu niskih vrijednosti NLR omjera ( $NLR\leq 3,30$ ).

Azab i sur. (2012) su u svojem istraživanju ispitivali korisnost NLR omjera u predikciji kratkotrajnog i dugotrajnog preživljenja u pacijentica s karcinomom dojke. Velik broj uključenih pacijentica omogućio im je statističku podjelu na kvartile s obzirom na vrijednosti NLR omjera: prvi kvartil  $NLR<1,80$ ; drugi kvartil  $1,80\leq NLR<2,45$ ; treći kvartil

$2,45 \leq \text{NLR} < 3,33$ ; četvrti kvartil  $3,33 \leq \text{NLR}$ . Različite granične vrijednosti ovisno o kvartilu podudaraju se s dobivenim različitim graničnim vrijednostima u Tablici 7.: 1.  $\text{NLR}=2,13$ ; 2.  $\text{NLR}=2,65$ ; 3.  $\text{NLR}=3,30$ . Azab i sur. utvrdili su kraće 1-, 2- i 5-godišnje preživljenje u skupini pacijentica četvrtog kvartila u odnosu na niža tri kvartila ( $P < 0,0001$ ), ali se niža tri kvartila NLR omjera nisu statistički značajno razlikovali međusobno u preživljenju. Time su dokazali kako je NLR omjer neovisan i pouzdan prognostički biljeg pri graničnoj vrijednosti od 3,13 ( $P=0,01$ ) ili 4,09 ( $P=0,002$ ) (Azab i sur., 2012). Pitanje strogosti kriterija graničnih vrijednosti NLR omjera u odnosu na dijagnostičku osjetljivost i dijagnostičku specifičnost dovodi do zaključka kako je srednja ispitivana vrijednost od 2,65 optimalna granična vrijednost NLR omjera ( $P=0,001$ ).

Omjer trombocita i limfocita (PLR) se kao i NLR omjer dokazao kao jeftin, lako dobavljiv i prognostički koristan biljeg u raznim upalnim bolestima te karcinomima raznih tkiva i organa. PLR omjer obuhvaća trombocite koji imaju dvojak ulogu u tumorogenezi i metastaziranju te limfocite koji su usmjereni na uništenje tumorskih stanica. U praćenju ishoda liječenja karcinoma dojke neoadjuvantnom kemoterapijom PLR omjer se pokazao kao koristan biljeg (Cuello-Lopez i sur., 2018). Štoviše, i druge studije na pacijenticama s karcinomom dojke potvrdile su povezanost PLR omjera i imunskog odgovora – više vrijednosti PLR omjera povezane su s burnijom imunskom reakcijom i lošijim ishodom liječenja (Durhan i sur., 2018; Liu i sur., 2016; Krenn-Pilko i sur., 2014). Dok istraživanje Azab i sur. (2013) NLR omjer smatra bojim u predviđanju dugoročnog preživljenja u pacijentica s karcinomom dojke, uz objašnjenje kako neutrofili više pridonose tumorogenezi nego li trombociti, istraživanje Cho i sur. (2018) izdignulo je PLR omjer iznad NLR omjera kao prognostičkog biljega u praćenju ishoda liječenja karcinoma dojke. Huszno i Kolosza (2019) iznjeli su NLR omjer i PLR omjer kao podjednako dobre prognostičke biljege u procjeni sveukupnog preživljenja za pacijentice s karcinomom dojke, napose ukoliko je riječ o trostruko negativnom karcinomu i karcinomu s negativnim statusom estrogenskih receptora ili karcinomu s višim histološkim gradusom.

Deskriptivnom statistikom podataka prikupljenih o pacijenticama na Klinici za tumore KBC Sestre milosrdnice u Zagrebu dokazano je odstupanje vrijednosti PLR omjera od normalne distribucije ( $P=0,002$ ). Iako apsolutni broj trombocita slijedi normalnu distribuciju prema Kolmogorov-Smirnovom testu normalnosti distribucije ( $P > 0,100$ ), apsolutni broj leukocita odstupa od normalne distribucije ( $P < 0,001$ ). Hi-kvadrat testom nije utvrđena niti jedna povezanost vrijednosti PLR omjera i kliničko-patoloških faktora (Tablica 4.). Kaplan-Meier krivulja sveukupnog preživljenja skupine pacijentica s niskim i visokim PLR omjerom

(Slika 2.), iako statistički nema značajne razlike ( $P=0,3983$ ), jasno očitava razlike u krivuljama preživljenja. Pacijentice s vrijednostima PLR omjera  $\leq 88,23$  imaju vjerojatnost preživljenja oko 94%, dok pacijentice s vrijednostima PLR omjera  $> 88,23$  imaju vjerojatnost preživljenja od 87%. Istraživanje Ma i sur. (2021) podudara se u zaključcima s ovim istraživanjem, naime nije utvrđena nikakva statistički značajna povezanost PLR omjera i kliničko-patoloških faktora, međutim, kod njih postoji statistički značajna razlika u trajanju razdoblja remisije do pojave recidiva bolesti između pacijentica s obzirom na vrijednosti PLR omjera. Pacijentice s karcinomom dojke koje su imale više vrijednosti PLR omjera ( $PLR > 135$ ) ranije su imale pojavu recidiva u odnosu na pacijentice s nižim vrijednostima PLR omjera ( $PLR \leq 135$ ;  $P < 0,001$ ) (Ma i sur., 2021). Povezanost visokih vrijednosti PLR omjera i lošije prognoze, tj. ranije pojave recidiva bolesti utvrđena je i u preglednom radu Guo i sur. (2019). Od ukupno 39 obuhvaćenih istraživanja ( $N=17079$ ) njih 12 izvjestilo je o lošijoj prognozi tijeka bolesti i kraćem sveukupnom preživljenju ukoliko su pacijentice imale visoke vrijednosti PLR omjera ( $P=0,002$ ). Drugih 11 istraživanja ukazalo je na povezanost PLR omjera i vremenskog razdoblja do pojave recidiva te je također utvrđena negativna povezanost – više vrijednosti PLR omjera upućuju na kraće razdoblje remisije ( $P=0,009$ ) (Guo i sur., 2019).

U istraživanju na 105 pacijentica s karcinomom dojke pronađena je statistički značajna povezanost PLR omjera sa sljedećim kliničko-patološkim faktorima: stadijem tumora ( $P=0,001$ ), statusom metastaza ( $P=0,003$ ), kliničkim stadijem ( $P=0,004$ ), statusom estrogenskih receptora ( $P=0,007$ ) te molekularnim podtipom ( $P=0,002$ ). Međutim, nije utvrđena statistički značajna povezanosti između vrijednosti PLR omjera i statusa limfnih čvorova, histološkog gradusa, statusa progesteronskih receptora i indeksa proliferacije Ki-67 (Wiranata i sur., 2019). S druge strane su čak dva istraživanja na ukupno 169 pacijentica s karcinomom dojke potvrdila statistički značajnu povezanost vrijednosti PLR omjera i statusa limfnih čvorova (Shilpa i sur., 2020; Seretis i sur., 2012). Shilpa i sur. (2020) su utvrdili značajne više vrijednosti PLR omjera u pacijentica s uznapredovanim stadijem karcinoma i prisutnim metastazama u odnosu na pacijentice s nižim stadijima karcinoma dojke: prvi stadij tumora  $PLR=90,84 \pm 35,33$ ; drugi stadij tumora  $PLR=107,60 \pm 42,06$ ; treći stadij tumora  $PLR=146,72 \pm 40,36$ ; četvrti stadij tumora  $PLR=150,30 \pm 50,36$ . Zaključili su kako se na temelju vrijednosti pre-terapijskog PLR omjera može posumnjati na zahvaćenost limfnih čvorova te predvidjeti lošiju prognozu bolesti i veću smrtnost (Shilpa i sur., 2020). Seretis i sur. (2012) u svom su istraživanju dokazali statistički značajnu povezanost i prednost PLR omjera u odnosu na NLR omjer po pitanju zahvaćenosti limfnih čvorova. Pacijentice kojima limfni čvorovi nisu bili zahvaćeni tumorskim stanicama imale su vrijednosti PLR omjera između 100 i 160, dok su vrijednosti PLR omjera pacijentica

sa zahvaćenim limfnim čvorovima iznosile između 185 i 225. Zaključili su kako je time jasno dokazana ključna uloga trombocita u širenju karcinoma i metastaziranju (Seretis i sur., 2012). Vrijednosti PLR omjera pacijentica na Klinici za tumore KBC Sestre milosrdnice u Zagrebu ne podupiru navedena istraživanja – nije utvrđena statistički značajna povezanost PLR omjera niti sa stadijem tumora ( $P=0,657$ ), niti sa statusom limfnih čvorova ( $P=0,802$ ), niti sa peritumorskom vaskularnom invazijom ( $P=0,346$ ). To se dijelom može pripisati razlici u dizajnu istraživanja, broju i dobi uključenih pacijentica, zastupljenosti stadija tumora i histološkom gradusu karcinoma dojke pacijentica na Klinici za tumore KBC Sestre milosrdnice u Zagrebu.

Indeks sustavnog imunosno-upalnog odgovora (SII) noviji je biljeg u kliničko-onkološkom svijetu i tek se dokazuje kao dobar ili čak bolji prognostički biljeg u odnosu na NLR omjer i PLR omjer. Kao i prethodna dva izvedena parametra, SII indeks se izračunava iz vrijednosti KKS i DKS nalaza dobivenih na hematološkom analizatoru. Pošto je način izračuna sličan i SII indeks se također može definirati kao jeftin, lako dobavljiv i prognostički koristan biljeg. U odnosu na NLR i PLR omjer, SII indeks sadrži čak tri ključne komponente imunosnog odgovora na tumorogenezu. U brojniku SII indeksa nalaze se apsolutni broj neutrofila i broj trombocita koji sačinjavaju komponente imunosnog sustava koje direktno i indirektno potpomažu rastu i širenju karcinoma, dok se u nazivniku SII indeksa nalazi apsolutni broj limfocita koji je skupina leukocita usmjerena na uništenje karcinoma i sprječavanju njegovog širenja. Takvim izračunom SII indeks objedinjuje NLR omjer i PLR omjer u jedan sveobuhvatni izvedeni hematološki parametar. Uzimajući u obzir činjenicu da je tek nekoliko godina u upotrebi, ne čudi činjenica relativno malog broja istraživanja SII indeksa kod pacijentica s karcinomom dojke.

Iako je riječ o novom prognostičkom biljegu za praćenje vremenskog perioda remisije i procjenu sveukupnog preživljenja, SII indeks se već pokazao kao dobar prognostički biljeg u nekolicini vrsta karcinoma. Liu i sur. (2019) uspoređivali su NLR omjer, PLR omjer i SII indeks kod pacijenata s metastatskim karcinomom pluća nemalih stanica. Granična vrijednost za SII indeks iznosila je 603,5 te je utvrđeno kako pacijenti s niskim SII indeksom prije početka liječenja imaju znatno dulje sveukupno preživljenje i vremenski period remisije prije pojave recidiva u odnosu na pacijente s visokim SII indeksom prije početka liječenja: sveukupno preživljenje 19,8 mjeseci vs. 8,9 mjeseca,  $P=0,005$ ; vremenski period remisije 6,9 mjeseci vs. 2,4 mjeseca,  $P=0,006$ . Osim toga su istaknuli kako je SII indeks, koji obuhvaća tri komponente imunosnog sustava, po njihovom mišljenju bolji prognostički biljeg u odnosu na NLR omjer i

PLR omjer, koji sadržavaju po dvije komponente (Liu i sur., 2019). Istraživanje Bartl i sur. (2021) proučavalo je SII indeks u kontekstu prognostičkog biljega za karcinom stidnice (vulve). Riječ je o ginekološkom karcinomu male incidencije, ali u porastu s dobi te s jako lošom prognozom. U vremenskom periodu od skoro 20 godina od 230 pacijentica s karcinomom stidnice u Beču, u svoje istraživanje su uključili njih 130. Pomoću Youden's J-statistike odredili su optimalnu graničnu vrijednost od 866,4 za SII indeks u svojem istraživanju. Pacijentice s višim vrijednostima SII indeksa prije početka liječenja imale su kraće sveukupno preživljenje u odnosu na pacijentice s nižim vrijednostima SII indeksa prije početka liječenja: 54,1% vs. 71,1%;  $P=0,001$  (Bartl i sur., 2021).

Matsubara i sur. (2021) istaknuli su SII indeks kao bolji prognostički biljeg vremenskog perioda remisije i sveukupnog preživljenja kod karcinoma endometrija u odnosu na NLR omjer i PLR omjer. Uz granične vrijednosti od 931 i 910 pronađena je povezanost povišenih vrijednosti SII indeksa s FIGO gradusom, višim stupnjem tumora i pozitivnom peritonealnom citologijom. Osim toga je utvrđen znatno kraći vremenski period remisije i sveukupnog preživljenja u pacijentica s visokim SII indeksom u odnosu na pacijentice s niski SII indeksom ( $P=0,014$  i  $P=0,011$ ). ROC analizom potkrijepili su tvrdnju o superiornosti SII indeks nad NLR omjerom i PLR omjerom – SII indeks imao je više vrijednosti AUC i za vremenski period remisije i za sveukupno preživljenje u odnosu na NLR omjer i PLR omjer (Matsubara i sur., 2021). Do istog zaključka superiornosti i prednosti SII indeksa u odnosu na NLR omjer i PLR omjer došli su i Jiang i sur. (2020) u svom istraživanju na pacijenticama s karcinomom dojke, iz kojeg su preuzete granične vrijednosti za provedeno istraživanje. Jiang i sur. utvrdili su statistički značajnu razliku u sveukupnom preživljenju u odnosu na vrijednosti SII indeksa svojih pacijentica: 65 mjeseci kod pacijentica s niskim vrijednostima SII indeksa vs. 41 mjesec kod pacijentica s visokim vrijednostima SII indeksa ( $P\leq 0,001$ ). Prednost SII indeksa u odnosu na NLR omjer i PLR omjer također su potkrijepili ROC krivuljama:  $AUC=0,625$ ,  $P=0,0018$  (Jiang i sur., 2020).

Deskriptivnom statistikom podataka prikupljenih o pacijenticama na Klinici za tumore KBC Sestre milosrdnice u Zagrebu dokazano je odstupanje vrijednosti SII indeksa od normalne distribucije ( $P<0,001$ ). Prema Kolmogorov-Smirnovom testu normalnosti distribucije broj trombocita slijedi normalnu distribuciju ( $P>0,100$ ), ali apsolutni broj neutrofila ( $P<0,001$ ) i apsolutni broj limfocita ( $P<0,001$ ) odstupaju od normalne distribucije. Hi-kvadrat testom utvrđena je povezanost između SII indeksa i dobi pacijentice: mlađe pacijentice imale su više vrijednosti SII indeksa (36/48, 75,0%) u odnosu na starije pacijentice (93/144, 64,4%) ( $P<0,001$ ). Istraživanje Sokmena i Karacina (2021) pronašlo je povezanost SII indeksa i TNM



klasifikacije karcinoma dojke. Vrijednosti SII indeksa T3 stadija karcinoma dojke bile su značajno više u odnosu na vrijednosti T2 stadija ( $P=0,011$ ) (Sokmen i Karacin, 2021). Hi-kvadrat testom u ovom istraživanju nije nađena statistički značajna povezanost stadija tumora (T stadij) i SII indeksa ( $P=0,079$ ) ili statusa limfnih čvorova (N stadij) i SII indeksa ( $P=0,862$ ). Između ostalih kliničko-patološki faktora i SII indeksa također nije utvrđena nikakva povezanost (Tablica 5.).

Kaplann-Meier analiza sveukupnog preživljenja skupine pacijentica s niskim i visokim SII indeksom (Slika 3.) pokazuje malu razliku u krivuljam ovisno o vrijednostima SII indeksa, ali prema Logrank testu nema statističke značajnosti ( $P=0,4365$ ). Zanimljivo je što se na uzorku ispitivanih pacijentica u ovoj analizi dobilo suprotne rezultate u odnosu na druga, opisana istraživanja. Rezultati istraživanja na Klinici za tumore KBC Sestre milosrdnice u Zagrebu govore u prilog tome da skupina pacijentica s niskim SII indeksom ima nižu vjerojatnost preživljenja (86%) u odnosu na skupinu pacijentica s visokim SII indeksom (90%). Kao što je prethodno spomenuto, dosadašnja malobrojna istraživanja govore suprotno. Chen i sur. (2019) svojim istraživanjem su jasno pokazali kako pacijentice s karcinomom dojke i vrijednostima SII indeksa jednakim ili višim od 602 prije početka neoadjuvantne kemoterapije imaju lošiju prognozu i sveukupno preživljenje u odnosu na pacijentice s karcinomom dojke i vrijednostima SII indeksa ispod 602. Vremenski period remisije do pojave recidiva za pacijentice s visokim SII indeksom iznosio je 31,11 mjeseci u odnosu na pacijentice s niskim SII indeksom kojima je iznosio 40,76 mjeseci ( $P=0,006$ ). Slično je bilo i s vrijednostima za sveukupno preživljenje: pacijentice s visokim SII indeksom imale su prosječno sveukupno preživljenje u trajanju od 44,47 mjeseci u odnosu na pacijentice s niskim SII indeksom kojima je sveukupno preživljenje prosječno iznosilo 53,68 mjeseci ( $P=0,005$ ) (Chen i sur., 2019). Drugo istraživanje na pacijenticama s trostruko negativnim karcinomom dojke Wang i sur. (2019) također izvještava kako više vrijednosti SII indeksa uoči liječenja imaju lošiju prognozu. Sveukupno preživljenje pacijentica s vrijednostima SII indeksa jednakim ili višim od 624 iznosilo je 40,3 mjeseci u odnosu na sveukupno preživljenje pacijentica s vrijednostima SII indeksa ispod 624 kojima je iznosilo 60,9 mjeseci ( $P<0,001$ ). I u ovom istraživanju je potvrđena povezanosti vrijednosti SII indeksa i vremenskog perioda remisije: pacijentice s vrijednostima SII indeksa  $\geq 624$  s vremenskim periodom remisije do pojave recidiva u trajanju od 14,4 mjeseci vs. pacijentice s vrijednostima SII indeksa  $<624$  s vremenskim periodom remisije do pojave recidiva u trajanju od 22,4 mjeseca ( $P<0,001$ ) (Wang i sur., 2019).

Godine 2020. napravljena su čak dva pregledna rada o prediktivnoj ulozi SII indeksa kod karcinoma dojke. Wang i sur. (2020) obuhvatili su 8 istraživanja s ukupno 1768 pacijentica.

Ukupno 6 istraživanja (N=1455) izvjestila su kraće sveukupno preživljenje pacijentica ukoliko su im vrijednosti SII indeksa bile jednake ili više od 600 ( $P < 0,0001$ ), a pogotovo kod pacijentica s trostruko negativnim karcinomom dojke ( $P < 0,00001$ ) i nemetastatskim HER2+ karcinomom dojke ( $P = 0,002$ ). Čak 7 obuhvaćenih istraživanja (N=1252) izvjestilo je kraći vremenski period remisije do pojave recidiva u pacijentica s visokim vrijednostima SII indeksa ( $P = 0,001$ ). Ponovno je ustanovljena uska povezanost lošije prognoze perioda remisije s visokim vrijednostima SII indeksa u pacijentica s trostruko negativnim karcinomom dojke ( $P = 0,0002$ ) i HER2+ karcinomom dojke ( $P = 0,01$ ). U svom preglednom radu Wang i sur. (2020) razmatrali su i povezanost kliničko-patoloških faktora i vrijednosti SII indeksa. Utvrđena je povezanost visokih SII vrijednosti sa: stadijem tumora (T stadij) ( $P = 0,0005$ ), menstrualnim statusom (premenopauza vs. post-menopauza) ( $P = 0,001$ ), statusom estrogenskih receptora ( $P = 0,01$ ). Za razliku od ovog istraživanja, nije utvrđena povezanost vrijednosti SII indeksa i dobi pacijentica ( $P = 0,10$ ), a jednako kao i u ovom istraživanju, nije utvrđena niti povezanost SII indeksa i: statusa limfnih čvorova (N stadij) ( $P = 0,14$ ), histološkog gradusa ( $P = 0,12$ ), statusa progesteronskih receptora ( $P = 0,85$ ), HER-2 statusa ( $P = 0,09$ ) (Wang i sur., 2020). Drugi pregledni rad izradili su Ji i Wang (2020) te obuhvatili 9 istraživanja s ukupno 2724 pacijentica na području karcinoma dojke i ginekoloških karcinoma. Pacijentice s karcinomom dojke i visokim vrijednostima SII indeksa imale su prosječno kraće sveukupno preživljenje ( $P = 0,001$ ) i vremenski period remisije do pojave recidiva ( $P = 0,002$ ) u odnosu na pacijentice s niskim vrijednostima SII indeksa. I u ovom preglednom radu posebno su razmatrane pacijentice s trostruko negativnim karcinomom dojke: pacijentice s visokim SII indeksom imale su kraće sveukupno preživljenje ( $P = 0,002$ ) i vremenski period remisije ( $P = 0,035$ ) u odnosu na pacijentice s niskim SII indeksom. Osim toga je uspostavljena veza između vrijednosti SII indeksa i zahvaćenosti limfnih čvorova ( $P < 0,001$ ) (Ji i Wang, 2020), što u provedenom istraživanju na pacijenticama Klinike za tumore KBC Sestre milosrdnice u Zagrebu nije bio slučaj (N stadij  $P = 0,862$ ).

Uzimajući u obzir svu dostupnu literaturu, niti jedno trenutno poznato istraživanje do sada nije se bavilo vrijednostima NLR omjer, PLR omjer i SII indeksa u dvije vremenske točke liječenja pacijentica s karcinomom dojke. U ovom radu, uspoređene su vrijednosti NLR omjera, PLR omjera i SII indeksa prije operacije i prije tretmana kemoterapije, tj. poslije operacije (Tablica 6.). Za vrijednosti NLR omjera pri graničnoj vrijednosti od 2,13 ( $P = 0,058$ ) i PLR omjera ( $P = 0,146$ ) nije utvrđena statistički značajna promjena vrijednosti prije i poslije operacije. Međutim, vrijednosti NLR omjera pri graničnim vrijednostima 2,65 ( $P = 0,001$ ) i 3,30

( $P < 0,001$ ) kao i vrijednosti SII indeksa ( $P < 0,001$ ) statistički su se značajno promijenile nakon operacije. Od 54 pacijentica s visokim vrijednostima NLR omjera uoči operacije, njima 50 je vrijednost NLR omjera nakon operacije pala ispod granične vrijednosti od 2,65. U slučaju granične vrijednosti 3,30 za NLR omjer takav statistički značajan pad NLR vrijednosti uočen je kod 67 od ukupno 68 pacijentica s visokim vrijednostima NLR omjera uoči operacije. Kod neizravnog hematološkog parametra SII indeksa svim pacijenticama na Klinici za tumore KBC Sestre milosrdnice u Zagrebu zabilježen je statistički značajan pad vrijednosti što se može protumačiti trenutno uspješnim uklanjanjem karcinoma i smanjenjem lokalne upalne reakcije. Vrijednosti SII indeksa u drugoj vremenskoj točki, tj. nakon operacije, se stoga mogu smatrati neizravnim potencijalnim biljekom učinkovite i sveobuhvatne operacije. Ukoliko ne dođe do pada vrijednosti SII indeksa ili čak porasta vrijednosti SII indeksa može se pretpostaviti kako karcinom nije uspješno uklonjen i lokalna upalna reakcija dalje buja. Time je istraživanje na pacijenticama s karcinom dojke na Klinici za tumore KBC Sestre milosrdnice u Zagrebu prepoznalo prediktivnu vrijednost NLR omjera tek pri graničnim vrijednostima od 2,65 i 3,30 te potvrdilo pretpostavku superiornosti i sveobuhvatnosti SII indeksa nad NLR i PLR omjerom.

## 5. Zaključci

U provedenom retrospektivnom istraživanju za razdoblje od 2015. do 2021. godine, kojim su obuhvaćene 192 pacijentice dijagnosticirane s karcinomom dojke na Klinici za tumore KBC Sestre milosrdnice u Zagrebu, uspoređene su vrijednosti omjera neutrofila i limfocita (NLR omjer), omjera trombocita i limfocita (PLR omjer) i sustavnog imunosno-upalnog odgovora (SII indeks). Vrijednosti su praćene i uspoređene za različite vremenske točke – prije operacije i prije tretmana kemoterapije, odnosno poslije operacije, što se do sada (prema dostupnoj literaturi) nije ispitalo. Utvrđeni su sljedeći zaključci:

1. Za vrijednosti NLR omjera pri graničnoj vrijednosti 2,13 i PLR omjera nije utvrđena statistički značajna promjena vrijednosti prije i poslije operacije ( $P=0,058$  za NLR omjer i  $P=0,146$  za PLR omjer).
2. Za vrijednosti NLR omjera pri graničnim vrijednostima 2,65 ( $P=0,001$ ) i 3,30 ( $P<0,001$ ) utvrđena je statistički značajna promjena vrijednosti prije i poslije operacije.
3. Vrijednosti SII indeksa statistički su se značajno promijenile nakon operacije ( $P<0,001$ ): svim ispitivanim pacijenticama zabilježen je statistički značajan pad vrijednosti.
4. Na osnovu dobivenih rezultata, nameće se zaključak da se vrijednosti SII indeksa dobivene u drugoj vremenskoj točki, nakon operacije, mogu smatrati neizravnim potencijalnim biljegom učinkovite i sveobuhvatne operacije.
5. Time je provedeno istraživanje potvrdilo pretpostavku superiornosti i sveobuhvatnosti SII indeksa nad NLR i PLR omjerom.

## 6. Literatura

Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Stanična i molekularna imunologija. Zagreb, Medicinska naklada, 2018, str. 14-18.

Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Stanična i molekularna imunologija. Zagreb, Medicinska naklada, 2018, str. 388-391.

Adler DD. Imaging evaluation of speculated masses. U: Radiological Diagnosis of Breast Diseases. Friedrich M, Sickles EA, urednici, Berlin, Springer-Verlag, 2000, str. 137-148.

Akinci Ozyurek B, Sahin Ozdemirel T, Buyukyaylaci Ozden S, Erdogan Y, Kaplan B, Kaplan T. Prognostic Value of the Neutrophil to Lymphocyte Ratio (NLR) in Lung Cancer Cases. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2017, 18(5), 1417-1421.

Antoniou AC, Casadei S, Heikkinen T, Barrowdale D, Pylkäs K, Roberts J, Lee A, Subramanian D, De Leener K, Fostira F, Tomiak E, Neuhausen SL, Teo ZL, Khan S, Aittomäki K, Moilanen JS, Turnbull C, Seal S, Mannermaa A, Kallioniemi A, Lindeman GJ, Buys SS, Andrulis IL, Radice P, Tondini C, Manoukian S, Toland AE, Miron P, Weitzel JN, Domchek SM, Poppe B, Claes KB, Yannoukakos D, Concannon P, Bernstein JL, James PA, Easton DF, Goldgar DE, Hopper JL, Rahman N, Peterlongo P, Nevanlinna H, King MC, Couch FJ, Southey MC, Winqvist R, Foulkes WD, Tischkowitz M. Breast-cancer risk in families with mutations in PALB2. *N Engl J Med*, 2014, 371(6), 497-506.

Azab B, Bhatt VR, Phookan J, Murukutla S, Kohn N, Terjanian T, Widmann WD. Usefulness of the neutrophil-to-lymphocyte ratio in predicting short- and long-term mortality in breast cancer patients. *Ann Surg Oncol*, 2012, 19(1), 217-224.

Azab B, Shah N, Radbel J, Tan P, Bhatt V, Vonfrolio S, Habeshy A, Picon A, Bloom S. Pretreatment neutrophil/lymphocyte ratio is superior to platelet/lymphocyte ratio as a predictor of long-term mortality in breast cancer patients. *Med Oncol*, 2013, 30(1), 432.

Bartl T, Bekos C, Postl M, Alexander R, Polterauer S, Stefanie A, Richard S. The systemic immune-inflammation index (SII) is an independent prognostic parameter of survival in patients with invasive vulvar cancer. *J Gynecol Oncol*, 2021, 32(1), e1.

Batson OV. The function of the vertebral veins and their role in the spread of metastases. *Ann Surg*, 1940, 112(1), 138-149.

Bauer M, Tontsch P, Schulz-Wendtland R. Fine-needle aspiration and core biopsy. U: *Radiological Diagnosis of Breast Diseases*. Friedrich M, Sickles EA, urednici, Berlin, Springer, 2000, str. 291-298.

Berg JW, Hutter RV. Breast cancer. *Cancer*, 1995, 75(1 Suppl), 257-269.

Birnbaum LS, Fenton SE. Cancer and developmental exposure to endocrine disruptors. *Environ Health Perspect*, 2003, 111(4), 389-394.

Boranić M. Etiologija i patogeneza tumora dojke. U: *Tumori dojke*. Šamija M, Juzbašić S, Šeparović V, Vrdoljak DV, urednici, Zagreb, Medicinska naklada, 2007, str. 20-25.

Boyd NF, Martin LJ, Noffel M, Lockwood GA, Trichler DL. A meta-analysis of studies of dietary fat and breast cancer risk. *Br J Cancer*, 1993, 68(3), 627-636.

Breast cancer and combined oral contraceptives: results from a multinational study. The WHO Collaborative Study of Neoplasia and Steroid Contraceptives. *Br J Cancer*, 1990, 61(1), 110-119.

Brem RF, Schoonjans JM, Kieper DA, Majewski S, Goodman S, Civelek C. High-resolution scintimammography: a pilot study. *J Nucl Med*, 2002, 43(7), 909-915.

Brklajčić B. Radiološka dijagnostika tumora dojke: mamografija, UZV, MRI, PET. U: *Tumori dojke*. Šamija M, Juzbašić S, Šeparović V, Vrdoljak VD, urednici, Zagreb, Medicinska naklada, 2007, str. 46-55.

Brkljač B. Dojka i bolesti dojke. U: *Ginekologija*. Šimunić V i sur., Zagreb, Naklada Ljevak, 2001, str. 497-507.

Brkljačić B. Intravencijski zahvati pod kontrolom UZV. U: Suvremena dijagnostika bolesti dojke. Fajdić J i sur., Zagreb, Medicinska naklada, 2001, str. 131-132.

Brustkrebs-Metastasen, 2020, <https://www.gynecology-guide.com/brustkrebs/brustkrebs-metastasen/>, pristupljeno 31.12.2020.

Cedr s S, Torrejon D, Mart nez A, Martinez P, Navarro A, Zamora E, Mulet-Margalef N, Felipe E. Neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) as an indicator of poor prognosis in stage IV non-small cell lung cancer. *Clin Transl Oncol*, 2012, 14(11), 864-869.

Chen L, Kong X, Wang Z, Wang X, Fang Y, Wang J. Pre-treatment systemic inflammation index is a useful prognostic indicator in patients with breast cancer undergoing neoadjuvant chemotherapy. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(5), 2993-3021.

Chen L, Kong X, Yan C, Fang Y, Wang J. The Research Progress on the Prognostic Value of the Common Hematological Parameters in Peripheral Venous Blood in Breast Cancer. *Oncotargets Ther*, 2020, 13, 1397-1412.

Cho U, Park HS, Im SY, Yoo CY, Jung JH, Suh YJ, Choi HJ. Prognostic value of systemic inflammatory markers and development of a nomogram in breast cancer. *PLoS One*, 2018, 13(7), e0200936.

Ciatto S, Grazzini G, Iossa A, Del Turco MR, Bravetti P, Cataliotti L, Cardona G, Bianchi S. In situ ductal carcinoma of the breast--analysis of clinical presentation and outcome in 156 consecutive cases. *Eur J Surg Oncol*, 1990, 16(3), 220-224.

Corkill ME, Sneige N, Fanning T, el-Naggar A. Fine-needle aspiration cytology and flow cytometry of intracystic papillary carcinoma of breast. *Am J Clin Pathol*, 1990, 94(6), 673-680.

Coughlin SS, Khoury MJ, Steinberg KK. BRCA1 and BRCA2 gene mutations and risk of breast cancer. Public health perspectives. *Am J Prev Med*, 1999, 16(2), 91-98.

Cuello-López J, Fidalgo-Zapata A, López-Agudelo L, Vásquez-Trespalcacios E. Platelet-to-lymphocyte ratio as a predictive factor of complete pathologic response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *PLoS One*, 2018, 13(11), e0207224.

Cupp MA, Cariolou M, Tzoulaki I, Aune D, Evangelou E, Berlanga-Taylor AJ. Neutrophil to lymphocyte ratio and cancer prognosis: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses of observational studies. *BMC Med*, 2020, 18(1), 360.

Duffy MJ. CA 15-3 and related mucins as circulating markers in breast cancer. *Ann Clin Biochem*, 1999, 36 ( Pt 5), 579-586.

Duffy MJ. Tumor Markers in Clinical Practice: A Review Focusing on Common Solid Cancers. *Med Princ Pract*, 2013, 22, 4-11.

Durhan A, Durhan G, Eroğlu A. Regression in local recurrence in the contralateral breast following mastectomy in bilateral locally advanced breast cancer: A comparison of neutrophil-to-lymphocyte and platelet-to-lymphocyte ratios. *Turk J Surg*, 2018, 34(2), 140-142.

Fidler IJ. The pathogenesis of cancer metastasis: the 'seed and soil' hypothesis revisited. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3(6), 453-458.

Flowers A, Levin VA. Management of brain metastases from breast carcinoma. *Oncology (Williston Park)*, 1993, 7(3), 21-6, discussion 31-4.

Forget P, Bentin C, Machiels JP, Berliere M, Coulie PG, De Kock M. Intraoperative use of ketorolac or diclofenac is associated with improved disease-free survival and overall survival in conservative breast cancer surgery. *Br J Anaesth*, 2014, 113 Suppl 1, i82-87.

Franco AT, Corken A, Ware J. Platelets at the interface of thrombosis, inflammation, and cancer. *Blood*, 2015, 126(5), 582-588.

Friedenreich CM. Review of anthropometric factors and breast cancer risk. *Eur J Cancer Prev*, 2001, 10(1), 15-32.



Friedrich M. Magnetic resonance imaging of the breast. U: Radiologic Diagnosis of Breast Diseases. Friedrich M, Sickles EA, urednici, Berlin, Springer-Verlag, 2000, str. 229-281.

Fuqua SA, Cui Y, Lee AV, Osborne CK, Horwitz KB. Insights into the role of progesterone receptors in breast cancer. *J Clin Oncol*, 2005, 23(4), 931-932.

GLOBOCAN 2020: New Global Cancer Data, 2020, [www.uicc.org/news/globocan-2020-new-global-cancer-data](http://www.uicc.org/news/globocan-2020-new-global-cancer-data), pristupljeno 28.02.2021.

Greenwald P. The potential of dietary modification to prevent cancer. *Prev Med*, 1996, 25(1), 41-43.

Gump FE. Lobular carcinoma in situ. Pathology and treatment. *Surg Clin North Am*, 1990, 70(4), 873-883.

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 Med*, 2019, 8(9), 4135-4148.

Hardie DG, Alessi DR. LKB1 and AMPK and the cancer-metabolism link - ten years after. *BMC Biol*, 2013, 11, 36.

Hearle N, Schumacher V, Menko FH, Olschwang S, Boardman LA, Gille JJ, Keller JJ, Westerman AM, Scott RJ, Lim W, Trimpath JD, Giardiello FM, Gruber SB, Offerhaus GJ, de Rooij FW, Wilson JH, Hansmann A, Möslein G, Royer-Pokora B, Vogel T, Phillips RK, Spigelman AD, Houlston RS. Frequency and spectrum of cancers in the Peutz-Jeghers syndrome. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(10), 3209-3215.

HER2 Status, 2020, <https://www.breastcancer.org/symptoms/diagnosis/her2>, pristupljeno 18.12.2020.

Hesketh R. The oncogene and Tumor suppressor gene. Facts Book. *Acad Press*, 1997, 26-31.

Hezwang-Koebrunner SH, Dershaw DD, Schreer I. Diagnostic Breast Imaging. Stuttgart, Thieme, 2001.

Hulka BS, Liu ET, Lininger RA. Steroid hormones and risk of breast cancer. *Cancer*, 1994, 74(3 Suppl), 1111-1124.

Hulka BS, Stark AT. Breast cancer: cause and prevention. *Lancet*, 1995, 346(8979), 883-887.

Huszno J, Kolosza Z. Prognostic value of the neutrophil-lymphocyte, platelet-lymphocyte and monocyte-lymphocyte ratio in breast cancer patients. *Oncol Lett*, 2019, 18(6), 6275-6283.

Izadi S, Nikkhoo A, Hojjat-Farsangi M, Namdar A, Azizi G, Mohammadi H, Yousefi M, Jadidi-Niaragh F. CDK1 in Breast Cancer: Implications for Theranostic Potential. *Anticancer Agents Med Chem*, 2020, 20(7), 758-767.

Ji Y, Wang H. Prognostic prediction of systemic immune-inflammation index for patients with gynecological and breast cancers: a meta-analysis. *World J Surg Oncol*, 2020, 18(1), 197.

Jiang C, Lu Y, Zhang S, Huang Y. Systemic Immune-Inflammation Index Is Superior to Neutrophil to Lymphocyte Ratio in Prognostic Assessment of Breast Cancer Patients Undergoing Neoadjuvant Chemotherapy. *Biomed Res Int*, 2020, 2020, 7961568.

Juretić A, Šarić N, Šamija M. Bioterapija raka dojke. U: Tumori dojke. Šamija M, Juzbašić S, Šeparović V, Vrdoljak DV, urednici, Zagreb, Medicinska naklada, 2007, str. 415-423.

Kamby C, Vejborg I, Kristensen B, Olsen LO, Mouridsen HT. Metastatic pattern in recurrent breast cancer. Special reference to intrathoracic recurrences. *Cancer*, 1988, 62(10), 2226-2233.

Kaptain S, Tan LK, Chen B. Her-2/neu and breast cancer. *Diagn Mol Pathol*, 2001, 10(3), 139-152.

Kelsey JL. Breast cancer epidemiology: summary and future directions. *Epidemiol Rev*, 1993, 15(1), 256-263.

Khalkhali I, Itti E. Functional breast imaging using the single photon technique. *Nucl Med Commun*, 2002, 23(7), 609-611.

Kopans DB. A Systemic approach to breast imaging. U: Breast Imaging. Kopans DB, Philadelphia, Lippincot-Raven Publishers, 1998, str. 211-228.

Kopans DB. Imaging-guided needle placement for biopsy. U: Breast imaging. Kopans DB, urednik, Philadelphia, Lippincott-Raven, 1998, str. 644-649.

Kopans DB. Mammographic appearance of breast cancer. U: Breast Imaging. Kopans DB, Philadelphia, Lippincot-Raven Publishers, 1998, str. 375-408.

Kopans DB. Ultrasound and breast evaluation. U: Breast Imaging. Kopans DB, Philadelphia, Lippincot-Raven, 1998, str. 439-441.

Krenn-Pilko S, Langsenlehner U, Thurner EM, Stojakovic T, Pichler M, Gerger A, Kapp KS, Langsenlehner T. The elevated preoperative platelet-to-lymphocyte ratio predicts poor prognosis in breast cancer patients. *Br J Cancer*, 2014, 110(10), 2524-2530.

Kriege M, Hollestelle A, Jager A, Huijts PE, Berns EM, Sieuwerts AM, Meijer-van Gelder ME, Collée JM, Devilee P, Hooning MJ, Martens JW, Seynaeve C. Survival and contralateral breast cancer in CHEK2 1100delC breast cancer patients: impact of adjuvant chemotherapy. *Br J Cancer*, 2014, 111(5), 1004-1013.

Kuang DM, Zhao Q, Wu Y, Peng C, Wang J, Xu Z, Yin XY, Zheng L. Peritumoral neutrophils link inflammatory response to disease progression by fostering angiogenesis in hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*, 2011, 54(5), 948-955.

Layfield LJ, Robert ME, Cramer H, Giuliano A. Aspiration biopsy smear pattern as a predictor of biologic behavior in adenocarcinoma of the breast. *Acta Cytol*, 1992, 36(2), 208-214.

Lee KH, Kim EY, Yun JS, Park YL, Do SI, Chae SW, Park CH. The prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes and hematologic parameters in patients with breast cancer. *BMC Cancer*, 2018, 18(1), 938.

Leonard DS, Hill AD, Kelly L, Dijkstra B, McDermott E, O'Higgins NJ. Anti-human epidermal growth factor receptor 2 monoclonal antibody therapy for breast cancer. *Br J Surg*, 2002, 89(3), 262-271.

Levant S, Gal Trošelj K. Molekularna dijagnostika raka dojke. U: Tumori dojke. Šamija M, Juzbašić S, Šeparović V, Vrdoljak DV, urednici, Zagreb, Medicinska naklada, 2007, str. 100-102.

Liff JM, Sung JF, Chow WH, Greenberg RS, Flanders WD. Does increased detection account for the rising incidence of breast cancer?. *Am J Public Health*, 1991, 81(4), 462-465.

Liu C, Huang Z, Wang Q, Sun B, Ding L, Meng X, Wu S. Usefulness of neutrophil-to-lymphocyte ratio and platelet-to-lymphocyte ratio in hormone-receptor-negative breast cancer. *Onco Targets Ther*, 2016, 9, 4653-4660.

Liu J, Li S, Zhang S, Liu Y, Ma L, Zhu J, Xin Y, Wang Y, Yang C, Cheng Y. Systemic immune-inflammation index, neutrophil-to-lymphocyte ratio, platelet-to-lymphocyte ratio can predict clinical outcomes in patients with metastatic non-small-cell lung cancer treated with nivolumab. *J Clin Lab Anal*, 2019, 33(8), e22964.

Ma Y, Zhang J, Chen X. Lymphocyte-to-Monocyte Ratio is Associated with the Poor Prognosis of Breast Cancer Patients Receiving Neoadjuvant Chemotherapy. *Cancer Manag Res*, 2021, 13, 1571-1580.

Madjar H, Ladner HA, Sauerbrei W, Oberstein A, Prömpeler H, Pfeiderer A. Preoperative staging of breast cancer by palpation, mammography and high-resolution ultrasound. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 1993, 3(3), 185-190.

Marín Hernández C, Piñero Madrona A, Gil Vázquez PJ, Galindo Fernández PJ, Ruiz Merino G, Alonso Romero JL, Parrilla Paricio P. Usefulness of lymphocyte-to-monocyte, neutrophil-to-monocyte and neutrophil-to-lymphocyte ratios as prognostic markers in breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Clin Transl Oncol*, 2018, 20(4), 476-483.

Matsubara S, Mabuchi S, Takeda Y, Kawahara N, Kobayashi H. Prognostic value of pre-treatment systemic immune-inflammation index in patients with endometrial cancer. *PLoS One*, 2021, 16(5), e0248871.

McDonald ES, Clark AS, Tchou J, Zhang P, Freedman GM. Clinical Diagnosis and Management of Breast Cancer. *J Nucl Med*, 2016, 57 Suppl 1, 9S-16S.

McPherson K, Steel CM, Dixon JM. ABC of breast diseases. Breast cancer-epidemiology, risk factors, and genetics. *BMJ*, 2000, 321(7261), 624-628.

Medizinisch Genetisches Zentrum (MGZ) Muenchen: Hochrisikogene BRCA1 und BRCA2, 2020, <https://www.mgz-muenchen.de/erkrankungen/diagnose/hochrisikogene-ibrca1i-und-ibrca2i.html>, pristupljeno 04.12.2020.

Menter DG, Kopetz S, Hawk E, Sood AK, Loree JM, Gresele P, Honn KV. Platelet "first responders" in wound response, cancer, and metastasis. *Cancer Metastasis Rev*, 2017, 36(2), 199-213.

Metastatic Breast Cancer, 2021, [https://www.breastcancer.org/symptoms/types/recur\\_metast](https://www.breastcancer.org/symptoms/types/recur_metast) , pristupljeno 16.02.2021.

Molecular Subtypes of Breast Cancer, 2020, <https://www.breastcancer.org/symptoms/types/molecular-subtypes>, pristupljeno 18.12.2020.

Mouchli M, Reddy S, Gerrard M, Boardman L, Rubio M. Usefulness of neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) as a prognostic predictor after treatment of hepatocellular carcinoma." Review article. *Ann Hepatol*, 2021, 22, 100249.

National Cancer Institute (NIH): BRCA Gene Mutations, 2020, <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/genetics/brca-fact-sheet>, pristupljeno 04.12.2020.

National Library of Medicine (NIH) National Center for Biotechnology Information – PubChem: CDK1 – cyclin dependet kinase 1 (human), 2016, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/gene/CDK1/human>, pristupljeno 12.12.2020.

NCBI Gene: CHEK2 – checkpoint kinase 2 [Homo sapiens (human), 2021, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/11200#location>, pristupljeno 28.06.2021.

NCBI Gene: PALB2 – partner and localizer of BRCA2 [Homo sapiens (human), 2021, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/79728#conditions>, pristupljeno 28.06.2021.

Obenauer S, Fischer U, Baum F, Grabbe E. Indications for percutaneous stereotactic vacuum core biopsy of the breast. *Radiologe*, 2002, 42(1), 11-18.

Page DL, Dupont WD. Anatomic markers of human premalignancy and risk of breast cancer. *Cancer*, 1990, 66(6 Suppl), 1326-1335.

Page DL, Dupont WD. Premalignant conditions and markers of elevated risk in the breast and their management. *Surg Clin North Am*, 1990, 70(4), 831-851.

Page DL, Kidd TE Jr, Dupont WD, Simpson JF, Rogers LW. Lobular neoplasia of the breast: higher risk for subsequent invasive cancer predicted by more extensive disease. *Hum Pathol*, 1991, 22(12), 1232-1239.

Page DL. Cancer risk assessment in benign breast biopsies. *Hum Pathol*, 1986, 17(9), 871-874.

Pathophysiology of Breast Cancer, 2013, <http://cancerworld.info/pathophysiology-of-breast-cancer/>, pristupljeno 04.12.2020.

Perou CM, Sørli T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, Pollack JR, Ross DT, Johnsen H, Akslen LA, Fluge O, Pergamenschikov A, Williams C, Zhu SX, Lønning PE, Børresen-Dale AL, Brown PO, Botstein D. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*, 2000, 406(6797), 747-752.

Preobrazhenskaya EV, Shleykina AU, Gorustovich OA, Martianov AS, Bizin IV, Anisimova EI, Sokolova TN, Chuinyshena SA, Kuligina ES, Togo AV, Belyaev AM, Ivantsov AO, Sokolenko AP, Imyanitov EN. Frequency and molecular characteristics of PALB2-associated cancers in Russian patients. *Int J Cancer*, 2021, 148(1), 203-210.

Queen MM, Ryan RE, Holzer RG, Keller-Peck CR, Jorcyk CL. Breast cancer cells stimulate neutrophils to produce oncostatin M: potential implications for tumor progression. *Cancer Res*, 2005, 65(19), 8896-8904.

Ramljak V, Ranogajec I, Bulimbašić S. Citologija tumora dojke. U: Tumori dojke. Šamija M, Juzbašić S, Šeparović V, Vrdoljak DV, urednici, Zagreb, Medicinska naklada, 2007, str. 73-80.

Reddy L, Odhav B, Bhoola KD. Natural products for cancer prevention: a global perspective. *Pharmacol Ther*, 2003, 99(1), 1-13.

Registar za rak Republike Hrvatske, 2020, [https://www.hzjz.hr/wp-content/uploads/2020/12/Bilten\\_2018\\_final.pdf](https://www.hzjz.hr/wp-content/uploads/2020/12/Bilten_2018_final.pdf), pristupljeno 28.02.2021.

Rock CL, Lampe JW, Patterson RE. Nutrition, genetics, and risks of cancer. *Annu Rev Public Health*, 2000, 21, 47-64.

Rosé C, Dose J, Avril N. Positron emission tomography for the diagnosis of breast cancer. *Nucl Med Commun*, 2002, 23(7), 613-618.

Russo J, Hu YF, Silva IDC, Russo IH. Cancer risk related to mammary gland structure and development. *Microsc Res and Tech*, 2001, 52, 204-223.

Salvadori B, Bartoli C, Zurrida S, Delledonne V, Squicciarini P, Rovini D, Barletta L. Risk of invasive cancer in women with lobular carcinoma in situ of the breast. *Eur J Cancer*, 1991, 27(1), 35-37.

Schnitt SJ. Pathology of in situ carcinoma. U: Breast diseases. Harris JR, Hellman S, Henderson IC, Kine DW, urednici, Philadelphia, Lippincott, 1991.

Seretis C, Seretis F, Lagoudianakis E, Politou M, Gemenetzis G, Salemis NS. Enhancing the accuracy of platelet to lymphocyte ratio after adjustment for large platelet count: a pilot study in breast cancer patients. *Int J Surg Oncol*, 2012, 2012, 653608.

Shilpa M., Kalyani R., Sreeramulu PN. Prognostic value of pre-treatment routine hematological parameters in breast carcinoma: Advantageous or deleterious?. *Biomedical Research and Therapy*, 2020, 7(8), 3916-3920.

Siegmann KC, Müller-Schimpfle M, Schick F, Remy CT, Fersis N, Ruck P, Gorritz C, Claussen CD. MR imaging-detected breast lesions: histopathologic correlation of lesion characteristics and signal intensity data. *AJR Am J Roentgenol*, 2002, 178(6), 1403-1409.

Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, Fuchs H, Paton V, Bajamonde A, Fleming T, Eiermann W, Wolter J, Pegram M, Baselga J, Norton L. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med*, 2001, 344(11), 783-792.

Sokmen FC, Karacin C. The Role of Peripheral Blood Inflammatory Markers in the Staging of Breast Cancer. *Eastern Journal of Medicine*, 2021, 26(1), 171-174.

Stanec M, Vrdoljak DV, Lesar M, Milas I, Roth A, Mužina-Mišić D, Stanec Z, Stanec S, Žic R. Tumori dojke i rekonstrukcijska kirurgija dojke. U: Kirurška onkologija. Stanec M, Vrdoljak DV, Turić M, urednici, Zagreb, Medicinska naklada, 2011, str. 57-58.

Stavros AT, Thickman D, Rapp CL, Dennis MA, Parker SH, Sisney GA. Solid breast nodules: use of sonography to distinguish between benign and malignant lesions. *Radiology*, 1995, 196(1), 123-134.

Stewart JF, King RJ, Sexton SA, Millis RR, Rubens RD, Hayward JL. Oestrogen receptors, sites of metastatic disease and survival in recurrent breast cancer. *Eur J Cancer*, 1981, 17(4), 449-453.

Strnad M, Hrabak-Žerjavić V, Šamija M. Epidemiologija, prevencija i rano otkrivanje raka dojke. U: Tumori dojke. Šamija M, Juzbašić S, Šeparović V, Vrdoljak VD, urednici, Zagreb, Medicinska naklada, 2007, str. 34-40.

Sugimura T, Nagao M, Wakabayashi K. Heterocyclic amines in cooked foods: candidates for causation of common cancers. *J Natl Cancer Inst*, 1994, 86(1), 2-4.



Sun SY, Lotan R. Retinoids and their receptors in cancer development and chemoprevention. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2002, 41(1), 41-55.

Swain SM. Noninvasive breast cancer: Part 1. Ductal carcinoma in situ--incidence, presentation, guidelines to treatment. *Oncology (Williston Park)*, 1989, 3(3), 25-31, discussion 40, 42, 44 passim.

Swain SM. Noninvasive breast cancer: Part 2. Lobular carcinoma in situ--incidence, presentation, guidelines to treatment. *Oncology (Williston Park)*, 1989, 3(3), 35-40, discussion 40, 42, 44 passim.

Šamija M. Radioterapija raka dojke. U: Tumori dojke. Šamija M, Juzbašić S, Šeparović V, Vrdoljak VD, urednici, Zagreb, Medicinska naklada, 2007, str. 332-346.

Šupe-Domić D, Petrić Miše B. Onkološke bolesti. U: Medicinska biokemija i laboratorijska medicina u kliničkoj praksi. Topić E, Primorac D, Janković S, Štefanović M, urednici, Zagreb, Medicinska naklada, 2018, str. 624-637.

Tan KW, Chong SZ, Wong FH, Evrard M, Tan SM, Keeble J, Kemeny DM, Ng LG, Abastado JP, Angeli V. Neutrophils contribute to inflammatory lymphangiogenesis by increasing VEGF-A bioavailability and secreting VEGF-D. *Blood*, 2013, 122(22), 3666-3677.

Teubner J. Echomammography: Technique and results. U: Radiological Diagnosis of Breast diseases. Friedrich M, Sickles EA, urednici, Berlin, Springer-Verlag, 2000, str. 181-220.

Triple Negative Breast Cancer, 2020, [https://www.breastcancer.org/symptoms/diagnosis/trip\\_neg](https://www.breastcancer.org/symptoms/diagnosis/trip_neg) , pristupljeno 18.12.2020.

Vogel C, Cobleigh MA, Tripathy D, Gutheil JC, Harris LN, Fehrenbacher L, Slamon DJ, Murphy M, Novotny WF, Burchmore M, Shak S, Stewart SJ. First-line, single-agent Herceptin(R) (trastuzumab) in metastatic breast cancer. a preliminary report. *Eur J Cancer*, 2001, 37 Suppl 1, 25-29.

Vrdoljak E, Šamija M, Kusić Z, Petković M, Gugić D, Krajina Z. Klinička onkologija. Zagreb, Medicinska nakalda, 2013, str. 193-198.

Vrdoljak E, Šamija M, Kusić Z, Petković M, Gugić D, Krajina Z. Klinička onkologija. Zagreb, Medicinska nakalda, 2013, str. 23-27.

Vrdoljak E, Šamija M, Kusić Z, Petković M, Gugić D, Krajina Z. Klinička onkologija. Zagreb, Medicinska naklada, 2013, str. 37.

Vrdoljak E, Šamija M, Kusić Z, Petković M, Gugić D, Krajina Z. Klinička onkologija. Zagreb, Medicinska naklada, 2013, str. 201.

Vrdoljak E, Šamija M, Kusić Z, Petković M, Gugić D, Krajina Z. Klinička onkologija. Zagreb, Medicinska naklada, 2013, str. 44-45.

Walz W, Cayabyab FS. Neutrophil Infiltration and Matrix Metalloproteinase-9 in Lacunar Infarction. *Neurochem Res*, 2017, 42(9), 2560-2565.

Wang P, Yue W, Li W, Luo Y, Li Z, Shao Y, He Z. Systemic immune-inflammation index and ultrasonographic classification of breast imaging-reporting and data system predict outcomes of triple-negative breast cancer. *Cancer Manag Res*, 2019, 11, 813-819.

Wang Y, Cong ZJ, Li ZG, Huang GL. Clinicopathological and prognostic importance of systemic immune inflammation index (SII) in breast cancer patients: a meta-analysis. *Int J Clin Exp Med*, 2020, 13(8), 5527-5549.

Waugh DJ, Wilson C. The interleukin-8 pathway in cancer. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(21), 6735-6741.

Weiderpass E, Pukkala E, Kauppinen T, Mutanen P, Paakkulainen H, Vasama-Neuvonen K, Boffetta P, Partanen T. Breast cancer and occupational exposures in women in Finland. *Am J Ind Med*, 1999, 36(1), 48-53.

Weischer M, Bojesen SE, Ellervik C, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. CHEK2\*1100delC genotyping for clinical assessment of breast cancer risk: meta-analysis of 26,000 patient cases and 27,000 controls. *J Clin Oncol*, 2008, 26(4), 542-548.

Weischer M, Nordestgaard BG, Pharoah P, Bolla MK, Nevanlinna H, Van't Veer LJ, Garcia-Closas M, Hopper JL, Hall P, Andrulis IL, Devilee P, Fasching PA, Anton-Culver H, Lambrechts D, Hooning M, Cox A, Giles GG, Burwinkel B, Lindblom A, Couch FJ, Mannermaa A, Grenaker Alnæs G, John EM, Dörk T, Flyger H, Dunning AM, Wang Q, Muranen TA, van Hien R, Figueroa J, Southey MC, Czene K, Knight JA, Tollenaar RA, Beckmann MW, Ziogas A, Christiaens MR, Collée JM, Reed MW, Severi G, Marme F, Margolin S, Olson JE, Kosma VM, Kristensen VN, Miron A, Bogdanova N, Shah M, Blomqvist C, Broeks A, Sherman M, Phillips KA, Li J, Liu J, Glendon G, Seynaeve C, Ekici AB, Leunen K, Kriege M, Cross SS, Baglietto L, Sohn C, Wang X, Kataja V, Børresen-Dale AL, Meyer A, Easton DF, Schmidt MK, Bojesen SE. CHEK2\*1100delC heterozygosity in women with breast cancer associated with early death, breast cancer-specific death, and increased risk of a second breast cancer. *J Clin Oncol*, 2012, 30(35), 4308-4316.

Wiranata s, Adiputra PAT, Lestari AAW, Parabawa IPY, Supadmanaba IGP. Platelet Lymphocyte Ratio (PLR) Related with Clinicopathological Characteristics of Balinese Women Breast Cancer Patient. *Annals of Oncology*, 2019, 33(6), 144.

Zhuang ZG, Di GH, Shen ZZ, Ding J, Shao ZM. Enhanced expression of LKB1 in breast cancer cells attenuates angiogenesis, invasion, and metastatic potential. *Mol Cancer Res*, 2006, 4(11), 843-849.

Zinser JW, Hortobagyi GN, Buzdar AU, Smith TL, Fraschini G. Clinical course of breast cancer patients with liver metastases. *J Clin Oncol*, 1987, 5(5), 773-782.

## 7. Sažetak / Summary

### 7.1 Sažetak

Prema procjeni podataka dobivenih putem GLOBOCAN-a (interaktivne platforme koja iznosi globalne statistike pojavnosti karcinoma s ciljem informiranja javnosti o kontroli i istraživanjima u tom području) i Registra za rak Republike Hrvatske, dojka je najčešće sijelo karcinoma u žena (učestalost oko 24%). Karcinom dojke uvjetovan je mnoštvom genetskih, kao što su mutacije u BRCA genima, ali i okolišnim čimbenicima, poput ionizirajućeg zračenja, prehrane, endogenih i egzogenih čimbenika te spolnih hormona. U istraživanju provedenom na Klinici za tumore KBC Sestre milosrdnice u Zagrebu ispitala se povezanost neizravnih hematoloških parametara, omjera neutrofila i limfocita – NLR, omjera trombocita i limfocita – PLR, indeksa sustavnog imunosno-upalnog odgovora – SII s ishodima liječenja i preživljenja u pacijentica koje su se liječile od karcinoma dojke u razdoblju od 2015. do 2021. godine. U ovo retrospektivno istraživanje bilo je uključeno 192 žene te su prikupljeni klinički i hematološko-biokemijski podatci. Hi-kvadrat testom utvrđena je statistička značajna ovisnost NLR omjera i SII indeksa u odnosu na dob pacijentica: mlađe pacijentice imale su više vrijednosti NLR omjera ( $P=0,025$ ) i SII indeksa ( $P<0,001$ ) u odnosu na starije pacijentice. Pri graničnoj vrijednosti NLR omjera od 2,65 ( $P=0,001$ ) i 3,30 ( $P<0,001$ ) primijećena je tendencija pada vrijednosti NLR omjera nakon operacije. Za SII indeks također je utvrđen značajni pad vrijednosti nakon operacije ( $P<0,001$ ). Ovim istraživanjem zaključilo se kako je SII indeks superiorniji i sveobuhvatniji nad parametrima definiranim NLR i PLR omjerom, a da optimalna granična vrijednost za NLR omjer iznosi 2,65.

## 7.2 Summary

The breast is the most common carcinoma site in women (frequency about 24%), according to the GLOBOCAN's (interactive web page which presents global statistical data about the incidence of carcinoma to inform about control options and researches from this field of science) and the Croatian national cancer record's data. Breast carcinoma is affected by lots of genetic factors, such as mutations in the BRCA genes. Moreover, breast carcinoma is also influenced by environmental factors like radiation, nutrition, endogenous and exogenous factors, and sex hormones. During the period of 2015 to 2021, a retrospective research was done at the Tumor Clinic of the KBC Sestre milosrdnice in Zagreb, to investigate the relationship between indirect haematological factors, neutrophil to lymphocyte ratio – NLR, platelets to lymphocyte ratio – PLR, systemic immune-inflammation index – SII and the treatment outcome as well as overall survival of patients after 5 years. 192 women with breast carcinoma were included in this research. Clinical and haematological-biochemical data were collected from all women. The Hi-quadrat test determined a statistically significant correlation between NLR and SII with the age of the patients: younger women had higher values of NLR ( $P=0.025$ ) and SII ( $P<0.001$ ) compared to older women. At a cut-off value of 2.65 ( $P=0.001$ ) and 3.30 ( $P<0.001$ ), a decline in the NLR value was noticed after surgery. The same decline in value after surgery was noticed for the SII ( $P<0.001$ ). Through this research, SII has been shown to be superior and more comprehensive than parameters set by NLR and PLR. Also, this research recommends 2.65 as the optimal cut-off value for NLR in predicting a successful surgery.

## 8. Temeljna dokumentacijska kartica / Basic documentation card

### 8.1 Temeljna dokumentacijska kartica

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

Diplomski rad

### Prognostički značaj predoperativnih računskih hematoloških upalnih parametara kod pacijentica s karcinomom dojke

Karmela Ana Popović

#### SAŽETAK

Prema procjeni podataka dobivenih putem GLOBOCAN-a (interaktivne platforme koja iznosi globalne statistike pojavnosti karcinoma s ciljem informiranja javnosti o kontroli i istraživanjima u tom području) i Registra za rak Republike Hrvatske, dojka je najčešće sijelo karcinoma u žena (učestalost oko 24%). Karcinom dojke uvjetovan je mnoštvom genetskih, kao što su mutacije u BRCA genima, ali i okolišnim čimbenicima, poput ionizirajućeg zračenja, prehrane, endogenih i egzogenih čimbenika te spolnih hormona. U istraživanju provedenom na Klinici za tumore KBC Sestre milosrdnice u Zagrebu ispitala se povezanost neizravnih hematoloških parametara, omjera neutrofila i limfocita – NLR, omjera trombocita i limfocita – PLR, indeksa sustavnog imunosno-upalnog odgovora – SII s ishodima liječenja i preživljenja u pacijentica koje su se liječile od karcinoma dojke u razdoblju od 2015. do 2021. godine. U ovo retrospektivno istraživanje bilo je uključeno 192 žena te su prikupljeni klinički i hematološko-biokemijski podatci. Hi-kvadrat testom utvrđena je statistička značajna ovisnost NLR omjera i SII indeksa u odnosu na dob pacijentica: mlađe pacijentice imale su više vrijednosti NLR omjera ( $P=0,025$ ) i SII indeksa ( $P<0,001$ ) u odnosu na starije pacijentice. Pri graničnoj vrijednosti NLR omjera od 2,65 ( $P=0,001$ ) i 3,30 ( $P<0,001$ ) primijećena je tendencija pada vrijednosti NLR omjera nakon operacije. Za SII indeks također je utvrđen značajni pad vrijednosti nakon operacije ( $P<0,001$ ). Ovim istraživanjem zaključilo se kako je SII indeks superiorniji i sveobuhvatniji nad parametrima definiranim NLR i PLR omjerom, a da optimalna granična vrijednost za NLR omjer iznosi 2,65.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 65 stranice, 5 grafičkih prikaza, 7 tablica i 139 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: karcinom dojke, omjer neutrofila i limfocita (NLR omjer), omjer trombocita i limfocita (PLR omjer), sustavni imunosno-upalni odgovor (SII indeks)

Mentori: **Izv. prof. dr. sc. Donatella Verbanac**, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

**Doc. dr. sc. Ivan Milas**, *predstojnik Klinike za tumore KBC Sestre milosrdnice u Zagrebu.*

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

**Doc. dr. sc. Ivan Milas**, *predstojnik Klinike za tumore KBC Sestre milosrdnice u Zagrebu.*

**Prof. dr. sc. Olga Gronik Kljaić**, *redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: kolovoz 2021.

## 8.2 Basic documentation card

University of Zagreb  
Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
Study: Medical biochemistry  
Department of medical biochemistry and heamatology  
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

### **The Prognostic Value of Preoperative Calculated Haematological Inflammatory Markers in Patients with Breast Carcinoma**

**Karmela Ana Popović**

#### **SUMMARY**

The breast is the most common carcinoma site in women (frequency about 24%), according to the GLOBOCAN's (interactive web page which presents global statistical data about the incidence of carcinoma to inform about control options and researches from this field of science) and the Croatian national cancer record's data. Breast carcinoma is affected by lots of genetic factors, such as mutations in the BRCA genes. Moreover, breast carcinoma is also influenced by environmental factors like radiation, nutrition, endogenous and exogenous factors, and sex hormones. During the period of 2015 to 2021, a retrospective research was done at the Tumor Clinic of the KBC Sestre milosrdnice in Zagreb, to investigate the relationship between indirect haematological factors, neutrophil to lymphocyte ratio – NLR, platelets to lymphocyte ratio – PLR, systemic immune-inflammation index – SII and the treatment outcome as well as overall survival of patients after 5 years. 192 women with breast carcinoma were included in this research. Clinical and haematological-biochemical data were collected from all women. The Hi-quadrat test determined a statistically significant correlation between NLR and SII with the age of the patients: younger women had higher values of NLR ( $P=0.025$ ) and SII ( $P<0.001$ ) compared to older women. At a cut-off value of 2.65 ( $P=0.001$ ) and 3.30 ( $P<0.001$ ), a decline in the NLR value was noticed after surgery. The same decline in value after surgery was noticed for the SII ( $P<0.001$ ). Through this research, SII has been shown to be superior and more comprehensive than parameters set by NLR and PLR. Also, this research recommends 2.65 as the optimal cut-off value for NLR in predicting a successful surgery.

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

Thesis includes: 65 pages, 5 figures, 7 tables and 139 references. Original is in Croatian language.

Keywords: breast carcinoma, neutrophil to lymphocyte ratio (NLR), platelets to lymphocyte ratio (PLR), systemic immune-inflammation indeks (SII)

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

**Prof. Ivan Milas, MD, Ph.D.** Assistant Professor, University of Zagreb, Head of the Tumor Clinic of the KBC Sestre milosrdnice in Zagreb

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

**Doc. Ivan Milas, MD, Ph.D.** Head of the Tumor Clinic of the KBC Sestre milosrdnice in Zagreb

**Prof. Olga Gornik Kljaić, Ph.D.** Full Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: August 2021.

