

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

Stanislav M. Rajković

ODREĐIVANJE ZNAČAJA HORMONSKOG, HER2  
STATUSA I PROLIFERATIVNOG INDEKSA Ki67 U  
NASTANKU PATOLOŠKIH FRAKTURA KOD  
PACIJENTKINJA SA METASTATSKIM KARCINOMOM  
DOJKE

doktorska disertacija

Beograd, 2023.

UNIVERSITY OF BELGRADE

MEDICAL FACULTY

Stanislav M. Rajković

DETERMINATION OF THE SIGNIFICANCE OF  
HORMONAL, HER2 STATUS, AND PROLIFERATIVE INDEX  
Ki67 IN THE DEVELOPMENT OF PATHOLOGICAL  
FRACTURES IN PATIENTS WITH METASTATIC BREAST  
CANCER

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2023.

Mentori:

1. Prof.dr sci.med. Jelena Sopta; redovni profesor, specijalista patologije; Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Institut za patologiju "Dr Đorđe Joanović"
2. Prof.dr sci.med. Zoran Baščarević; redovni profesor, specijalista ortopedske hirurgije i traumatologije; Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Institut za ortopediju "Banjica"

Komisija:

1. Prof.dr sci.med. Nemanja Slavković; vanredni profesor, specijalista ortopedske hirurgije i traumatologije; Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Institut za ortopediju "Banjica"
2. Doc.dr sci.med. Srđan Nikolić; docent, specijalista opšte hirurgije; Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Institut za onkologiju i radiologiju Srbije
3. Prof.dr sci.med. Radoslav Gajanin; redovni profesor, specijalista patologije; Univerzitet u Banja Luci

Datum odbrane: \_\_\_\_\_

## **IZJAVE ZAHVALNOSTI**

Mentoru Prof.dr Jeleni Sopti za neizmernu pomoć i podršku, stručno i naučno usmeravanje i prijateljstvo tokom izrade disertacije i višegodišnjeg zajedničkog rada.

Komentoru Prof.dr Zoranu Bašćareviću za stručnu i naučnu podršku.

Članovima komisije Prof.dr Nemanji Slavkoviću, Doc.dr Srđanu Nikoliću i Prof.dr Radoslavu Gajaninu za pomoć u završnoj izradi i stručnim detaljima disertacije.

Prijateljima i saradnicima za razne oblike pomoći i podršku.

Porodici za ljubav, strpljenje i razumevanje.

Koautorima radova koji su proizašli kao rezultat istraživanja u okviru ove doktorske teze:

Prof.dr Jelena Sopta – osmišljavanje teze, metodologija, prikupljanje patoloških podataka, analiza rezultata, pisanje rada

Prof.dr Charalambos Charalambous – analiza rezultata, pisanje rada

dr Michalis Charalambous – analiza rezultata, pisanje rada

Ass.dr Ljubica Simić – prikupljanje patoloških podataka, analiza rezultata

Kl.ass.dr Goran Đuričić – analiza radioloških rezultata

Doc.dr Duško Dundžerović – prikupljanje patoloških podataka, analiza rezultata

dr Lazar Mičeta – statistička, grafička i tehnička obrada

Prof.dr Biljana Miličić – statistička obrada, analiza rezultata

# ODREĐIVANJE ZNAČAJA HORMONSKOG, HER2 STATUSA I PROLIFERATIVNOG INDEKSA Ki67 U NASTANKU PATOLOŠKIH FRAKTURA KOD PACIJENTKINJA SA METASTATSKIM KARCINOMOM DOJKE

Sažetak:

Karcinom dojke najčešće metastazira u kosti. Vizuelizacione metode se koriste za dijagnozu metastaza i procenu rizika za patološki prelom. Biopsijom i patološkom analizom utvrđuje se status ER, PR i HER2 koji su ključni za prognozu i izbor terapije.

Ciljevi studije bili su utvrđivanje kliničko-radiografskih karakteristika i imunohistohemijskog statusa ER, PR i HER2 i proliferativnog indeksa Ki67 skeletnih metastaza karcinoma dojke, i ispitivanje njihove povezanosti sa nastankom patološkog preloma.

U studiju su uključene 152 pacijentkinje. Iz istorija bolesti dobijeni su klinički podaci i analizirane vizuelizacione dijagnostičke metode. Sve pacijentkinje su operisane i uzorci tkiva tumora su dalje analizirani za ER i PR prema Alred skor. Pozitivnost HER2 utvrđena je na osnovu intenziteta bojenja i procenta obojenih ćelija. Indeks proliferacije Ki67 predstavljen je kao procenat obojenih ćelija tumora.

Starost pacijenta, vreme proteklo od primarne bolesti do metastaza i vreme od dijagnoze skeletnih metastaza do skeletnog događaja nisu pokazali statistički značajnu povezanost sa nastankom patološkog preloma. Za broj i vrstu metastaza (mešovite, litične) takođe nije utvrđena statistički značajna povezanost sa prelomom. Najčešće slomljena kost bio je femur, praćen pršljenovima i humerusom. Statistički značajna povezanost sa nastankom patološkog preloma utvrđena je za duge kosti, posebno vrat i dijafizu femura i dijafizu humerusa.

Statistički značajna povezanost sa prelomom utvrđena je za PR+ metastaze. Povezanost nije utvrđena za ER i HER2, kao ni za vrednost Ki67 indeksa.

Ove rezultate mogu koristiti ortopedski hirurzi za izbor pacijenata za profilaktičku operaciju i za to se posebno izdvajaju pacijenti sa PR+ metastazama u femuru i humerusu.

Ključne reči: karcinom dojke, metastaze, patološki prelom, receptori, estrogen, progesteron, HER2, proliferativni indeks Ki67

Naučna oblast: Medicina

Uža naučna oblast: Biologija tumora i oksidativna oboljenja

UDK broj: \_\_\_\_\_

# DETERMINATION OF THE SIGNIFICANCE OF HORMONAL, HER2 STATUS, AND PROLIFERATIVE INDEX Ki67 IN THE DEVELOPMENT OF PATHOLOGICAL FRACTURES IN PATIENTS WITH METASTATIC BREAST CANCER

## Abstract:

Breast cancer most commonly metastasizes to bones. Visualization methods are used to diagnose metastases and assess risk of pathological fracture. Biopsy and pathological analysis determine status of ER, PR and HER2 which are crucial for prognosis and treatment selection.

Objectives of this study were to determine clinical-radiographic characteristics and immunohistochemical status of ER, PR, HER2 and the proliferative index Ki67 in skeletal metastases of breast cancer and investigate their association with occurrence of pathological fracture.

Study included 152 patients. Clinical data were obtained and visualization diagnostic methods were analyzed from medical records. All patients underwent surgery and tumor tissue samples were analyzed for ER and PR according to the Allred score. HER2 positivity was determined based on the intensity of staining and the percentage of stained cells. The Ki67 proliferation index was presented as percentage of stained tumor cells.

Patient age, time from primary disease to metastasis and time from diagnosis of skeletal metastases to skeletal event did not show statistically significant association with occurrence of fractures. Number and type of metastases (mixed, lytic) also did not show statistically significant association with fractures. The most commonly fractured bone was femur, followed by vertebrae and humerus. Statistically significant association with occurrence of fracture was found for long bones, particularly neck and diaphysis of femur and diaphysis of humerus.

Statistically significant association with fractures was found for PR+ metastases. No association was found for ER and HER2, nor for Ki67 index.

These results can be used for prophylactic surgery, particularly for patients with PR+ metastases in femur and humerus.

Key words: breast cancer, metastases, pathological fracture, receptors, estrogen, progesterone, HER2, proliferative index Ki67

Scientific field: Medicine

Special scientific field: Tumor biology and oxidative diseases

UDK number: \_\_\_\_\_

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
1.1 PRIMARNI KARCINOM DOJKE .....	1
1.1.1 Epidemiologija i etiopatogeneza .....	1
1.1.2 Klinička slika i prirodni tok bolesti .....	2
1.1.3 Dijagnostika, prevencija i lečenje primarnog karcinoma dojke .....	2
1.2 METASTAZE .....	4
1.2.1 Epidemiologija metastaza karcinoma dojke .....	4
1.2.2 Mehanizam metastaziranja i razvoj metastaza .....	4
1.2.3 Klinička slika skeletnih metastaza .....	5
1.2.4 Dijagnostika skeletnih metastaza .....	6
1.3 KLASIFIKACIJE .....	12
1.4 HORMONSKI RECEPTORI I HER2, PROLIFERATIVNI INDEKS Ki67 .....	15
2. CILJEVI RADA .....	19
3. MATERIJAL I METODE .....	20
3.1 KLINIČKI PODACI .....	20
3.2 PATOLOŠKA ANALIZA .....	21
3.3 STATISTIČKA ANALIZA .....	23
4. REZULTATI .....	24
4.1 DEMOGRAFSKE I KLINIČKE KARAKTERISTIKE .....	24
4.2 IMUNOHISTOHEMIJA .....	36
5. DISKUSIJA .....	46
6. ZAKLJUČCI .....	53
7. LITERATURA .....	54

## 1. UVOD

### 1.1 PRIMARNI KARCINOM DOJKE

Prema tradicionalnom shvatanju naziv "tumor" se u medicini koristi za oteklinu bilo kog tipa. Međutim, u savremenoj medicinskoj terminologiji naziv tumor se koristi da se označe samo neoplastične proliferacije. Kao u drugim organima, i u dojci se mogu javiti otekline različitog porekla – zapaljenje (npr. granulomatozni mastitis i postraumatska masna nekroza), hiperplastična proliferacija (npr. sklerozirajući adenitis) ili kolekcija tečnosti (npr. obična cista i apsces). Naziv tumor dojke se koristi da se označe benigne i maligne otekline neoplastičnog porekla. Poseban značaj ima karcinom dojke – maligni tumor koji nastaje od različitih epitelnih struktura dojke<sup>1</sup>.

#### 1.1.1 Epidemiologija i etiopatogeneza

Važnost karcinoma dojke se ogleda u epidemiološkim podacima koji ukazuju na to da je ova bolest značajan javnozdravstveni problem. Epidemiologija karcinoma dojke uveliko varira između različitih zemalja i regiona. U registrima zemalja zapadne Evrope i Severne Amerike zabeležena je stopa oboljevanja od 85-94/100000<sup>2</sup>. Na celom evropskom kontinentu prosečna stopa oboljevanja u 2020.godini iznosila je 74,3/100000, a stopa umiranja 14,8/100000<sup>2</sup>. U istoj godini u Srbiji je registrovano oko 4400 novih slučajeva i oko 1800 umrlih žena, odnosno stopa oboljevanja 64,5 na 100000 žena i stopa umiranja 20,3 na 100000<sup>3</sup>. Prema podacima Svetske zdravstvene organizacije (SZO) u svetu se godišnje dijagnostikuje oko 2,3 miliona novih slučajeva karcinoma dojke sa prosečnom stopom oboljevanja od 47,8/100000<sup>3</sup>. Decenijama unazad registrovano je 500000-700000 umrlih žena godišnje, sa prosečnom stopom umiranja od 13,6/100000, što ovu bolest čini drugim po redu uzrokom smrti od malignih bolesti posle karcinoma pluća, a vodećim uzrokom smrti od karcinoma kod žena širom sveta<sup>3</sup>. Procenjuje se da će se broj obolelih od karcinoma dojke povećavati i da će 2040. u svetu biti registrovano oko 3 miliona novoobolelih godišnje uz više od milion smrtnih slučajeva. Pretpostavka je da će do ovog porasta doći najviše usled napretka zdravstvenih sistema u nerazvijenim i zemljama u razvoju zbog čega će se registrovati veći broj obolelih i umrlih. Ali do povećanja će dovesti i drugi faktori kao produženje životnog veka i povećana upotreba hormonske terapije<sup>2</sup>.

Različiti faktori kao što su starost, genetika, hormonska izloženost, uzrast pri menarhi, broj trudnoća i porođaja, način života i okruženje mogu uticati na rizik od razvoja karcinoma dojke. Žene koje imaju bliskog srodnika (majku, sestru ili ćerku) koje su bolovale od karcinoma dojke imaju povećan rizik. Poznato je da mutacije u genima BRCA1 i BRCA2, kao i *Li-Fraumeni*, *Cowden* i *Peutz-Jeghers* sindromi nose izrazito povišen rizik za nastanak karcinoma dojke<sup>4,5</sup>. Hormonska terapija, posebno supstituciona terapija tokom menopauze, takođe može povećati rizik od oboljevanja<sup>5</sup>. Bolest se retko može javiti i kod muškaraca, ali u velikoj većini oboljevaju žene. Studije su pokazale da se karcinom dojke češće javlja u starosnoj dobi nakon 40. godine života, a najviše uzrasno-specifične stope oboljevanja su registrovane u starosnoj dobi 65. do 74. godine. U skladu sa ovim, porast stope umiranja proporcionalno se registruje od 45. godine i dostiže vrhunac nakon 75. godine života<sup>3-5</sup>.



### 1.1.2 Klinička slika i prirodni tok bolesti

Klinička slika karcinoma dojke varira u zavisnosti od histološkog tipa i lokalizacije primarnog tumora u dojci, stadijuma bolesti i prisustva metastaza.

Najčešće je prvi simptom koji se može primetiti prisustvo čvorića ili zadebljanja u dojci. Čvorić obično nije bolan i može se pomerati ili biti fiksiran za okolno tkivo. Važno je napomenuti da ne ukazuju svi čvorići u dojci na karcinom, već se mogu pojaviti i benigni tumori ili ciste. Ipak, svaka nova promena u dojci treba da se ispita kako bi se isključila mogućnost prisustva karcinoma. Pored čvorića, mogu se javiti i drugi simptomi kao što su promene u veličini ili obliku dojke, promene na koži dojke poput uvlačenja ili izbočenja, izlučivanje tečnosti iz bradavice, crvenilo ili promene u teksturi kože dojke. Takođe, pacijentkinje mogu osećati bol u dojci ili području oko nje, ali to nije uvek prisutno<sup>6</sup>.

Širenje karcinoma dojke odvija se primarno limfogenim putem, najpre u regionalne limfne čvorove pazušne jame gde je prvo zahvaćen sentinealni (čuvar) limfni čvor, a nakon njega i drugi limfni čvorovi aksile, klavikularne regije, retrosternalne regije i medijastinuma<sup>7</sup>. Tumorske ćelije zatim ulaze u krvotok i naseljavaju druge organe dajući visceralne i skeletne metastaze. Od organa najčešće su zahvaćeni pluća, jetra i mozak. Svi delovi skeleta mogu biti zahvaćeni, ali najčešće su to karlična kost i gornji okrajci femura i humerusa i kičmeni pršljenovi. U ovoj fazi klinička slika bolesti se veoma razlikuje u zavisnosti od organa koji su zahvaćeni, broja i veličine metastaza. Medijana preživljavanja u ovoj fazi je tri do pet godina, a samo 26% pacijenata preživi pet godina<sup>8</sup>.

### 1.1.3 Dijagnostika, prevencija i lečenje primarnog karcinoma dojke

Dijagnostika karcinoma dojke počinje od samih žena koje treba da sprovedu samopreglede u mesečnim intervalima. Ovaj pregled se sastoji od inspekcije – posmatranja mogućih promena na koži – uvučenost kože ili bradavice, naboranost (često po tipu “kora pomorandže”), crvenilo, rana, sekrecija; zatim palpacije – blago pritiskanje dojke po zonama u cilju otkrivanja čvršćih i/ili bolnih delova u dubljim strukturama same dojke, okolne zone i pazušne jame<sup>9</sup>.

Zlatni standard u vizuelizacionim dijagnostičkim metodama je digitalna mamografija. Ova metoda predstavlja radiografsko snimanje čiji je rezultat kompjuterski obrađen i pojačan tako da se dobija slika visoke jasnoće. Druge metode su ultrazvuk, digitalna tomosinteza i kontrastna magnetna rezonanca i one se koriste za skrining kod mladih žena, zatim u slučajevima gde se digitalnom mamografijom postavlja sumnja, ali se ne može sa sigurnošću postaviti dijagnoza, utvrđivanje stadijuma bolesti i planiranje operacije, kao i postterapijsko praćenje. Perkutana biopsija iglom se koristi za postavljanje konačne histološke dijagnoze u slučajevima gde se vizuelizacionim metodama ne može sa dovoljnom sigurnošću postaviti ili isključiti dijagnoza karcinoma dojke<sup>10</sup>.

Rano otkrivanje bolesti je temelj uspešnog lečenja. Veliki broj pacijentkinja kod kojih se karcinom dojke otkrije u najranijoj fazi mogu biti izlečene, čak primenom pošteđenih hirurških metoda, bez primene dodatnih terapijskih procedura. U svakom slučaju, otkrivanje karcinoma dojke u ranijim fazama omogućava veću uspešnost lečenja kako u vidu dužeg perioda bez bolesti, tako i dužeg preživljavanja. U cilju ranog otkrivanja vrši se zdravstveno prosvetčivanje i primenjuje se skrining. Žene se obrazuju o važnosti samopregleda i načinu njegovog izvođenja. Postoje dileme o stvarnoj efikanosti samopregleda u smislu smanjenja stope smrtnosti, ali nesporna je njegoova važnost u podizanju brige žena za sopstveno zdravlje i redovnih poseta lekaru u cilju sprovođenja drugih metoda skrininga<sup>11</sup>. Skrining se sprovodi jednom godišnje primenom ultrazvuka kod žena mlađih od 40 godina, i kod onih kod kojih se postavi

sumnja, dopunjava se digitalnom mamografijom<sup>12</sup>. Kod žena starijih od 40 godina osnovna skrining metoda je mamografija<sup>10</sup>.

Najsavremenijom metodom skrininga može se smatrati genetsko ispitivanje. Trenutno se ne sprovodi u celokupnoj populaciji, ali u razvijenim zemljama se vrši kod žena čije su bliže rođake bolovale od karcinoma dojke. Ispitivanjem se utvrđuje postojanje mutacija BRCA1 ili BRCA2 gena odgovornih za nastanak ove bolesti. Kod žena kod kojih se utvrdi postojanje mutacije preporuka je da se prag za skrining vizuelizacionim metodama spusti sa 30 na 25 godina starosti. Takođe je skrenuta pažnja radiolozima na povišenu mogućnost lažno negativnih rezultata mamografije, pa se savetuje primena digitalne tomosinteze, a kod onih pacijentkinja koje imaju kliničke tegobe, iako je mamografija negativna, predlaže se sprovođenje celokupnog dijagnostičnog protokola uključujući i perkutanu biopsiju iglom<sup>13</sup>. Vode se diskusije i na temu izvođenja profilaktičke mastektomije kod pacijentkinja sa visokim rizikom i za sada ne postoji jasan medicinski stav o tome već se odluka prepušta samim pacijentkinjama, ali je potvrđeno značajno psihološko rasterećenje kod žena koje budu podvrgnute ovoj proceduri<sup>14</sup>.

Prevenција u vidu promene životnog stila, poput zdrave ishrane, redovne fizičke aktivnosti, izbegavanja pušenja i umerene konzumacije alkohola, može smanjiti rizik od razvoja ove bolesti i takođe igra važnu ulogu u smanjenju broja obolelih<sup>15</sup>.

Lečenje karcinoma dojke uključuje različite modalitete, kao što su hirurško uklanjanje tumora, radioterapija, hemoterapija, hormonska terapija i ciljane terapije. Odabir tretmana zavisi od stadijuma bolesti, veličine tumora, prisustva metastaza i individualnih karakteristika pacijenta. U nekim slučajevima, kombinacija ovih terapija može biti najefikasnija<sup>16</sup>.

Hirurško uklanjanje tumora često se izvodi kao početni korak u lečenju karcinoma dojke. Parcijalnom mastektomijom se uklanja samo tumor i deo okolnog zdravog tkiva, dok se totalnom mastektomijom uklanja cela dojka. Nakon hirurškog zahvata, može se sprovesti radioterapija kako bi se uništile preostale ćelije karcinoma i smanjio rizik od recidiva<sup>16, 17</sup>.

Hemoterapija je terapija koja se koristi za uništavanje kancerogenih ćelija u telu putem lekova koji se primenjuju intravenski ili oralno. Ova terapija se često koristi kao neoadjuvantna terapija pre hirurškog uklanja tumora i kao adjuvantna nakon operacije kako bi se sprečila ponovna pojava karcinoma i smanjio rizik od metastaza<sup>16, 17</sup>.

Hormonska terapija se koristi za lečenje karcinoma dojke koji su hormonski osetljivi. Ova terapija uključuje lekove koji blokiraju dejstvo hormona estrogena, koji može podsticati rast ćelija tumora. Ciljana terapija je vrsta terapije koja je usmerena na specifične molekule ili puteve u kancerogenim ćelijama kako bi se zaustavio njihov rast i širenje<sup>17</sup>.

## 1.2 METASTAZE

Iako su rana dijagnostika i savremeni protokoli lečanja povećali stopu preživljavanja, karcinom dojke i dalje ostaje veoma značajan uzrok smrti u populaciji. Razlog za ovo je širenje ćelija tumora i zahvatanje drugih organa, a u toj fazi karcinom dojke se i dalje smatra neizlečivom bolesti<sup>18</sup>.

### 1.2.1 Epidemiologija metastaza karcinoma dojke

Pojava metastaza se najčešće registruje u periodu od 5 do 7 godina od dijagnoze primarne bolesti<sup>19</sup>. Međutim, kod oko 5% pacijenata su metastaze prisutne i u trenutku dijagnoze primarne bolesti, dok se kod drugih metastaze mogu javiti i nakon više od 20 godina od primarne bolesti<sup>19,20</sup>.

Metastaze se mogu naći u svim ogranima, ali najčešće su zahvaćene kosti kod oko 80% pacijenata obolelih od karcinoma dojke, zatim pluća, jetra i mozak<sup>8, 18</sup>. Primećen je organotipni obrazac širenja koji prati pravilo "seme i tlo". Ovaj obrazac metastatskog širenja može biti pod uticajem različitih faktora, ali najdetaljnije je ispitivan uticaj hormonskih receptora i HER2 gde je pokazana povezanost, odnosno da tumori sa različitim statusima ovih receptora imaju predispoziciju za metastaziranje u određene organe<sup>21</sup>. Prema obrascu po kom daje metastaze karcinom dojke se deli u tri grupe: tumori koji metastaziraju samo u kosti, tumori sa van-skeletnim metastazama i oni koji se šire i u skeletne i visceralne lokacije<sup>22</sup>. Karcinom dojke sa metastazama ograničenim samo na kosti se javlja kod oko 25-40% pacijentkinja<sup>18,23</sup>.

### 1.2.2 Mehanizam metastaziranja i razvoj metastaza

Metastatska kaskada se sastoji od nekoliko koraka i izostanak bilo kog od njih zaustavlja proces<sup>24</sup>. Metastaziranje započinje invazijom ćelija tumora u okolno tkivo. U toku ovog procesa gube se međućelijske veze i veze ćelija sa vanćelijskim matriksom koji se zatim razgrađuje. Ključne promene se dešavaju u familijama proteina kadherina i integrina, zatim delovanjem enzima metaloproteinaza, heparanaze, glukorinidaze i urokinaza-plazminogen aktivirajućeg sistema<sup>25</sup>. Invazija je praćena migracijom, odnosno kretanjem ćelija tumora kroz razgrađenu ekstraćelijsku sredinu i završava se intravazacijom, odnosno prodorom tumorskih ćelija u limfni ili krvni sud. U koliko je metastaziranje započeto limfogeno, po naseljavanju limfnog čvora, proces se ponavlja dok se tumorske ćelije ne nađu u krvotoku. Tokom ovog procesa ćelije karcinoma dojke podležu promeni fenotipa odnosno dolazi do epitelno-mezenhimne transformacije. Glavna histološka karakteristika ovog procesa je prelazak ćelija u vretenast oblik. Što je diferencijacija tumora slabija, njegove ćelije imaju fenotip bliži mezenhimalnom, oblik im je više vretenast i više veza između ćelija se gubi, tako da se nakon intravazacije u krvotoku mogu naći kao pojedinačne ćelije ili kao manja grupa povezanih ćelija, i nazivaju se cirkulišuće tumorske ćelije<sup>26</sup>. Mehanizmi koji upravljaju ekstravazacijom tumorskih ćelija u određenom tkivu se ispituju. Za sada se pretpostavlja da ćelije tumora ekspimiraju određene receptore koji se vezuju za ligande u ciljnom tkivu. Za karcinom dojke dokazan je hemokin receptor 4 (CXCR4) koji se vezuje za hemokin ligand 12 (CXCL12) prisutan u kostima i plućima, a slabo prisutan u tankom crevu, bubregu i koži, čime se objašnjava znatno češće prisustvo metastaza u kostima i plućima u odnosu na druge organe<sup>27</sup>. Takođe je primećeno da sam primarni tumor sekretuje signalne supstance koje deluju na ciljno tkivo pripremajući "metastatske niše" za naseljavanje tumorskih ćelija<sup>28</sup>. Završni korak u formiranju metastaze je angiogeneza. U ovom procesu, ravnoteža između pro-angiogenetskih i anti-angiogenetskih faktora je pomerena u korist pro-angiogeneze<sup>29</sup>. Tumorska vaskularna mreža je strukturno, funkcionalno i genetski različita od normalne i kao takva ne može da snabde tumor dovoljnom količinom kiseonika usled čega

nastaje hipoksija. Nedostatak kiseonika stimuliše tumor da proizvodi dodatne pro-angiogenetske faktore i stvara nove krvne sudove uvodeći proces u “začarani krug”<sup>30</sup>.

U daljem toku tumorske ćelije u kosti sekretuju signalne supstance kojima narušavaju delovanje receptorskog aktivatora za nuklearni faktor  $\kappa$ B (*Receptor Activator of Nuclear Factor  $\kappa$  B* - RANK), njegovog liganda (RANKL) i osteoprotegrina (OPG) što dovodi do poremećaja ravnoteže funkcije osteoblasta i osteoklasta, odnosno narušene remodelacije kosti i gubitka koštanog tkiva, a ređe do stvaranja veće količine kosti. U oba slučaja izmenjena je mikrostruktura kosti, smanjena čvrstina, kvalitet i integritet, usled čega kost postaje krta i u povećanom riziku od preloma<sup>31</sup>.

### 1.2.3 Klinička slika skeletnih metastaza

Skeletne metastaze imaju različite manifestacije koje se zajednički nazivaju skeletni događaji i to su bol, kompresija kičmene moždine ili nerva, maligna hiperkalcemija i patološki prelom. Vreme od dijagnoze skeletnih metastaza do skeletnih događaja varira od jednog dana, što znači da je dijagnoza skeletnih metastaza postavljena neposredno pre razvoja skeletnog događaja, pa do pet godina, u proseku dva do pet meseci<sup>32</sup>. U nekim, ne tako retkim, slučajevima skeletni događaji nastaju i pre dijagnoze metastaza odnosno pacijent ima tegobe, najčešće bol, a tek nakon nekog vremena se javi lekaru i sprovedu se dijagnostičke procedure kojima se postavi dijagnoza metastaza<sup>32</sup>.

Najčešći simptom je bol koji se javlja kod oko 80% pacijenta sa skeletnim metastazama. Bol je najčešće tup, lokalizovan u dubini regije u kojoj se metastaza nalazi sa širenjem na okolno blisko područje, nije vezan za aktivnost, u početku je blag, a vremenom se pojačava do izuzetno jakog<sup>31</sup>.

Kompresija kičmene moždine ili nerava postoji kod 10% pacijenata. Nastaje kao posledica nestabilnosti pršljena, nekada i tumorske mase koja se širi van kosti. Brzo napreduje i dovodi do motorne i senzorne disfunkcije, inkontinencije, otežanog hoda, radikularnog bola i paralize<sup>33</sup>.

Kod oko 20% pacijenata dolazi do maligne hiperkalcemije. Kod ovih pacijenata utvrđen je povišen nivo paratiroidnom hormonu sličnog proteina (*Parathyroid hormone related protein* - PTHrP). Ovaj protein je član paratiroidne hormonske grupe, postoji u zdravom organizmu i deluje kao endokrini, autokrini, parakrini i intrakrini hormon zadužen za enhondralnu osifikaciju i epitelno-mezenhimalnu interakciju. Međutim, luče ga i ćelije tumora, najčešće ćelije karcinoma dojke i nekih tipova karcinoma pluća<sup>34</sup>. Kliničke posledice maligne hiperkalcemije su umor, letargija, mučnina, konstipacija, slabost mišića, kardiovaskularna i renalna disfunkcija, konfuzija i koma. Zbog zastoja srca može doći do smrtnog ishoda<sup>35</sup>.

Patološki prelom nastaje u kosti koja je prethodno izmenjena patološkim procesom (Slika 1.). Ovaj proces može biti metaboličkog, endokrinog, razvojnog ili neoplastičnog porekla. Daleko najčešći uzrok su skeletne metastaze brojnih karcinoma, ali najčešće karcinoma dojke, pluća, prostate, bubrega i štitne žlezde<sup>36</sup>. Studije pokazuju da kod 10-20% pacijenata sa skeletnim metastazama dolazi do patološkog preloma tokom bolesti<sup>32, 37</sup>. Prelomu mogu prethoditi drugi skeletni događaji, najčešće bol, ali može nastati i bez prethodnih tegoba, čak i kod pacijenata kod kojih nije postavljena dijagnoza skeletnih metastaza, pa i kod onih kod kojih nije dijagnostikovani primarni tumor i na taj način mogu biti prva manifestacija maligne bolesti<sup>37</sup>. Patološki prelomi imaju značajan uticaj na kvalitet života i ubrzavaju smrtni ishod. Ranije studije su pokazale jednogodišnje preživljavanje oko 40%<sup>38</sup>. Sve ovo čini patološke prelome važnim medicinskim i socijalnim pitanjem i nova istraživanja su usmerena na otkrivanje faktora rizika za nastanak ovih preloma, kao i metode njihove prevencije i lečenja.



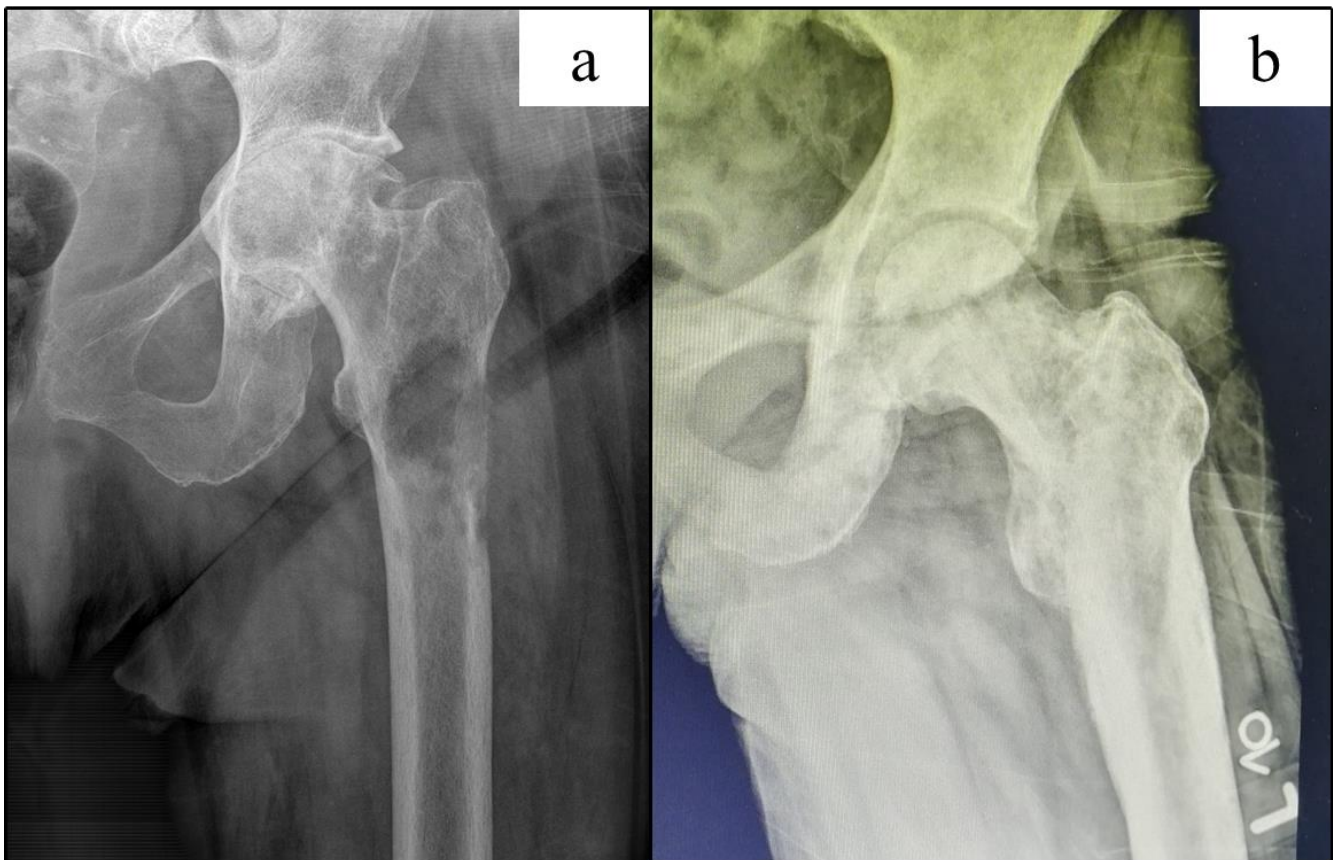
Slika 1. – Nativna radiografija femura sa patološkim prelomom na polju mešovite metastaze

#### 1.2.4 Dijagnostika skeletnih metastaza

Kod pacijenata kod kojih je postavljena dijagnoza primarnog karcinoma dojke neophodno je odmah sprovesti dijagnostičke procedure u cilju otkrivanja mogućih metastaza u limfnim čvorovima i udaljenim organima. Na taj način se utvrđuje stadijum bolesti i omogućava donošenje odluke o terapijskom protokolu. Nakon završene prve linije terapije, dijagnostičke procedure neophodno je ponavljati u cilju praćenja bolesti. Ne postoji opšteprihvaćeni protokol o intervalima i dužini praćenja, ali preporuka Američkog udruženja za kliničku onkologiju (*American Society of Clinical Oncology – ASCO*) je da se praćenje vrši u intervalima od šest meseci do godinu dana tokom pet godina nakon postavljanja prve dijagnoze za pacijente bez metastaza, a za pacijente sa metastazama praćenje se treba vršiti i češće, svakih tri do šest meseci, doživotno<sup>39</sup>. Na taj način se prati moguća pojava metastaza iako su ranije bile odsutne, odnosno prati se njihov razvoj i reakcija na terapiju u koliko je dijagnoza metastatske bolesti postavljena. Međutim, kod nekih pacijenata primarni karcinom dojke je lečen pre više od pet godina i tokom tog perioda nije došlo do pojave metastaza, tako da redovno praćenje nije sprovedeno tokom nekog vremena. Kod tih pacijenata pojava skeletnih događaja predstavlja indikaciju za sprovođenje celokupnog dijagnostičkog algoritma. Takođe, kod nekih pacijenata skeletni događaj može biti prva manifestacija maligne bolesti, pa je i kod njih potrebno sprovesti sve dijagnostičke procedure za metastaze, ali i za moguće otkrivanje primarnog tumora<sup>37</sup>.

Vizuelizacije dijagnostičke metode su najvažnija grupa i u njih spadaju nativna radiografija, kompjuterizovana tomografija, magnetna rezonanca, ultra-zvuk, skeletna scintigrafija i pozitron-emitujuća tomografija.

Nativna radiografija (RTG) je najstarija dijagnostička metoda, u primeni više od sto godina. Koristi jonizujuće - X ili gama zrake, koji se iz generatora projektuju kroz pacijenta. Deo zraka se apsorbira od strane tkiva u zavisnosti od gustine i strukture. Deo koji prođe se detektuje na filmu ili digitalnom aparatu i na osnovu njih se stvara dvodimenzionalna slika<sup>40</sup>. Koristi se za postavljanje dijagnoze visceralnih metastaza u plućima, jetri i mozgu, ali s obzirom na relativno nisku senzitivnost potrebno je dopuniti je drugim metodama. Njen najveći značaj je u dijagnostici metastaza u kostima. Iako i ovde ima relativno nisku senzitivnost, s obzirom da je potrebno da dođe do gubitka oko 50% koštane supstance da bi metastaza bila jasno uočljiva na RTG, ona predstavlja zlatni standard za uvid u tačnu lokalizaciju promene, vrstu koštane reakcije – osteolitična ili osteoplastna, stepen razaranja kosti i postojanje patološkog preloma<sup>41</sup>. Radiografski metastaza u kosti se može prikazati kao litična, u slučajevima gde postoji gubitak kosti, kao blastna, u slučajevima gde kost na metastazu reaguje stvaranjem nove količine gustog koštanog tkiva, i kao mešovita gde postoje i polja osteolize i polja osteoskleroze. Koštane metastaze karcinoma dojke se prikazuju kao litične u oko 60% slučajeva i kao mešovite u oko 40% (Slika 2.). Izolovano blastne promene nisu registrovane kod metastaza karcinoma dojke<sup>42</sup>.



Slika 2. – RTG prezentacija koštane metastaze u femuru:

a) osteolitična; b) mešovita

RTG se koristi i za procenu rizika od nastanka patološkog preloma. U tom cilju se na osnovu RTG formira Mirelsov skor (*Mirels` score*) za duge kosti i skor neoplastične nestabilnosti kičme (*Spinal instability neoplastic score - SINS*) za pršljenove. Za Mirelsov skor procenjuje se lokalizacija metastaze, vrsta koštane reakcije, stepen gubitka kosti i bol. Vrednost skora se kreće od 3 do 12. Skor vrednosti do 7 se smatra niskorizičnim za nastanak preloma, skor 8 nosi srednji rizik, a preko 8 je visokorizičan<sup>43</sup> (Tabela 1.).

Tabela 1. – Mirelsov skor za procenu rizika za nastanak patološkog preloma dugih kostiju

	Skor		
	1	2	3
<b>Lokalizacija</b>	Gonji ekstremitet	Donji ekstremitet	Peritrohanterno
<b>Koštana reakcija</b>	Blastna	Mešovita	Litična
<b>Gubitak kosti</b>	<1/3	1/3 – 2/3	>2/3
<b>Bol</b>	Bez bola - blag	Srednji - jak	Onesposobljavajući

Za SINS se analiziraju lokalizacija, bol, vrsta koštane reakcije, poravnanje pršljenova, kolaps pršljenova i zahvaćenost zadnjih elemenata. Vrednost skora se kreće od 0 do 6 za stabilne pršljenove, 7 do 12 za potencijano nestabilne i od 13 do 18 za nestabilne<sup>44</sup> (Tabela 2.). U kliničkoj praksi oba skora se koriste za donošenje odluke o terapiji. Kostii sa nižim rizikom se mogu lečiti medikamentozno i zračiti, dok se kosti sa višim rizikom tretiraju hirurški, profilaktičkom operacijom.

Tabela 2. – SINS za procenu rizika za nastanak patološkog preloma pršljenova

<b>Lokalizacija</b>	Spojevi (O-C1, C7-T1, T12-L1, L1-S1)	3
	Pokretna kičma (C3-6, L2-4)	2
	Semirigidna (T3-10)	1
	Rigidna (S2-5)	0
<b>Mehanički bol</b>	Da	3
	Povremeno i blago	1
	Ne	0
<b>Koštana reakcija</b>	Litična	2
	Mešovita	1
	Blastna	0
<b>Poravnanje pršljenova</b>	Subluksacija/translacija	4
	Kifoza/skolioza	2
	Normalno	0
<b>Kolaps pršljenova</b>	>50%	3
	<50%	2
	Bez kolapsa, ali >50% pršljena zahvaćeno	1
	Ništa	0
<b>Zahvaćenost zadnjih elemenata</b>	Bilateralno	3
	Unilateralno	1
	Ništa	0

Kompjuterizovana tomografija (*Computerized tomography* - CT) koristi jonizujuće zrake poput RTG, ali u saradnji sa kompjuterom koji stvara slike u vidu preseka tela. Naziv tomografija potiče od grčkih reči “*tomos*” (*τόμος*) što označava presek i “*grafos*” (*γράφω*) što znači opisivanje. Koristi veće doze zračenja nego RTG, ali sa napretkom tehnologije te doze su značajno smanjene, kao i vreme potrebno za izvođenje ove procedure koje na savremenim aparatima najčešće traje koliko jedan duboki udah. Za snimanje se mogu koristiti kontrasti, tako da se mogu prikazati i kosti i meka tkiva<sup>45</sup>. CT se koristi za dijagnostiku skeletnih metastaza u ranijoj fazi nego RTG, s obzirom da ima veću senzitivnost, odnosno promena se može otkriti u fazi kada gubitak koštane mase nije veliki. Kao i RTG koristi se za procenu vrste koštane reakcije i određivanje tačne lokalizacije (Slika 3.). Pored koštanih metastaza, veliku važnost ima u dijagnostici visceralnih metastaza, gde predstavlja zlatni standard – dijagnoza metastaza u plućima, jetri i mozgu postavlja se na osnovu CT pregleda. Koristi se i za otkrivanje primarnog tumora posebno u slučajevima gde je prvo postavljena dijagnoza metastaza bez prethodno poznatog primarnog tumora.



Slika 3. – CT prezentacija koštane metastaze u pršljenu:

a) osteolitična; b) mešovita

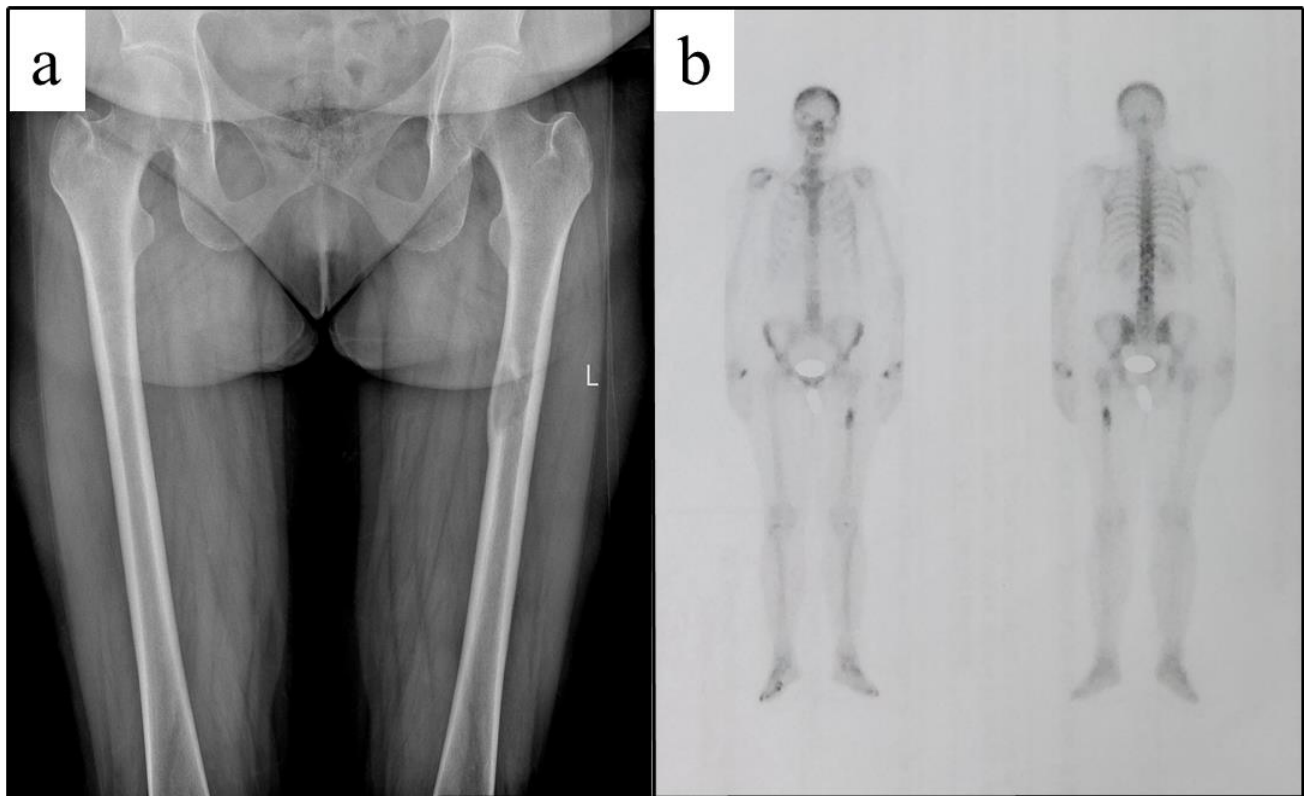
Magnetna rezonanca (*Magnetic resonance imaging* – MRI) je tehnologija koja koristi jako magnetno polje, gradijente magnetnog polja i radio talase da stvori sliku tela. Određeni atomi kada se stave u magnetno polje ulaze u polarizacionu rotaciju prilikom čega stvaraju radio talase koji se zatim detektuju i na osnovu njih se u kompjuteru stvara slika. U ljudskom telu za MRI se koriste atomi vodonika koji se nalaze u svakoj ćeliji, ali i međućelijskoj supstanci. Na osnovu toga MRI u ljudskom telu zapravo prikazuje vodu i mast. Kontrastom ovih supstanci u različitim strukturama formira se slika tela. Oslikava anatomiju, ali i aktivnost tkiva, prikazujući tako fiziološke i patofiziološke procese. U dijagnostici metastaza koristi se u istom cilju kao CT, pružajući bolji uvid u meke strukture. Ograničavajući faktori za primenu mogu biti metalni implantati i srčani *pace-maker*<sup>46</sup>.

Ultra-zvuk (UZ) je metoda koja koristi zvučne talase veće od 20000Hz koji se iz sonde šalju u telo. Taj zvuk se odbija od tkiva različitih karateristika stvarajući eho koji se registruje u sondi, a zatim kompjuterski obrađuje u sliku. Poseban značaj ima u ginekologiji, s obzirom na praktično odsustvo negativnih efekata po plod i majku, lako i brzo izvođenje i dobijanje pouzdane slike za postavljanje



dijagnoze. Koristi se i za prikazivanje limfnih čvorova, tetiva, mišića, zglobova, krvnih sudova, kao i unutrašnjih organa trbuha i karlice (jetra, nadbubrežne žlezde, bubrezi, mokraćna bešika) gde ima veliki značaj za dijagnozu metastaza. Za pregled skeleta i postavljanje dijagnoze skeletnih metastaza ima ograničenu primenu<sup>47</sup>.

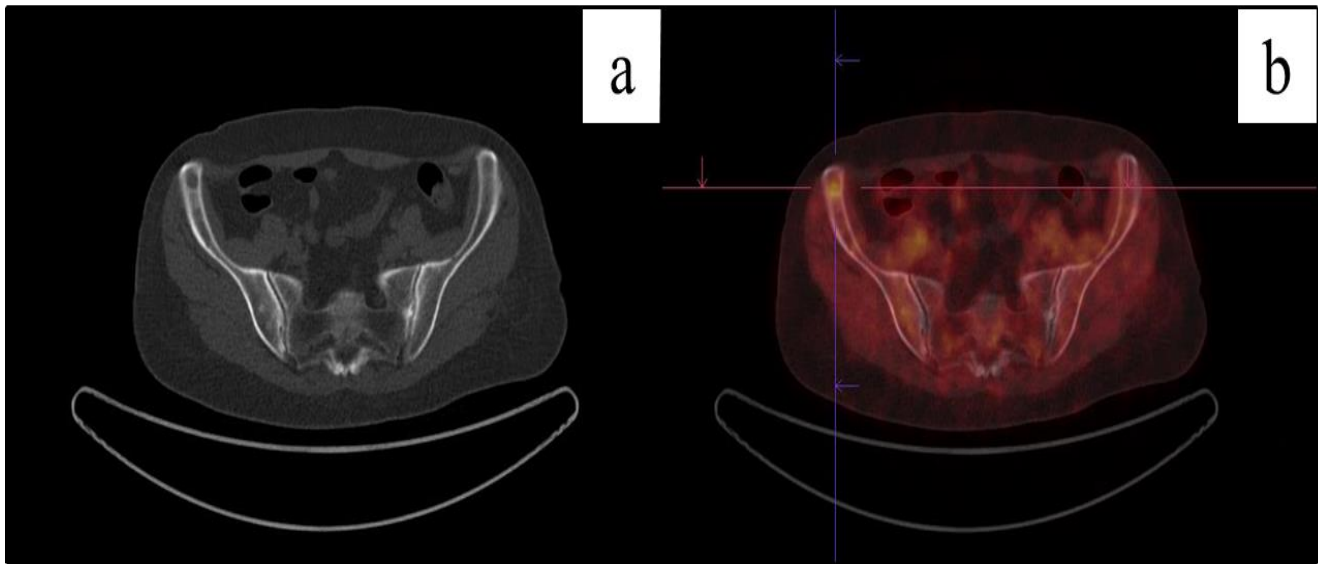
Scintigrafija skeleta je vizuelizaciona metoda nuklearne medicine (Slika 4.). Najčešće koristi tehnicijum-99m (<sup>99m</sup>Tc) kojim je obeležen metilen-difosfonat, a koji se vezuje za kristale hidroksiapatita u mineralnom matriksu kosti. Zračenje koje emituje <sup>99m</sup>Tc se detektuje gama-kamerom izvan tela, a zatim se na osnovu količine zračenja kompjuterski stvara slika skeleta. Tople zone na snimku odgovaraju mestima pojačanog zračenja odnosno lokalizacijama gde postoji povećana aktivnost osteoblasta i ubrzana remodelacija kosti. Nedostatak ove metode je u tome što povećana aktivnost osteoblasta, pored neoplazmi, postoji i u drugim procesima – degenerativna stanja, infekcije i zarastanje preloma. Usled toga ova metoda ima visoku senzitivnost – rano otkriva promene, ali nisku specifičnost – na osnovu nje se ne može sa sigurnošću postaviti dijagnoza. U kliničkoj praksi se koristi za utvrđivanje lokalizacija multiplih skeletnih metastaza, utvrđivanje stadijuma bolesti, praćenje i ponovno utvrđivanje stadijuma nakon terapije ili zbog relapsa<sup>48</sup>.



Slika 4. – Uporedni prikaz metastaze u femuru:

- a) nativna radiografija – osteoliza dijafize
- b) scintigrafija – nakupljanje radiofarmaka u dijafizi

Pozitron-emitujuća tomografija (PET) je metoda nuklearne medicine koja koristi radiofarmak, najčešće fluorodeoksiglukozu-18F (18F-FDG) koji je analog glukoze i unosi se u ćelije i uključuje u metaboličke procese. Snimanjem gama kamerom detektuje se zračenje, a na osnovu njegove količine stvara se slika metaboličke aktivnosti tkiva. S obzirom da tumori imaju visoku aktivnost PET se uspešno koristi za njihovu detekciju. U kliničkoj praksi može se koristiti za stvaranje dvodimenzionalne slike tela ili u kombinaciji sa CT ili MRI za snimanje preseka i stvaranje trodimenzionalne slike (Slika 5.). Indikacije za primenu su iste kao za scintigrafiju skeleta, uz nešto veću senzitivnost i specifičnost<sup>49</sup>.



Slika 5. – Uporedni prikaz metastaze u karličnoj kosti:

- a) CT – osteoliza krila ilijačne kosti
- b) PET CT – nakupljanje radiofarmaka u krilu ilijačne kosti

Ostale dijagnostičke metode za skeletne metastaze su laboratorijske. Njihov značaj je daleko manji od vizuelizacionih metoda, ali se koriste za diferencijalnu dijagnozu, skrining i praćenje. U biohemijском nalazu krvi povišen nivo koštane alkalne fosfataze ukazuje na ubranu remodelaciju kosti što može pobuditi sumnju na skeletne metastaze posebno kod pacijenata sa poznatom malignom bolesti. Povišen nivo kalcijuma ukazuje na mogućí razvoj maligne hiperkalcemije. Povišen nivo C-reaktivnog proteina (CRP) i ubrzana sedimentacija mogu postaviti dijagnozu osteomijelitisa i na taj način isključiti sumnju na metastaze.

Najznačajniji serumski markeri su karcinoembrionalni antigen (CEA) i karcinom antigen 15-3 (CA-15-3). CEA je grupa glikoproteina zadužena za ćelijsku adheziju. Normalno se proizvodi u fetalnom periodu dok se kod odraslih nalazi u veoma niskom nivou. Porast nivoa ovog markera podiže sumnju na tumor, ali se moraju sprovesti druge dijagnostičke metode da bi se dijagnoza postavila. Često njegov nivo ostaje veoma nizak i kod pacijenata kod kojih tumor postoji, tako da se ne može pouzdano koristiti ni za skrining. CA-15-3 je proizvod MUC1 gena koji može biti udružen sa karcinomom dojke, ali i sa benignim promenama dojke, cistama jajnika, cirozom jetre, sarkoidozom i lupusom, pa se ni on ne može koristiti kao siguran pokazatelj. Serije tumorskih markera pomažu u praćenju odgovora na terapiju i postavljanju sumnje na relaps primarnog tumora ili metastaze, ali se moraju dopuniti pozdanijim dijagnostičkim metodama<sup>50</sup>.

Patohistološka analiza uzorka biopsije predstavlja posebnu dijagnostičku metodu koja se još ne sprovodi u svim slučajevima metastatske bolesti. Njom se potvrđuje dijagnoza prethodno postavljena vizuelizacionim i laboratorijskim metodama, utvrđuju se posebne histološke, imunohistohemijske, nekada i genetske karakteristike tumora, što se dalje koristi za precizniju klasifikaciju i označavanje terapijskih meta u tkivu tumora, predviđanje odgovora na terapiju i predikciju prognoze bolesti.

### 1.3 KLASIFIKACIJE

Karcinom dojke je klasifikovan na osnovu više aspekata kao što su njegovo poreklo, proširenost, morfologija, molekularne i genetske karakteristike, biološko ponašanje i način lokalnog i sistemskog širenja i td. Prvu klasifikaciju izdala je SZO još 1968. i to na osnovu histoloških karakteristika tumora<sup>51</sup>. Ova klasifikacija prošla je nekoliko revizija, od kojih je poslednje Peto izdanje iz 2019.godine<sup>52</sup> (Tabela 3.). Koledž američkih patologa (*College of American Pathologists - CAP*) je 1999.godine potvrdio značaj ove klasifikacije svrstavši histološki tip karcinoma dojke u prvu kategoriju prognostičkih faktora<sup>1</sup>.

Osnovu ove klasifikacije čini podela na lokalizovane i invazivne tumore, zatim podela prema strukturi iz koje tumor potiče gde dve najveće grupe čine tumori lobularnog i duktalnog porekla, kao i osnovnim histološkim karakteristikama. Na taj način prvobitna klasifikacija iz 1968.godine karcinome dojke je delila na neinvazivne intralobularne/intraduktalne i infiltrativne koji su na osnovu nekih posebnosti označeni kao medularni, papilarni, kribriformni, mukozni, skvamozni, lobularni, Padžetova bolest dojke i karcinom porekla intrakanalikularnog fibroadenoma<sup>51</sup>. U izdanjima koja su sledila kao faktori podele dodavane su pojedine karakteristike tumorskih ćelija i tumorskog tkiva u celini, konkretno izgled ćelija, prisustvo sadržaja u njima, njihovu sekretornu aktivnost, oblik organizacije ćelija u tumoru, izgled vanćelijskog matriksa i drugo<sup>52</sup>.

Tabela 3. – Peto izdanje SZO klasifikacije karcinoma dojke (2019.)

<b>Ne-invazivni lobularni karcinom</b>
- Lobularni karcinom <i>in situ</i> (klasični, floridni, pleomorfni)
<b>Duktalni karcinom <i>in situ</i> (DCIS)</b>
- DCIS niskog gradusa
- DCIS intermedijarnog gradusa
- DCIS visokog gradusa
- DCIS papilarni
<b>Invazivni karcinom</b>
- Invazivni lobularni karcinom
- Invazivni nespecifični karcinom
- Mikroinvazivni karcinom
- Tubularni karcinom
- Kribriformni karcinom
- Mucinozni karcinom
- Mucinozni cistadenokarcinom
- Mikropapilarni karcinom
- Karcinom sa apokrinom diferencijacijom
- Metaplastični karcinomi (adenoskvamozni, fibromatozni, vretenasto-ćelijski skvamozni)
- Karcinomi sa mezenhimalnom metaplazijom (hondroidni, osteoidni, rabdomoidni)
- Acinično-ćelijski karcinom
- Adenoid-cistični karcinom
- Sekretorni karcinom
- Mukoepidermoidni karcinom
- Polimorfni adenokarcinom
- Karcinom visokih ćelija
<b>Papilarni karcinom</b>
<b>Neuroendokrini karcinomi</b>
<b>Epitelno-mioepitelne neoplazme</b>
- Maligni adenomioepiteliom
- Epitelno-mioepitelne karcinom
<b>Tumori muške dojke</b>
- <i>In situ</i> karcinom
- Invazivni karcinom

Osim klasifikacije SZO sa kliničke tačke gledišta posebnu važnost ima i klasifikacija na osnovu proširenosti tumora, odnosno anatomske stadijum bolesti. Načinjena je na osnovu veličine primarnog tumora, zahvaćenosti limfnih čvorova i udaljenih organa i naziva se TNM klasifikacija. Slovo T se odnosi na primarni tumor, N na regionalne limfne čvorove, a M na udaljene metastaze<sup>53</sup> (Tabela 4.).

Tabela 4. – Anatomske stadijum bolesti – TNM klasifikacija

<b>Stadijum 0</b>	T <i>In Situ</i>	N0	M0
<b>Stadijum IA</b>	T1	N0	M0
<b>Stadijum IB</b>	T0	N1mi	M0
	T1	N1mi	M0
<b>Stadijum IIA</b>	T0	N1	M0
	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
<b>Stadijum IIB</b>	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
<b>Stadijum IIIA</b>	T0	N2	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
	T3	N2	M0
<b>Stadijum IIIB</b>	T4	N0	M0
	T4	N1	M0
	T4	N2	M0
<b>Stadijum IIIC</b>	Bilo koji T	N3	M0
<b>Stadijum IV</b>	Bilo koji T	Bilo koji N	M1

T *In Situ* – ograničen tumor, T0 – nema dokaza o primarnom tumoru, T1 ≤ 20 mm, T2 20-50mm, T3 > 50mm

N0 – limfni čvorovi nisu zahvaćeni, N1 – zahvaćeni limfni čvorovi sa iste strane kao i tumor, Zone I i II (lateralno od unutrašnje ivice m.pectoralis minor), ali klinički pokretni i međusobno odvojeni, N1mi – mikrometastaza (do 2mm), N2 – zahvaćeni limfni čvorovi sa iste strane kao i tumor, Zone I ili II, ali klinički nepokretni ili spojeni, N3 - zahvaćeni limfni čvorovi sa iste strane kao i tumor, Zone III (medijalno od unutrašnje ivice m.pectoralis minor, infraklavikularno i mamarni limfni čvorovi)

M0 – nema udaljenih metastaza, M1 – prisutne udaljene metastaze u organima ili supraklavikularnim i cervikalnim limfnim čvorovima iste strane kao i tumor ili u limfnim čvorovima suprotne aksilarne regije

Navedena anatomska klasifikacija koristi se za planiranje terapijskog protokola, odnosno odluku o primeni preoperativne, neoadjuvantne terapije i radikalnosti hirurške intervencije, a zatim i primeni postoperativnih, adjuvantnih oblika terapije. Međutim, velike studije pokazale su da ova klasifikacija samostalno ne može dati jasnu prognozu<sup>54, 55</sup>. Za bolest-specifično preživljavanje znatno preciznijom se pokazala klasifikacija koja uz histološke i anatomske parametre uključuje i gradus tumora, multigeno testiranje i status receptora za hormone estrogen (ER) i progesteron (PR) i receptora za humani epidermalni faktora rasta 2 (*Human epidermal growth factor receptor 2* - HER2).

Gradus tumora definisan je morfološkim karakteristikama tumora, pleomorfizmom i brojem mitozama koji se označavaju skorom od jedan do tri, zatim sabiranjem ovih skorova čime se određuje gradus. Gradus 1 (skor 3-5) reprezentuje dobro diferentovan tumor, gradus 2 (skor 6 i 7) srednje diferentovan tumor, a gradus 3 (skor 8 i 9) označava slabo diferentovan tumor. Gradus tumora je važan prognostički faktor, nezavistan od veličine tumora<sup>56, 57</sup>.

Multigeno testiranje koristi panele (trenutno najpoznatiji *Oncotype DX Breast Recurrence Score [Genomic Health]*) kojima se određuje status ciljanih gena i formira skor na osnovu kog se predviđa rizik od pojave udaljene bolesti u desetogodišnjem periodu, kao i korist od primene hormonske i hemoterapije<sup>58, 59</sup>.

Posebnu važnost za karcinom dojke imaju receptori hormona estrogena i progesterona, HER2 i Ki67 proliferativni indeks. Standardno se utvrđuje njihov status u tkivu primarnog karcinoma dojke, ali sve više se pokazuje i važnost utvrđivanja u tkivu metastaza. Na osnovu njihovog statusa karcinom dojke je klasifikovan, oni predstavljaju jedan od glavnih parametara za izbor terapije i jedan od najsigurnijih prognostičkih parametara.

#### 1.4 HORMONSKI RECEPTORI I HER2, PROLIFERATIVNI INDEKS Ki67

Estrogen je steroidni polni hormon zadužen za razvoj i funkciju ženskog reproduktivnog sistema i sekundarnih polnih karakteristika uključujući mlečnu žlezdu. Prisutan je i kod muškaraca, ali u značajno većoj količini kod žena, posebno u reproduktivnom periodu. Luče ga ćelije jajnika i to u četiri prirodna oblika: estron (E1), estradiol (E2), estriol (E3) od kojih je E1 najzastupljeniji i najpotentniji. Četvrti oblik, estetrol (E4), se luči samo tokom trudnoće<sup>60</sup>.

Progesteron je polni hormon steroidnog sastava koji spada u grupu gestana, hormona zaduženih za menstrualni ciklus, trudnoću i embriogenezu. Takođe, ima važnu ulogu kao molekul iz kog se sintetišu drugi polni hormoni i kortikosteroidi. Luče ga jajnici i u manjoj količini testisi, tako da je prisutan i kod žena i kod muškaraca. Luče ga i kora nadbubrežne žlezde, žuto telo i posteljica<sup>61</sup>.

S obzirom na steroidni sastav, oba hormona pasivno prolaze kroz membrane svih ćelija, ali deluju na one koje u svojim jedrima, citoplazmi i na membranama imaju odgovarajuće receptore. Vezivanjem za receptor u jedru formiraju kompleks koji se dalje vezuje za DNK i pokreće transkripciju ciljanih gena. Vezivanjem za receptore na membrani pokreću se signalni putevi kojima se ostvaruje dejstvo na DNK. Receptore za estrogen i progesteron unutar ćelija i na membranama imaju jajnici, materica, mlečna žlezda, kosti, mozak i u manjoj meri ćelije muškog reproduktivnog sistema. U skorije vreme otkriveni su membranski receptori za progesteron prisutni na oocitima, zaduženi za njihovo sazrevanje, kao i na spermatozoidima, zaduženi za njihovu pokretljivost. Nedavno je otkrivena i mogućnost vezivanja progesterona za sigma-1 receptor prisutan u mnogim ćelijama, za koji se vezuju i aldosteron i glikokortikoidi. Pored ovih, progesteron se vezuje i za receptor membransku komponentu-1 (*Progesterone receptor membrane component 1 - PGRMC1*) preko koje u normalnim uslovima reguliše životni ciklus nervnih ćelija, a kod tumora dovodi do progresije<sup>62</sup>.

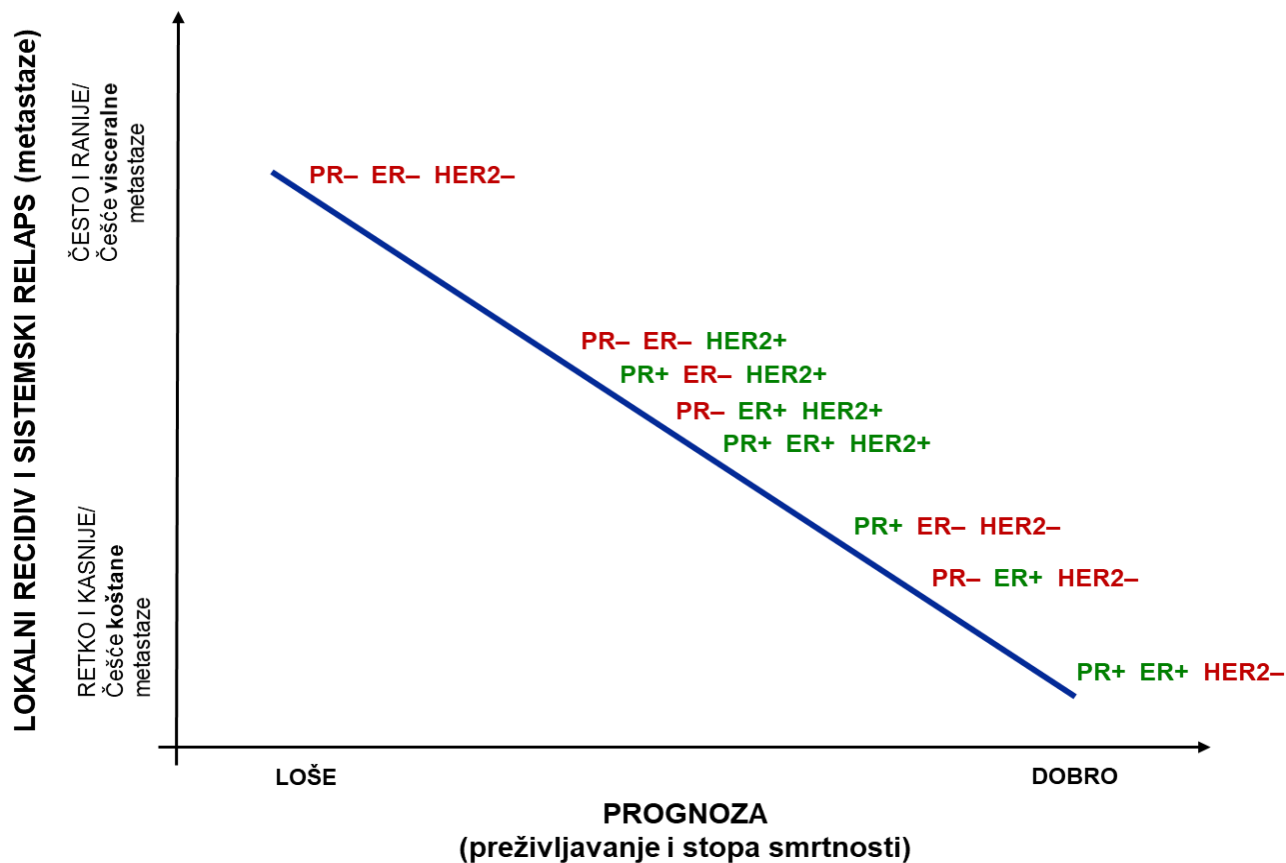
Receptori za estrogen postoje u dve forme – ER-alfa i ER-beta, svaki kodiran posebnim genom, ESR1 na hromozomu 6q25 i ESR2 na hromozomu 14q23. Slične su strukture, oba sačinjena od pet domena. Po vezivanju liganda za receptor formira se kompleks, a zatim se dva kompleksa vezuju i formiraju dimere, koji se vezuju za DNK i regulišu njegovu transkripciju. Dimeri mogu biti u formi homodimera sa dva ER-alfa ili dva ER-beta ili u formi heterodimera sa ER-alfa i ER-beta receptorskim kompleksom<sup>63</sup>. Estrogen i ovi jedarni receptori u ćelijama mlečne žlezde imaju važnu ulogu u tumorogenezi. Najpre, utiču na proliferaciju ćelija žlezde ubrzanjem ćelijske deobe, samim tim i replikaciju DNK što povećava

rizik za nastanak mutacija. Drugo, metabolizam estrogena stvara genotoksični otpad koji takođe može dovesti do mutacija. Po nastanku tumora, hormon preko receptora ubrzava ćelijske deobe i podstiče njegovu progresiju. Receptor za progesteron postoji u dve izoforme, PR-A i PR-B, obe kodirane istim PRG genom na hromozomu 11q22<sup>64</sup>. Izoforme receptora su različite molekularne težine i deluju antagonistički, preko različitih gena, PR-B kao pozitivni regulator efekata progesterona, a PR-A kao negativni. Po vezivanju hormona za receptor nastaje kompleks koji se zatim vezuje za drugi isti takav kompleks, dakle u formi sa dva PR-A ili dva PR-B receptora, a ne sa po jednim PR-A i PR-B receptorom, formirajući homodimer koji se vezuje za DNK i reguliše transkripciju. Većina karcinoma dojke su hormon zavisni što znači da imaju ER i/ili PR receptore. ER su prisutni u 70-80% karcinoma dojke<sup>65</sup>, a PR u 60-70%<sup>66</sup>.

Receptor tirozin kinaza erbB-2 je protein koji je kodiran ERBB2 genom na hromozomu 17q12. Postoji samo kod ljudi, pa se naziva i receptor za humani epidermalni faktora rasta 2 (HER2) zato što pripada familiji receptora za epidermalni faktor rasta (*Epidermal growth factor receptor* - EGFR) koju pored njega čine još tri tirozin kinaza receptora – erbB-1, erbB-3 i erbB-4. Svi su membranski receptori izgrađeni od tri domena – ekstracelularni za koji se vezuje ligand, transmembranski i intracelularni koji pokreće signalne mehanizme. Jedino HER2 nema odgovarajući ligand tako da efekat može ostvariti samo formiranjem dimera. U normalnim ćelijama stvara heterodimere sa jednim od preostala tri receptora, dok u nekim tumorskim ćelijama usled velike količine samog HER2 može stvarati i homodimere, HER2/HER2, i na taj način ostvariti aktivnost. Oko 15-20% karcinoma dojke su HER2 pozitivni<sup>65</sup>. U toku tumorogeneze dolazi do prekomerne ekspresije ERBB2 gena i stvaranja velikog broja HER2 koji zatim dovode do progresije tumora.

U primarnom karcinomu dojke analiza ekspresije hormonskih receptora i HER2 se izvodi rutinski i ključna je za razumevanje bolesti i donošenje terapijskih odluka<sup>67</sup>. Smatra se da prisustvo hormonskih receptora ukazuje na bolju diferencijaciju tumora, odnosno da je njihov fenotip manje izmenjen u odnosu na polazni epidermalni i da tumor ima manje mezenhimalnih karakteristika. Sa druge strane prisustvo hormonskih receptora čini tumor podložnim dejstvu hormona što posebno kod mlađih žena, kod kojih su nivoi hormona viši, predstavlja nepovoljan faktor. U pogledu terapije, zavisnost tumora od hormona daje mogućnost da se delovanjem na lučenje hormona ili blokadom njihovih receptora ostvari povoljan efekat lečenja. Pozitivnost tumora na HER2 je nepovoljan faktor u smislu rizika za nastanak lokalnog recidiva, rane pojave metastaza i ukupno lošije prognoze bolesti - stopa smrtnosti je veća kod pacijentkinja sa HER2 pozitivnim karcinomima dojke, a ukupno vreme preživljavanja je kraće. Ali, po pitanju terapije, prisustvo HER2 otvara mogućnost primene ciljanih lekova i na taj način povećanja uspeha lečenja.

Ukupno, prisustvo oba hormonska receptora i odsustvo HER2 u primarnom karcinomu dojke ima najpovoljniju prognozu. Ovi tumori imaju najnižu stopu lokalnog recidiva i sistemskog relapsa, a metastaze daju kasno i češće u kosti nego u druge organe. Preživljavanje je duže i ukupna stopa smrtnosti uz lečenje je niža<sup>68</sup>. Kod pacijenata sa pojedinačno pozitivnim hormonskim receptorom pokazano je da PR+ ima agresivnije karakteristike u odnosu na ER+. Ovo se može objasniti međusobnom zavisnošću dejstva hormon-receptor kompleksa estrogena i progesterona, posebno uticajem estrogena, gde u slučaju njegovog odsustva negativni efekti progesterona dolaze do punog izražaja<sup>66</sup>. Kod HER2 negativne grupe ove razlike su izraženije, dok u HER2 pozitivnoj grupi varijacije postoje, ali su manje, jer je ukupna prognoza lošija pod uticajem HER2. Najlošiju prognozu imaju trostruko-negativni karcinomi dojke. Oni su najagresivniji, imaju najvišu stopu lokalnog recidiva i sistemskog relapsa, rano daju metastaze, najčešće u visceralne organe, posebno u mozak, što sve dovodi do najkraćeg preživljavanja i visoke stope smrtnosti i pored lečenja<sup>69, 70</sup> (Grafik 1. – preuzeto iz *Rajkovic S., Sopta J. Skeletne metastaze karcinoma dojke – uticaj hormonskih i HER2 receptora. Medicinski podmladak. U štampi 2024.*).



Grafik 1. - Prognoza karcinoma dojke prema statusu ER, PR i HER2 receptora u primarnom tumoru  
*(Rajkovic S., Sopta J. Skeletne metastaze karcinoma dojke – uticaj hormonskih i HER2 receptora. Medicinski podmladak. U štampi 2024.)*

Većina ranijih istraživanja usmeravana su na primarni karcinom dojke sa ciljem sprečavanja metastatskog širenja. Uprkos napretku u lečenju, značajan broj pacijenata sa karcinomom dojke i dalje razvija metastaze, tako da se u poslednjim godinama sprovodi sve više istraživanja čiji je cilj razumevanje kako samog procesa metastaziranja, tako i ponašanja metastaza sa krajnjim ciljem kurativnog lečenja<sup>71</sup>.

Jedan od ključnih razloga za važnost istraživanja metastaza karcinoma dojke je neslaganje u statusu ER, PR i HER2 između primarnog i metastatskog tumorskog tkiva. Ovaj problem je poznat više od 30 godina<sup>72</sup>, ali tek nedavno je ova ključna osobina bolesti došla u centar pažnje<sup>73</sup>. Za neslaganje u statusu ER i PR raspon varira od 18% do 56%, a za HER2 status od 6% do 48%<sup>74</sup>. To ukazuje na potrebu poznavanja statusa receptora metastatskog tkiva za donošenje odluka o terapiji. Kad su rezultati između primarnog i metastatskog tkiva nepodudarni, smernica Američkog udruženja za kliničku onkologiju (ASCO) i Koledža američkih patologa (CAP) je da se koristi status ER, PR i HER2 metastaze za protokol terapije<sup>75</sup>.

Status hormonskih i HER2 receptora u tkivu metastaze takođe može imati značajne kliničke implikacije u razvoju skeletnih događaja. Tumori različitog receptorskog statusa drugačije utiču na remodeliranje kosti. Sam mehanizam nije razjašnjen, ali pretpostavlja se da tumorske ćelije pod uticajem ili usled odsustva receptora, luče medijatore kojima remete proizvodnju faktora stimulacije kolonije makrofaga (*Macrophage colony-stimulating factor* – M-CSF), RANK i RANKL i osteoprotegerina, što sve dovodi



do prekomernog gubitka ili proizvodnje koštanog tkiva<sup>76</sup> što u kliničkom pogledu može rezultirati bolom, patološkim prelomom, kompresijom kičmene moždine i nerava i hiperkalcemijom. U smislu prognoze primećeno je da tumori sa PR+ skeletnim metastazama imaju duže preživljavanje nakon patološkog preloma<sup>77</sup>. Ali postoje naznake koje upućuju i na mogući uticaj statusa receptora na sam razvoj patološkog preloma.

Ki67 je protein kodiran genom MKI67 na hromozomu 10q26. To je protein jedra prisutan samo u ćelijama koje su u proliferaciji. U toku interfaze nalazi se u jedru, a tokom mitoze se premešta na površinu hromozoma<sup>78</sup>. Primenom imunohistohemije koristi se kao marker proliferacije. Proliferativni indeks Ki67 označava udeo ćelija koje su u proliferaciji od ukupne populacije ćelija. Iako je poznat duži niz godina, kod karcinoma dojke i dalje nije u rutinskoj upotrebi. Glavni razlozi za ovo su nedostatak standardizovane procedure za njegovu analizu, nedefinisane vrednosti kojim bi se vršilo grupisanje, kao i nedostatak čvrstih dokaza za njegovu kliničku primenu<sup>79</sup>. Za sada se koristi kao jedan od pokazatelja agresivnosti tumora i prognoze odgovora na neoadjuvantnu terapiju. Primećeno je da najviši proliferativni indeks Ki67 imaju trostruko-negativni karcinomi dojke, što odgovara kliničkom statusu ovih tumora koji imaju najagresivnije karakteristike. Visok proliferativni indeks Ki67 nakon neoadjuvantne terapije ukazuje na loš terapijski odgovor i povezan je sa lošom prognozom<sup>80</sup>. Sve analize Ki67 rađene su na tkivu primarnog karcinoma dojke, analiza proliferativnog indeksa u tkivu metastaza i njegova povezanost sa skeletnim događajima nije ispitivana.

## 2. CILJEVI RADA

1. Odrediti učestalost nastanka patološke frakture kod pacijentkinja kojima je potvrđena hematogena skeletna diseminacija karcinoma dojke.
2. Odrediti imunohistohemijski status estrogenskih, progesteronskih i HER2 receptora i proliferativni indeks Ki67 u tkivu metastatskog karcinoma dojke dobijenog biopsijom kosti i definisati tip metastatskog karcinoma dojke.
3. Utvrditi stepen povezanosti demografskih i kliničko-radioloških karakteristika sa tipom metastatskog karcinoma dojke u kosti.
4. Utvrditi stepene povezanosti tipa metastatskog karcinoma dojke sa nastankom patološke frakture.

### 3. MATERIJAL I METODE

#### 3.1 KLINIČKI PODACI

Sprovedena je retrospektivna, opservaciona studija i prikupljeni su i analizirani klinički, radiografski i patološki podaci pacijenata sa skeletnim metastazama karcinoma dojke. Uključena su 152 pacijenta operisana u referentnom centru za ortopedsku onkologiju Instituta "Banjica" iz Beograda i čiji su preparati patološki analizirani u Institutu za patologiju "Dr Đorđe Joanović" iz Beograda u toku perioda jun 2011. - septembar 2021.godine. Uključeni su samo pacijenti ženskog pola sa biopsijom dokazanim skeletnim metastazama karcinoma dojke i potpunom imunohistohemijskom analizom statusa ER, PR, HER2 i Ki67. Pacijenti muškog pola, zatim oni koji su operisani van Instituta "Banjica", kao i oni sa nepotpunom medicinskom dokumentacijom su isključeni.

Iz istorija bolesti dobijeni su demografski i klinički podaci:

- starost pacijenta (izraženo u godinama)
- prethodna dijagnoza primarnog karcinoma dojke i njegovo lečenje lokalnim i sistemskim tretmanom
- vreme proteklo od dijagnoze primarnog karcinoma dojke do dijagnoze skeletnih metastaza (izraženo u mesecima)
- vreme proteklo od dijagnoze metastaza do prvog skeletnog događaja – bol ili iznenadni patološki prelom (izraženo u mesecima)
- broj i lokalizacija metastaza dobijeni su analizom vizuelizacionih dijagnostičkih metoda iz arhive (RTG, CT i scintigrafija) i klasifikovani kao pojedinačna ili višestruke metastaze. Određena je tačna kost, kao i zona duge kosti (epi-metafiza i dijafiza) u kojoj se metastaza nalazi, a zatim je izvršeno grupisanje prema vrsti kostiju (duge, pljosnate i pršljenovi)
- vrsta koštane reakcije dobijena je analizom vizuelizacionih metoda (RTG i CT) i označena kao litična ili mešovita
- postojanje patološkog preloma analizirano je vizuelizacionim metodama (RTG i CT)
- vrsta hirurške intervencije: izolovana biopsija – isključivo uzimanje uzorka tumora iz kosti ili biopsija udružena sa metodom rešavanja preloma – stabilizacija preloma duge kosti ili pršljena implantom, ali bez resekcije tumora; stabilizacija preloma uz resekciju dela kosti zahvaćenog tumorom i rekonstrukcija defekta cementom ili implantom; ugradnja subtotalne ili totalne endoproteze kuka i resekcija zgloba i ugradnja resekcione (tumorske) mega-proteze.

Kod pacijenata sa patološkim prelomom biopsija je rutinski rađena na mestu preloma udruženo sa operativnom procedurom za rešavanje preloma. Kod pacijenata bez patološkog preloma, a sa koštanim promenama, izolovana biopsija je rađena u slučajevima kada primarni tumor nije bio poznat ili je poreklo metastaza bilo nesigurno (više od pet godina proteklo od dijagnoze primarnog karcinoma dojke, bez ranije dijagnostikovanih skeletnih metastaza ili pacijenti sa više od jedne ranije primarne maligne bolesti). U ovim slučajevima, biopsija je rađena na kosti sa promenom koja je hirurški pogodnija (npr. krilo karlične kosti, a ne pršljen).

### 3.2 PATOLOŠKA ANALIZA

Uzorci dobijeni biopsijom su obrađeni i analizirani patohistološki (PH) i imunohistohemijski (IHH), a u nekim slučajevima i fluorescentnom hibridizacijom *In situ* (FISH).

Serijski preseki debljine 5µm pripremani su za IHH analizu ER, PR, HER2 i Ki67 upotrebom monoklonskih antitela (PR (1E2 klon), ER (6F11 klon), HER2 (4B5klon), Ki-67 (M7240 klon MIB-1, 1:100) [Dako Ventana Medical Systems; Oro Valley, Arizona, USA]). IHH bojenje je sprovedeno automatski, u skladu sa uputstvima proizvođača za svako antitelo posebno. Vizuelizacija pozitivnog bojenja se zasniva na primeni streptavidin-biotin tehnike.

Kontrola kvaliteta IHH bojenja učinjena je primenom negativne i pozitivne kontrole za svaki pojedinačni uzorak. Negativna kontrola podrazumevala je primenu svih laboratorijskih postupaka u procesu IHH bojenja, izuzev aplikacije primarnog antitela. Negativna kontrola je primenjena kako bi se identifikovala eventualna “lažna pozitivnost bojenja”, koja bi kompromitovala interpretaciju ekspresije antitela. Takva bojenja su isključena iz studije. Kao pozitivna kontrola za estrogenske receptore korišćen je endometrijum, za progesteronske receptore korišćen je PR pozitivan primarni karcinom dojke, za HER2 korišćen je HER2 pozitivan primarni karcinom dojke i za Ki67 korišćen je limfni čvor. Kao pozitivan nalaz za ER, PR i Ki67 prihvaćena je ekspresija antitela u jedru, a za HER2 ekspresija na ćelijskoj membrani. Svrha primene pozitivne kontrole je potvrda kvalitativne i kvantitativne senzitivnosti antitela u obojenom uzorku.

Mikrofotografije IHH obojenih preparata su snimljene na uveličanju (x200) koristeći mikroskop *Olympus BX41* i digitalnu kameru *Olympus DP70*. Analiza slika je izvršena programom ImageJ (besplatan softver dostupan na <http://imagej.net>). Imunoreaktivnost antitela je procenjivana prema preporukama ASCO/CAP<sup>81, 82</sup>.

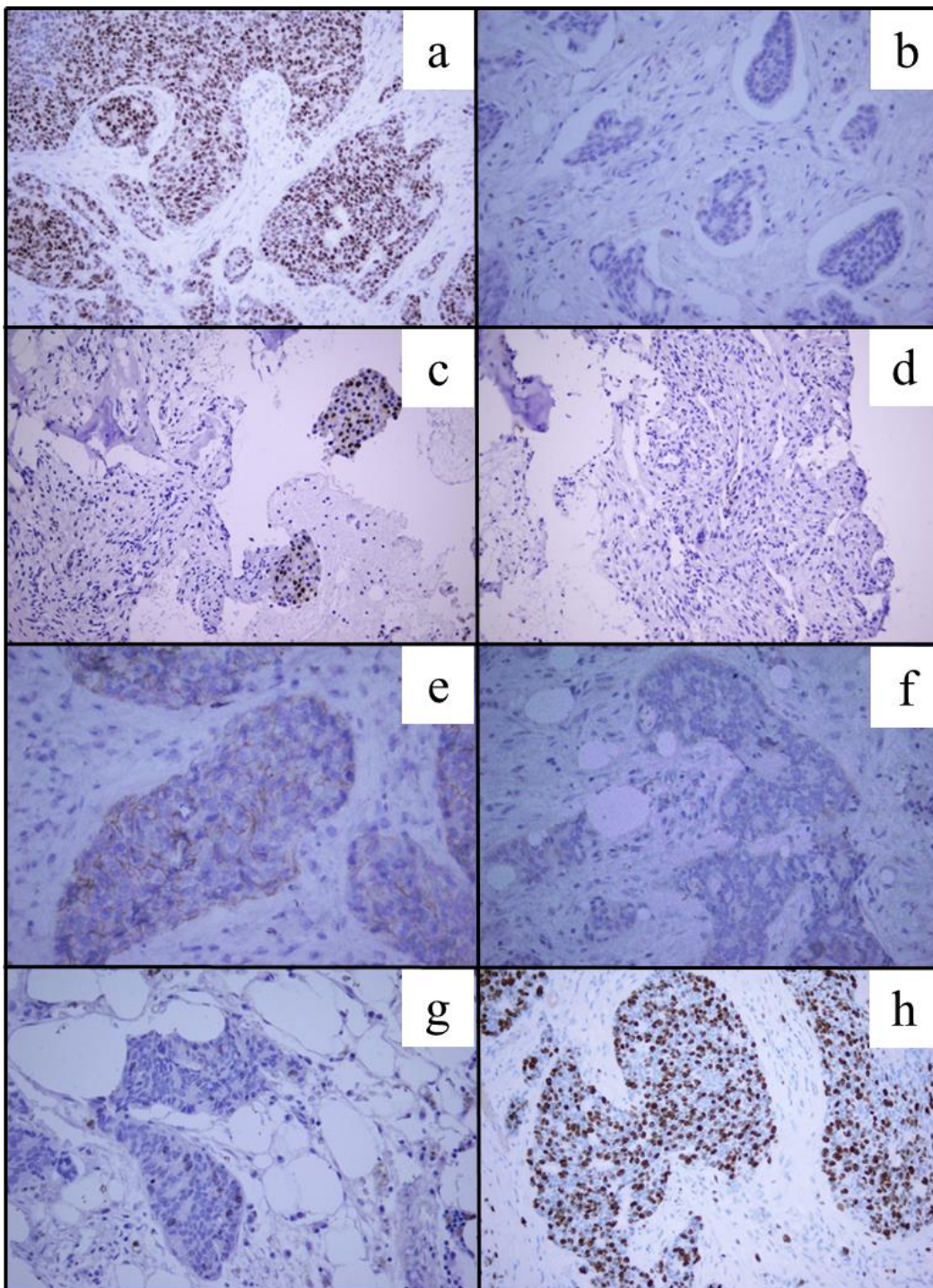
Za ER i PR analiziran je procenat obojenih ćelija i intenzitet bojenja, i pozitivnost je određivana prema Alred skor (Allred score). Sabiranjem skorova proporcije i intenziteta dobija se ukupni Alred skor, i taj skor 0-2 se smatra negativnim, a 3-8 pozitivnim za određeni receptor (Tabela 5. i Slika 6.).

Tabela 5. – Alred skor za procenu pozitivnosti ER i PR u karcinomu dojke

Proporcija obojenih ćelija (%)	Skor proporcije	Intenzitet bojenja	Skor intenziteta
0	0	Ništa	0
<1	1	Slabo	1
1-10	2	Srednje	2
11-33	3	Jako	3
34-66	4		
>66	5		

Uzorci su analizirani za HER2 na osnovu intenziteta bojenja i procenta obojenih ćelija i klasifikovani kao negativni (skor 0 ili 1+), ekvivokalni (skor 2+) ili pozitivni (skor 3+). Skor 0 je definisan kao odsustvo membranske aktivnosti, skor 1+ kao slabo do umereno bojenje kod manje od 10% ćelija, skor 2+ kao slabo do umereno bojenje kod više od 10% ćelija i skor 3+ kao jako bojenje kod više od 10% ćelija (Slika 6.). Za ekvivokalne slučajeve najpre je ponovljena analiza, a ukoliko je rezultat i dalje ostao ekvivokalan, rađena je FISH analiza na osnovu koje je donošena odluka o pozitivnosti.

Tumorske ćelije sa bojenjem jedra označene su kao Ki67 pozitivne i indeks proliferacije je predstavljen kao procenat obojenih ćelija na 100 ćelija tumora (Slika 6.).



Slika 6. - Prikaz IHH bojenja sa različitom ekspresijom antitela i Alred skorom:

a) ER+, skor 7 (20x); b) ER-, skor 0 (20x)

c) PR+, skor 6 (10x); d) PR-, skor 0 (10x)

e) HER2 3+ (40x); f) HER2 – (40x)

g) Ki67 + u 4% tumorskih ćelija (40x); h) Ki67+ u 60% tumorskih ćelija (40x)

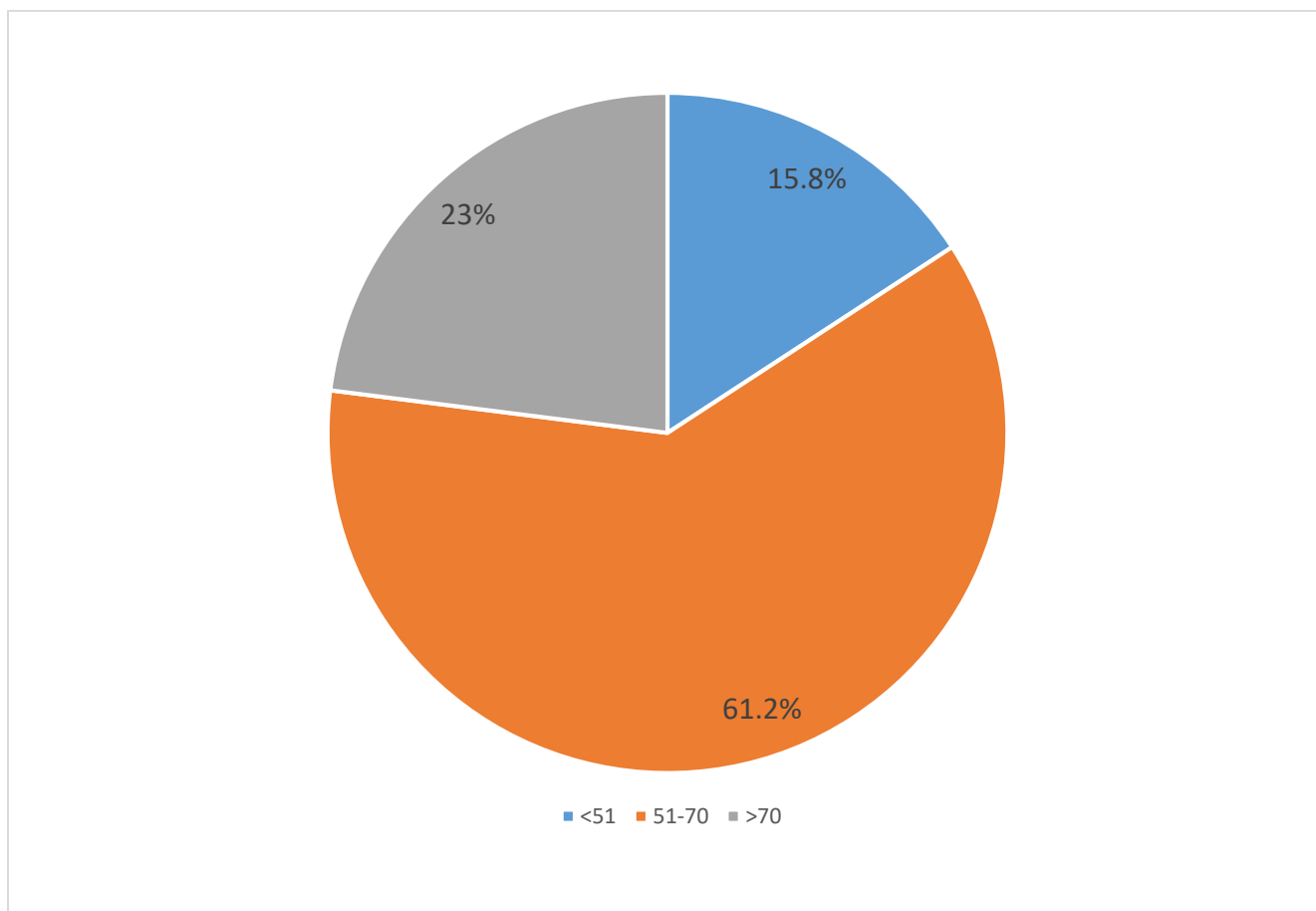
### 3.3 STATISTIČKA ANALIZA

Statistička obrada učinjena je programom SPSS v.28.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Deskriptivni podaci prikazani su u apsolutnim i relativnim brojevima i u procentima, kao aritmetička sredina i standardna devijacija. Distribucija kontinuiranih podataka analizirana je Kolmogorov-Smirnov testom. Za kategoričke podatke korišćen je t-test, a tamo gde nije bio primenljiv, korišćeni su ne-parametarski Pearson hi-kvadrat i Mann-Whitney test. Nivo vrednosti 0.05 uzet je kao granični. Rezultati su prikazani grafički i tabelarno.

## 4. REZULTATI

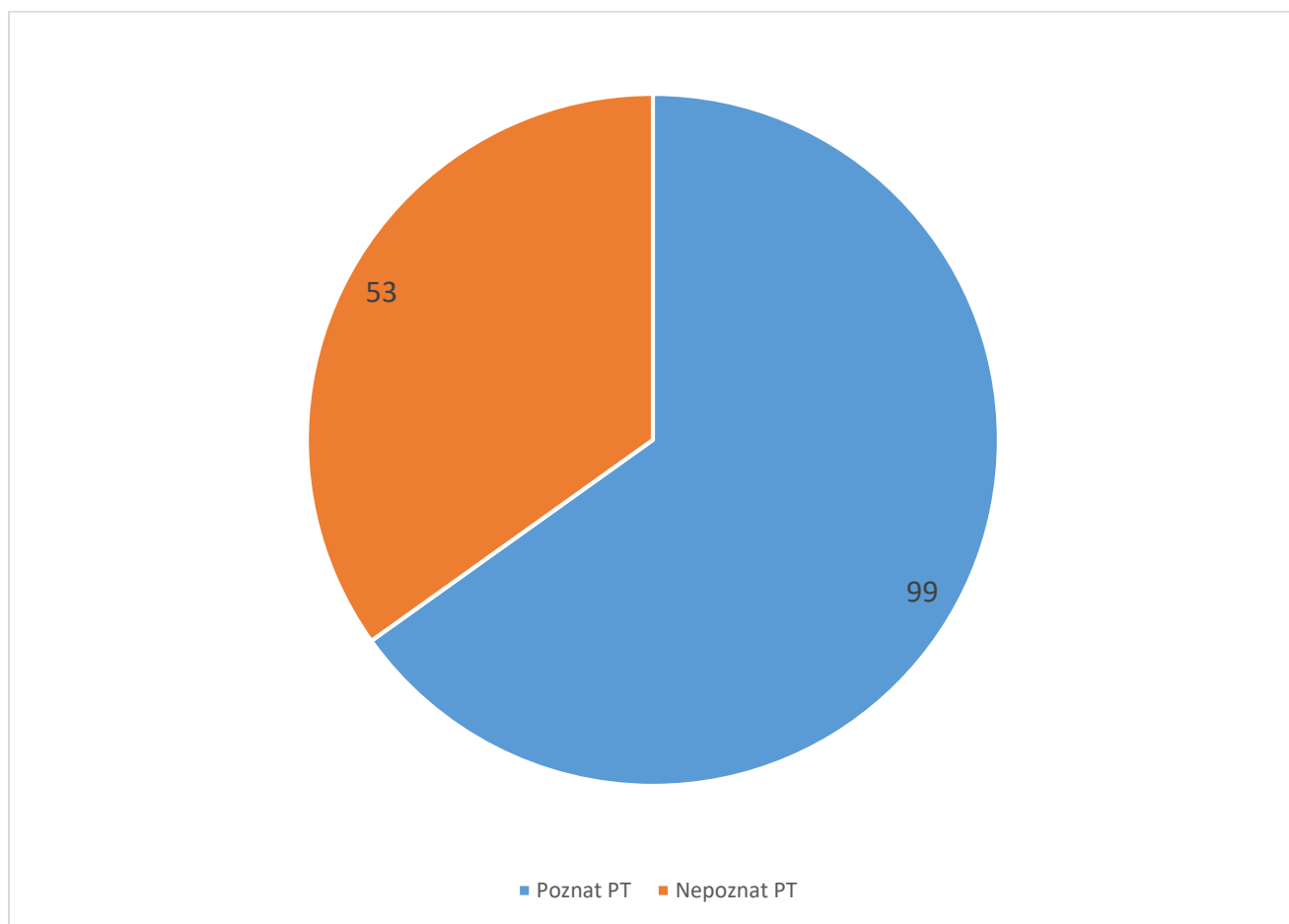
### 4.1 DEMOGRAFSKE I KLINIČKE KARAKTERISTIKE

U analizu su uključena 152 pacijenta, svi ženskog pola, prosečne starosti 61.4 godina (opseg 33-83, SD=10,37, 95%CI  $\pm$ 1.649). Distribucija je bila: <51 godina 24 (15,8%) pacijenta, 51-70 godina 93 (61,2%) pacijenta i >70 godina 35 (23%) pacijenta (Grafik 2.). Nije utvrđena statistički značajna povezanost ( $p=0.963$ ) između starosne dobi pacijentkinja i nastanka patološkog preloma (Tabela 6.).



Grafik 2. – Distribucija pacijentkinja prema starosti  
(udeo u %)

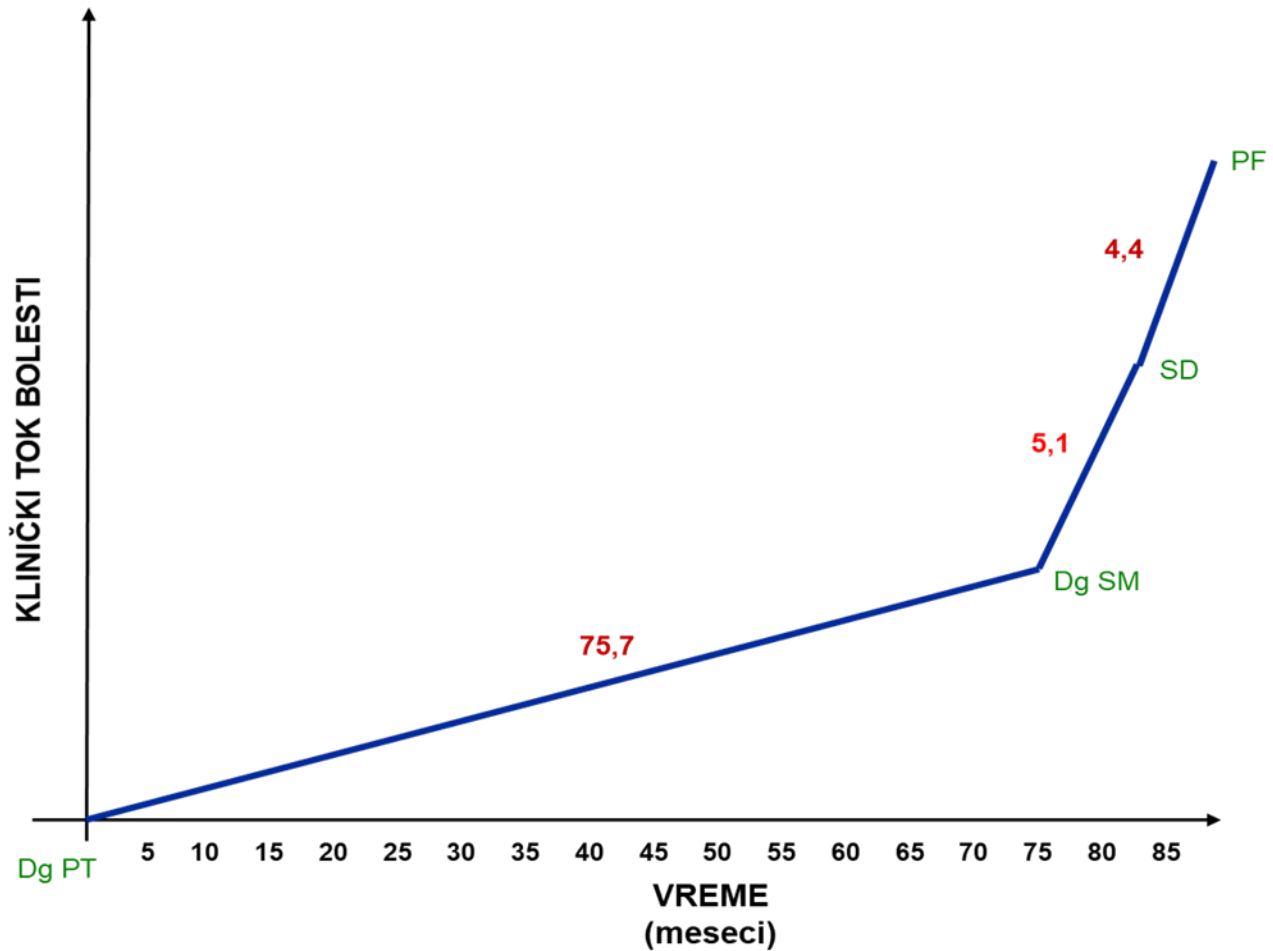
U ovoj seriji 99/152 (65,1%) pacijenata je imalo potvrđenu dijagnozu karcinoma dojke pre biopsije skeletne promene, dok je kod 53 (34,9%) dijagnoza osnovne bolesti prvi put postavljena nakon biopsije kosti (Grafik 3.). Lečenje primarne bolesti sprovedeno je kod svih pacijenatkinja sa prethodnom dijagnozom primarnog karcinoma i to u vidu operativne resekcije i/ili radioterapije. Od ovih pacijentkinja, 54 su primile i sistemska terapiju (hemoterapija, hormonska terapija, ciljana terapija). Nije dokazana statistički značajna povezanost između ranije dijagnoze primarnog karcinoma dojke ( $p=0.102$ ), njegovog lokalnog ( $p=0.196$ ) i sistemskog lečenja ( $p=0.108$ ) sa nastankom patološkog preloma (Tabela 6.).



Grafik 3. – Distribucija pacijentkinja prema prethodno poznatoj dijagnozi primarnog karcinoma dojke (apsolutna vrednost)



U grupi pacijenata sa prethodno postavljenom dijagnozom karcinoma dojke, prosečno vreme od te dijagnoze do dijagnoze metastaza (u onkologiji se označava kao „Vreme preživljavanja bez bolesti“ - *Disease free survival* – DFS) bilo je 75,7 meseci (opseg 4-264; SD=61,47; CI95% ±15,99). U istoj grupi vreme od dijagnoze skeletnih metastaza do prvog skeletnog događaja (u onkologiji se označava kao „Vreme preživljavanja bez simptoma“ - *Event free survival* – EFS. U ovoj studiji to su bili bol ili iznenadni patološki prelom) bilo je 5,1 meseci (opseg 1-12; SD=2,37; CI95% ±0.466). Nije dokazana statistički značajna povezanost DFS ( $p=0.625$ ) i EFS ( $p=0,511$ ) i nastanka patološkog preloma. Rezultati su prikazani u Grafiku 4. i Tabeli 6.



Grafik 4. – Tok bolesti karcinoma dojke prema ključnim događajima

Dg PT – dijagnoza primarnog tumora; Dg SM – dijagnoza skeletnih metastaza; SD – skeletni događaj;

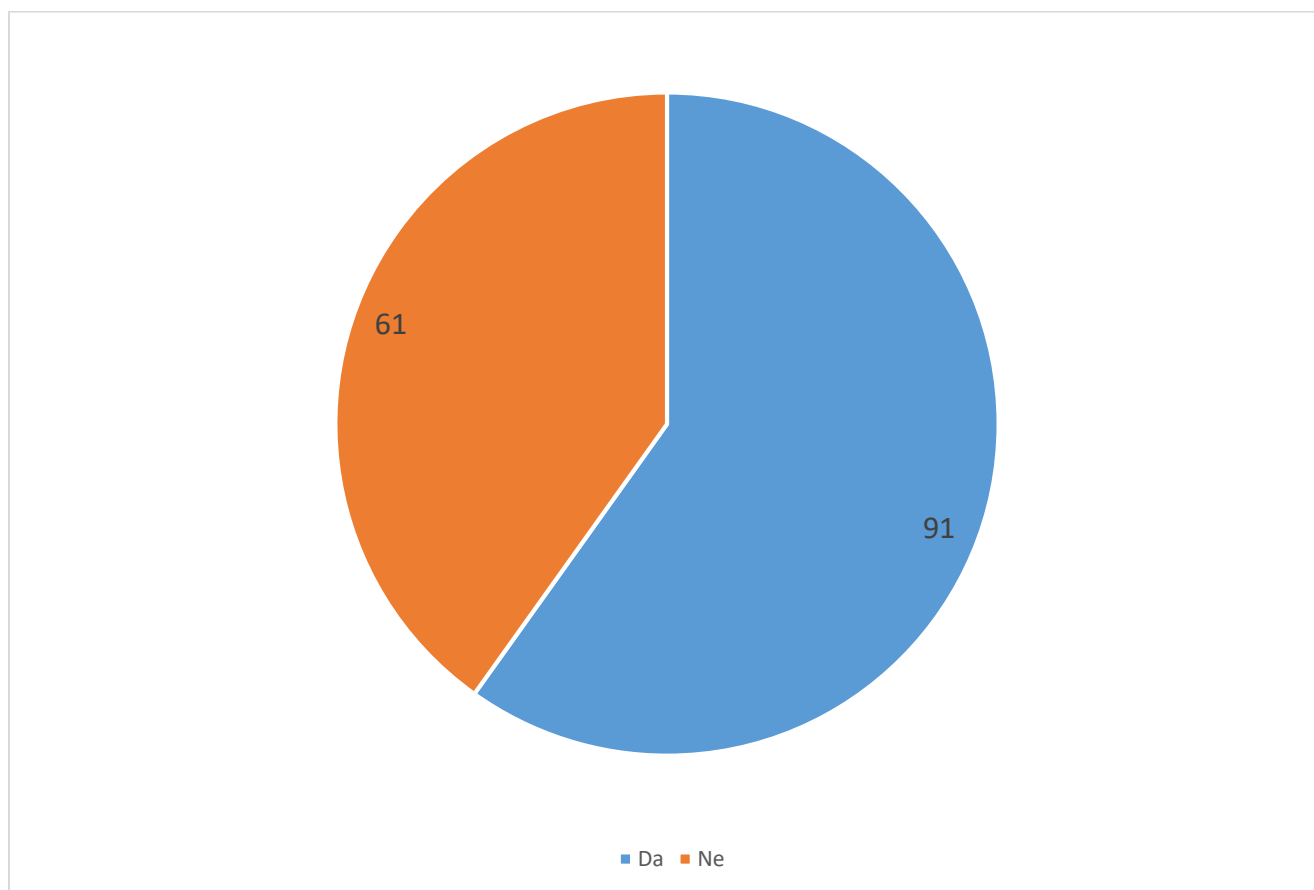
PF – patološka fraktura

Tabela 6. – Demografski i klinički podaci i njihov uticaj na nastanak patološkog preloma

	Patološki prelom			
	Da	Ne		
	91 (59.9%)	61 (40.1%)		
<b>Starost (godine)</b>	Prosečno 61,5 (Opseg 33-83)	Prosečno 61,3 (Opseg 38-79)	p=0.963	
<b>Poznat PT u trenutku dijagnoze SM</b>				
	64 (70,3%)	35 (57,4%)	OR=0,57; 95%CI=0.29-1.12	p=0.102
<b>Nepoznati PT u trenutku dijagnoze SM</b>	27 (29,7%)	26 (42,6%)		
<b>Lokalno lečenje PT</b>				
	63 (69,2%)	36 (59%)	OR=1,56; 95%CI=0.79-3.07	p=0.196
<b>Bez lokalnog lečenja PT</b>	28 (30,8%)	25 (41%)		
<b>Sistemska lečenje</b>				
	37 (40,7%)	17 (27,9%)	OR=1.77; 95%CI= 0.88-3.57	p=0.108
<b>Bez sistemskog lečenja</b>	54 (59,3%)	44 (72,1%)		
<b>Vreme od dijagnoze PT do dijagnoze SM (meseći)</b>				
	Prosečno 68,4 (Opseg 4-252)	Prosečno 88,9 (Opseg 4-264)	p=0.625	
<b>Vreme od dijagnoze SM do prvog SD (meseći)</b>				
	Prosečno 5 (Opseg 1-12)	Prosečno 5,2 (Opseg 1-10)	p=0,511	

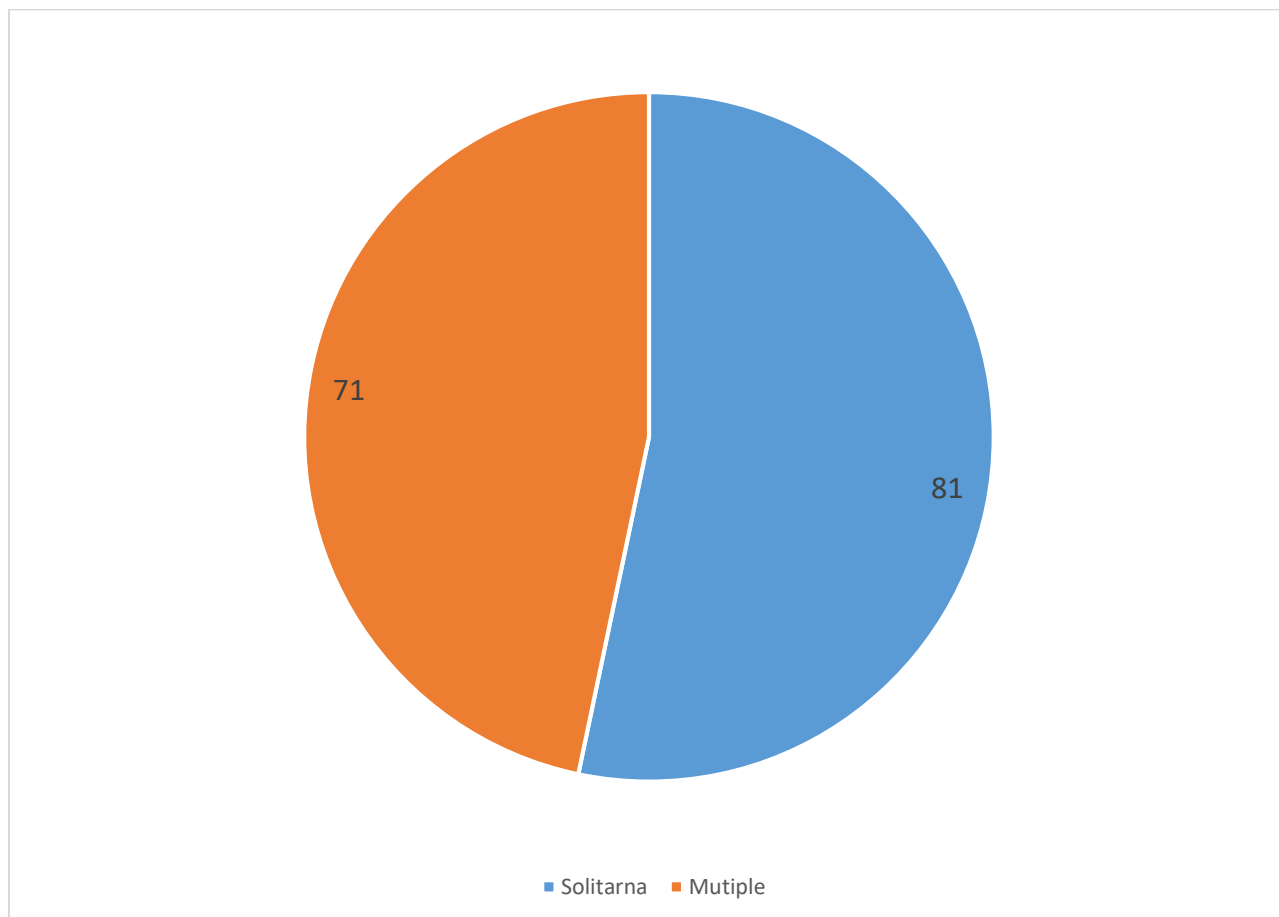
PT – primarni tumor; SM – skeletne metastaze; SD – skeletni događaj

Ukupno 91/152 (59,9%) slučajeva je imalo patološki prelom, a kod 61/152 (41,1%) prelom nije dijagnostikovano (Grafik 5.) U 28 slučajeva patološki prelom je bio prva manifestacija bolesti, odnosno nastao je kod pacijenata bez prethodne dijagnoze primarnog karcinoma dojke. Vreme od pojave bola do nastanka patološkog preloma kretalo se od jednog dana (u vidu iznenadnog patološkog preloma, najčešće kod pacijenata kod kojih nije bila poznata dijagnoza primarne bolesti ili bez prethodno poznate metastatske bolesti, retko kod pacijenata kod kojih se znalo i za primarnu bolest i za metastaze, ali tegoba pre nastanka preloma gotovo da nije bilo) do 60 meseci (prosečno 4,4 meseca, SD=8.15, CI95% ±1.29). Ovaj rezultat je prikazan u Grafiku 4.



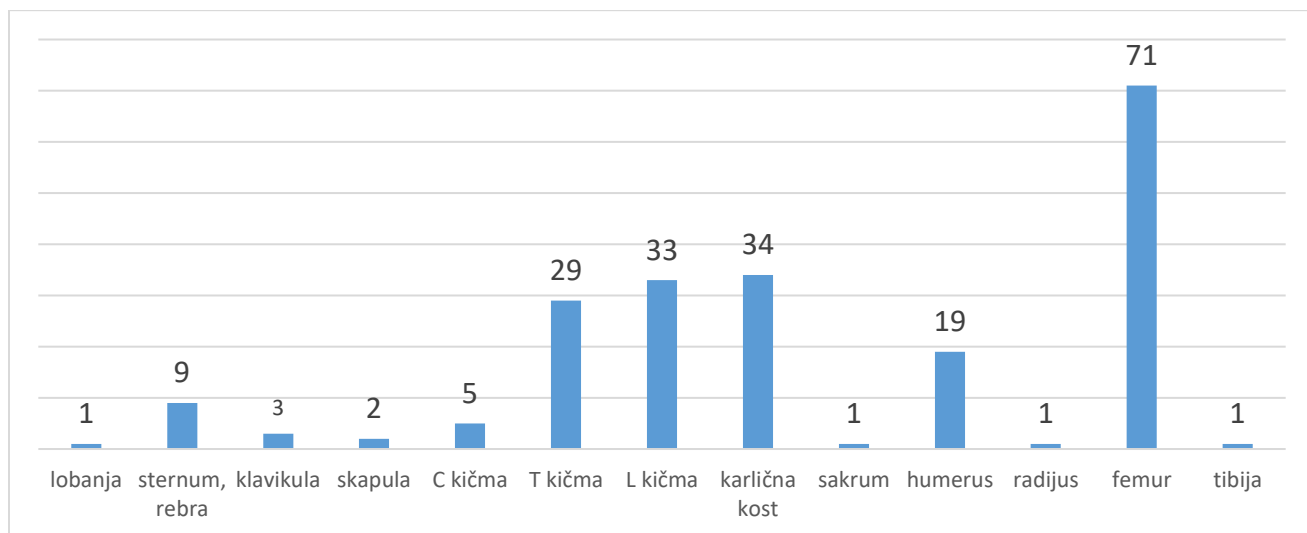
Grafik 5. – Distribucija pacijenata prema prisustvu patološkog preloma (apsolutna vrednost)

U trenutku postavljanja dijagnoze metastatske bolesti, kod 81/152 pacijenta (53,3%) metastaza je dijagnostikovana samo u jednoj kosti, a kod 71 (46,7%) u dve ili više kostiju (Grafik 6., Tabela 7.). Nije utvrđena statistički značajna povezanost između broja metastaza i nastanka patološkog preloma ( $p=0.617$ ).



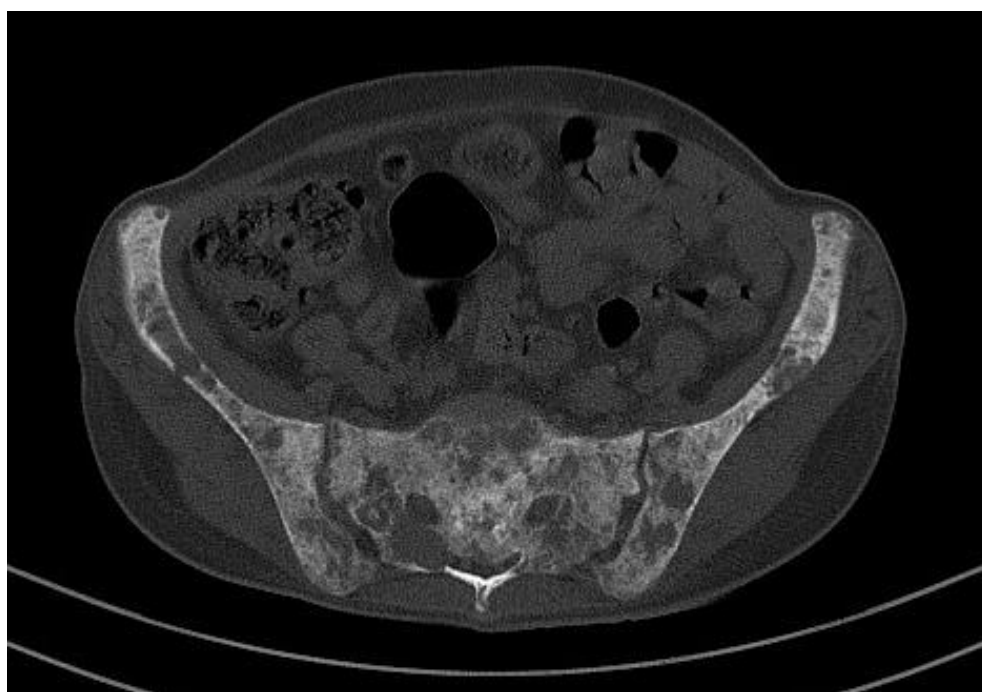
Grafik 6. – Distribucija pacijenta prema broju metastaza  
(apsolutna vrednost)

Najčešće zahvaćena kost bio je femur kod 71/152 pacijenta (46,7%), zatim pršljenovi kod 67 (44,1%), i to cervikalni kod pet pacijenata (7,5%), torakalni kod 29 (43,3%) i lumbalni kod 33 (49,2%). Metastaze su registrovane u karličnoj kosti kod 34 (25,6%) pacijenta (Slika 7.), u humerusu kod 19 (12,5%), kostima zida grudnog koša - sternumu i rebrima kod 9 (5,9%), klavikuli kod tri (1,9%), skapuli kod dva (1,3%) i kod po jednog pacijenta (0,7%) u lobanji, sakrumu, radijusu i tibiji (Grafik 7., Tabela 7.)



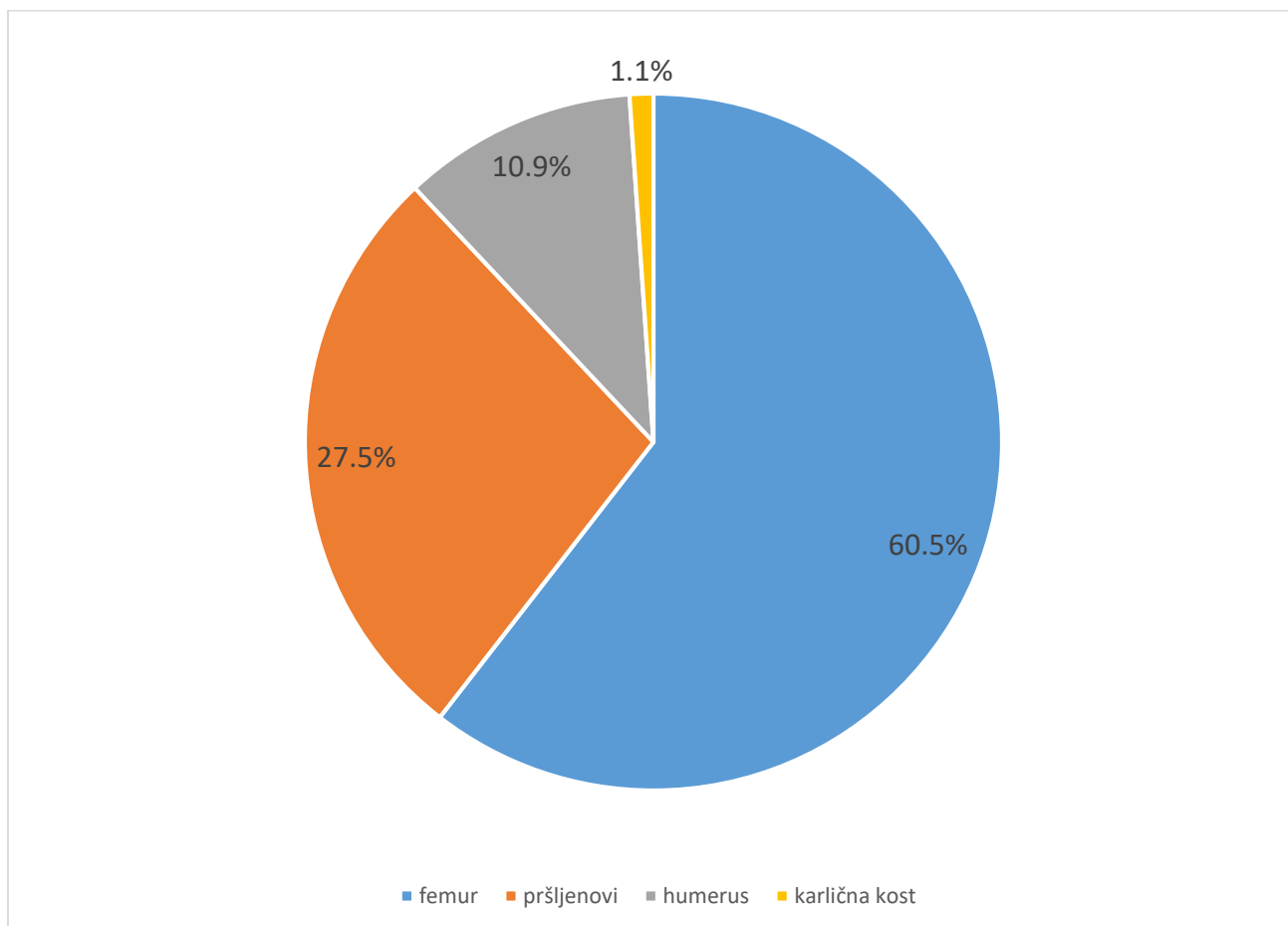
Grafik 7. – Distribucija metastaza po kostima

(ukupni broj pacijenata kod kojih je metastaza registrovana u određenoj kosti)



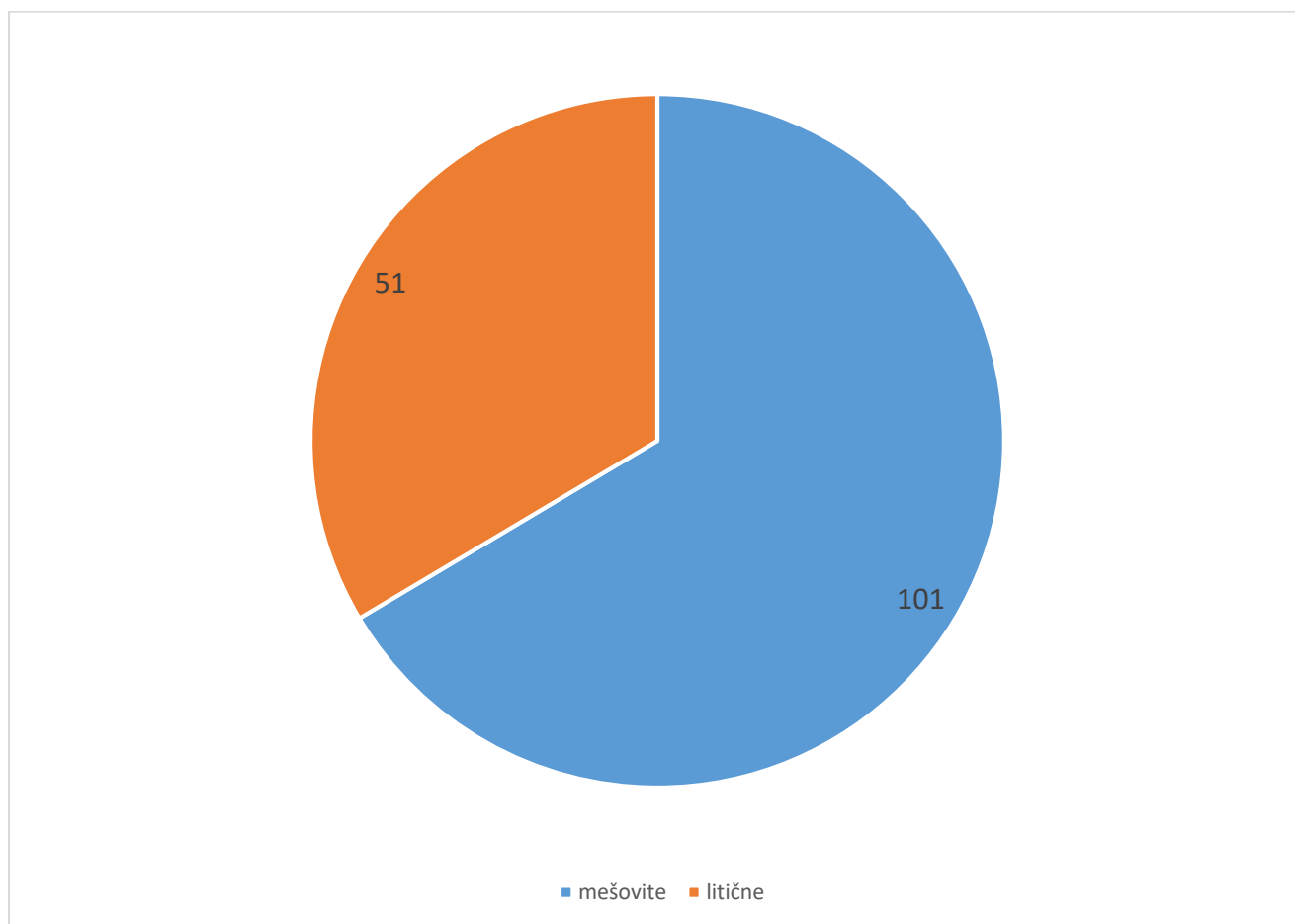
Slika 7. – CT prezentacija mešovite metastaze u karličnoj kosti i sakrumu

Femur je bio i najčešće slomljena kost u 55/91 slučajeva (60,5%), praćen pršljenovima u 25 slučajeva (27,5%), humerusom u 10 slučajeva (10,9%). Jedan patološki prelom (1,1%) je zabeležen u karlici (Grafik 8.) Statistički značajna povezanost između kosti sa metastazom i nastanka patološkog preloma utvrđena je za femur ( $p < 0,01$ ), i to za vrat ( $p < 0,01$ ) i dijafizu ( $p < 0,05$ ), ali ne i za trohanternu regiju ( $p = 0,131$ ); dijafizu humerusa ( $p < 0,05$ ), ali ne i za njegov proksimalni kraj ( $p = 0,185$ ); kao i za karličnu kost ( $p < 0,01$ ). Za kičmene pršljenove povezanost sa nastankom patološkog preloma nije utvrđena ( $p = 0,564$ ). Za ostale kosti zbog malog broja registrovanih metastaza i bez registrovanih patoloških preloma adekvatan statistički zaključak nije mogao biti donesen (Tabela 7.)



Grafik 8. – Distribucija patoloških preloma po kostima  
(udeo u %)

Mešovite skeletne metastaze viđene su u 101/152 slućaju (66,4%), a litićne u 51 (33,6%). Statistićki znaćajna povezanost između vrste radiografske prezentacije metastaze i nastanka patološkog preloma nije utvrđena ( $p=0.119$ ). Ovi rezultati su prikazani u Grafiku 9. i 10. i Tabeli 7.



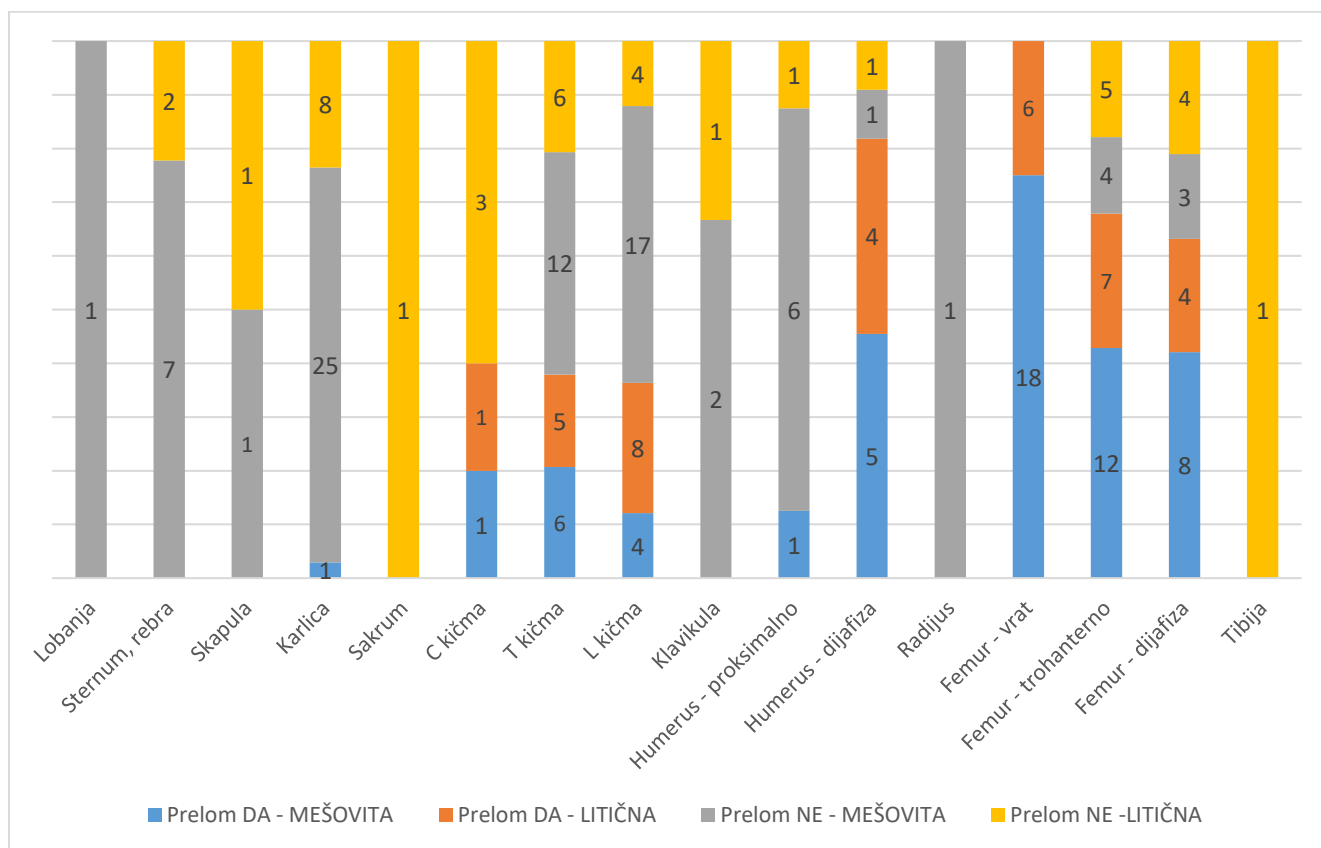
Grafik 9. – Distribucija metastaza prema vrsti radiografske prezentacije  
(apsolutna vrednost)

Tabela 7. – Distribucija i radiografska prezentacija metastaza i njihov uticaj na nastanak patološkog preloma

		Patološki prelom				
		Da	Ne			
P L J O S N A T E	Lobanja	/	1 (100%)	N/P		
	Sternum, rebra	/	9 (100%)	N/P		
	Skapula	/	2 (100%)	N/P		
	Karlica	1 (2,9%)	33 (97,1%)	<b>p&lt;0,01</b>		
	Sakrum	/	1 (100%)	N/P		
M E T A S T A Z E	Cervikalna	2 (40%)	3 (60%)	p=0,357		
	Torakalna	11 (37,9%)	18 (62,1%)	p=0,167		
	Lumbalna	12 (36,3%)	21 (63,7%)	p=0,636		
U D U G E	Klavikula	/	3 (100%)	N/P		
	Humerus	Proksimalni	1 (12,5%)	7 (87,5%)	p=0,185	p=0,189
		Dijafiza	9 (81,8%)	2 (18,2%)	<b>p&lt;0,05</b>	
	Radijus, ulna	/	1 (100%)	N/P		
	Femur	Vrat	24 (100%)	/	<b>p&lt;0,01</b>	<b>p&lt;0,01</b>
		Trohanterno	19 (67,9%)	9 (32,1%)	p=0,131	
		Dijafiza	12 (63,2%)	7 (36,8%)	<b>p&lt;0,05</b>	
Tibija, fibula	/	1 (100%)	N/P			
Solitarne metastaze		50 (54,9%)	31 (50,8%)	OR=0,85; 95% CI=0,44-1,62		
Multiple metastaze		41 (45,1%)	30 (49,2%)	p=0.617		
Mešovita		56 (61,5%)	45 (73,8%)	OR=1,7578; 95% CI=0.86-3.57		
Litična		35 (38,5%)	16 (26,2%)	p=0.119		

N/P – podaci se ne mogu primeniti za statističku analizu

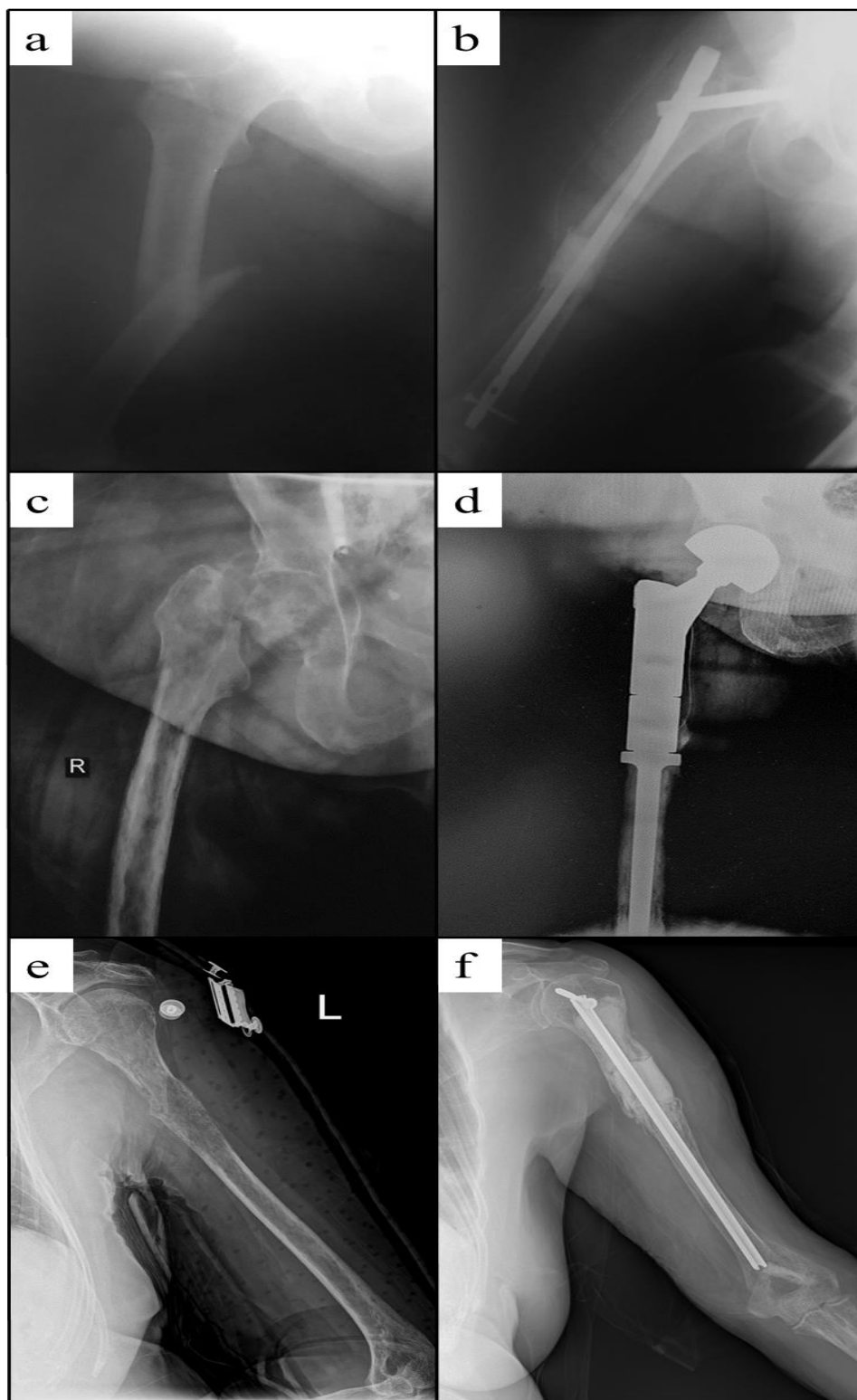




Grafik 10. – Distribucija metastaza po kostima prema prisustvu patološkog preloma i vrsti radiografske prezentacije (apsolutna vrednost)

Lokalna zračna terapija sprovedena je kod svega 13 pacijenatkinja od kojih je 10 kasnije zadobilo patološki prelom.

Sve pacijentkinje iz studije povrgnute su nekoj vrsti hirurške intervencije na kostima u toku metastatske faze bolesti i sve te intervencije uključivale su uzimanje uzorka za patološku analizu. U 67/152 slučajeva (44,1%) intervencija je bila izolovana biopsija, odnosno samo uzimanje uzorka tkiva za patološku analizu, a u ostalih 85 slučajeva (55,9%) biopsija je urađena u sklopu veće hirurške procedure kojom je rešavan nastali patološki prelom. Samo stabilizacija pršljena implantom urađena je u 16 slučajeva, a samo stabilizacija duge kosti u 12. Korporektomija pršljena sa nadoknadom defekta implantom izvedena je kod tri pacijenta, a resekcija dijafize duge kosti i postavljanje implanta uz rekonstrukciju cemenom kod osam. Resekcija zglobnog okrajka duge kosti i ugradnja tumorske mega-proteze urađena je kod 26 pacijenata, a hemiartroplastika i totalna artroplastika kuka kod 20. Primeri hirurških intervencija prikazani su na Slici 8.

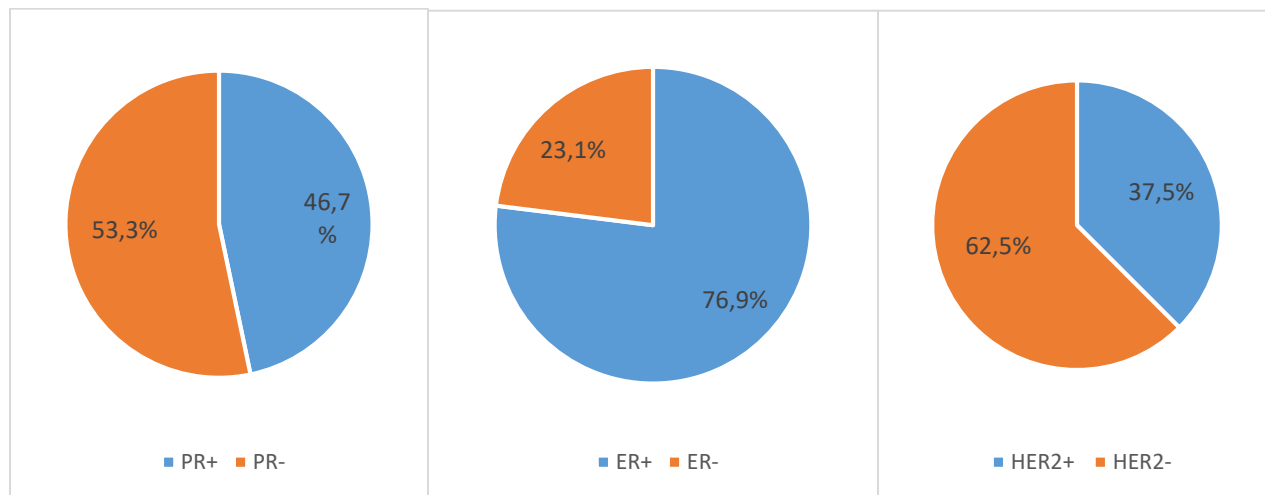


Slika 8. – Nativna radiografija operativnih rešenja patološkog preloma:

- a) Patološki prelom dijafize femura, b) Intramedularna stabilizacija zaključavajućim klinom
- c) Patološki prelom vrata femura, d) Resekcija proksimalnog femura i ugradnja tumorske mega-proteze
- e) Patološki prelom dijafize humerusa, f) Intramedularna stabilizacija klinom sa koštanim cementom

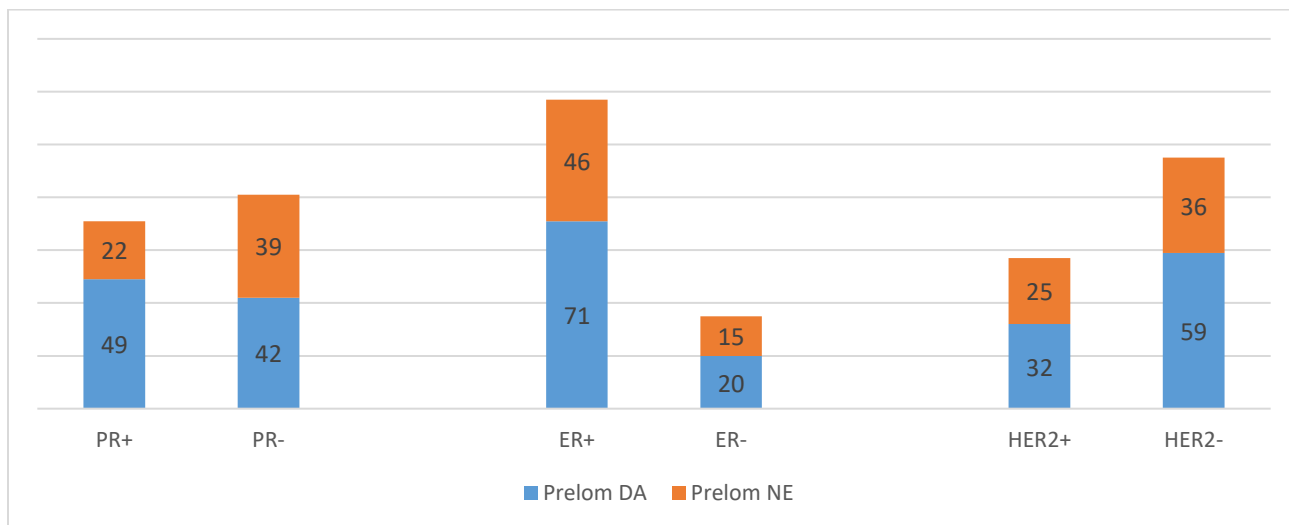
## 4.2 IMUNOHISTOHEMIJA

Ukupno 71/152 (46,7%) uzorak je bio pozitivan na PR (PR+), 117 (76,9%) na ER (ER+) i 57 (37,5%) na HER2 (HER2+) (Grafik 11.).

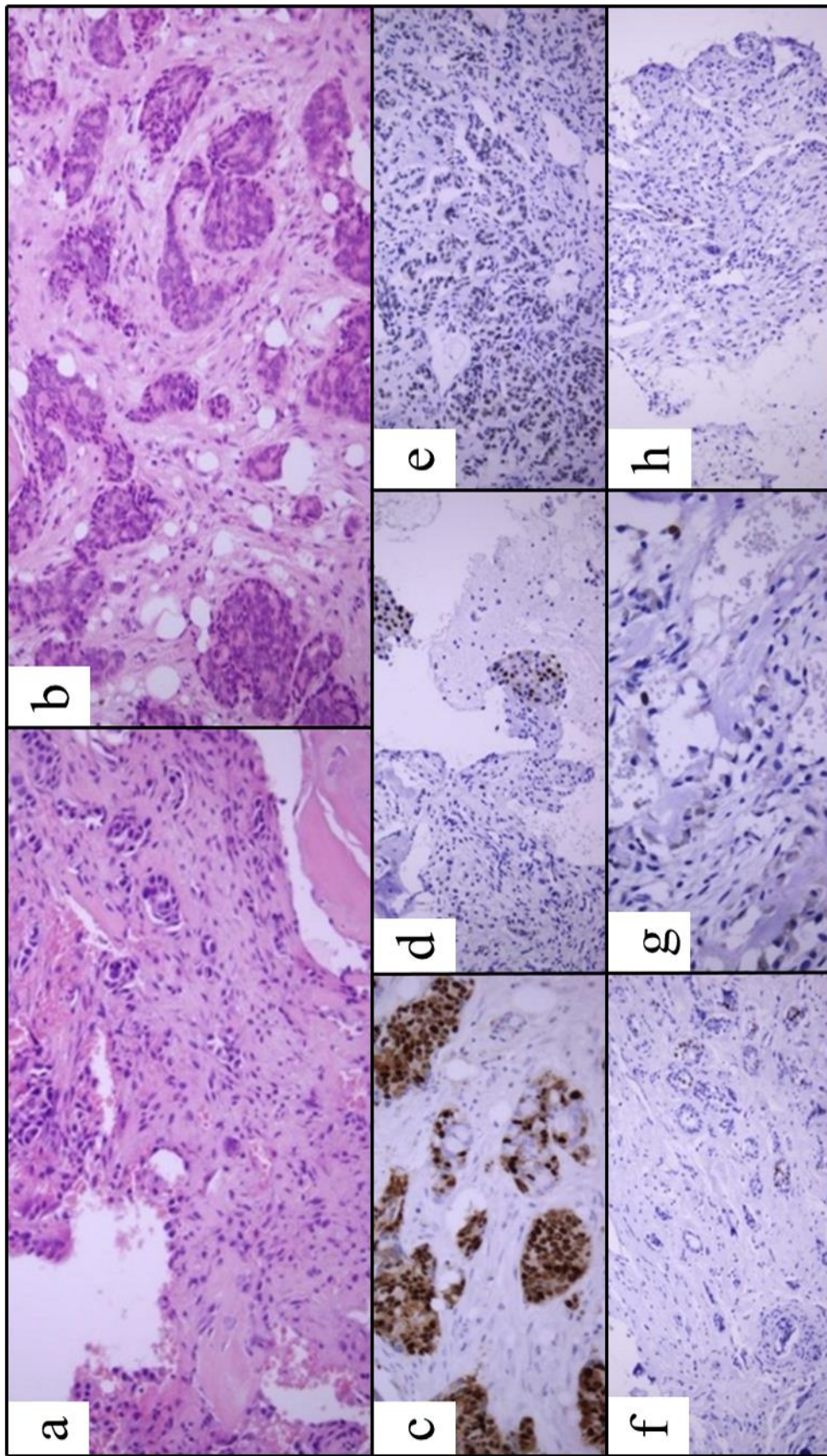


Grafik 11. – Distribucija PR, ER i HER2 u tkivu skeletnih metastaza kacinoma dojke (udeo u %)

U grupi pacijentkinja sa patološkim prelomom PR+ metastaza pronađena je u 49 (53,9%) slučajeva, nasuprot 22 (36,1%) kod onih bez patološkog preloma (Grafik 12.), za šta je utvrđena statistički značajna povezanost ( $p < 0.05$ ). Dalje je analiziran PR skor zajedno sa intenzitetom bojenja i procentom pozitivnih ćelija. Očekivano, PR skor je bio satistički značajno viši u metastazama sa patološkim prelomom ( $p < 0.05$ ), a ovo je bilo posledica većeg procenta obojenih ćelija ( $p < 0.05$ ), a ne i intenziteta bojenja ( $p = 0.066$ ) (Slika 9.). Rezultati su prikazani u Tabeli 8.



Grafik 12. – Distribucija PR, ER i HER2 prema prisustvu patološkog preloma (apsolutne vrednosti)



Slika 9. – Skeletna metastaza karcinoma dojke sa prikazom IHH bojenja receptora za progesteron podeljeno u kategorije prema Alred skoru:

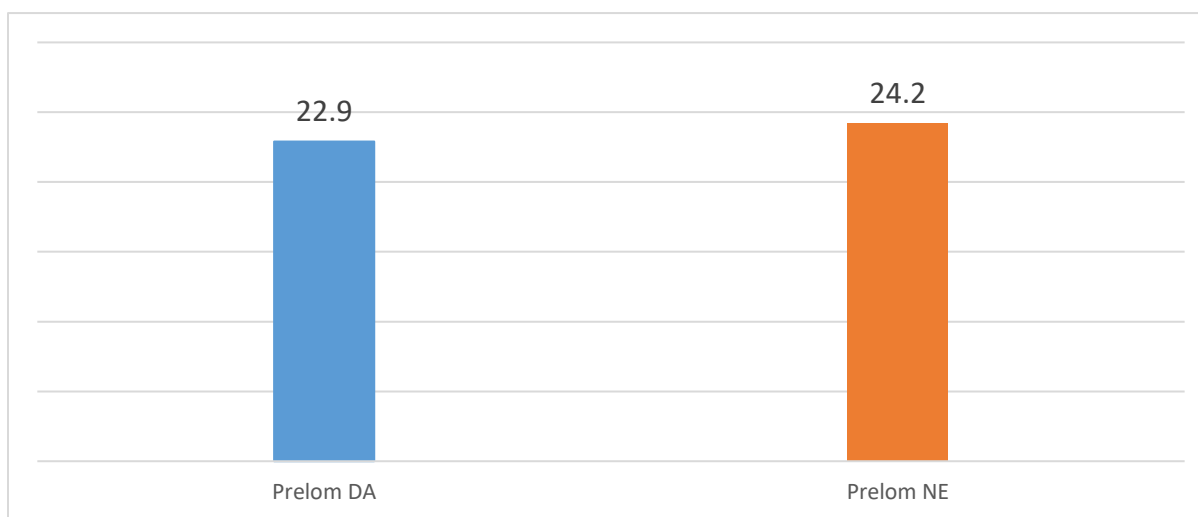
a) Tipičan izgled metastaze karcinoma dojke u kosti (H&E, 4x)

b) Koštane trabekule okružene tkivom tumora (H&E, 20x)

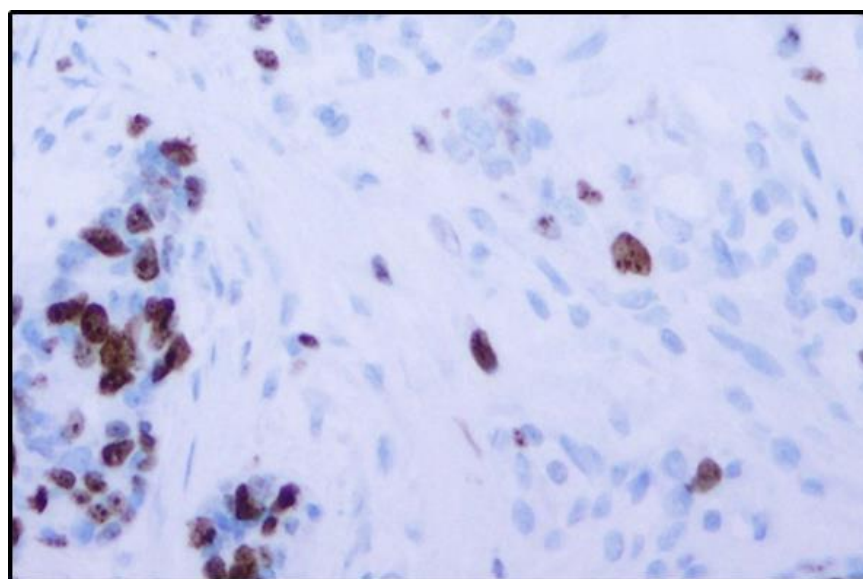
c) 5/ 67%-100%; d) 4/ 34%-66%; e) 3/ 11%-33%; f) 2/ 1%-10%; g) 1/ <1%, (H) 0/ negativno (c-g: PR, 20x)



ER+ metastaze viđene su u 71 (78%) slučaju sa patološkim prelomom i u 46 (75,4%) slučajeva bez preloma. HER2 je bio pozitivan u 32 (35,2%) slučaju sa nastalim prelomom i u 25 (41%) slučajeva bez preloma (Grafik 12.). Statistički značajna povezanost nije pronađena ni za ER ( $p=0.708$ ), ni za HER2 ( $p=0.468$ ) i nastanak patološkog preloma. U skladu sa ovim rezultatima nije utvrđena ni statistički značajna povezanost ER skora ( $p=0.293$ ), intenziteta obojenosti ćelija ( $p=0.460$ ) i procenta obojenih ćelija ( $p=0.308$ ) sa nastankom patološkog preloma, kao ni povezanost HER2 skora ( $p=0.120$ ) sa nastankom preloma. Prosečna vrednost Ki67 bila je 23,4 za sve analizirane uzorke (Opseg 1-90, SD 17.94, CI95%  $\pm 2.852$ ). Prosečna vrednost za uzorke sa patološkim prelomom bila je 22,9, a za uzorke bez preloma 24,2 (Grafik 13. i Slika 10.). Ni u ovom slučaju statistički značajna povezanost sa prelomom nije utvrđena ( $p=0.542$ ). Svi rezultati su prikazani u Tabeli 8.



Grafik 13. – Proliferativni indeks Ki67 u kostima sa i bez patološkog preloma (prosečna vrednost)



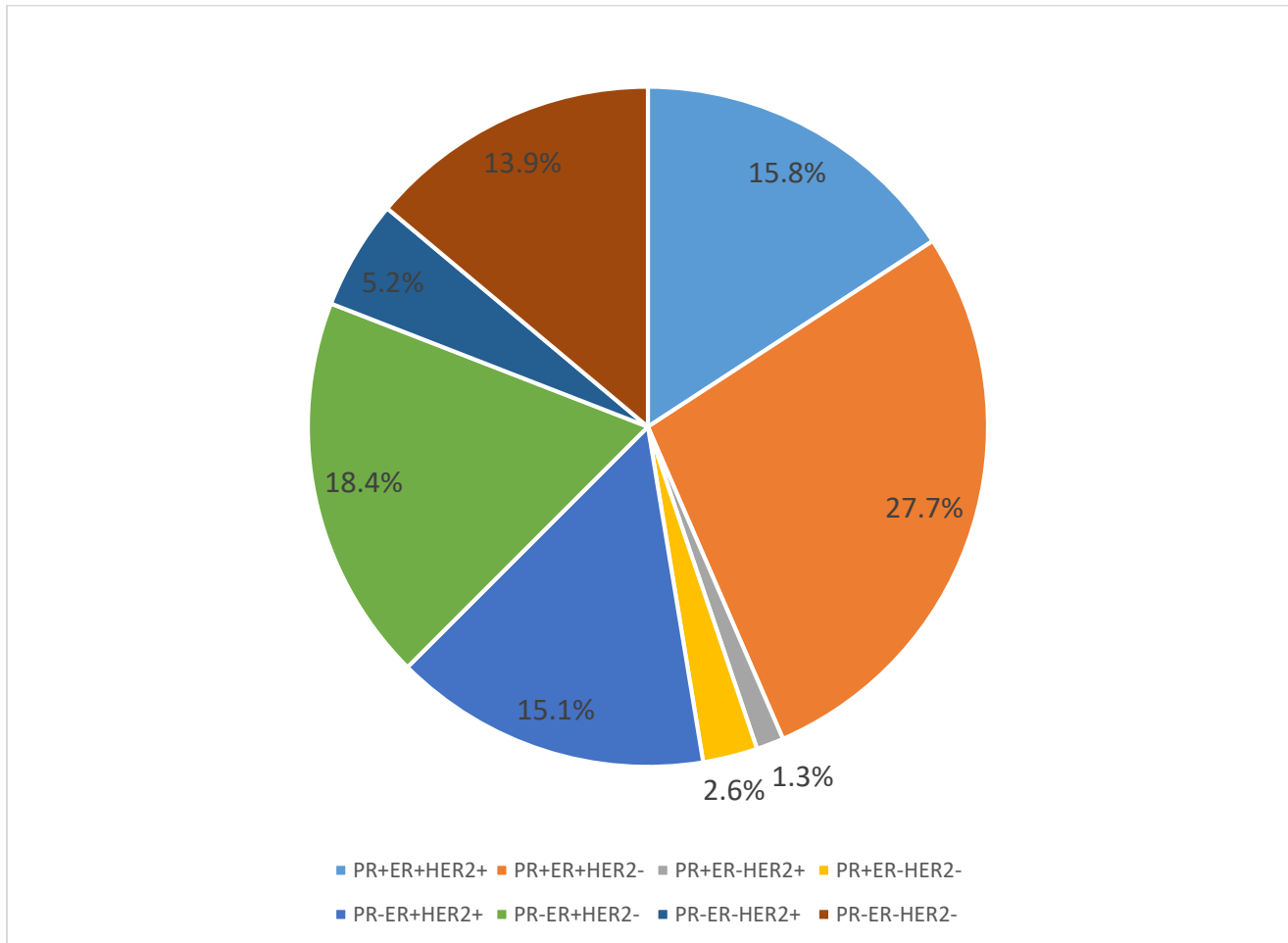
Slika 10. - Proliferativni indeks Ki67 sa 24% pozitivnih tumorskih ćelija (40x)

Tabela 8. - Hormonski receptori i HER2, Ki67 proliferativni indeks i njihov uticaj na nastanak patološkog preloma

	Patološki prelom					
	Da		Ne			
	PR					
<b>Ukupni broj</b>	PR+ 49 (53.9%)	PR- 42 (46.1%)	PR+ 22 (36.1%)	PR- 39 (63.9%)	OR=2.14 CI95=1.06-4.02	<b>p&lt;0,05</b>
<b>Skor</b>	3.0 (Opseg 0-8)		1.9 (Opseg 0-8)		<b>p&lt;0,05</b>	
<b>Intenzitet bojenja</b>	1.9 (Opseg 0-8)		0.9 (Opseg 0-3)		p=0.066	
<b>Procenat obojenih ćelija</b>	19.1 (Opseg 0-90)		9.4 (Opseg 0-85)		<b>p&lt;0,05</b>	
	ER					
<b>Ukupni broj</b>	ER+ 71 (78%)	ER- 20 (22%)	ER+ 46 (75.4%)	ER- 15 (24.6%)	OR=1.16 CI95%=0.54-2.49	p=0.708
<b>Skor</b>	5.1 (Opseg 0-8)		5.4 (Opseg 0-8)		p=0.293	
<b>Intenzitet bojenja</b>	1.9 (Opseg 0-4)		2.0 (Opseg 0-3)		p=0.460	
<b>Procenat obojenih ćelija</b>	43.2 (Opseg 0-95)		50.1 (Opseg 0-95)		p=0.308	
	HER2					
<b>Ukupni broj</b>	HER2+ 32 (35.2%)	HER2- 59 (64.8%)	HER2+ 25 (41%)	HER2- 36 (59%)	OR=0.78 CI 95%=0.40-1.52	p=0.468
<b>Skor</b>	1.1 (Opseg 0-3)		1.4 (Opseg 0-3)		p=0.120	
	Ki67					
<b>Proliferativni indeks</b>	22.9 (Opseg 1-80)		24.2 (Opseg 1-90)		p=0.468	

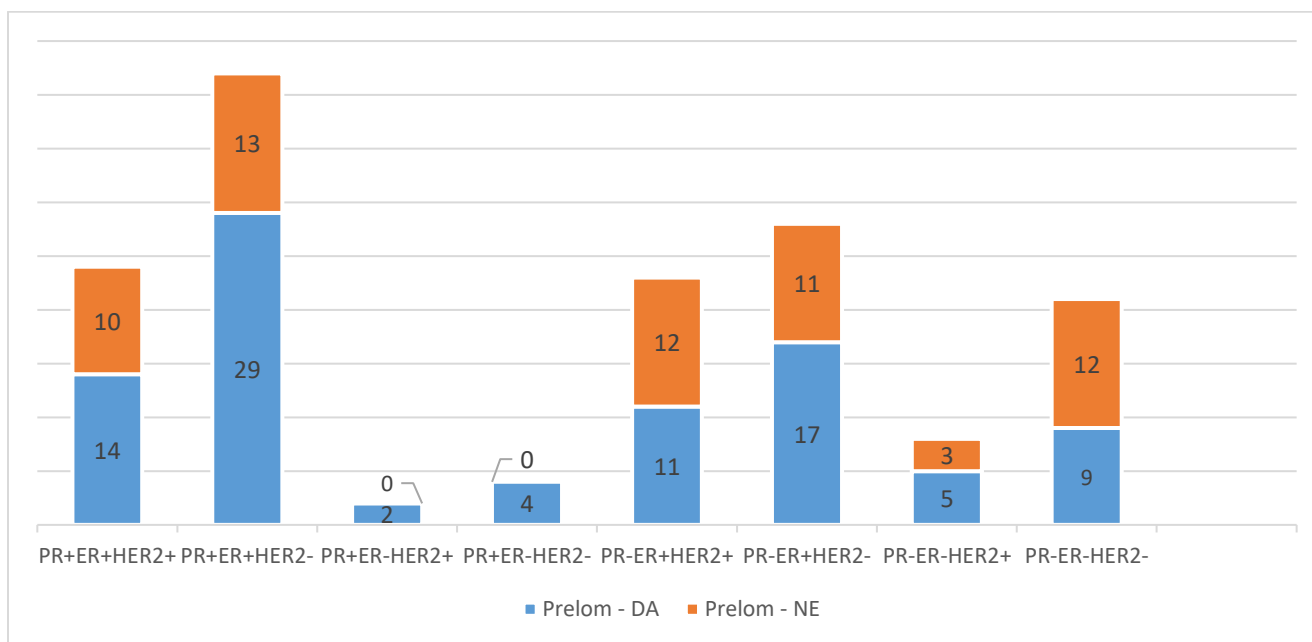
PR – Progesteron receptor; ER – Estrogen receptor; HER2 – Receptor za humani epidermalni faktor rasta 2

Daljom analizom kombinacija ER, PR i HER2 (Grafik 14.) utvrđene su 24 PR+ER+HER2+ (15,8%) metastaze, 42 PR+ER+HER2- (27,7%), 2 PR+ER-HER2+ (1,3%), 4 PR+ER-HER2- (2,6%), 23 PR-ER+HER2+ (15,1%), 28 PR-ER+HER2- (18,4%), 8 PR-ER-HER2+ (5,2%) i 21 PR-ER-HER2- (13,9%). Podtipovi metastaza prikazani su na Slikama 11.-18.



Grafik 14. - Distribucija kombinacija PR, ER i HER2 u tkivu skeletnih metastaza kacinoma dojke (udeo u %)

Analizom povezanosti kombinacija receptora sa nastankom patološkog preloma dobijeni su rezultati prikazani u Grafiku 15. i Tabeli 9. U grupi metastaza sa pozitivnim PR receptorom, gde je prethodno utvrđena povezanost, za pojedinačne kombinacije nije utvrđena statistički značajna povezanost ni jednog podtipa sa patološkim prelomom: PR+ER+HER2+ ( $p=0,915$ ), PR+ER+HER2- ( $p=0,154$ ), PR+ER-HER2+ ( $p=0,244$ ) i PR+ER-HER2- ( $p=0,097$ ). U grupi sa pozitivnim ER takođe nije utvrđena statistički značajna povezanost ni jednog podtipa sa nastankom patološkog preloma: ER+PR-HER+ ( $p=0,126$ ), ER+PR-HER2- ( $p=0,919$ ). Kod podtipa sa negativnim hormonskim receptorima, a pozitivnim HER2 (ER-PR-HER2+) takođe nije utvrđena statistički značajna povezanost ( $p=0,876$ ) i kao ni u podtipu trostruko negativne metastaze (ER-PR-HER2-) ( $p=0,087$ ).



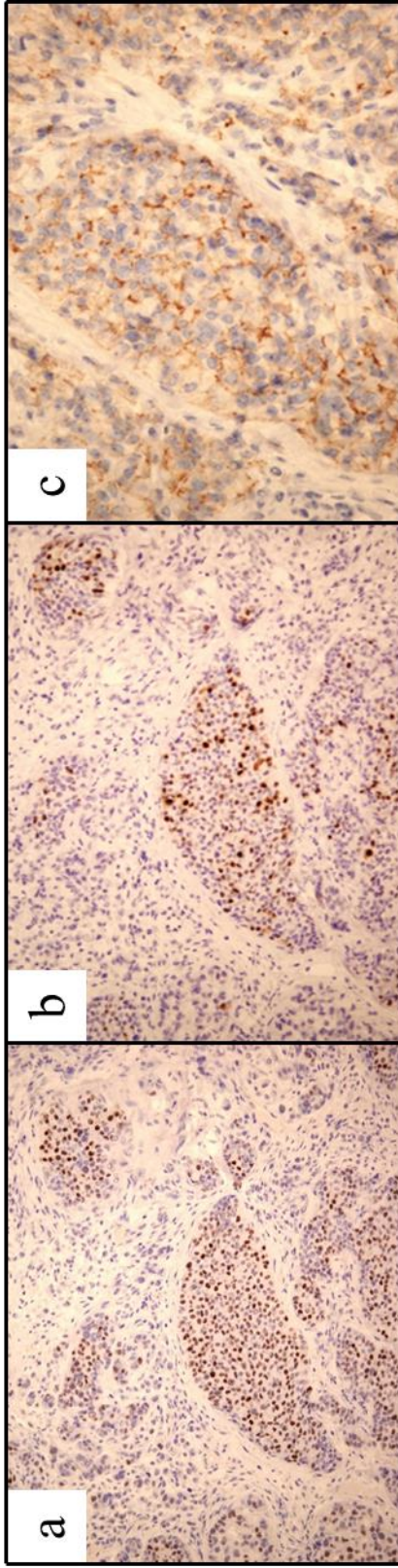
Grafik 15. – Distribucija kombinacija PR, ER i HER2 prema prisustvu patološkog preloma (apsolutne vrednosti)

Tabela 9. – Kombinacije hormonskih receptora i HER2 i njihov uticaj na nastanak patološkog preloma

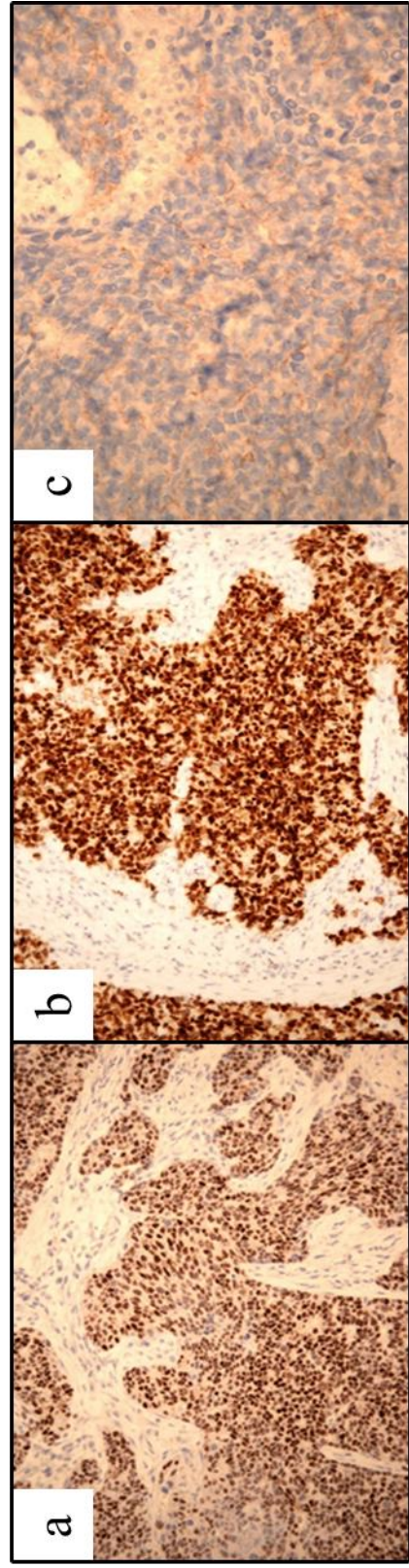
		Patološki prelom			
		Da	Ne		
<b>PR+</b>	<b>PR+ER+HER2+</b>	14	10	<b>p&lt;0,05</b>	p=0,915
	<b>PR+ER+HER2-</b>	29	13		p=0,154
	<b>PR+ER-HER2+</b>	2	0		p=0,244
	<b>PR+ER-HER2-</b>	4	0		p=0,097
<b>ER+</b>	<b>ER+PR+HER2+</b>	14	10	<b>p=0.708</b>	p=0,915
	<b>ER+PR+HER2-</b>	29	13		p=0,154
	<b>ER+PR-HER2+</b>	11	12		p=0,126
	<b>ER+PR-HER2-</b>	17	11		p=0,919
<b>HER2+</b>	<b>HER2+PR+ER+</b>	14	10	<b>p=0.468</b>	p=0,915
	<b>HER2+PR+ER-</b>	2	0		p=0,244
	<b>HER2+PR-ER+</b>	11	12		p=0,126
	<b>HER2+PR-ER-</b>	5	3		p=0,876
<b>PR-ER-HER2-</b>		9	12	<b>p=0,087</b>	

PR – Progesteron receptor; ER – Estrogen receptor; HER2 – Receptor za humani epidermalni faktor rasta



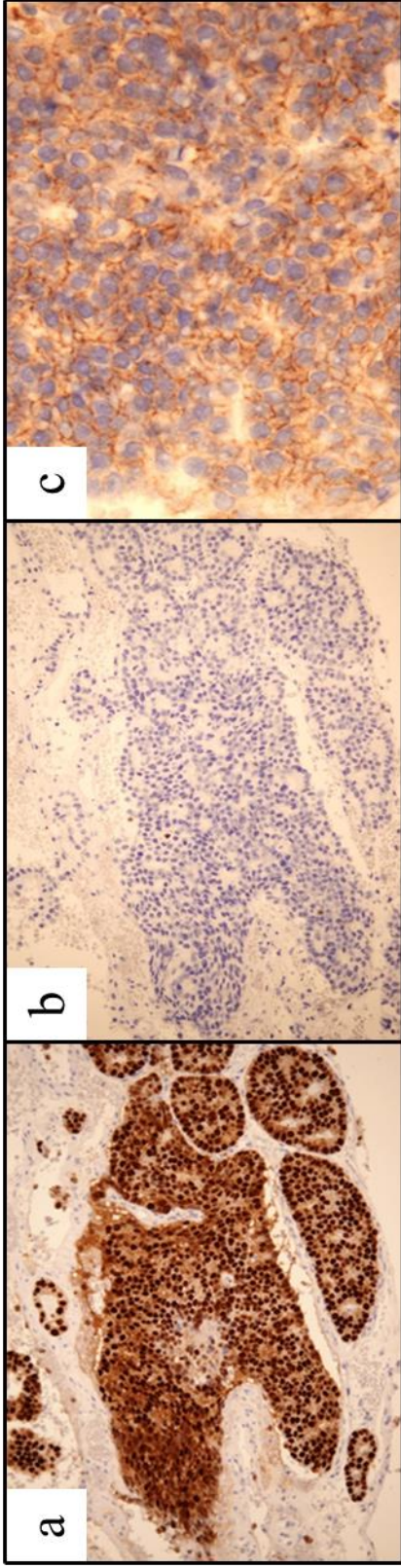


Slika 12.: Metastatski karcinom dojke podtip ER+PR+HER2- (ER 20x , PR 20x, HER2 40x)

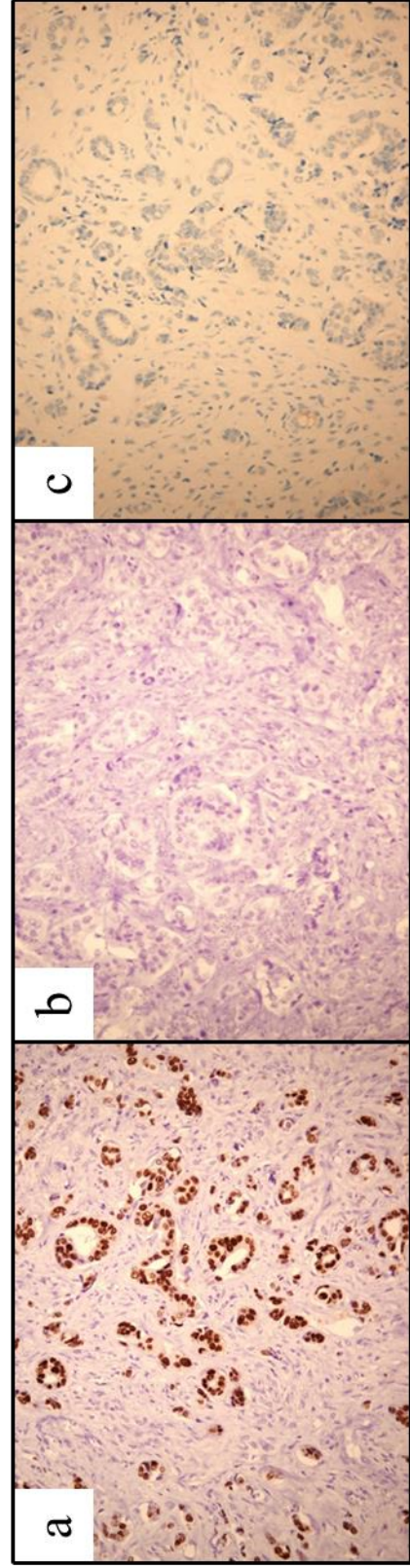


Slika 11.: Metastatski karcinom dojke podtip ER+PR+HER2+ (ER 20x , PR 20x, HER2 40x)



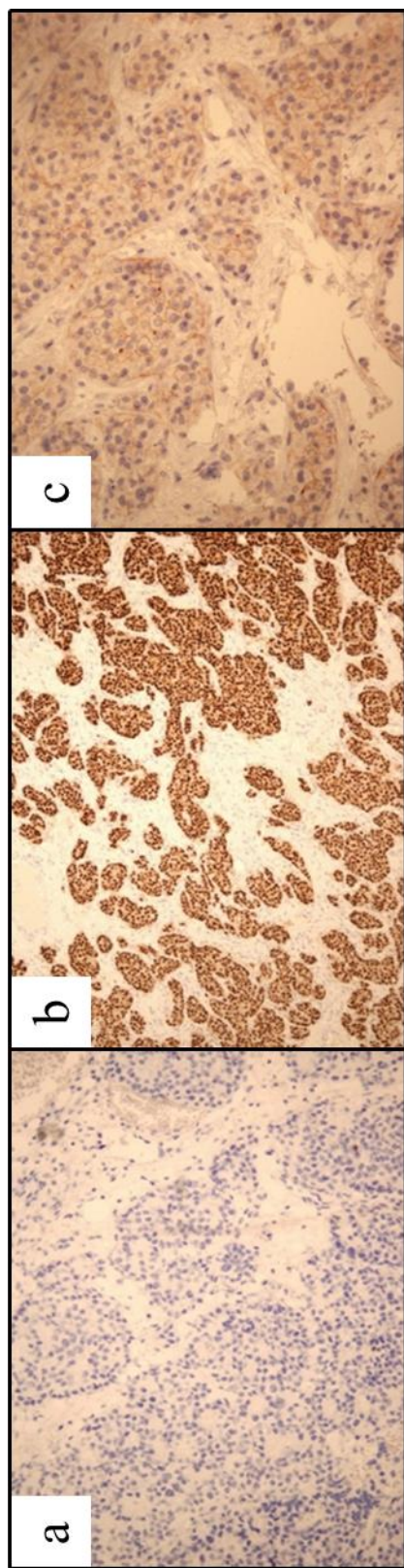


Slika 14.: Metastatski karcinom dojke podtip ER+PR-HER2- (ER 20x , PR 20x, HER2 20x)

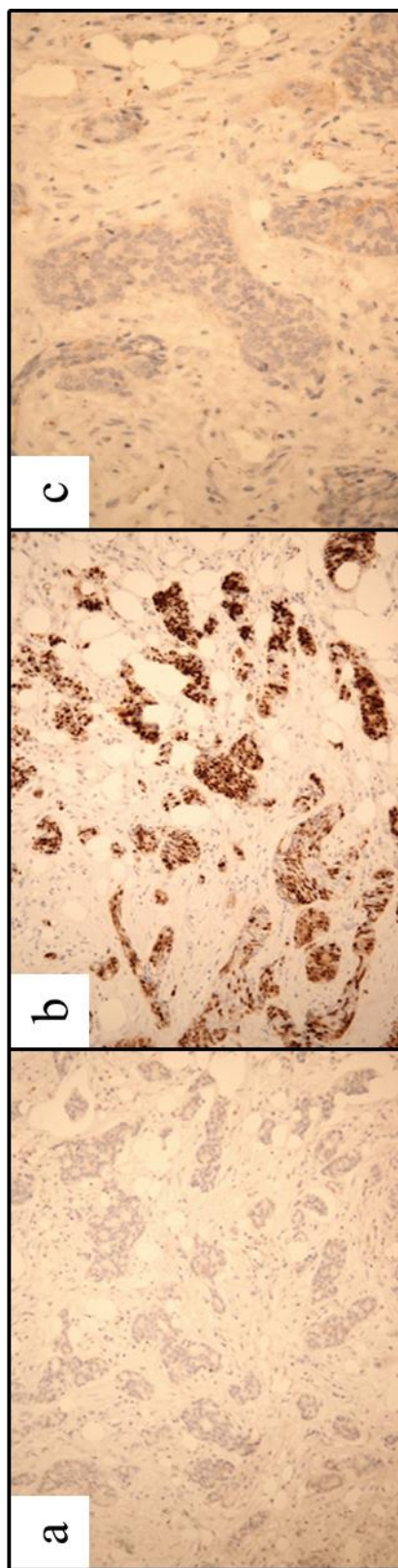


Slika 13.: Metastatski karcinom dojke podtip ER+PR-HER2+ (ER 20x , PR 20x, HER2 40x)

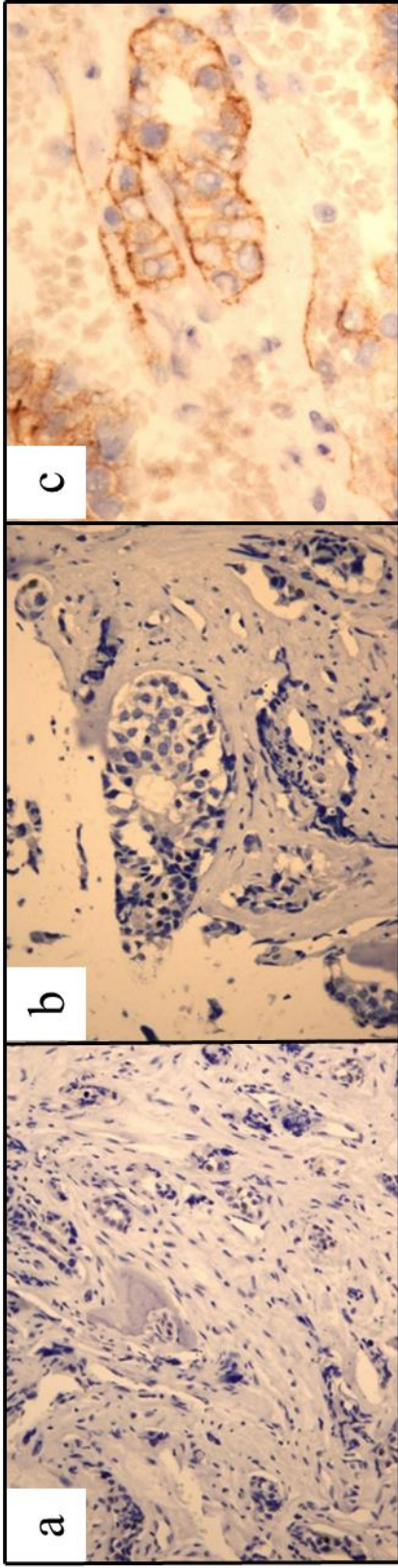




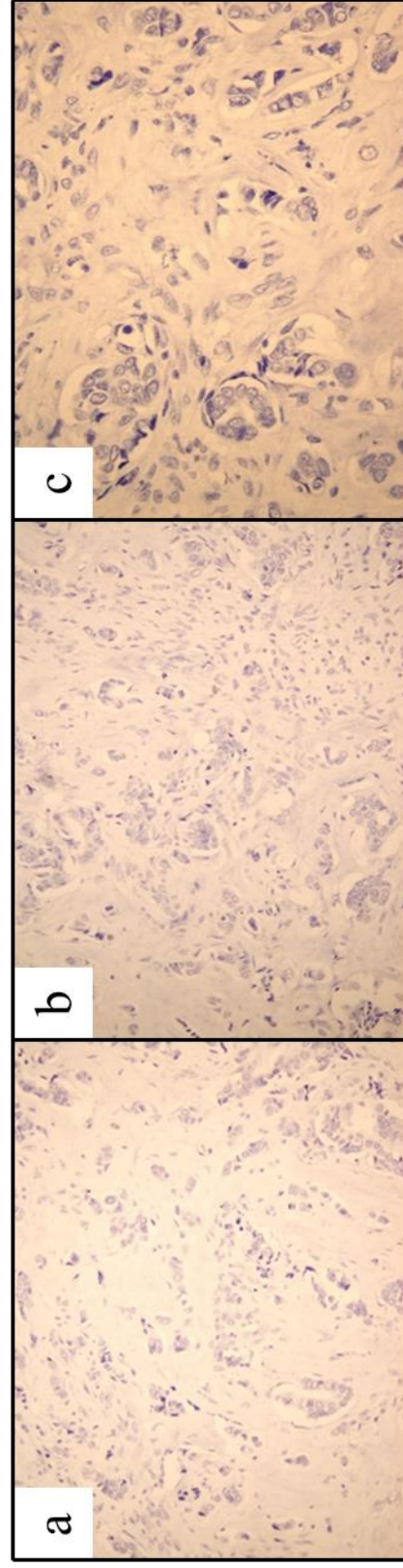
Slika 16.: Metastatski karcinom dojke podtip ER-PR+HER2- (ER 20x , PR 20x, HER2 40x)



Slika 15.: Metastatski karcinom dojke podtip ER-PR+HER2+ (ER 20x , PR 20x, HER2 40x)



Slika 17.: Metastatski karcinom dojke podtip ER-PR-HER2+ (ER 20x , PR 40x, HER2 60x)



Slika 18.: Metastatski karcinom dojke podtip ER-PR-HER2- (ER 20x , PR 20x, HER2 40x)



## 5. DISKUSIJA

Karcinom dojke je najčešći maligni tumor kod žena. Obično se javlja nakon menopauze, u sedmoj i osmoj deceniji života. Međutim, nije neuobičajana pojava ovog tumora i kod mlađih žena, pre menopauze, čak i u trećoj deceniji života. Studije su pokazale da će oko 5% žena mlađih od 40 godina oboleti od ove bolesti<sup>83</sup>. Rezultati ovog istraživanja potvrđuju ranije navode. Prosečna starost pacijentkinja je bila 61,4 godine. Najmlađa pacijentkinja je imala 33 godine, a najstarija 83. Najveći broj pacijentkinja bio u periodu ranije postmenopauze (51-70 godina) i kasnije postmenopauze – senijuma (preko 71 godine). Žene starosti ispod 51 godine svrstane su kao mlađe, jer se ta starosna dob smatra prosečnom za ulazak u menopauzu<sup>84, 85</sup>. U ovoj studiji registrovane su 24 pacijentkinje iz ove grupe. Analizom uticaja starosti na nastanak patološkog preloma nije utvrđena povezanost. Iako je bilo očekivano da ovakva povezanost postoji, obzirom na smanjenje koštane mase nakon menopauze i dalji razvoj u osteoporozi u toku starenja, gde bi gubitak koštane mase mogao da olakša nastanak preloma, rezultati nisu pokazali da smanjenje gustine kosti utiče značajno na proces nastanka patološkog preloma već da se uzrok nalazi u drugim faktorima, najpre u karakteristikama ponašanja samog tumora.

Skrining i rana dijagnostika doneli su najveći napredak u lečenju karcinoma dojke. I pored toga, kod nekih žena karcinom se otkriva tek u kasnijim fazama, čak i u IV stadijumu kada su metastaze prisutne u organima, a najčešće u kostima. U ovoj studiji kod više od 1/3 pacijentkinja dijagnoza primarnog karcinoma dojke nije bila poznata do pojave skeletnih događaja u vidu bola ili patološkog preloma, odnosno dijagnoza primarnog tumora je postavljena u stadijumu metastatske bolesti. Ovaj broj je znatno veći od onoga u razvijenim zemljama, gde se registruje oko 5% ovih slučajeva<sup>20</sup>. Mogući razlog za ovako loš rezultat mogla bi biti niska zdravstvena prosvetćenost i nedovoljno dobra organizacija skrininga u našoj zemlji, usled čega značajan broj obolelih ne bude otkriven u ranim fazama bolesti. Bez obzira na veliki broj pacijentkinja kod kojih je bolest dijagnostikovana tek sa kliničkom manifestacijom metastaza nije dokazana statistički značajna povezanost sa nastankom patološkog preloma. Nažalost, u kliničkom smislu ovo znači da trenutak postavljanja dijagnoze primarnog tumora, bez obzira da li je u to u fazi kada je taj tumor proširen, pa čak i sa metastazama ili u početnoj invazivnoj fazi kada metastaze još uvek nisu registrovane, ali kasnije dodje do njihovog razvoja, ne utiče na nastanak patološkog preloma. Jedino sprečavanje mogućnosti za nastanak metastaza može ukloniti rizik od patološkog preloma. Ovo se postiže skriningom i otkrivanjem primarnog tumora u najranijoj *In situ* fazi, i njegovim hirurškim uklanjanjem pre nego što se stvore uslovi za razvoj procesa metastaziranja.

Standardni protokol lečenja primarnog karcinoma dojke podrazumeva lokalni tretman, najčešće u vidu operativnog uklanjanja tumora, nekada i primenu postoperativne lokalne zračne terapije. U nekim slučajevima, kod sistemski uznapredovale bolesti, sprovodi se samo lokalna zračna terapija sa palijativnom ulogom<sup>86</sup>. U izuzetno retkim slučajevima, kad se bolest otkrije u završnoj fazi, tumor dojke se ne leči lokalnom terapijom, već se lečenje sprovodi primenom sistemske terapije čiji su prvenstveni cilj metastaze koje direktno ugrožavaju život pacijenta, a sekundarno je cilj i tumor u dojci. U ovoj studiji, sve pacijentkinje kod kojih je dijagnoza karcinoma dojke postavljena otkrivanjem primarnog tumora, uključujući one koje u tom trenutku nisu imale dijagnostikovane metastaze, kao i one kod kojih je dijagnoza metastaza postavljena neposredno po otkrivanju primarnog tumora, podvignute su lečenju primarnog tumora u dojci. Lečenje je sprovedeno prema standardima, operativno u vidu parcijalne ili totalne mastektomije, a zatim kod nekih i adjuvantnom zračnom terapijom. Analiziran je uticaj lokalnog lečenja primarnog tumora na nastanak patološkog preloma i statistički značajna povezanost nije pronađena. Ovo je u skladu sa prethodnim nalazom da otkrivanje primarne bolesti pre razvoja skeletnih događaja ne utiče pozitivno na smanjenje učestalosti patoloških preloma. Naime, otkrivanje i adekvatno lečenje primarnog tumora, osim u koliko nije otkriven pre invazivne faze, ne utiče na smanjenje mogućnosti za nastanak patološkog preloma.

Sistemska terapija karcinoma dojke primenjuje su vidu hemoterapije, hormonske terapije i ciljane terapije. Može se primeniti kao neoadjuvantna, preoperativna terapija, čiji je prvenstveni cilj ograničavanje primarnog tumora dojke i omogućavanje pouzdanije hirurške resekcije, ili u kao adjuvantna, postoperativna terapija, kojom se uništavaju tumorske ćelije koje su u dojci eventualno zaostale nakon hirurškog odstranjenja makroskopski vidljivog tumora, samim tim smanjuje se rizik od lokalnog recidiva, kao i uništavanje cirkulišućih tumorskih ćelija ili okultnih metastaza – metastaza koje se klinički ne ispoljavaju i ne mogu se otkriti trenutno postojećim dijagnostičkim metodama. U slučaju potvrđene metastatske bolesti sistemska terapija je glavni vid terapije koji ima za cilj usporavanje napredovanja sekundarnih depozita, povećanje kvaliteta i produženje života. Hemoterapija je najstariji oblik sistemske terapije. Različite supstance koje deluju toksično na tumorske ćelije izolovane su iz brojnih biljaka, životinja i bakterija, ali i laboratorijski sintetisane. U savremenoj terapiji karcinoma dojke koriste se taksani, karboplatin, doksirubicin i ciklofosamid. Ove supstance na različite načine ubijaju ćelije tumora, ali isti efekat imaju i na normalne ćelije organizma dovodeći do brojnih toksičnih efekata – kardiomiopatije, enteropatije, hepatopatije, opadanja kose i dr., usled čega je neophodna njihova strogo dozirana primena uz stalni nadzor i promene doze ili obustavljanje terapije u slučaju da toksični efekti prevaziđu pozitivne terapijske efekte<sup>87</sup>.

Hormonska terapija predstavlja jednu od osobenosti lečenja karcinoma dojke. Indikacije za primenu ove terapije su precizno određene i terapijski su izbor kod malog broja tumora, a to su oni u čijem tkivu je potvrđeno prisustvo hormonskih receptora, a time i zavisnosti tumora od uticaja hormona. U slučaju karcinoma dojke objašnjen je uticaj progesterona i posebno estrogena u procesu nastanka tumora, zatim njegovog razvoja i širenja. Prva strategija za lečenje karcinoma dojke uticajem na hormone<sup>88</sup> može biti blokiranje funkcije jajnika – postiže se hirurškim odstranjenjem jajnika, lokalnim zračenjem ili lekovima kojima se blokiraju signali jajnicima da luče estrogen (goserelin, leuprolid). Koristi se najviše kod premenopausalnih žena obzirom da su kod njih jajnici aktivni i predstavljaju najvažnije mesto za sintezu estrogena. Druga strategija je blokiranje proizvodnje estrogena – ovi lekovi se nazivaju inhibitori aromataze (anastrozol, letrozol, eksemestan), enzima koji u jajnicima i nekim drugim tkivima služi za sintezu estrogena. Koriste se najviše kod postmenopausalnih žena, zato što su kod premenopausalnih žena jajnici aktivni i postoji velika količina aromataze koja bi trebala biti blokirana, kao i zbog toga što kod postmenopausalnih žena glavno mesto sinteze estrogena postaju druga tkiva, najviše masno, i ne postoje druge mogućnosti za supresiju sinteze hormona na ovim mestima. I konačno, uticaj na hormone se ostvaruje blokiranjem dejstva samog estrogena – lekovima koji se vezuju za estrogenske receptore u ćelijama tumora sprečavajući dejstvo hormona. Osim za receptore u tumoru vezuju se i za iste receptore u drugim tkivima. Postoje lekovi koji su čisti blokatori receptora (fluvestrant) i oni koji su blokatori na nekim mestima (tumor) dok na drugim mestima (materica, kost) imitiraju ulogu estrogena (tamoksifen, toremifen) usled čega mogu imati negativne, ali i dodatne pozitivne efekte<sup>88</sup>.

Poslednji oblik sistemske terapije je ciljane terapija. Razvijena je u poslednjih nekoliko decenija primenom molekularnog i genetskog inženjeringa. U osnovi se nalazi ideja da se primenom precizno sintetisanog molekula (proteina) ostvari dejstvo na neki od ključnih molekula u procesu razvoja i širenja tumora. U slučaju karcinoma dojke primenjuje se trastuzumab. Radi se o humanizovanom monoklonskom antitelu koje se visoko selektivno vezuje za ekstracelularni deo HER2 blokirajući ga i tako usporava umnožavanje ćelija<sup>89</sup>.

U ovoj studiji od 99 pacijentkinja kod kojih je dijagnoza i lokalno lečenje primarnog tumora sprovedeno pre skeletnih događaja, kod 54 je sprovedena i sistemska terapija. Obzirom da su u studiju uključene samo pacijentkinje koje su imale dokazane skeletne metastaze, nije bilo moguće analizirati efekat primenjene sistemske terapije na nastanak metastaza, ali je analiziran njen uticaj na nastanak patološkog preloma kod pacijentkinja kod kojih se razvila metastatska bolest skeleta. Kao i kod prethodno

analiziranog uticaja poznavanja primarne bolesti pre nastanka skeletnog događaja i uticaja lokalnog lečenja primarnog tumora, statistički značajna povezanost nije utvrđena ni između sistemskog lečenja i nastanka patološkog preloma.

Iz dobijenih podataka utvrđeno je vreme od dijagnoze primarnog tumora do pojave metastaza i ono iznosi prosečno nešto više od šest godina za sve pacijentkinje, odnosno nešto manje od šest godina za one kod kojih je nastao patološki prelom i nešto više od sedam godina za one kod kojih do preloma nije došlo. Vreme od dijagnoze skeletnih metastaza do prvog skeletnog događaja iznosilo je malo preko pet meseci i kod pacijentkinja sa patološkim prelomom i kod onih bez preloma. Ovi podaci odgovaraju ranijim studijama<sup>20, 90</sup>. Nije utvrđena statistički značajna povezanost između vremena koje je proteklo do nastanka metastaza, kao ni između vremena potrebnog za kliničku manifestaciju metastaza i nastanka patološkog preloma. I konačno za grupu pacijentkinja kod kojih je prvi skeletni događaj bio pojava bola, vreme od tog trenutka do nastanka patološkog preloma pokazalo je veliku varijaciju, od svega jednog dana do oko pet godina, ali u proseku oko četiri i po meseca<sup>91</sup>. Iz navedenih podataka prikazanih u Grafiku 4. može se zaključiti da do pojave metastaza karcinom dojke predstavlja hroničnu bolest bez značajnih tegoba i da pacijentkinje duži vremenski period mogu voditi normalan život. Od trenutka pojave metastaza bolest ulazi u nešto što bi se moglo nazvati “akutizacijom bolesti” tokom koje dolazi do značajnog ubrzavanja razvoja kliničke slike, kod nekih pacijentkinja i sa veoma brzim nastanakom patološkog preloma, a kod drugih sa bolom koji se vremenom pojačava značajno smanjujući kvalitet života i koji se u velikom broju slučajeva završava patološkim prelomom. Dodatno, ranije studije su pokazale da patološki prelom predstavlja ključni trenutak bolesti, nakon koga se morbiditet i mortalitet višestruko povećavaju<sup>92</sup>. Manje od polovine pacijenata preživi godinu dana od preloma. Dužina preživljavanja varira od nekoliko dana do oko tri godine, prosečno oko 16 meseci, i zavisi i od kosti koja je slomljena, kraće je kod preloma femura<sup>93</sup>.

U ovoj studiji metastaze su registrovane u svim kostima, osim u kostima stopala i šake i u ulni i fibuli. U druge dve kosti podlaktice i potkolenice (radijus i tibija) otkrivena je po jedna. Ovo odgovara ranijim nalazima u kojima se metastaze izuzetno retko nalaze distalno od lakta i kolena. Sa druge strane najveći broj metastaza registrovan je u gornjem okraju femura i kičmenim pršljenovima. Ovo je takođe u skladu sa rezultatima prethodnih studija po kojima su zona kuka i aksijalni skelet predilekciona mesta za metastaziranje<sup>90, 92</sup>. Za sada nema jasnog odgovora zašto su metastaze češće u ovim kostima. Pored molekularnih mehanizama objašnjenje bi se moglo tražiti i u protoku krvi gde su ovi delovi skeleta bliži centralnom krvotoku, pa cirkulišuće tumorske ćelije najpre dolaze do njih čime je šansa za ekstravazaciju u tim zonama veća nego dalje na periferiji.

Analizom uticaja lokalizacije metastaze na nastanak patološkog preloma visoko značajna statistička povezanost je utvrđena za karličnu kost i vrat femura. Statistički značajna povezanost lokalizacije i nastanka preloma utvrđena je za dijafizu humerusa i dijafizu femura. Neočekivano, za trohanternu zonu femura nije bilo statistički značajne povezanosti.

Za kosti karlice gde je u celom uzorku i pored velikog broja metastaza, registrovan samo jedan prelom može se reći da je karlica visoko otporna na patološke prelome. Verovatni razlog za ovo je anatomija ove kosti, nepravilnost oblika, histološka struktura koštanog tkiva sa velikim udelom kompaktne kosti, odnosno korteksa. Opisane karakteristike ograničavaju lokalno delovanje tumora, smanjujući njegov razarajući uticaj na kost, povećavaju otpornost kosti i preusmeravaju dejstvo sila sa oštećenih na očuvane koštane strukture. Takođe, raspored sila se prenosi preko više vektora deleći ukupnu silu na više manjih koje je i oštećena kost u stanju da podnese. Dijafiza humerusa i femura i posebno vrat femura predstavljaju zone najpodložnije nastanku patološkog preloma. Ovo je primećeno pre više od trideset godina i uvršćeno u Mirelsovu klasifikaciju<sup>43</sup>, a potvrđeno kroz brojna kasnija istraživanja<sup>94</sup>. I ova studija potvrđuje te nalaze i posebno ističe vrat femura kao zonu rizika. Naime, sve metastaze na ovom mestu

završile su patološkim prelomom. Razlog za ovo je mala količina kosti koju tumor brzo zahvata u celosti, uz veliku silu težine tela koja se kroz ovu malu zonu prenosi, a kada se udruži sa momentom sile koji se razvija pri hodu predstavlja idealno mesto za patološki prelom. Dijafiza femura je slična zona, izložena istim silama, ipak uz nešto veću koštanu masu, pa je zato mogućnost preloma nešto manja, ali i dalje visoko rizična. Veća koštana masa u trohanternoj zoni predstavlja zaštitni faktor, jer tumor ne može lako dovesti do gubitka dovoljne količine kosti da bi prelom bio neizbežan. Dijafizu humerusa čini relativno mala količina kosti, pa poluga i torzija pri podizanju čak i lakših predmeta razvijaju dovoljan momenat sile koji dovodi do preloma na mestu metastaze.

Broj metastaza u kostima u trenutku preseka ove studije bio je sličan za solitarne i multiple. Raniji stav je bio da su solitarne metastaze izuzetno retke, međutim novija istraživanja su pokazala suprotno. Solitarne metastaze registrovane su 10-50% slučajeva u zavisnosti u vrste primarnog tumora, ređe kod karcinoma prostate i reproduktivnog trakta, a češće kod karcinoma dojke, pluća i bubrega<sup>95</sup>. U ovoj studiji solitarna metastaza bila je prisutna u nešto više od 50% slučajeva. Statistički značajna povezanost broja metastaza i patološkog preloma nije utvrđena. Ipak, sve ovo ukazuje na važnost rane dijagnostike i neophodnost praćenja, posebno u svetlu toga što solitarna metastatska bolest zapravo predstavlja uvod u multiple metastaze<sup>96</sup>. Pravovremeno i adekvatno lečenje u fazi monometastatske bolesti (hirurška resekcija i/ili lokalna zračna terapija) može da produži vreme do novog relapsa (u onkologiji se označava kao "Vreme preživljavanja do progresije" - *Progression free survival* – PFS) i pojave novih kliničkih manifestacija (EFS) i ukupno vreme koliko će pacijent živeti (*Overall survival* – OS)<sup>97</sup>. Ako se na to doda i patološka analiza tkiva metastaze uz utvrđivanje statusa hormonskih receptora i HER2, za koje je poznato da se često mogu razlikovati u odnosu na status primarnog tumora, i davanje sistemske terapije prema ovom statusu, onda se može očekivati da se prognoza u vidu produženja PFS, EFS i OS značajno poboljša<sup>75</sup>.

Ranije studije pokazale su češće litične skeletne metastaze, prisutne u oko 60% slučajeva<sup>98</sup>. U ovoj studiji nalaz je bio obrnut i litične promene su viđene u 1/3, a mešovite litično-sklerotične u 2/3 slučajeva. Bez obzira, statistički značajna povezanost vrste koštane reakcije i nastanka patološkog preloma nije utvrđena. Mirelsova klasifikacija i SINS daju izvesnu prednost osteolizi u nastajanju patološkog preloma<sup>43, 44</sup>, međutim nalaz u ovoj studiji govori o tome da su mikropromene u strukturi kosti i kod mešovite reakcije takve da su njene biomehaničke osobine narušene jednako kao kod čiste osteolize i da mogućnost nastanka patološkog preloma kod ovakve koštane reakcije nije posebno manja.

Cilj lečenja primarnog karcinoma dojke pre pojave metastaza je potpuno izlečenje. Međutim, ovaj cilj se izvesno postiže samo kod pacijenata kod kojih je tumor otkriven i lečen u ne-invazivnoj fazi. Kod velike većine pacijenata kod kojih je tumor otkriven u invazivnoj fazi, pre ili kasnije, doći će do pojave metastaza<sup>92</sup>. Rezultati ove studije to potvrđuju i pokazuju da se u invazivnoj fazi primarnog tumora, karcinom dojke već može smatrati sistemskom bolešću. Cilj lečenja primarnog tumora u tom slučaju je produženje vremena do pojave metastaza (DFS) i ukupnog vremena koliko će pacijent živeti (OS). Metastatska bolest, uprkos savremenim terapijskim pristupima, još uvek predstavlja neizlečivu fazu oboljenja. Iz tog razloga, do pre nekoliko decenija, pojava metastaza je označavala prekid indikacije za specifičnu terapiju i početak simptomatskog lečenja, odnosno bolest je prepuštana svom prirodnom toku koji je najčešće u relativno kratkom vremenskom periodu dovodio do smrtnog ishoda. Sa napretkom sistemske terapije, ali i razvojem hirurških tehnika podignut je značaj lečenja metastaza. Iako i dalje nema kurativne terapije koja bi pacijente u ovoj fazi potpuno oslobodila bolesti<sup>18</sup> cilj lečenja postalo je poboljšanje kvaliteta života, produženje perioda bez progresije (PFS), perioda bez novih događaja (EFS), kao i dalje produžavanje ukupnog preživljavanja (OS).

Savremeni protokol terapije metastatske bolesti uključuje sistemska medikamentozna terapiju, lokalnu zračnu terapiju i hirurške intervencije<sup>99, 100</sup>. Sistemska terapija, kao i kod lečenja primarnog tumora,



sastoji se o davanja hemoterapije, ali u režimima koji se mogu razlikovati od režima za primarni tumor, homonske i ciljane terapije. U ciljanoj terapiji koristi se monoklonsko antitelo denosumab koje je inhibitor RANKL čime smanjuje koštanu resorpciju<sup>101</sup>. Izuzetno važan deo medikamentozne terapije skeletnih metastaza su bisfosfonati, jedinjenja koja naziv nose po dve fosfonatne grupe u svom sastavu. Najčešće korišćeni su alendronat, risedronat, zoledronat i pamidronat. Dejstvo ostvaruju inhibirajući osteoklaste i tako smanjujući koštanu resorpciju<sup>102</sup>. Primenjuju se kod svih pacijenata sa skeletnim metastazama, a novije studije govore da bi pozitivan efekat mogao biti ostvaren i njihovom primenom kod ranog karcinoma dojke<sup>103</sup>. Za sada nema jasnih dokaza da sprečavaju nastanak metastaza, već su efekti usporavanje njihovog napradovanja, smanjenje bola, maligne hiperkalcemije i, potencijano, smanjenje rizika od patološkog preloma<sup>104</sup>. U ovoj studiji sve pacijentkinje su, nakon dijagnoze metastaza u kostima, dobijale neki od lekova iz grupe bisfosfonata.

Drugi oblik terapije metastaza je lokalna zračna terapija. Indikovana je za primenu i kod visceralnih i kod skeletnih metastaza. Primenjuje se u pojedinačnom režimu doze 8Gy i frakcionisanom režimu doze 16-30Gy<sup>105</sup>. Kod skeletnih metastaza glavni cilj ove terapije je smanjenje bola, ali neke studije govore da bi tretman sa višim dozama mogao imati i efekat prevencije nastanka patološkog preloma<sup>106</sup>. Iako predstavlja obavezni deo terapijskog protokola u lečenju metastatske bolesti, u ovoj studiji registrovano je samo 13 pacijentkinja kod kojih je lokalna zračna terapija sprovedena nakon dijagnoze skeletnih metastaza. Razlozi za ovako loše stanje su višestruki, ali prvenstveno se mogu naći u nedovoljnim resursima zdravstvenog sistema, usled čega se mora vršiti trijaža i prednost dati pacijentima kojima zračna terapija neposredno spašava život.

Konačno, izuzetnu važnost u lečenju metastaza ima hirurško lečenje. Operativno uklanjanje metastaza se sve češće primenjuje, posebno u slučajevima pojedinačnih ili malobrojnih metastaza u organima (mozak, pluća, jetra). U lečenju skeletnih metastaza uloga hirurgije je višestruka – uzimanje uzorka tkiva iz kosti nakon čega se patološkom analizom postavlja tačna dijagnoza i dobijaju podaci važni za izbor terapijskog protokola, uklanjanje tumorske mase i otklanjanje pritiska na nerve i krvne sudove, prevencija nastanka patološkog preloma, a u slučaju postojećeg patološkog preloma, hirurško lečenje predstavlja jedini oblik lečenja kojim se osim smanjenja bola, vraća i funkcija, samim tim i kvalitet života, a po nekim studijama i produžava život<sup>107</sup>. Dilema i dalje postoji oko potrebe izvođenja izolovane biopsije. U slučajevima gde primarna bolest nije poznata ili gde se ne može otkriti drugim dijagnostičkim metodama, indikacija za biopsiju je jasna – to je jedini način da se patološkom analizom postavi dijagnoza metastaze, a nekada i ishodišta, odnosno primarnog tumora. Kod pacijenata kod kojih je od dijagnoze i lečenja primarnog tumora prošlo duže vreme (više od pet godina od postavljanja dijagnoze primarnog tumora) takođe je neophodno uraditi biopsiju. Novom biopsijom se postižu višestruki ciljevi: određuje se tip tumora, histološko poreklo (metastaza prethodnog tumora ili novi tumor), omogućava poređenje metastatskog i primarnog tumora, analiziraju potencijalne terapijske mete u tkivu metastaze. Čak i u slučajevima gde se sa visokim stepenom sigurnosti na osnovu drugih dijagnostičkih metoda može tvrditi da se radi o skeletnoj metastazi poznatog primarnog tumora, mogu postojati razlozi za biopsiju ako će to uticati na odluku o terapiji<sup>75</sup>.

Kako je poznato da je najznačajnija komplikacija metastaza u kostima nastanak patološkog preloma, prevencija njegovog nastanka ili rešavanje postojećeg preloma je osnovni hirurški zadatak. Hirurške tehnike za rešavanje pretećeg i postojećeg patološkog preloma se razlikuju u zavisnosti od kosti koja je zahvaćena, zone kosti i stepena oštećenja. U nekim slučajevima se izvodi samo stabilizacija različitim metalnim implantima, ali kad god je moguće teži se da se odstrani cela ili što veći deo tumorske mase zajedno sa delom oštećene kosti, a da se nastali defekt rekonstruiše veštačkim materijalima – metalnim implantom i koštanim cemenom<sup>108</sup>. Primenjuju se šrafovi i šipke za kičmu, intramedularni klinovi (bez i sa zaključavanjem) i ploče sa šrafovima i kablovima za dijafize dugih kostiju, standardne endoproteze

kuka (subtotalne i totalne, obično cementne zbog smanjenog potencijala kosti da se veže za protezu kao posledica delovanja tumora ili lokalne zračne terapije) i resekcione (tumorske) mega-proteze za zamenu zgloba i susedne epifize, metafize, a nekada i dela dijafize kosti<sup>109</sup>. Sve opisane hirurške tehnike registrovane su u seriji pacijenata iz ove studije i primenjene su prema odgovarajućim indikacijama. Novi materijali, inženjerska rešenja za dizajn i funkciju implantata i savremene hirurške tehnike uz minimalnu invaziju i oštećenje zdravog tkiva omogućili su proširivanje indikacija za operativni tretman pacijenata sa skeletnim metastazama. Današnji stavovi su takvi da čak i kod pacijenta sa kratkim očekivanim preživljavanjem (mesec dana) postoji indikacija za operativno lečenje, jer postoji jasan lični, socijalni i ekonomski benefit od takvog pristupa<sup>107, 110, 111</sup>.

Karcinom dojke je heterogena bolest koju čine brojni biološki različiti entiteti sa specifičnim ponašanjem i patološkim osobinama. Ranije je pokazano da status receptora primarnog tumora ima važan uticaj na ovo. Trostruko-negativni karcinom (ER-/PR-/HER2-) je najagresivniji, dok karcinomi sa pozitivnim statusom hormonskih receptora imaju bolju prognozu<sup>112, 113</sup>. U poslednje vreme posebna pažnja je usmerena na patološke karakteristike tkiva metastaza. Obzirom da se status receptora kod značajnog broja pacijenata, gotovo jedne polovine, razlikuje između primarnog tumora i metastaza, biopsija i patološka analiza tkiva metastaze su od ključnog značaja za lečenje. Preporuke nekih udruženja su da se sistemska terapija daje prema ovom statusu, a ne prema statusu primarnog tumora, ali i dalje nema utvrđenog stava i jasnih kliničkih vodiča. Sprovode se istraživanja u kojima se ispituje prognostički značaj receptorskog statusa metastaza čime bi se dodatno podržala potreba za njihovom biopsijom i analizom<sup>114</sup>. Studije su zabeležile duže preživljavanje pacijenata sa hormon-receptor pozitivnim metastazama nakon patološkog preloma<sup>115</sup>. Ipak, u dostupnoj literaturi nije pronađeno ispitivanje uticaja statusa receptora metastaze na sam nastanak patološkog preloma. Na osnovu toga jedan od ciljeva ove studije bio je da se ispita status ER, PR i HER2, kao i proliferativni indeks Ki67 u tkivu skeletne metastaze karcinoma dojke, kao i njihov uticaj na nastanak patološkog preloma.

Receptori za estrogen su od izuzetne važnosti za biološko ponašanje tumora. Poznato je da direktno regulišu razvoj i umnožavanje ćelija tumora. Međutim, u ovoj studiji nije dokazana njihova povezanost sa nastankom patološkog preloma. Obzirom da pored direktnog uticaja na biološko ponašanje tumora, oni imaju uticaj na funkciju drugih receptora, posebno receptora za progesteron, moguće je da ipak postoji njihova izvesna uloga u kaskadi događaja koji dovode do preloma. Poznato je da povećana ekspresija HER2 onkoproteina ima važnu ulogu u patogenezi karcinoma dojke preko signalne kaskade za proliferaciju i anti-apoptozu i čime utiče na razvoj i progresiju tumora<sup>116</sup>. I pored toga, u ovoj studiji nije dokazana njihova direktna veza sa nastankom patološkog preloma. Vrednost proliferativnog indeksa Ki67 značajno je varirala, ali prosečna vrednost i za metastaze sa prelomom i za one bez preloma bila je slična, nešto viša od 20, i samim tim nije dokazana povezanost ovog indeksa sa nastankom patološkog preloma.

Rezultati ove studije pokazali su da ima znatno više PR+ skeletnih metastaza sa patološkim prelomom u odnosu na PR+ metastaze bez preloma. Takođe je pokazano da je PR skor značajno viši kod metastaza sa prelomom, kao i da ovo zavisi od procenta obojenih ćelija, a ne od intenziteta bojenja. Ovakav rezultat odgovara prethodnim studijama koje su se bavile analizom faktora pozitivnosti za PR i ER i koje predlažu da se prisustvo  $\geq 1\%$  pozitivnih ćelija već može smatrati hormon-receptor pozitivnim tumorom<sup>81, 114</sup>.

Decenijama unazad pri IHH analizi tkiva primarnog karcinoma dojke utvrđuje se kombinacija hormonskih receptora i HER2. Dosadašnje studije karcinome dojke su klasifikovale, davale prognozu i predlagale terapiju upravo na osnovu ovih kombinacija<sup>67-70</sup>. Ovakav pristup baziran je na svojstvima ovih receptora da vrše međusobni uticaj u vidu pojačavanja ili smanjivanja svojih pozitivnih i negativnih efekata, tako da svaka pojedinačna kombinacija predstavlja zaseban biološki oblik tumora<sup>66</sup>. Međutim, koliko je poznato, nema puno padataka o značaju ovih kombinacija za biološko ponašanje metastaza<sup>70</sup>.

U ovoj studiji dokazan je uticaj pojedinačnih receptora za progesteron na nastanak patoloških preloma, dok uticaj receptora za estrogen i HER2 u nastanku preloma nije utvrđen. Ali, sprovedena je i dalja analiza i u okviru grupa sa pozitivnim PR, ER i HER2 analiziran je uticaj svih kombinacija receptora na nastanak patoloških preloma. Očekivano, obzirom da nije utvrđena povezanost sa opštom ekspresijom ER i HER2, povezanost se nije pokazala ni u podtipovima receptorskih kombinacija sa pozitivnim ER i HER2. Sa druge strane, kako se PR pozitivnost pokazala kao faktor rizika, pretpostavljeno je da bi neki od PR+ podtipova mogao biti statistički povezan sa nastankom preloma. Međutim, ni ovde se ni jedna kombinacija receptora nije izdvojila kao posebno značajna. Ipak, ovakav nalaz se ne mora smatrati neočekivanim već on potvrđuje da svaka PR+ metastaza nosi povećan rizik za nastanak patološkog preloma.

Ukratko, sumirajući navedene rezultate analize povezanosti pojedinačne i kombinovane ekspresije ER, PR i HER2 sa nastankom patološkog preloma, zaključuje se da sama ekspresija PR ima klinički značaj za predviđanje nastanka patološkog preloma bez obzira na status druga dva receptora. Takođe, pokazano je da je pozitivnost ekspresije PR u vezi sa procentom pozitivnih ćelija, a da svaki intenzitet pozitivnosti (slab, umeren ili jak) sa kliničkog gledišta ima istu vrednost. Kako je poznato da se intenzitet ekspresije receptora u primarnim karcinomima dojke određuje prema okolnom zdravom tkivu (kao pozitivnoj unutrašnjoj kontroli) odsustvo te kontrole u metastatskim tumorima ne utiče na interpretaciju rezultata, već je prisustvo bar 1% pozitivnih ćelija, odnosno samo kvalitativna analiza, dovoljno za klasifikovanje tumora kao PR+, što je u kliničkoj praksi dovoljno za terapijske odluke.

Rezultati ove studije mogu biti od koristi ortopedskim hirurzima pri izboru pacijenata kod kojih će biti učinjena profilaktička operacija u cilju prevencije nastanka patološkog preloma. Studija je potvrdila značaj same kosti za nastanak preloma, gde se posebno izdvojio femur, što je u skladu sa Mirels skorom. Nasuprot tome radiografski tip koštane reakcije, kao i prethodna klinička slika, odnosno prisustvo bola, nisu pokazali poseban značaj za nastanak preloma. Na osnovu ovoga može se reći da prisustvo metastaze u femuru, a posebno ako je dokazana PR pozitivnost, predstavlja apsolutnu indikaciju za operaciju, bez obzira na druge parametre. Takođe, u ostalim dugim kostima, i ako je bol odsutan i radiografski parametri ne pokazuju visok rizik za nastanak preloma, a dokazana je PR pozitivnost treba biti opazan i verovatno se odlučiti za profilaktičku operaciju. Ovo posebno važi za metastaze u humerusu, gde je takođe dokazan povišen rizik za nastanak patološkog preloma. Suprotno tome, za metastaze u karličnoj i drugim pljosnatim kostima, gde su prelomi retki, terapijske indikacije nisu primarno hirurške i verovatno će na tim lokalizacijama medikamentozna i/ili zračna terapija biti dovoljne da spreče nastanak preloma čak i kod PR+ metastaza.

Kao glavno ograničenje studije izdvaja se njen retrospektivni, opservacioni dizajn. Uz to nedostaci su i odsustvo podataka o hormonskom statusu pacijentkinja, odnosno menopauzi, zatim tačnih podataka o ranije primenjenim lekovima, hemoterapijskim protokolima i dozama. I pored toga, značajan broj pacijenata koji su uključeni, kao i ciljevi koji prema dostupnoj literaturi do sada nisu ispitivani daju na značaju ovom istraživanju.

## 6. ZAKLJUČCI

- Kliničko-radiografske karakteristike – starost pacijenta, prethodna dijagnoza primarnog karcinoma dojke i njegovo lečenje, vreme od pojave metastaza i simptomi koji ih prate, broj i vrsta radiografske prezentacije metastaza ne utiču značajno na nastanak patološkog preloma.
  - Rizik za nastanak patološkog preloma kod skeletnih metastaza karcinoma dojke je povećan u dugim kostima, posebno u femuru i humerusu.
  - Rizik za nastanak patološkog preloma kod skeletnih metastaza karcinoma dojke je mali u pljosnatim kostima, posebno u karlici.
  - Ekspresija ER i HER2, i Ki67 proliferativni indeks kod skeletnih metastaza karcinoma dojke ne utiču značajno na nastanak patološkog preloma.
  - Rizik za nastanak patološkog preloma je povećan u skeletnim metastazama karcinoma dojke sa ekspresijom PR koja je određena procentom obojenih ćelija, a ne intenzitetom bojenja.
- 
- Promena u skeletu, i u slučaju koji sa visokim stepenom sigurnosti odgovara metastazi ranije poznatog karcinoma dojke, predstavlja indikaciju za biopsiju.
  - Metastaza karcinoma dojke u femuru predstavlja apsolutnu indikaciju za profilaktičku operaciju nezavisno od drugih faktora.
  - Profilaktička operacija je indikovana kod metastaza karcinoma dojke i u svim drugim dugim kostima, naročito humerusu.
  - Profilaktička operacija nije indikovana kod metastaza karcinoma dojke u pljosnatim kostima.
  - Dokazane PR+ metastaze predstavljaju dodatni rizik za nastanak patološkog preloma i indikaciju za profilaktičku operaciju, posebno dugih kostiju, ali i kičmenih pršljenova.
  - Terapija metastaza u karličnoj i drugim pljosnatim kostima, gde su prelomi retki, nije primarno hirurška nego medikamentozna i/ili zračna čak i kod PR+ metastaza.
  - Za hiruršku primenu dovoljno je kvalitativno odrediti PR status kao PR+ ili PR-.
  - Svaki invazivni karcinom dojke, od početka, treba smatrati sistemskom bolešću, pa je neophodno odmah sprovesti dijagnostičke procedure za otkrivanje metastaza, prvenstveno scintigrafiju skeleta, zatim i CT glave, grudnog koša i trbuha.
  - Redovno praćenje neophodno je tokom više godina nakon dijagnoze primarnog karcinoma dojke. Savetuje se praćenje tokom 10 godina - prvih šest godina scintigrafija skeleta jednom godišnje, a zatim jednom u dve godine. Nakon 10 godina dijagnostičke procedure treba sprovesti u slučaju pojave tegoba.

## 7. LITERATURA

1. Cserni G. Histological type and typing of breast carcinomas and the WHO classification changes over time. *Pathologica* 2020 Mar;112(1):25-41. doi: 10.32074/1591-951X-1-20
2. Sancho-Garnier H, Colonna M. Breast cancer epidemiology. *Presse Med.* 2019 Oct;48(10):1076-1084. doi: 10.1016/j.lpm.2019.09.022.
3. Institut "Dr Milan jovanović Batut". Beograd (SRB). Epidemiološke karakteristike karcinoma dojke. 2021; Dostupno na: <https://www.batut.org.rs/download/aktuelno/Epidemioloske%20karakteristike%20raka%20dojke.pdf>
4. Budny A, Starosławska E, Budny B, Wójcik R, Hys M, Piotr Kozłowski P, et al. Epidemiology and diagnosis of breast cancer. *Pol Merkur Lekarski.* 2019 May 27;46(275):195-204.
5. Tao Z, Shi A, Lu C, Song T, Zhang Z, Zhao J. Breast Cancer: Epidemiology and Etiology. *Cell Biochem Biophys.* 2015 Jun;72(2):333-8. doi: 10.1007/s12013-014-0459-6.
6. Libson S, Lippman M. A review of clinical aspects of breast cancer. *Int Rev Psychiatry.* 2014 Feb;26(1):4-15. doi: 10.3109/09540261.2013.852971.
7. Bargon CA, Huibers A, Young-Afat DA, Jansen BA, Borel-Rinkes IH, Lavalaye J, et al. Sentinel Lymph Node Mapping in Breast Cancer Patients Through Fluorescent Imaging Using Indocyanine Green: The Influence Trial. *Ann Surg.* 2022 Nov 1;276(5):913-920. doi: 10.1097/SLA.0000000000005633.
8. Peart O. Metastatic Breast Cancer. *Radiol Technol.* 2017 May;88(5):519M-539M.
9. Watanabe AY, Sanvido VM, Elias S, Nazário AC. Awareness of Self-Examination, Screening, and Risk Factors for Breast Cancer Among Women Awaiting Care at the Outpatient Clinic of a Mastology Unit. *J Cancer Educ.* 2022 Jun;37(3):829-833. doi: 10.1007/s13187-020-01892-1.
10. Funke M. Diagnostic imaging of breast cancer: An update. *Radiologe.* 2016 Oct;56(10):921-938. doi: 10.1007/s00117-016-0134-6.
11. Šašková P, Pavlišta D. Breast self-examination. Yes or no? *Ceska Gynekol.* 2016 Winter;81(6):463-469.
12. Guo R, Lu G, Qin B, Fei B. Ultrasound Imaging Technologies for Breast Cancer Detection and Management: A Review. *Ultrasound Med Biol.* 2018 Jan;44(1):37-70. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2017.09.012.
13. Elezaby M, Lees B, Maturen KE, Barroilhet L, Wisinski KB, Schragger S, et al. BRCA Mutation Carriers: Breast and Ovarian Cancer Screening Guidelines and Imaging Considerations. *Radiology.* 2019 Jun;291(3):554-569. doi: 10.1148/radiol.2019181814.
14. Šašková P, Pavlišta D, Dostálek L. Satisfaction and overall quality of life in BRCA positive women after prophylactic surgeries. *Rozhl Chir.* 2017 Fall;96(8):328-333.
15. Britt KL, Cuzick J, Phillips KA. Key steps for effective breast cancer prevention. *Nat Rev Cancer.* 2020 Aug;20(8):417-436. doi: 10.1038/s41568-020-0266-x.
16. Maughan KL, Lutterbie MA, Ham PS. Treatment of breast cancer. *Am Fam Physician.* 2010 Jun 1;81(11):1339-46.
17. Peart O. Breast intervention and breast cancer treatment options. *Radiol Technol.* 2015 May-Jun;86(5):535M-558M.
18. Kim MY. Breast Cancer Metastasis. *Adv Exp Med Biol.* 2021;1187:183-204. doi: 10.1007/978-981-32-9620-6\_9.
19. Rajkovic SM, Charalambous MP, Charalambous CP, Simic LD, Djuricic GJ, Dundjerovic DM, et al. Higher rate of progesterone receptor positivity in skeletal metastases of breast cancer with a pathological fracture vs those without fracture. *Int J Cancer.* In print 2023 Jun 2. doi: 10.1002/ijc.34605.

20. Zhang H, Zhu W, Biskup E, Yang W, Yang Z, Wang H, et al. Incidence, risk factors and prognostic characteristics of bone metastases and skeletal-related events (SREs) in breast cancer patients: A systematic review of the real-world data. *J Bone Oncol.* 2018 Feb 3;11:38-50. doi: 10.1016/j.jbo.2018.01.004.
21. Harries M, Taylor A, Holmberg L, Agbaje O, Garmo H, Kabilan S, et al. Incidence of bone metastases and survival after a diagnosis of bone metastases in breast cancer patients. *Cancer Epidemiol.* 2014 Aug;38(4):427-34. doi: 10.1016/j.canep.2014.05.005.
22. Zhang L, Zhang J, Li Z, Wu Y, Tong Z. Comparison of the clinicopathological characteristics and prognosis between Chinese patients with breast cancer with bone-only and non-bone-only metastasis. *Oncol Lett.* 2020 Oct;20(4):92. doi: 10.3892/ol.2020.11953.
23. Colleoni M, O'Neill A, Goldhirsch A, Gelber RD, Bonetti M, Thürlimann B, et al. Identifying breast cancer patients at high risk for bone metastases. *J Clin Oncol.* 2000 Dec 1;18(23):3925-35. doi: 10.1200/JCO.2000.18.23.3925.
24. Talmadge JE, Fidler IJ. AACR centennial series: The biology of cancer metastasis: historical perspective. *Cancer Res.* 2010 Jul 15;70(14):5649-69. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1040.
25. Li DM, Feng YM. Signaling mechanism of cell adhesion molecules in breast cancer metastasis: potential therapeutic targets. *Breast Cancer Res Treat.* 2011 Jul;128(1):7-21. doi: 10.1007/s10549-011-1499-x.
26. Bidard FC, Proudhon C, Pierga JY. Circulating tumor cells in breast cancer. *Mol Oncol.* 2016 Mar;10(3):418-30. doi: 10.1016/j.molonc.2016.01.001.
27. Muller A, Homey B, Soto H, Ge N, Catron D, Buchanan ME, et al. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. *Nature.* 2001 Mar 1;410(6824):50-6. doi: 10.1038/35065016.
28. Hiratsuka S, Nakamura K, Iwai S, Murakami M, Itoh T, Kijima H, et al. MMP9 induction by vascular endothelial growth factor receptor-1 is involved in lung-specific metastasis. *Cancer Cell.* 2002 Oct;2(4):289-300. doi: 10.1016/s1535-6108(02)00153-8.
29. De Oliveira RL, Hamm A, Mazzone M. Growing tumor vessels: More than one way to skin a cat – implications for angiogenesis targeted cancer therapies. *Mol Aspects Med.* 2011 Apr;32(2):71-87. doi: 10.1016/j.mam.2011.04.001.
30. Pugh CW, Ratcliffe PJ. Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system. *Nat Med.* 2003 Jun;9(6):677-84. doi: 10.1038/nm0603-677.
31. Jones DH, Nakashima T, Sanchez OH, Kozieradzki I, Komarova SV, Sarosi I, et al. Regulation of cancer cell migration and bone metastasis by RANKL. *Nature.* 2006 Mar 30;440(7084):692-6. doi: 10.1038/nature04524.
32. Coleman RE. Metastatic bone disease: clinical features, pathophysiology and treatment strategies. *Cancer Treat Rev.* 2001 Jun;27(3):165-76. doi: 10.1053/ctrv.2000.0210.
33. Patnaik S, Turner J, Inaparthi P, Kieffer WK. Metastatic spinal cord compression. *Br J Hosp Med (Lond).* 2020 Apr 2;81(4):1-10. doi:10.12968/hmed.2019.0399.
34. Fiaschi-Taesch NM, Stewart AF. Minireview: parathyroid hormone-related protein as an intracrine factor--trafficking mechanisms and functional consequences. *Endocrinology.* 2003 Feb;144(2):407-11. doi: 10.1210/en.2002-220818.
35. Guise TA, Wysolmerski JJ. Cancer-Associated Hypercalcemia. *N Engl J Med.* 2022 Apr 14;386(15):1443-1451. doi: 10.1056/NEJMcp2113128.
36. Macedo F, Ladeira K, Pinho F, Saraiva N, Bonito N, Pinto L, et al. Bone metastases: an overview. *Oncol Rev.* 2017 May 9;11(1):321. doi: 10.4081/oncol.2017.321.
37. Carrascosa MF, Fernández-Ayala M, Hoz MC, Carrera IA, Sáenz EC, Montes-Moreno S et al. Pathological fracture from clinically occult breast cancer. *Lancet Oncol.* 2021 Mar;22(3):e131

38. Hill T, D'Alessandro P, Murray K. Prognostic factors following pathological fractures. *ANZ J Surg.* 2015 Mar;85(3):159-63. doi: 10.1111/ans.12830.
39. ASCO 2006 Update of the Breast Cancer Follow-Up and Management Guideline in the Adjuvant Setting. *J Oncol Pract.* 2006 Nov;2(6):317-318. doi: 10.1200/JOP.2006.2.6.317.
40. Carroll QB. *Radiography in the Digital Age* (2nd ed.). Springfield (IL): Charles C Thomas Pub Ltd; 2014. p. 9.
41. Söderlund V. Radiological diagnosis of skeletal metastases. *Eur Radiol.* 1996;6(5):587-95.
42. Vondeling GT, Menezes GL, Dvortsin EP, Jansman FGA, Konings IR, Postma MJ, et al. Burden of early, advanced and metastatic breast cancer in The Netherlands. *BMC Cancer.* 2018 Mar 7;18(1):262. doi: 10.1186/s12885-018-4158-3.
43. Mirels H. Metastatic disease in long bones. A proposed scoring system for diagnosing impending pathologic fractures. *Clin Orthop Relat Res.* 1989;(249):256-264.
44. Fisher CG, DiPaola CP, Ryken TC, Bilsky M, Shaffrey CI, Berven SH, et al. A Novel Classification System for Spinal Instability in Neoplastic Disease: An Evidence-Based Approach and Expert Consensus From the Spine Oncology Study Group. *Spine.* 2010 Oct 15;35(22):E1221-9. doi: 10.1097/BRS.0b013e3181e16ae2.
45. Jang J, Jung SE, Jeong WK, Lim YS, Choi JI, Park MY, et al. Radiation Doses of Various CT Protocols: a Multicenter Longitudinal Observation Study. *J Korean Med Sci.* 2016 Feb;31 Suppl 1(Suppl 1):S24-31. doi: 10.3346/jkms.2016.31.S1.S24.
46. Hault DI, Bahkar B. NMR Signal Reception: Virtual Photons and Coherent Spontaneous Emission. *Concepts in Magnetic Resonance.* 1998;9(5): 277–297.
47. Starkoff B. Ultrasound physical principles in today's technology. *Australas J Ultrasound Med.* 2014 Feb;17(1):4-10. doi: 10.1002/j.2205-0140.2014.tb00086.x.
48. Montilla-Soler JL, Makanji R. Skeletal Scintigraphy. *Cancer Control.* 2017 Apr;24(2):137-146. doi: 10.1177/107327481702400206.
49. Cook GJ. PET and PET/CT imaging of skeletal metastases. *Cancer Imaging.* 2010 Jul 19;10(1):1-8. doi: 10.1102/1470-7330.2010.0022.
50. Tarighati E, Keivan H, Mahani H. A review of prognostic and predictive biomarkers in breast cancer. *Clin Exp Med.* 2023 Feb;23(1):1-16. doi: 10.1007/s10238-021-00781-1.
51. Scarff RW, Torloni H. International histological classification of tumors No.2 – Histological typing of breast tumors. Geneva (SU): World Health Organization; 1968.
52. WHO Classification of Tumors Editorial Board. WHO classification of tumors, 5th edition – Breast tumors. Lyon (FR): International Agency for Research on Cancer; 2019.
53. Teichgraber DC, Guirguis MS, Whitman GJ. Breast Cancer Staging: Updates in the AJCC Cancer Staging Manual, 8th Edition, and Current Challenges for Radiologists, From the AJR Special Series on Cancer Staging. *AJR Am J Roentgenol.* 2021 Aug;217(2):278-290. doi: 10.2214/AJR.20.25223.
54. Yi M, Mittendorf EA, Cormier JN, Buchholz TA, Bilimoria K, Sahin AA, al. Novel staging system for predicting disease-specific survival in patients with breast cancer treated with surgery as the first intervention: time to modify the current American Joint Committee on Cancer staging system. *J Clin Oncol.* 2011 Dec 10;29(35):4654-61. doi: 10.1200/JCO.2011.38.3174.
55. Weiss A, Chavez-MacGregor M, Lichtensztajn DY, Yi M, Tadros A, Hortobagyi GN, et al. Validation study of the American Joint Committee on Cancer eighth edition prognostic stage compared with the anatomic stage in breast cancer. *JAMA Oncol.* 2018 Feb 1;4(2):203-209. doi: 10.1001/jamaoncol.2017.4298.
56. Elston EW, Ellis IO. Method for grading breast cancer. *J Clin Pathol* 1993; 46:189–190.
57. Schwartz AM, Henson DE, Chen D, Rajamarthandan S. Histologic grade remains a prognostic factor for breast cancer regardless of the number of positive lymph nodes and tumor size: a study

- of 161,708 cases of breast cancer from the SEER Program. *Arch Pathol Lab Med.* 2014 Aug;138(8):1048-52. doi: 10.5858/arpa.2013-0435-OA.
58. Goncalves R, Bose R. Using multigene tests to select treatment for early-stage breast cancer. *J Natl Compr Canc Netw.* 2013 Feb 1;11(2):174-82. doi: 10.6004/jnccn.2013.0025.
  59. Sparano JA, Gray RJ, Makower DF, Pritchard KI, Albain KS, Hayes DF. et al. Prospective validation of a 21-gene expression assay in breast cancer. *N Engl J Med* 2015; 373:2005–2014. doi: 10.1056/NEJMoa1510764.
  60. Baker ME. What are the physiological estrogens? *Steroids.* 2013 Mar;78(3):337-40. doi: 10.1016/j.steroids.2012.12.011.
  61. Taraborrelli S. Physiology, production and action of progesterone. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2015 Nov;94 Suppl 161:8-16. doi: 10.1111/aogs.12771
  62. Ryu CS, Klein K, Zanger UM. Membrane Associated Progesterone Receptors: Promiscuous Proteins with Pleiotropic Functions - Focus on Interactions with Cytochromes P450. *Front Pharmacol.* 2017 Mar 27;8:159. doi: 10.3389/fphar.2017.00159.
  63. Li X, Huang J, Yi P, Bambara RA, Hilf R, Muyan M. Single-chain estrogen receptors (ERs) reveal that the ERalpha/beta heterodimer emulates functions of the ERalpha dimer in genomic estrogen signaling pathways. *Mol Cell Biol.* 2004 Sep;24(17):7681-94. doi: 10.1128/MCB.24.17.7681-7694.2004.
  64. Gadkar-Sable S, Shah C, Rosario G, Sachdeva G, Puri C. Progesterone receptors: various forms and functions in reproductive tissues. *Front Biosci.* 2005 Sep 1;10:2118-30. doi: 10.2741/1685.
  65. Wu VS, Kanaya N, Lo C, Mortimer J, Chen S. From bench to bedside: What do we know about hormone receptor-positive and human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer? *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2015 Sep;153:45-53. doi: 10.1016/j.jsbmb.2015.05.005.
  66. Trabert B, Sherman ME, NKannan N, Stanczyk FZ. Progesterone and Breast Cancer. *Endocr Rev.* 2020 Apr; 41(2): 320–344. doi: 10.1210/endrev/bnz001.
  67. Hammond ME, Hayes DF, Wolff AC. Clinical Notice for American Society of Clinical Oncology-College of American Pathologists guideline recommendations on ER/PR and HER2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol.* 2011 May 20;29(15):e458. doi: 10.1200/JCO.2011.35.2245.
  68. Arciero CA, Guo Y, Jiang R, Behera M, O'Regan R, Peng L, et al. ER+/HER2+ Breast Cancer Has Different Metastatic Patterns and Better Survival Than ER-/HER2+ Breast Cancer. *Clin Breast Cancer.* 2019 Aug;19(4):236-245. doi: 10.1016/j.clbc.2019.02.001.
  69. Voduc KD, Cheang MC, Tyldesley S, Gelmon K, Nielsen TO, Kennecke H. Breast cancer subtypes and the risk of local and regional relapse. *J Clin Oncol.* 2010 Apr 1;28(10):1684-91. doi: 10.1200/JCO.2009.24.9284.
  70. Rajkovic S, Sopta J. Skeletne metastaze karcinoma dojke – uticaj hormonskih i HER2 receptora. *Medicinski podmladak.* U štampi 2024. doi: 10.5937/mp75-43870
  71. Manders K, van de Poll-Franse LV, Creemers GJ, Vreugdenhil G, van der Sangen MJ, Nieuwenhuijzen GA, et al. Clinical management of women with metastatic breast cancer: a descriptive study according to age group. *BMC Cancer.* 2006 Jul 6;6:179. doi: 10.1186/1471-2407-6-179.
  72. Holdaway IM, Bowditch JV. Variation in receptor status between primary and metastatic breast cancer. *Cancer.* 1983 Aug 1;52(3):479-85. doi: 10.1002/1097-0142(19830801)52.
  73. Lindström LS, Karlsson E, Wilking UM, Johansson U, Hartman J, Lidbrink EK, et al. Clinically used breast cancer markers such as estrogen receptor, progesterone receptor, and human epidermal growth factor receptor 2 are unstable throughout tumor progression. *J Clin Oncol.* 2012 Jul 20;30(21):2601-8. doi: 10.1200/JCO.2011.37.2482.



74. Kao JY, Tsai JH, Wu TY, Wang CK, Kuo YL. Receptor discordance and phenotype change in metastatic breast cancer. *Asian J Surg.* 2021 Jan;44(1):192-198. doi: 10.1016/j.asjsur.2020.05.032.
75. Van Poznak C, Somerfield MR, Bast RC, Cristofanilli M, Goetz MP, Gonzalez-Angulo AM, et al. Use of Biomarkers to Guide Decisions on Systemic Therapy for Women with Metastatic Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline. *J Clin Oncol.* 2015 Aug 20;33(24):2695-704. doi: 10.1200/JCO.2015.61.1459.
76. Kozlow W, Guise TA. Breast cancer metastasis to bone: mechanisms of osteolysis and implications for therapy. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 2005 Apr;10(2):169-80. doi: 10.1007/s10911-005-5399-8.
77. Wedin R, Skoog L, Bauer HC. Proliferation rate, hormone receptor status and p53 expression in skeletal metastasis of breast carcinoma. *Acta Oncol.* 2004;43(5):460-6. doi: 10.1080/02841860410033721.
78. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol.* 2000 Mar;182(3):311-22. doi: 10.1002/(SICI)1097-4652(200003)182:3<311::AID-JCP1>3.0.CO;2-9.
79. Dowsett M, O'Nielsen T, A'Hern R, Bartlett J, Coombes CR, Jack Cuzick J, et al. Assessment of Ki67 in breast cancer: recommendations from the International Ki67 in Breast Cancer working group. *J Natl Cancer Inst.* 2011 Nov 16;103(22):1656-64. doi: 10.1093/jnci/djr393.
80. Hashmi AA, Hashmi KA, Irfan M, Khan SM, Edhi MM, Ali JP, et al. Ki67 index in intrinsic breast cancer subtypes and its association with prognostic parameters. *BMC Res Notes.* 2019 Sep 23;12(1):605. doi: 10.1186/s13104-019-4653-x.
81. Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, Allred DC, Hagerty KL, Badve S, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *Arch Pathol Lab Med.* 2010 Jun;134(6):907-22. doi: 10.5858/134.6.907.
82. Wolff AC, Hammond ME, Allison KH, Harvey BE, Mangu PB, Bartlett JM, et al. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Focused Update. *J Clin Oncol.* 2018 Jul 10;36(20):2105-2122. doi: 10.1200/JCO.2018.77.8738.
83. Radecka B, Litwiniuk M. Breast cancer in young women. *Ginekol Pol.* 2016;87(9):659-663. doi: 10.5603/GP.2016.0062.
84. Takahashi TA, Johnson KM. Menopause. *Med Clin North Am.* 2015 May;99(3):521-34. doi: 10.1016/j.mcna.2015.01.006.
85. Kato I, Toniolo P, Akhmedkhanov A, Koenig KL, Shore R, Zeleniuch-Jacquotte A. Prospective study of factors influencing the onset of natural menopause. *J Clin Epidemiol.* 1998 Dec;51(12):1271-6. doi: 10.1016/s0895-4356(98)00119-x.
86. Jacobson G, Kaidar-Person O, Haisraely O, Galper S, Rabin T, Shahadi ID, et al. Palliative radiation therapy for symptomatic advanced breast cancer. *Sci Rep.* 2021 Mar 5;11(1):5282. doi: 10.1038/s41598-021-84872-9.
87. Sinclair S, Swain SM. Primary systemic chemotherapy for inflammatory breast cancer. *Cancer.* 2010 Jun 1;116(11 Suppl):2821-8. doi: 10.1002/cncr.25166.
88. Burstein HJ, Griggs JJ. Adjuvant hormonal therapy for early-stage breast cancer. *Surg Oncol Clin N Am.* 2010 Jul;19(3):639-47. doi: 10.1016/j.soc.2010.03.006.
89. Lebert J, Lilly EJ. Developments in the Management of Metastatic HER2-Positive Breast Cancer: A Review. *Curr Oncol.* 2022 Apr 8;29(4):2539-2549. doi: 10.3390/currenol29040208.
90. Yang M, Liu C, Yu X. Skeletal-related adverse events during bone metastasis of breast cancer: current status. *Discov Med.* 2019 May; 27(149): 211-220

91. Hong S, Youk T, Lee SJ, Kim KM, Vajdic CM. Bone metastasis and skeletal-related events in patients with solid cancer: A Korean nationwide health insurance database study. *PLoS One*. 2020 Jul 17;15(7):e0234927. doi: 10.1371/journal.pone.0234927.
92. Sathiakumar N, Delzell E, Morrisey MA, Falkson C, Yong M, Chia V, et al. Mortality following bone metastasis and skeletal-related events among women with breast cancer: a population-based analysis of U.S. Medicare beneficiaries, 1999-2006. *Breast Cancer Res Treat*. 2012 Jan;131(1):231-8. doi: 10.1007/s10549-011-1721-x.
93. Parker MJ, Khan AZ, Rowlands TK. Survival after pathological fractures of the proximal femur. *Hip Int*. 2011 Sep-Oct;21(5):526-30. doi: 10.5301/HIP.2011.8654.
94. Rajković S, Mičeta L, Simić L, Đuričić G, Bašćarević Z, Lujčić N, et al. Skeletal metastases and pathological fractures of long bones. *Medicinska istraživanja* 2022; 55(3):7-12. doi: 10.5937/medi55-38372
95. Hosaka S, Katagiri H, Honda Y, Wasa J, Murata H, Takahashi M. Clinical outcome for patients of solitary bone only metastasis. *J Orthop Sci*. 2016 Mar;21(2):226-9. doi: 10.1016/j.jos.2015.12.005.
96. Karatas M, Zengel B, Durusoy R, Tasli F, Adibelli Z, Simsek C, et al. Clinicopathologic features of single bone metastasis in breast cancer. *Breast*. 2014 Jun;23(3):286-90. doi: 10.1097/MD.00000000000024164.
97. Piroth MD, Krug D, Feyer P, Baumann R, Combs S, Duma MN, et al. Oligometastasis in breast cancer-current status and treatment options from a radiation oncology perspective. *Strahlenther Onkol*. 2022 Jul;198(7):601-611. doi: 10.1007/s00066-022-01938-x.
98. Costelloe CM, Rohren EM, Madewell JE, Hamaoka T, Theriault RL, Yu TK, et al. Imaging bone metastases in breast cancer: techniques and recommendations for diagnosis. *Lancet Oncol*. 2009 Jun;10(6):606-14. doi: 10.1016/S1470-2045(09)70088-9.
99. Erdogan B, Cicin I. Medical treatment of breast cancer bone metastasis: from bisphosphonates to targeted drugs. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(4):1503-10. doi: 10.7314/apjcp.2014.15.4.1503.
100. D'Oronzo S, Coleman R, Brown J, Silvestris F. Metastatic bone disease: Pathogenesis and therapeutic options: Up-date on bone metastasis management. *J Bone Oncol*. 2018 Nov 6;15:004-4. doi: 10.1016/j.jbo.2018.10.004.
101. Josse R, Khan A, Ngui D, Shapiro M. Denosumab, a new pharmacotherapy option for postmenopausal osteoporosis. *Curr Med Res Opin*. 2013 Mar;29(3):205-16. doi: 10.1185/03007995.2013.763779.
102. Weinstein RS, Roberson PK, Manolagas SC. Giant osteoclast formation and long-term oral bisphosphonate therapy. *N Engl J Med*. 2009 Jan 1;360(1):53-62. doi: 10.1056/NEJMoa0802633.
103. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Adjuvant bisphosphonate treatment in early breast cancer: meta-analyses of individual patient data from randomised trials. *Lancet*. 2015 Oct 3;386(10001):1353-1361. doi: 10.1016/S0140-6736(15)60908-4.
104. Goldvaser H, Amir E. Role of Bisphosphonates in Breast Cancer Therapy. *Curr Treat Options Oncol*. 2019 Mar 14;20(4):26. doi: 10.1007/s11864-019-0623-8.
105. Arnalot PF, Fontanals AV, Galcerán JC, Lynd F, Latiesas XS, de Dios NR, et al. Randomized clinical trial with two palliative radiotherapy regimens in painful bone metastases: 30 Gy in 10 fractions compared with 8 Gy in single fraction. *Radiother Oncol*. 2008;89(2):150-155. doi:10.1016/j.radonc.2008.05.018.
106. De Felice F, Piccioli A, Musio D, Tombolini V. The role of radiation therapy in bone metastases management. *Oncotarget*. 2017;8(15):25691-25699. doi:10.18632/oncotarget.14823.

107. Bauer HC, Wedin R. Survival after surgery for spinal and extremity metastases. Prognostication in 241 patients. *Acta Orthop Scand.* 1995;66(2):143-146. doi:10.3109/17453679508995508.
108. Gao H, Liu Z, Wang B, Guo A. Clinical and functional comparison of endoprosthetic replacement with intramedullary nailing for treating proximal femur metastasis. *Chin J Cancer Res.* 2016;28(2):209-214. doi: 10.21147/j.issn.1000-9604.2016.02.08.
109. Harvey N, Ahlmann ER, Allison DC, Wang L, Menendez LR. Endoprostheses last longer than intramedullary devices in proximal femur metastases. *Clin Orthop Relat Res.* 2012;470(3):684-691. doi:10.1007/s11999-011-2038-0
110. Meynard P, Segueineau A, Laumonerie P, Fabre T, Foltran D, Niglis L, et al. Surgical management of proximal femoral metastasis: Fixation or hip replacement? A 309 case series. *Orthop Traumatol Surg Res.* 2020;106(6):1013-1023. doi:10.1016/j.otsr.2020.05.007
111. Tsuda Y, Yasunaga H, Horiguchi H. Complications and postoperative mortality rate after surgery for pathological femur fracture related to bone metastasis: analysis of a nationwide database. *Ann Surg Oncol.* 2015;23(3):801–10.
112. Bae SY, Kim S, Lee JH, Lee HC, Lee SK, Kil WH, et al. Poor prognosis of single hormone receptor-positive breast cancer: similar outcome as triple-negative breast cancer. *BMC Cancer.* 2015 Mar 18;15:138. doi: 10.1186/s12885-015-1121-4.
113. Zhao H, Gong Y. The Prognosis of Single Hormone Receptor-Positive Breast Cancer Stratified by HER2 Status. *Front Oncol.* 2021 May 17;11:643956. doi: 10.3389/fonc.2021.643956.
114. Jiang X, Chen G, Sun L, Liu C, Zhang Y, Liu M, et al. Characteristic and survival in bone metastatic breast cancer patients with different hormone receptor status: A population-based cohort study. *Front Oncol.* 2022; 12:977226.
115. Li Z, Wei H, Li S, Wu P, Mao X. The Role of Progesterone Receptors in Breast Cancer. *Drug Des Devel Ther.* 2022 Jan 26;16:305-314. doi: 10.2147/DDDT.S336643.
116. Moasser M. The oncogene HER2: its signaling and transforming functions and its role in human cancer pathogenesis. *Oncogene.* 2007 Oct 4; 26(45):6469-87. doi: 10.1038/sj.onc.1210477.

## **RADOVI OBJAVLJENI IZ TEZE**

1. Rajkovic SM, Charalambous MP, Charalambous CP, Simic LD, Djuricic GJ, Dundjerovic DM, et al. Higher rate of progesterone receptor positivity in skeletal metastases of breast cancer with a pathological fracture vs those without fracture. Int J Cancer. In print 2023 Jun 2. doi: 10.1002/ijc.34605. **(citat u Literaturi br.19)**
2. Rajkovic S, Sopta J. Skeletne metastaze karcinoma dojke – uticaj hormonskih i HER2 receptora. Medicinski podmladak. U štampi 2024. doi: 10.5937/mp75-43870 **(citat u Literaturi br.70)**

## BIOGRAFIJA

Stanislav Rajković rođen je 23. marta 1982. u Beogradu. Osnovnu školu je završio u Beogradu, a srednju školu u Feniksu, Arizona, Sjedinjene Američke Države. Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu upisao je 2001. Tokom studija radio je kao student-demonstrator na predmetima anatomija i histologija. Diplomirao je 2007. sa prosečnom ocenom 9,57. Nakon fakulteta završio Školu rezervnih oficira Sanitetske službe Vojske Srbije.

Od 2009. radi u Institutu za ortopediju “Banjica”. Specijalistički ispit iz ortopedije sa traumatologijom položio je sa odličnim uspehom u julu 2017. od kada radi kao lekar specijalista u Službi za tumore i slične bolesti. Tokom i nakon specijalizacije obavio je više dodatnih edukacija iz oblasti ortopedije, traumatologije i ortopedске onkologije od kojih su najznačajnije bile na Univerzitetu Weil-Cornell, Kliničkom centru u Beču, Univerzitetskoj bolnici u Insbrucku, Univerzitetu u Padovi i Medicinskom centru Univerziteta u Lajdenu.

Akadske specijalističke studije upisao je 2010. na Medicinskom fakultetu u Beogradu, a rad pod naslovom “Dijagnostički algoritam i diferencijalna dijagnoza najčešćih koštanih tumora” odbranio je u junu 2012. Doktorske studije iz modula “Biologija tumora i oksidativna oboljenja” upisao je 2018. Izrada doktorske disertacije pod naslovom “Određivanje značaja hormonskog, HER2 statusa i proliferativnog indeksa Ki67 u nastanku patoloških fraktura kod pacijentkinja sa metastatskim karcinomom dojke” odobrena je u junu 2021.

Od 2021. radi kao Klinički asistent na Medicinskom fakultetu u Beogradu pri katedri Hirurgija i užoj oblasti Ortopedija sa traumatologijom.

Kao autor i koautor objavio je više naučnih radova iz oblasti anatomije, patologije, onkologije, radiologije, opšte hirurgije i ortopedije.

Oženjen, otac dvoje dece.

## Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora: Stanislav Rajković

Broj indeksa: 2018/5088

### Izjavljujem

Da je doktorska disertacija pod naslovom

Određivanje značaja hormonskog, HER2 statusa i proliferativnog indeksa Ki67 u nastanku patoloških fraktura kod pacijentkinja sa metastatskim karcinomom dojke

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova;
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

**Potpis autora**

U Beogradu, 25.09.2023.

---

## Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora: Stanislav Rajković

Broj indeksa: 2018/5088

Studijski program: doktorske studije; modul: biologija tumora i oksidativna oboljenja

Naslov rada: Određivanje značaja hormonskog, HER2 statusa i proliferativnog indeksa Ki67 u nastanku patoloških fraktura kod pacijentkinja sa metastatskim karcinomom dojke

Mentori: Prof.dr Jelena Sopta, Prof.dr Zoran Bašćarević

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao radi pohranjivanja u **Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog naziva doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i publikacijama Univerziteta u Beogradu.

**Potpis autora**

U Beogradu, 25.09.2023.

---

## Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku “Svetozar Marković” da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom: Određivanje značaja hormonskog, HER2 statusa i proliferativnog indeksa Ki67 u nastanku patoloških fraktura kod pacijentkinja sa metastatskim karcinomom dojke kao moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio.

1. Autorstvo (CC BY)
2. Autorstvo – nekomercijalno (CC BY-NC)
- 3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada (CC BY-NC-ND)**
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)
5. Autorstvo – bez prerada (CC BY-ND)
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

**Potpis autora**

U Beogradu, 25.09.2023.

---