

UNIVERZITET U NOVOM SADU
MEDICINSKI FAKULTET
Doktorske studije kliničke medicine



**ZNAČAJ ODREĐIVANJA ANDROGENIH RECEPTORA U
ODGOVORU NA HORMONSKU TERAPIJU KOD
ESTROGEN RECEPTOR POZITIVNIH PACIJENATA SA
KARCINOMOM DOJKE**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentor: Prof. dr Jasna Trifunović

Kandidat: dr Vladimir Vidović

Mentor: Prof. dr Tatjana Ivković-Kapicl

Novi Sad, 2020. godine

UNIVERZITET U NOVOM SADU
Medicinski fakultet
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Vladimir Vidović
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): MN	Mentor – Prof. dr Jasna Trifunović Mentor – Prof. dr Tatjana Ivković-Kapicl
Naslov rada: NR	Značaj određivanja androgenih receptora u odgovoru na hormonsku terapiju kod estrogen receptor pozitivnih pacijenata sa karcinomom dojke
Jezik publikacije: JP	Srpski jezik/ latinica
Jezik izvoda: JI	Srpski / engleski
Zemlja publikovanja: ZP	Republika Srbija
Uže geografsko područje: UGP	Autonomna pokrajina Vojvodina
Godina: GO	2020

Izdavač: IZ	autorski reprint
Mesto i adresa: MA	21000 Novi Sad, Hajduk Veljkova 3

Fizički opis rada: FO	(broj poglavlja – 7 / stranica – 148 / slika – 13 / grafikona – 21 / / tabela – 25 / reference – 160)
Naučna oblast: NO	Medicina
Naučna disciplina: ND	Onkologija
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	Neoplazme dojke; androgeni receptori; hormonski antineoplastični lekovi; estrogeni receptori; prognoza
UDK	618.19-006.6-085.35:577.175.6
Čuva se: ČU	U biblioteci Medicinskog fakulteta u Novom Sadu, 21000 Novi Sad, Srbija, Hajduk Veljkova 3
Važna napomena: VN	Nema
Izvod: IZ	Uvod: Glavni problem u lečenju karcinoma dojke je kako na osnovu kliničke klasifikacije i morfoloških osobina tumora predvideti njegovo dalje ponašanje. Vrlo često ni kombinacija standardnih prognostičkih faktora ne daje odgovor o potrebi davanja adjuvantne hemioterapije. U cilju sprovođenja adekvatne dalje terapije karcinoma dojke i otkrivanja agresivnih tipova tumora, a nakon hirurškog lečenja, postoji stalna potreba za pronalaženjem novih pokazatelja pomoću kojih bi se identifikovale bolesnice koje imaju povećan

	<p>rizik od razvoja relapsa bolesti. Ciljevi ove studije su bili da se odredi učestalost ekspresije androgenih receptora (AR) u infiltrativnom duktalnom karcinomu dojke. Da se utvrdi povezanost ekspresije AR i kliničko-patoloških prognostičkih faktora u infiltrativnom duktalnom karcinomu dojke. Odnos ekspresije AR i ekspresije estrogen receptora (ER), progesteron receptora (PR) i humanog epidermalnog faktora rasta (HER-2). Da se proceni povezanosti pozitivne ekspresije AR, kao i odnosa AR/ER, sa odgovorom na primenjenu hormonsku terapiju kod ER pozitivnih bolesnica. Da se proceni povezanost ekspresije AR, kao i odnosa AR/ER, sa kliničkim tokom bolesti: pojavom recidiva, metastaza, kao i smrtnim ishodom u toku petogodišnjeg perioda praćenja pacijentkinja. Metode: istraživanjem je obuhvaćeno oko 200 pacijentkinja obolelih od infiltrativnog dukalnog karcinoma dojke, koje su operisane na Institutu za onkologiju Vojvodine u periodu 2010-2012. godine. Pacijentkinje su odabrane metodom slučajnog izbora. Rezultati: ne postoji statistički značajna razlika između kliničko patoloških faktora i ekspresije androgenih receptora. Kod pacijentkinja sa infiltrativnim duktalnim karcinomom dojke koje su ER-/AR+ nije pokazana statistički značajna razlika u HER2 proteinskoj ekspresiji. Učestalost receptora za progesteron, estrogen, HER2, Ki-67, tripl negativne ćelija ne karakterišu prisustvo androgenskih receptora.</p>
--	--

	<p>Nije dokazana statistička značajnost za prvi i drugi stadijum bolesti dukalnog invazivnog karcinoma dojke kada se uzme u obzir kraće vreme preživljavanja kod pacijentkinja koje su primale hormonoterapiju. Statistički značajno kraće vreme preživljavanja pokazano je za treći stadijum bolesti kod pacijentkinja koje su AR i ER (≥ 2) u odnosu na pacijentkinje kod kojih je odnos AR/ER < 2, čime je za treći stadijum bolesti dokazana inicijalna hipoteza . Analize u prikazanom istraživanju nisu pokazale statističku značajnost kada se porede učestalost relapsa i smrtnog ishoda kada se posmatraju pacijentkinje sa AR pozitivnim i AR negativnim infiltrativnim dukalnim karcinomom dojke. Pokazana je statistički značajna razlika u učestalosti smrtnog ishoda između pacijenatkinja koje su lečene i inhibitorima aromataze i tamoksifenom. Zaključci ove studije bi mogli biti osnova za preporuku da se utvrđivanje ekspresije AR kod karcinoma dojke uvrsti u rutinsku praksu i sadržaj patohistološkog nalaza. Određivanje odnosa ekspresije AR i ER u grupi ER pozitivnih bolesnica moglo bi poslužiti kao vodič za primenu konvencionalne hormonske terapije ili, s druge strane, preporuka za terapiju antiandrogenima, sa ciljem da se izborom novih terapijskih modaliteta poboljša efikasnost lečenja bolesnica sa karcinomom dojke.</p>
Datum prihvatanja teme od strane Senata: DP	25.01.2018.

Datum odbrane: DO	
Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO	predsednik: član: član:

University of Novi Sad
Medical Faculty
Key word documentation

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	Ph. D. thesis
Author: AU	Vladimir Vidović
Mentor: MN	Mentor – Prof. dr Jasna Trifunović Mentor – Prof. dr Tatjana Ivković-Kapicl
Title: TI	The significance of determining the androgen receptors in response to hormonal therapy in estrogen receptor-positive breast cancer patients.
Language of text: LT	Serbian (latin)
Language of abstract: LA	Serbian/English
Country of publication: CP	Republic of Serbia
Locality of publication: LP	A.P. Vojvodina
Publication year: PY	2020

Publisher: PU	author reprint
Publication place: PP	21000 Novi Sad, Hajduk Veljkova 3

Physical description: PD	7 chapters /148 pages / 13 pictures/ 21 graphs / 25 tables / 160 references
Scientific field SF	Medicine
Scientific discipline SD	Oncology
Subject, Key words SKW	Breast Neoplasms; Receptors, Androgen; Antineoplastic Agents, Hormonal; Receptors, Estrogen; Prognosis
UC	618.19-006.6-085.35:577.175.6
Holding data: HD	Library of Medical Faculty Novi Sad 21000 Novi Sad, Serbia, Hajduk Veljkova 3
Note: N	None
Abstract: AB	Introduction: The main problem in the treatment of breast cancer is how to predict its future behavior based on the clinical classification and morphological characteristics of the tumor. Very often even a combination of standard prognostic factors does not answer the need for adjuvant chemotherapy. In order to conduct adequate further breast cancer therapy and to detect aggressive tumor types, and following surgical treatment, there is a continuing need to find new indicators to identify patients at increased risk of relapse. The objectives of this study were to determine the frequency of androgen receptor (AR)

expression in infiltrative ductal breast cancer. To determine the association between AR expression and clinical-pathological prognostic factors in infiltrative ductal breast cancer. Relationship between AR expression and expression of estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), and human epidermal growth factor (HER-2). To evaluate the association of positive AR expression, as well as the AR / ER ratio, with response to hormone therapy in ER positive patients. To evaluate the association of AR expression, as well as the relationship of AR / ER, with the clinical course of the disease: onset of relapse, metastasis, as well as fatal outcome during the 5-year follow-up period. **Methods:** The study included about 200 patients suffering from infiltrative ductal breast cancer, operated on at the Institute of Oncology of Vojvodina in the period 2010-2012. years. Patients were selected by random selection. **The results** there is no statistically significant difference between clinically pathologic factors and androgen receptor expression. No statistically significant difference in HER2 protein expression was shown in patients with infiltrative ductal breast cancer who are ER- / AR +. The frequency of progesterone receptors, estrogen, HER2, Ki-67, tripl negative cells do not characterize the presence of androgen receptors. No statistical significance was demonstrated for the first and second stages of ductal invasive breast cancer when considering shorter survival times in

	<p>patients receiving hormone therapy. A statistically significant shorter survival time was shown for the third stage of disease in patients with AR and ER (≥ 2) compared to patients with an AR / ER ratio of <2, thus proving an initial hypothesis for the third stage of disease. The analyzes in the study presented showed no statistical significance when comparing the incidence of relapse and death when looking at patients with AR positive and AR negative infiltrative ductal breast cancer. There was a statistically significant difference in the incidence of death between patients treated with both aromatase inhibitors and tamoxifen.</p> <p>Conclusions: of this study could be the basis for recommending that the determination of AR expression in breast cancer be incorporated into the routine practice and content of pathohistological findings. Determining the ratio of AR and ER expression in a group of ER-positive patients could serve as a guide for the administration of conventional hormone therapy or, on the other hand, a recommendation for anti-androgen therapy, with the aim of improving the effectiveness of breast cancer treatment in the choice of new therapeutic modalities.</p>
Accepted on Senate on: AS	25.01.2018.
Defended: DE	

Thesis Defend Board: DB	president: member: member:
----------------------------	----------------------------------

Zahvaljujem se,

Prof. dr Jasni Trifunović i prof. dr Tatjani Ivković-Kapicl,

mojim mentorima, na velikoj pomoći, znanju i stručnim savetima, bez kojih ova doktorska disertacija ne bi bila moguća.

Kolegama sa Klinike za internu onkologiju Instituta za onkologiju Vojvodine na profesionalizmu i spremnosti da pomognu.

Mojim roditeljima **Anici i Radomiru** i mojim učiteljima koji su mi pomogli da razumem.

Mojoj supruzi **Jeleni i mom sinu Strahinji**, koji su me razumeli.

SADRŽAJ

Spisak tabela	16
Spisak slika	20
Spisak grafikona	21
1. UVOD.....	23
2. TEORIJSKI OKVIR	24
2.1. Epidemiologija karcinoma dojke	24
2.2. Faktori rizika za nastanak karcinoma dojke	26
2.2.1. <i>Životno doba</i>	26
2.2.2. <i>Genetski faktori u nastanku karcinoma dojke</i>	27
2.2.3. <i>Faktori spoljašnje sredine</i>	32
2.2.4. <i>Životni stil kao faktor rizika</i>	34
2.2.5. <i>Reproduktivni faktori rizika</i>	35
2.2.6. <i>Endokrini faktori</i>	36
2.2.7. <i>Benigne bolesti dojke</i>	38
2.3. Prognostički i prediktivni parametri karcinoma dojke	38
2.3.2. <i>Veličina tumora</i>	43
2.3.3. <i>Status limfnih čvorova</i>	44
2.3.4. <i>Prisustvo udaljenih metastaza</i>	45
2.3.5. <i>Histološki tipovi tumora</i>	48
2.3.6. <i>Stepen histološke diferencijacije tumora (gradus)</i>	53
2.3.7. <i>Estrogen i progesteron receptorni status</i>	54
2.3.8. <i>Androgeni receptori</i>	55
2.3.9. <i>Receptori epidermalnog faktora rasta</i>	66

2.3.10. Indeks proliferacije Ki67.....	68
2.3.11. Limfovaskularna invazija i perineuralna invazija	70
2.3.12. Nekroza.....	70
2.3.13. Angiogeneza.....	71
2.3.14. Proteaze	72
2.3.15. Tumor-supresorni geni i onkogeni kod tumora dojke.....	73
2.3.16. Molekularna klasifikacija karcinoma dojke	75
2.4. Terapija karcinoma dojke.....	77
2.4.1. Hirurgija	78
2.4.2. Radioterapija.....	81
2.4.3. Adjuvantna sistemska terapija	84
2.4.4. Neoadjuvantna hemioterapija.....	87
2.4.5. Terapija metastatskog karcinoma dojke.....	89
3. PREDMET, CILJEVI, HIPOTEZE I FAZE ISTRAŽIVANJA	92
3.1. Predmet i problem istraživanja	92
3.2. Cilj istraživanja sa naglaskom na rezultate koja se očekuju	92
3.3. Hipoteze istraživanja	93
3.4. Program istraživanja (faze)	94
4. METODE, UZORCI I MESTO ISTRAŽIVANJA	95
4.1. Metode istraživanja	95
4.2. Način izbora, veličina i konstrukcija uzorka.....	96
4.3. Planirano vreme i mesto eksperimentalnog istraživanja	96
5. REZULTATI ISTRAŽIVANJA.....	97
5.1. Statistika i deskripcija uzorka	97
5.2 . Deskriptivni parametri svih pacijentkinja i u odnosu na prisustvo androgenskih receptora	99
5.3. Učestalost hormonskih receptora i molekularna klasifikacija svih pacijentkinja i u odnosu na prisustvo androgenskih receptora	100

5.4. Veličina tumora, stadijum, histološki gradus, perineuralna i perivaskularna invazija, zahvatanje limfnih žlezda i stadijum bolesti u odnosu na prisustvo androgenskih receptora	102
5.5. Učestalost pojedinih vrsta hirurških procedura kojima su podvrgavane ispitivane pacijentkinje, kao i učestalost primene hemioterapije i hormonske terapije u odnosu na prisustvo androgenskih receptora.....	103
5.6. Vrsta operacije tumora dojke u odnosu na prisustvo androgenskih receptora	104
5.7. Učestalost pozitivnosti HER receptora kod pacijentkinja koje su estrogen receptor negativne, a pozitivne za androgen receptore, u odnosu na pacijentkinje koje nemaju takav status	105
5.8. Učestalost relapsa i smrtnog ishoda estrogen pozitivnih pacijentkinja sa pozitivnim i negativnim androgenskim receptorima i pacijentkinja kod kojih je $AR/ER < 2$ i $AR/ER \geq 2$	106
5.9. Vreme do relapsa i vreme do smrtnog ishoda estrogen pozitivnih pacijentkinja sa pozitivnim i negativnim androgenskim receptorima.....	107
5.10. Vreme do relapsa i vreme do smrtnog ishoda estrogen pozitivnih pacijentkinja kod kojih je $AR/ER < 2$ i pacijentkinja kod kojih je $AR/ER \geq 2$	108
5.11. Vreme do relapsa i vreme do smrtnog ishoda pacijentkinja sa pozitivnim i negativnim androgenskim receptorima po stadijumima bolesti... ..	108
5.12. Učestalost relapsa i smrtnog ishoda pacijentkinja sa pozitivnim i negativnim androgenskim receptorima u ispitivanim stadijumima bolesti.....	109
5.13. Vreme do relapsa i vreme do smrtnog ishoda pacijentkinja kod kojih je $AR/ER < 2$ i pacijentkinja kod kojih je $AR/ER \geq 2$ po stadijumima bolesti.....	110
5.14. Učestalost relapsa i smrtnog ishoda pacijentkinja kod kojih je $AR/ER < 2$ u odnosu na pacijentkinje kod kojih je $AR/ER \geq 2$ u ispitivanim stadijumima bolesti	111
5.15. Kaplan–Meier krive	112
5.16. Distribucija učestalosti smrtnog ishoda kod hormon i androgen pozitivnih pacijentkinja lečenih inhibitorima aromataze i Tamoksifenom.....	124
5.17. Coxova proporcionalna hazardna regresiona analiza	125
6. DISKUSIJA.....	128

6.1. Obrazložnje o potrebama istraživanja.....	133
7. ZAKLJUČAK.....	136
7.1. Mogućnost primene očekivanih rezultata.....	137
REFERENCE.....	138

Spisak tabela

TABELA 1. KRITERIJUMI ZA PREPOZNAVANJE OSOBA SA RIZIKOM ZA BRCA-ZAVISNI KARCINOM DOJKE	29
PRILAGOĐENO PREMA IZVORU: BRANKOVIĆ-MAGIĆ M. NASLEDNI KARCINOM DOJKE, PREGLED: VODIČ DOBRE KLINIČKE PRAKSE ZA DIJAGNOSTIKOVANJE I LEČENJE RAKA DOJKE. BEOGRAD: MINISTARSTVO ZDRAVLJA REPUBLIKE SRBIJE; 2013. STR. 12	29
TABELA 2. PROGNOСТИČKI FAKTORI KARCINOMA DOJKE.....	39
PRILAGOĐENO PREMA IZVORU: KARELOVIĆ D. PILOT PROJEKAT - RAK DOJKE - CARNET PROJECT. SPLIT: MEDICINSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U SPLITU; 2000. DOSTUPNO NA HTTP://WWW.KBSPLIT.HR/RAKDOJKE	40
TABELA 3. TNM KLASIFIKACIJA KARCINOMA DOJKE.....	40
PRILAGOĐENO PREMA IZVORU: MARKOVIĆ I. TNM KLINIČKA KLASIFIKACIJA. VODIČ DOBRE KLINIČKE PRAKSE ZA DIJAGNOSTIKOVANJE I LEČENJE RAKA DOJKE. BEOGRAD: MINISTARSTVO ZDRAVLJA REPUBLIKE SRBIJE; 2013. STR. 50.	41
TABELA 4. KLINIČKA KLASIFIKACIJA REGIONALNIH LIMFNIH ČVOROVA (N)41	
PRILAGOĐENO PREMA IZVORU: MARKOVIĆ I. TNM KLINIČKA KLASIFIKACIJA. VODIČ DOBRE KLINIČKE PRAKSE ZA DIJAGNOSTIKOVANJE I LEČENJE RAKA DOJKE. BEOGRAD: MINISTARSTVO ZDRAVLJA REPUBLIKE SRBIJE; 2013. STR. 51.	42
TABELA 5. GRUPISANJE PO STADIJUMIMA	42
PRILAGOĐENO PREMA IZVORU: MARKOVIĆ I. TNM KLINIČKA KLASIFIKACIJA. VODIČ DOBRE KLINIČKE PRAKSE ZA DIJAGNOSTIKOVANJE I LEČENJE RAKA DOJKE. BEOGRAD: MINISTARSTVO ZDRAVLJA REPUBLIKE SRBIJE; 2013. STR. 54. I EUROPIAN SOCIETY FOR MEDICAL ONCOLOGY (ESMO), ANTICANCER FUND – UDRUŽENJE ŽENA OBOLELIH I LEČENIH OD RAKA DOJKE, DOSTUPNO NA HTTP://BUDIMOZAJEDNO.RS/EPIDEMIOLOGIJA-RAKA-DOJKE/	42
TABELA 6. KLASIFIKACIJA SVETSKE ZDRAVSTVENE ORGANIZACIJE (WHO)51	

PRILAGOĐENO PREMA IZVORU: KARELOVIĆ D. PILOT PROJEKAT - RAK DOJKE - CARNET PROJECT. SPLIT: MEDICINSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U SPLITU; 2000. DOSTUPNO NA: HTTP://WWW.KBSPLIT.HR/RAKDOJKE ...	51
TABELA 7. AFIP KLASIFIKACIJA KARCINOMA DOJKE MODIFIKOVANA PO ROSENU	52
PRILAGOĐENO PREMA IZVORU: KARELOVIĆ D. PILOT PROJEKAT - RAK DOJKE - CARNET PROJECT. SPLIT: MEDICINSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U SPLITU; 2000. DOSTUPNO NA HTTP://WWW.KBSPLIT.HR/RAKDOJKE	52
TABELA 8. HISTOPATOLOŠKO STEPENOVANJE (<i>GRADING</i>) INFILTRIRAJUĆEG DUKTALNOG KARCINOMA PO BLOM–RICHARDSONU – ELSTONOVA MODIFIKACIJA	54
PRILAGOĐENO PREMA IZVORU: KARELOVIĆ D. PILOT PROJEKAT - RAK DOJKE - CARNET PROJECT. SPLIT: MEDICINSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U SPLITU; 2000. DOSTUPNO NA HTTP://WWW.KBSPLIT.HR/RAKDOJKE	54
TABELA 9. MOLEKULARNA KLASIFIKACIJA KARCINOMA DOJKE	75
PRILAGOĐENO PREMA IZVORU: CALZA S, HAL P, AUER G, BJÖHLE J, KLAAR S, KRONENWETT U, ET AL. INTRINSIC MOLECULAR SIGNATURE OF BREAST CANCER IN A POPULATION-BASED COHORT OF 412 PATIENTS. BREAST CANCER RES. 2006;8:1-9.....	75
TABELA 10. LOKALNO ODMAKLI KARCINOM DOJKE.....	87
PRILAGOĐENO PREMA IZVORU: NEO-ADJUVANTNA TERAPIJA. DEO VI. NACIONALNI VODIČ DOBRE KLINIČKE PRAKSE ZA DIJAGNOSTIKOVANJE I LEČENJE RAKA DOJKE. BEOGRAD: MINISTARSTVO ZDRAVLJA REPUBLIKE SRBIJE, AGENCIJA ZA AKREDITACIJU ZDRAVSTVENIH USTANOVA SRBIJE; 2013. STR. 123.	87
TABELA 11. FAKTORI KOJI UTIČU NA PROGNOZU METASTATSKOG KARCINOMA DOJKE.....	91
PRILAGOĐENO PREMA IZVORU: MINIMALNE KLINIČKE PREPORUKE ZA DIJAGNOSTIKU, LEČENJE, ADJUVANTNU TERAPIJU I PRAĆENJE PACIJENTA SA PRIMARNIM, REKURENTNIM / METASTATSKIM KARCINOMOM DOJKE. VODIČ KLINIČKE PRAKSE. BEOGRAD; 2002. STR. 9.....	91

TABELA 12. DESKRIPTIVNI PARAMETRI SVIH PACIJENTKINJA U ODNOSU NA PRISUSTVO ANDROGENSKIH RECEPTORA.....	99
TABELA 13. UČESTALOST HORMONSKIH RECEPTORA I MOLEKULARNA KLASIFIKACIJA SVIH PACIJENTKINJA U ODNOSU NA PRISUSTVO ANDROGENSKIH RECEPTORA.....	101
TABELA 14. VELIČINA TUMORA, STADIJUM, HISTOLOŠKI GRADUS, PERINEURALNA I PERIVASKULARNA INVAZIJA, ZAHVATANJE LIMFNIH ŽLEZDA I STADIJUM BOLESTI U ODNOSU NA PRISUSTVO ANDROGENSKIH RECEPTORA.....	102
TABELA 15. UČESTALOST POJEDINIH VRSTA HIRURŠKIH PROCEDURA KOJIMA SU PODVRGAVANE ISPITIVANE PACIJENTKINJE, KAO I UČESTALOST PRIMENE HEMIOTERAPIJE I HORMONSKE TERAPIJE U ODNOSU NA PRISUSTVO ANDROGENSKIH RECEPTORA	103
TABELA 16. UČESTALOST POZITIVNOSTI HER RECEPTORA KOD PACIJENTKINJA KOJE SU ESTROGEN RECEPTOR NEGATIVNE, A POZITIVNE ZA ANDROGEN RECEPTORE, U ODNOSU NA PACIJENTKINJE KOJE NEMAJU TAKAV STATUS.....	105
TABELA 17. UČESTALOST RELAPSA I SMRTNOG ISHODA KOD ESTROGEN POZITIVNIH PACIJENTKINJA SA POZITIVNIM I NEGATIVNIM ANDROGENSKIM RECEPTORIMA I PACIJENTKINJA KOD KOJIH JE AR/ER < 2 I AR/ER ≥ 2	106
TABELA 18. VREME DO RELAPSA I VREME DO SMRTNOG ISHODA KOD ESTROGEN POZITIVNIH PACIJENTKINJA SA POZITIVNIM I NEGATIVNIM ANDROGENSKIM RECEPTORIMA	107
TABELA 19. VREME DO RELAPSA I VREME DO SMRTNOG ISHODA KOD ESTROGEN POZITIVNIH PACIJENTKINJA SA AR/ER < 2 I PACIJENTKINJA KOD KOJIH JE AR/ER ≥ 2	108
TABELA 20. VREME DO RELAPSA I VREME DO SMRTNOG ISHODA PACIJENTKINJA SA POZITIVNIM I NEGATIVNIM ANDROGENSKIM RECEPTORIMA PO STADIJUMIMA BOLESTI	109
TABELA 21. UČESTALOST RELAPSA I SMRTNOG ISHODA KOD PACIJENTKINJA SA POZITIVNIM I NEGATIVNIM ANDROGENSKIM RECEPTORIMA U ISPITIVANIM STADIJUMIMA BOLESTI	110

TABELA 22. VREME DO RELAPSA I VREME DO SMRTNOG ISHODA KOD PACIJENTKINJA SA AR/ER < 2 I PACIJENTKINJA KOD KOJIH JE AR/ER ≥ 2 PO STADIJUMIMA BOLESTI	111
TABELA 23. UČESTALOST RELAPSA I SMRTNOG ISHODA KOD PACIJENTKINJA SA AR/ER < 2 U ODNOSU NA PACIJENTKINJE KOD KOJIH JE AR/ER ≥ 2 U ISPITIVANIM STADIJUMIMA BOLESTI.....	112
TABELA 24. REZULTATI UNIVARIJANTNE COX REGRESIONE ANALIZE ISPITIVANIH VARIJABLI U ODNOSU NA SMRTNI ISHOD	126
TABELA 25. REZULTATI UNIVARIJANTNE COX REGRESIONE ANALIZE ISPITIVANIH VARIJABLI U ODNOSU NA RELAPS BOLESTI.....	127

Spisak slika

SLIKA 1. PRENOS SIGNALA PREKO NUKLEARNIH RECEPTORA.....	57
SLIKA 2. SIGNALNA TRANSDUKCIJA PREKO NUKLEARNIH RECEPTORA.....	58
SLIKA 3. FUNKCIJA ANDROGENOG RECEPTORA.....	59
SLIKA 4. SLIKA STRUKTURA LJUDSKOG ANDROGENOG RECEPTORA: GENETSKA I PROTEINSKA ORGANIZACIJA.....	60
SLIKA 5. STRUKTURA KOMPLEKSNOG LIGANDSKOG VEZUJUĆEG DOMENA ASTROGEN RECEPTORA - TESTOSTERONA (BELI ŠTAPIĆI).....	61
SLIKA 6. STRUKTURA IZOFORMI ANDROGENOG RECEPTORA	62
SLIKA 7. AROMATAZA ANDROGENA U ESTROGEN.....	63
SLIKA 8. REAKCIJA KONVERZIJE TESTOSTERONA U ESTRADIOL (KATALIZACIJA AROMATAZE)	63
SLIKA 9. REGIONI HER RECEPTORA.....	67
SLIKA 10. DUKTALNI KARCINOM <i>IN SITU</i> – DCIS	80
SLIKA 11. INVAZIVNI KARCINOM DOJKE	81
SLIKA 12. TERAPIJSKI ALGORITAM ZA LOKOREGIONALNI RECIDIV	90
SLIKA 13. ALGORITAM TERAPIJE ZA BOLESNIKE SA KOŠTANIM METASTAZAMA	91

Spisak grafikona

GRAFIKON 1. VRSTA OPERACIJE TUMORA DOJKE U ODNOSU NA PRISUSTVO ANDROGENSKIH RECEPTORA.....	104
GRAFIKON 2. KAPLAN–MEIEROVA KRIVA KUMULATIVNE INCIDENCIJE RELAPSA KOD PACIJENTKINJA U PRVOM STADIJUMU BOLESTI, U ODNOSU NA PRISUSTVO ANDROGENSKIH RECEPTORA	113
GRAFIKON 3. KAPLAN–MEIEROVA KRIVA KUMULATIVNE INCIDENCIJE RELAPSA KOD PACIJENTKINJA U PRVOM STADIJUMU BOLESTI, S OBZIROM NA ODNOS ANDROGENSKIH I ESTROGENSKIH RECEPTORA.....	113
GRAFIKON 4. KAPLAN–MEIEROVA KRIVA KUMULATIVNE INCIDENCIJE PREŽIVLJAVANJA KOD PACIJENTKINJA U PRVOM STADIJUMU BOLESTI, U ODNOSU NA PRISUSTVO ANDROGENSKIH RECEPTORA.....	114
GRAFIKON 5. KAPLAN–MEIEROVA KRIVA KUMULATIVNE INCIDENCIJE PREŽIVLJAVANJA KOD PACIJENTKINJA U PRVOM STADIJUMU BOLESTI, S OBZIROM NA ODNOS ANDROGENSKIH I ESTROGENSKIH RECEPTORA.....	115
GRAFIKON 6. KAPLAN–MEIEROVA KRIVA KUMULATIVNE INCIDENCIJE RELAPSA KOD PACIJENTKINJA U DRUGOM STADIJUMU BOLESTI, S OBZIROM NA ODNOS ANDROGENSKIH I ESTROGENSKIH RECEPTORA.....	115
GRAFIKON 7. KAPLAN–MEIEROVA KRIVA KUMULATIVNE INCIDENCIJE RELAPSA KOD PACIJENTKINJA U DRUGOM STADIJUMU BOLESTI, U ODNOSU NA PRISUSTVO ANDROGENSKIH RECEPTORA	116
GRAFIKON 8. KAPLAN–MEIEROVA KRIVA KUMULATIVNE INCIDENCIJE PREŽIVLJAVANJA KOD PACIJENTKINJA U DRUGOM STADIJUMU BOLESTI, U ODNOSU NA PRISUSTVO ANDROGENSKIH RECEPTORA.....	116
GRAFIKON 9. KAPLAN–MEIEROVA KRIVA KUMULATIVNE INCIDENCIJE PREŽIVLJAVANJA KOD PACIJENTKINJA U DRUGOM STADIJUMU BOLESTI, S OBZIROM NA ODNOS ANDROGENSKIH I ESTROGENSKIH RECEPTORA	117
GRAFIKON 10. KAPLAN–MEIEROVA KRIVA KUMULATIVNE INCIDENCIJE RELAPSA KOD PACIJENTKINJA U TREĆEM STADIJUMU BOLESTI, U ODNOSU NA PRISUSTVO ANDROGENSKIH RECEPTORA	117

GRAFIKON 11. KAPLAN–MEIEROVA KRIVA KUMULATIVNE INCIDENCIJE RELAPSA KOD PACIJENTKINJA U TREĆEM STADIJUMU BOLESTI, S OBZIROM NA ODNOS ANDROGENSKIH I ESTROGENSKIH RECEPTORA.....	118
GRAFIKON 12. KAPLAN–MEIEROVA KRIVA KUMULATIVNE INCIDENCIJE PREŽIVLJAVANJA KOD PACIJENTKINJA U TREĆEM STADIJUMU BOLESTI, U ODNOSU NA PRISUSTVO ANDROGENSKIH RECEPTORA.....	118
GRAFIKON 13. KAPLAN–MEIEROVA KRIVA KUMULATIVNE INCIDENCIJE PREŽIVLJAVANJA KOD PACIJENTKINJA U TREĆEM STADIJUMU BOLESTI, S OBZIROM NA ODNOS ANDROGENSKIH I ESTROGENSKIH RECEPTORA.....	119
GRAFIKON 14. KAPLAN–MEIEROVA KRIVA KUMULATIVNE INCIDENCIJE PREŽIVLJAVANJA KOD SVIH PACIJENTKINJA, S OBZIROM NA ODNOS ANDROGENSKIH I ESTROGENSKIH RECEPTORA	119
GRAFIKON 15. KAPLAN–MEIEROVA KRIVA KUMULATIVNE INCIDENCIJE PREŽIVLJAVANJA KOD SVIH PACIJENTKINJA, U ODNOSU NA PRISUSTVO ANDROGENSKIH RECEPTORA.....	120
GRAFIKON 16. KAPLAN–MEIEROVA KRIVA KUMULATIVNE INCIDENCIJE RELAPSA KOD SVIH PACIJENTKINJA, U ODNOSU NA PRISUSTVO ANDROGENSKIH RECEPTORA.....	120
GRAFIKON 17. KAPLAN–MEIEROVA KRIVA KUMULATIVNE INCIDENCIJE RELAPSA KOD SVIH PACIJENTKINJA, S OBZIROM NA ODNOS ANDROGENSKIH I ESTROGENSKIH RECEPTORA	121
GRAFIKON 18. KAPLAN–MEIEROVA KRIVA KUMULATIVNE INCIDENCIJE PREŽIVLJAVANJA HORMON I ANDROGEN POZITIVNIH PACIJENTKINJA U ODNOSU NA LEČENJE INHIBITORIMA AROMATAZE.....	122
GRAFIKON 19. KAPLAN–MEIEROVA KRIVA KUMULATIVNE INCIDENCIJE HORMON I ANDROGEN POZITIVNIH PACIJENTKINJA U ODNOSU NA LEČENJE TAMOKSIFENOM	123
GRAFIKON 20. KAPLAN–MEIEROVA KRIVA KUMULATIVNE INCIDENCIJE PREŽIVLJAVANJA HORMON I ANDROGEN POZITIVNIH PACIJENTKINJA U ODNOSU NA LEČENJE INHIBITORIMA AROMATAZE I TAMOKSIFENOM	123
GRAFIKON 21. DISTRIBUCIJA UČESTALOSTI SMRTNOG ISHODA KOD HORMON I ANDROGEN POZITIVNIH PACIJENTKINJA LEČENIH INHIBITORIMA AROMATAZE I TAMOKSIFENOM	125

1. UVOD

Ova doktorska disertacija je rađena kroz studiju istraživanja koja bi trebalo da potvrdi značaj određivanja androgenih receptora u odgovoru na hormonsku terapiju kod estrogen receptor pozitivnih pacijenata sa karcinomom dojke.

Disertacije se sastoji od nekoliko delova:

Nakon uvoda, u prvom delu disertacije je predstavljen teorijski okvir predmetne analize, epidemiologija, faktori rizika za nastanak karcinoma dojke, prognostički i prediktivni parametri i terapija karcinoma dojke.

U drugom delu objašnjavaju se predmet, problem i cilj analize istraživanja, i daju se pretpostavke (hipoteze) istraživanja, kao i faze istraživanja;

Treći deo objašnjava metode i načine izbora uzoraka, te vreme i mesto obavljanja istraživanja;

Peti deo objavljuje rezultate postignutih istraživanja, statističke metode i deskripciju uzorka;

Šesti deo čini diskusija o predmetu istraživanja, iznošenje značajnih stavova iz naučne literature i drugih sličnih istraživanja, kao i obrazloženje o potrebama ovog istraživanja;

U poslednjem delu iznose se zaključci istraživačke studije koji su dobijeni na osnovu rezultata istraživanja. Takođe, obrazlaže se mogućnost primene očekivanih rezultata.

Osnovni zadatak i svrha ovog rada je naučni doprinos potvrđivanju značaja određivanja androgenih receptora u odgovoru na hormonsku terapiju kod estrogen receptor pozitivnih pacijenata sa karcinomom dojke, kroz sopstvenu istraživačku studiju.

Studija je namenjena svim zainteresovanim licima, naučnim radnicima, studentima i široj publici.

2. TEORIJSKI OKVIR

2.1. Epidemiologija karcinoma dojke

Karcinom dojke je najčešća bolest dijagnostikovana kod žena u Srbiji (oko 4.500 žena godišnje, 25,5% svih oboljenja) i predstavlja vodeći uzrok smrti u poređenju sa drugim malignim bolestima koje pogađaju žene. U našoj zemlji, karcinom dojke se u odmaklom stadijumu bolesti otkriva kod većeg procenta žena nego u razvijenim zemljama. Iako incidencija karcinoma dojke raste sa životnim dobom (50% žena bolest otkriva sa 60 i više godina), 2% svih žena koje obole mlađe je od 35, a 5% od 40 godina (1).

Prosečna standardizovana stopa incidencije karcinoma dojke u centralnoj Srbiji, u periodu od 1999. do 2009. godine, iznosila je 60,8/100.000, a stopa mortaliteta 20,2/100.000. Slične vrednosti incidencije i mortaliteta registruju se i u Vojvodini (2).

U Vojvodini je tokom 2011. godine kod žena najčešći tumor bio maligni tumor dojke sa ukupnim brojem od 1.310 obolelih, odnosno 26%. Od karcinoma dojke je umrlo ukupno 550 žena. Iste godine evidentirano je i 35 novoobolelih muškaraca (3). Poslednjih godina, u Vojvodini je uočen porast obolevanja muškaraca od karcinoma dojke (4).

U našoj zemlji postoji trend porasta i incidencije i smrtnosti od karcinoma dojke, dok se u svetu (prevažodno u razvijenim zapadnim zemljama) smrtnost ne menja, a negde i smanjuje. Smanjenje smrtnosti od karcinoma dojke objašnjava se kombinacijom različitih uticaja kao što su rano otkrivanje – zahvaljujući organizovanim masovnim mamografskim pregledima ženskog stanovništva rizične životne dobi (skrining programima) i uvođenje novih terapijskih pristupa i lekova koji su sve efikasniji u lečenju ovog oboljenja. U Srbiji ne postoji program u okviru kojeg se sve žene određene životne dobi pozivaju na redovne mamografske preglede, ali bi one svakako trebalo da znaju da se pregled dojki mora raditi redovno i da ne smeju odlagati odlazak lekaru ako napipaju čvor u dojci ili primete neki od

sumnjivih znakova. Ne treba zaboraviti da je verovatnoća uspešnog lečenja karcinoma dojke veća ako se ova bolest dijagnostikuje u ranijem stadijumu (5).

Geografska distribucija karcinoma dojke na globalnom nivou nije ravnomerna. Područja u kojima se registruje najviša učestalost bolesti jesu Zapadna Evropa, Severna Amerika, Australija, Novi Zeland i neke zemlje Južne Amerike (Argentina), što se pripisuje višoj prevalenciji poznatih faktora rizika za ovu bolest u pomenutim regionima (2).

Učestalost karcinoma dojke u Japanu ili Kini četiri do sedam puta je manja nego u SAD; međutim, već nakon nekoliko naraštaja, učestalost karcinoma dojke kod japanskih, kineskih ili filipinskih doseljenika u SAD izjednačava se s učestalošću kod domaćeg stanovništva. Tako, u periodu od 1983. do 1987. godine, internacionalni mortalitet (1/100.000) varira od manje od 6 u Japanu do gotovo 30 u Engleskoj i Velsu (6).

Evropska populacija je takođe polarizovana u pogledu učestalosti karcinoma dojke. Najviše stope incidencije registruju se u Zapadnoj i Severnoj Evropi, dok su stope u Južnoj i Istočnoj Evropi značajno niže. U zemljama Evropske unije prosečna godišnja incidencija karcinoma dojke se kreće od 57/100.000 (Grčka) do 145/100.000 (Belgija), a stopa mortaliteta od 18,4/100.000 (Španija) do 31,1/100.000 (Irska). Objavljena sistematska analiza obolevanja i umiranja od karcinoma dojke, koja je uključivala podatke registara za rak iz 187 zemalja (uključujući i Srbiju), pokazala je da učestalost bolesti na globalnom nivou kontinuirano raste već 30 godina i da taj porast iznosi 3,1% godišnje, dok mortalitet varira. Analiza kretanja incidencije karcinoma dojke u zapadnoevropskim zemljama pokazala je trendove dramatičnog porasta, posebno kod žena starijih od 50 godina, što se delom pripisuje češćem i ranijem otkrivanju bolesti, odnosno efektima organizovanog skrininga, ali i efektima demografske tranzicije koji vode povećanju broja žena u riziku od bolesti. Kada je u pitanju mortalitet od karcinoma dojke, evidentan je trend opadanja u SAD i razvijenim zemljama. U Evropi, kretanje mortaliteta od karcinoma dojke poslednjih decenija ima različite tendencije, odnosno kreće se od smanjenja za 30% u Engleskoj do povećanja od 25% u Estoniji. Osim kontribucije u povećanju incidencije, naročito u starijim uzrasnim grupama, evidentan je i učinak skrininga u snižavanju mortaliteta od ovog karcinoma (2).

2.2. Faktori rizika za nastanak karcinoma dojke

Rizik razvoja karcinoma dojke kod žena je jedan prema osam, što znači da će svaka osma žena u toku svog života bolovati od te bolesti. Karcinom dojke je stotinu puta češći kod žena nego kod muškaraca.

U odnosu na lokaciju u dojci, karcinom se najčešće javlja u spoljnom gornjem kvadrantu (38,5%).

Velike su geografske razlike u brojnosti novootkrivenih slučajeva, pa je uobičajena podela na zemlje visokog rizika (Severna Amerika i Severna Europa), srednjeg rizika (Južna Amerika i Južna Evropa) i zemlje niskog rizika (Azija i Afrika). Prema podacima iz 1990. godine, u SAD se svakih 15 minuta registruju 4,28 novih slučajeva karcinoma dojke, a u istom intervalu od karcinoma dojke umire jedna žena. Žene crne rase imaju značajno nižu incidenciju karcinoma dojke (možda zbog ranijih i brojnijih porođaja), ali nešto veći mortalitet (verovatno zbog kasnijeg dijagnosticiranja, ređe pozitivnih hormonskih receptora i lošijeg socijalnoekonomskog statusa), premda molekularni činioci nisu značajno različiti (6).

Glavni faktori rizika za pojavu karcinoma dojke kod žena jesu:

- životno doba
- genetski faktori
- faktori spoljašnje sredine
- životni stil kao faktor rizika
- reproduktivni faktori rizika
- endokrini faktori
- benigne bolesti dojke.

2.2.1. Životno doba

Karcinom dojke je bolest starijeg životnog doba, tako da se kod polovine žena dijagnostikuje posle 65. godine, dok se 2% svih obolelih žena suoči sa dijagnozom do 35.

godine života. Incidencija (učestalost javljanja) karcinoma dojke raste sa godinama. Što je žena starija, to je veći rizik za nastanak karcinoma dojke. Rizik je relativno mali kod mlađih žena (u dobi od 30. do 50. godine života godišnji rizik iznosi 1 na 1.000, a kod žena od 50. do 60. godine 2 na 1.000), dok kod žena starijih od 60 godina rizik naglo raste (5). Učestalost karcinoma dojke raste sa godinama života i udvostručuje se svakih deset godina do menopauze, a svoj pik dostiže između 50. i 60. godine života (7, 8).

Karcinom dojke je tumor za koji se najdetaljnije proučavaju moguće razlike u biološkom ponašanju i kliničkom toku bolesti, zavisno od životnog doba. Više studija je potvrdilo da je nastanak bolesti u starijem životnom dobu udružen sa povoljnijim biološkim profilom tumora, uključujući veću učestalost pozitivne ekspresije estrogenskih receptora (9, 10). Prosečno životno doba ispitivanih bolesnica sa estrogen negativnim tumorima bilo je 55,1 godina, dok su bolesnice sa estrogen pozitivnim receptornim statusom bile značajno starije, sa prosečnim životnim dobom od 60,4 godine. Istovremeno, bolesnice sa progesteron negativnim tumorima bile su prosečno mlađeg životnog doba u odnosu na žene sa progesterone pozitivnim receptornim statusom. Ovi nalazi su u skladu sa većinom podataka iz literature (11).

2.2.2. Genetski faktori u nastanku karcinoma dojke

Kod manje od 10% obolelih žena radi se o naslednom karcinomu dojke, što znači da su one ili od oca ili od majke nasledile promene (mutacije) na genima označenim kao BRCA1 i BRCA2. Ove mutacije povećavaju životni rizik i od karcinoma dojke (50–85%) (5).

Osim sporadičnog i naslednog karcinoma dojke, postoji i tzv. familijarni karcinom koji se opisuje sa najmanje dva slučaja karcinoma dojke u široj porodici i obuhvata oko 20% svih slučajeva karcinoma dojke. Mutacije u BRCA1/2 genima, sem nasledne predispozicije za karcinom dojke, određuju i naslednu predispoziciju za nastanak karcinoma jajnika. Oko 65% slučajeva naslednog karcinoma dojke kod žena povezano je sa prisustvom mutacija u BRCA1/2 genima, dok je u porodicama obolelim od karcinoma dojke i jajnika s ovim mutacijama povezano preko 90% slučajeva, što ukazuje na to da se BRCA1/2 testiranjem ne obuhvata ceo korpus nasledne predispozicije (12, 13).

U slučaju dijagnostikovanog karcinoma dojke kod jednog ili više bliskih srodnika (majka, bake, rođene sestre, ćerke, kao i muški srodnici) rizik od rasta karcinoma dojke je dva puta veći nego kod žena sa negativnom porodičnom anamnezom (1).

Porodična istorija karcinoma dojke: Srodstvo u prvom kolenu sa obolelim od raka dojke povećava rizik od razvoja iste bolesti, posebno ako je ovaj srodnik imao manje od 45 godina u trenutku postavljanja dijagnoze. U slučaju da je više članova porodice obolelo od karcinoma dojke i/ili jajnika u ranoj mladosti, može se posumnjati u genetsku predispoziciju. BRCA1 i BRCA2 su dva glavna gena odgovorna za slučajevne nasledne forme karcinoma dojke. Ukoliko je prisutna BRCA1 mutacija, životni rizik od obolevanja od karcinoma dojke je 80–85%, sa 60% verovatnoće da će bolest biti obostrana. Rizik od naknadnog obolevanja od karcinoma dojke i smrtnosti je smanjen zahvaljujući sprovođenju zaštitne (preventivne) hirurgije. Pažljiva genetska procena i psihološko savetovanje obavezni su pre takve operacije (13).

Ne postoji grupisanje mutacija u određenim regionima BRCA1/2 gena, već se mutacije raspoređuju celom njihovom dužinom. Do sada je otkriveno skoro 2.000 mutacija u svakom od ovih gena. Nemaju sve mutacije podjednak značaj u odnosu na rizik za nastanak karcinoma dojke i/ili jajnika – osim štetnih mutacija, u ovim genima je otkriven i veliki broj benignih polimorfizama (13, 14).

Životni rizik za nastanak karcinoma kod nosilaca BRCA1/2 mutacija (13, 15):

- Rizik za obolevanje od karcinoma dojke povezan sa pojavom mutacija u BRCA1/2 genima odnosi se samo na maligne tumore dojke epitelnog porekla;
- Identifikacija mutacija u BRCA1/2 genima se može koristiti samo za procenu rizika za nastanak bolesti, s obzirom na to da ne moraju svi nosioci BRCA1/2 mutacija obavezno i da obole;
- Rizik za nastanak BRCA1/2 vezanog karcinoma dojke kod žena iznosi 45–87%;
- BRCA1/2-zavisani karcinomi dojke se javlja u mlađem životnom dobu – žene nosioci mutacija imaju 33–50% šanse da dobiju karcinom dojke pre 50. godine života;
- Prisustvo BRCA1/2 mutacija povećava rizik za nastanak bilateralnog karcinoma dojke – za BRCA1 rizik iznosi 64%, a za BRCA2 50%;
- Povećava se i životni rizik za nastanak muškog karcinoma dojke – rizik vezan za BRCA2 mutacije iznosi 6,9%.

Kako prepoznati osobe sa rizikom za naslednu formu bolesti: Prisustvo oštećujućih mutacija u BRCA1/2 genima ukazuje na mogućnost obolevanja zdravih osoba (13, 16).

Kriterijumi za prepoznavanje osoba sa rizikom za BRCA-zavisni karcinom dojke: U slučaju da je makar jedan od navedenih kriterijuma ispunjen, preporučuje se upućivanje pacijenta u Genetsko savetovalište za nasledni karcinom (Tabela 1).

Tabela 1. Kriterijumi za prepoznavanje osoba sa rizikom za BRCA-zavisni karcinom dojke

Rb	Kriterijumi za prepoznavanje osoba sa rizikom za BRCA-zavisni karcinom dojke
1	Pozitivna porodična istorija na karcinom dojke, posebno u mlađem životnom dobu (najmanje dva slučaja karcinoma dojke sa iste strane porodičnog stabla do 50. godine života)
2	Pojava karcinoma jajnika (sa pozitivnom porodičnom istorijom u odnosu na karcinom dojke ili karcinom jajnika)
3	Pojava multiplih karcinoma kod iste bolesnice (karcinom dojke i karcinom jajnika)
4	Bilateralni karcinom dojke (prvi otkriven pre 50. godine života)
5	Pojava karcinoma dojke kod mladih osoba (do 35. godine života)*, čak i bez pozitivne porodične istorije
6	Pojava karcinoma dojke kod muškarca
7	Srodstvo sa nosiocem BRCA1/2 mutacije
8	Poreklo od Aškenazi Jevreja**

* smatra se da 20–40% mladih osoba sa karcinomom dojke, a bez pozitivne porodične istorije, nosi BRCA1/2 mutacije

** Aškenazi Jevreji predstavljaju populaciju pod rizikom za nasledni karcinom dojke, jer imaju veću učestalost BRCA1 i BRCA2 mutacija nego ostale etničke grupe

Prilagođeno prema izvoru: Branković-Magić M. Nasledni karcinom dojke, pregled: Vodič dobre kliničke prakse za dijagnostikovanje i lečenje raka dojke. Beograd: Ministarstvo zdravlja Republike Srbije; 2013. str. 12

Potreba za genetskim testiranjem nasledne predispozicije za karcinom dojke i/ili jajnika prepoznata je u okviru programa „Srbija protiv raka“ (4. Prevencija, pod 4.6.2. Skrining učestalosti i spektra genskih alteracija koje dovode do nasledne predispozicije za karcinoma u Republici Srbiji (korak 26)). Ceo proces genetskog testiranja, kao i zbrinjavanje ispitanika sa BRCA1/2 mutacijama nije obuhvaćen zakonskim ili podzakonskim aktima Republike Srbije. Zato je predloženo sledeće (13):

- Genetsko testiranje treba da se izvodi u visokospecijalizovanim ustanovama tercijarne zdravstvene zaštite od strane specijalno obučenog multidisciplinarnog tima.

- Osoba koja treba da se testira obaveštava se o ograničenjima i benefitima genetskog testiranja i daje svoj pristanak za testiranje.
- U prvom koraku (pretest intervju) se procenjuje rizik za nastanak naslednog karcinoma uz upotrebu analize rodoslova.
- Rodoslov, po pravilu, treba da sadrži podatke za tri generacije u porodici i da obuhvata srodnike prvog, drugog i trećeg naslednog reda osobe koja se testira.
- Uz rodoslov se upotrebljava i neki od modela za procenu rizika da bismo odredili da li porodična istorija ukazuje na sporadični ili nasledni kancer – granica za životni rizik koji se može smatrati visokim varira i najčešće se definiše kao rizik $\geq 30\%$, što i mi preporučujemo.
- S obzirom na to da se u ovom koraku procenjuje i verovatnoća pronalaženja BRCA1/2 mutacija kod osobe sa rizikom za nasledni karcinom, preporuka je da se ova dva podatka kombinuju u donošenju odluke za sprovođenje genetskog testiranja.
- BRCA1/2 testiranje se izvodi iz uzorka periferne krvi ispitanika.
- Mutacije u BRCA1/2 genu se detektuju metodom sekvenciranja (celi kodirajući region). Kao pretest metoda primenjuje se HRM (eng. *High Resolution Melting*). Veliki genski rearanžmani se detektuju MLPA (eng. *Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification*) metodom.
- Rezultat laboratorijskog testiranja BRCA1/2 gena može biti negativan (odsustvo mutacija) i pozitivan (prisustvo štetnih mutacija).
- Odsustvo BRCA1/2 mutacija u porodici pod sumnjom za nasledni karcinom nije pravi negativan rezultat, jer može da postoji rizik vezan za mutacije u za sada nepoznatim genima.
- Ispitanici sa negativnim rezultatom iz porodica sa već opisanim štetnim BRCA mutacijama ne nose rizik za nastanak naslednog karcinoma dojke.
- Rezultat testiranja može biti i neklasifikovana varijanta čiji je uticaj na nastanak maligne bolesti nepoznat.
- Ispitanici čiji je rezultat testiranja pozitivan na prisustvo štetnih mutacija zahtevaju posttest savetovanje vezano za izbor metode za smanjenje rizika ili kliničkog praćenja i posledice po potomstvo koje implikuju testiranje krvnih srodnika.

Preporuke za praćenje zdravih osoba sa BRCA1/2 mutacijama (13):

- Samopregledi dojke počev od 18. godine života, jednom mesečno.
- Klinički pregledi dojke, počev od 25. godine života, dva puta godišnje.
- Radiografski pregledi, od 25. godine života, uključujući i mamografiju jednom godišnje.
- Nema konsenzusa u odnosu na godine otpočinjanja pregleda dojki magnetnom rezonancom – npr. od 25. godine (NCCN preporuke) ili između 30. i 49. godine života (NICE preporuke).
- Nosioци BRCA1/2 mutacija trebalo bi da se podvrgavaju i kliničkom praćenju za karcinom jajnika (žene) i karcinom prostate (muškarci).
- Za karcinom jajnika – ginekološki pregled sa transvaginalnim ultrazvukom i određivanjem CA-125 serumskog markera dva puta godišnje, posle 35. godine života.
- Metode kliničkog praćenja ne smanjuju rizik od obolevanja, već samo dozvoljavaju da se bolest otkrije u ranoj fazi kada je izlečiva.

Metode za redukciju rizika od obolevanja kod zdravih osoba sa BRCA1/2 mutacijama (13, 17, 18, 19):

- Promena načina života – adekvatan način ishrane, regulacija telesne težine, fizička aktivnost i prestanak konzumiranja alkohola smanjuju rizik od obolevanja.
- Smanjenje rizika primenom lekova koji se inače koriste u endokrinoj terapiji karcinoma dojke (Tamoksifen, Raloksifen, inhibitori aromataze) još uvek nije rutinsko.

Hirurške metode za redukciju rizika (13):

- Bilateralna mastektomija redukuje rizik za nastanak karcinoma dojke za najmanje 90%.
- Bilateralno odstranjivanje jajnika, zajedno sa odstranjivanjem jajovoda, smanjuje rizik za nastanak karcinoma jajnika (oko 97%), kao i rizik za nastanak karcinoma dojke (redukcija rizika kod premenopauzних žena od

preko 60%) – preporučuje se posle ranijeg završetka reproduktivnog ciklusa (35. godina života).

- Žene koje se podvrgavaju ovim metodama treba da budu upoznate sa svim alternativama u lečenju, rizicima i benefitima hirurgije za redukciju rizika, a u slučaju bilateralne mastektomije i s mogućnošću rekonstrukcije dojki.

Nosioci BRCA1/2 mutacija oboleli od karcinoma dojke – oboleli od BRCA1/2-zavisnog karcinoma dojke leče se u skladu sa klasičnim parametrima prognoze (TNM, gradus tumora, histologija, godine obolevanja itd) i biomarkerima tumora (receptori za steroidne hormone i Her2, Ki67 itd). Tumori sa BRCA1/2 mutacijom su osetljiviji na primenu derivata platine. Trebalo bi imati u vidu da se znanja iz oblasti molekularne genetike rapidno uvećavaju, kao i da nekada preliminarni podaci veoma brzo nalaze kliničku primenu. Zbog svega toga, u oblasti naslednog karcinoma dojke je neophodna fleksibilnost pri primeni datih preporuka na individualne porodice pod rizikom za nasledni kancer (13).

2.2.3. Faktori spoljašnje sredine

U grupu specifičnih karcinogena koji utiču na pojavu i razvoj karcinoma dojke ubrajaju se (20):

- izloženost jonizujućem zračenju (naročito kod mlađih žena),
- izloženost hemijskim agensima,
- virusne infekcije.

Izloženost jonizujućem zračenju je posebno registrovana kod žena koje su u mladosti (pubertetu) lečene od limfoma zračnom terapijom, pri čemu su u zračnom polju bile delimično i dojke. *Radioterapija dojke tokom detinjstva ili odrastanja:* Podvrgavanje radioterapiji u toku detinjstva ili odrastanja povećava rizik obolevanja od karcinoma dojke u odraslom životnom dobu. Tako su, na primer, atomske bombe bačene na Hirošimu i Nagasaki značajno povećale pojavu karcinoma dojke na tom području nakon latentnog perioda od oko 20 godina. Naime, najveća incidencija je opažena kod žena koje su u

trenutku eksplozije imale 10–14 godina, a do dijagnoze karcinoma dojke dolazilo se najčešće između njihove 30. i 49. godine (6).

Izloženost hemijskim agensima: Hormonska kontraceptivna sredstva blago povećavaju rizik (1,24 puta) tokom uzimanja lekova, ali se ovaj rizik gubi nakon 10 godina od prekida terapije. Hormonska supstituciona terapija (HST) nakon ulaska u menopauzu do dva puta povećava rizik od raka dojke (RD), ali ovaj uticaj prestaje pet godina nakon prestanka uzimanja HST (5).

Korišćenje lekova koji sadrže estrogen i progesteron (1):

- Povećava rizik od raka dojke, posebno pre prve trudnoće. Ako žena nije koristila kontraceptivnu pilulu u periodu od 10 godina, povećan rizik za karcinom dojke od ovakvih lekova više ne postoji.
- Upotreba hormonske terapije kao nadoknada prirodnim hormonima nakon menopauze povećava rizik od razvoja karcinoma dojke. Povećan rizik je potvrđen za hormonsku nadoknadnu terapiju koja podrazumeva kombinaciju estrogena i progesterona, a u manjoj meri za hormonsku terapiju koja uključuje samo estrogen. Povećan rizik od raka dojke je prisutan kod trenutnog ili nedavnog korišćenja pomenute terapije. Među korisnicima koji su obustavili hormone kao zamensku terapiju nadoknade u periodu od najmanje pet godina, rizik nije veći u odnosu na nekoga ko nikada nije dobio hormone kao nadoknadnu terapiju.

Nekoliko godina unazad, raste broj dokaza o potencijalno štetnom riziku od izlaganja veštačkim supstancama koje imaju hormonsku aktivnost. Nekoliko epidemioloških studija ukazuje na značaj različitih organohlorinih pesticida koji zaostaju u životnom okruženju duže vreme, kao i u masnom tkivu različitih životinja, uključujući i čoveka. Na osnovu eksperimenata na životinjama postavljena je i hipoteza o virusima kao mogućim uzročnicima karcinoma dojke. Istraživanja su pokazala da retrovirus i Epstein–Barrov virus mogu imati kancerogeni efekat (20).

Spoljni činioci vezani za virusne infekcije su povećano konzumiranje alkohola, izloženost jonizujućem zračenju (prirodnom i veštačkom), pušenje, dugotrajno farbanje kose i stres.

Do virusa, kao etiološkog faktora za rak dojke, došlo se 1936. godine otkrićem Bittnera da filtrabilni agens, zvan virus tumora dojke miša (eng. *Mouse Mammary Tumor Virus*, MMTV), prenosiv majčinim mlekom, uzrokuje karcinom dojke kod miške dojenčadi. MMTV je posle potvrđen kao retrovirus. Posledično, postoje nagoveštaji postojanja jednakog virusa u tumoru dojke kod čoveka, ali rezultati istraživanja nisu uverljivi (6).

2.2.4. Životni stil kao faktor rizika

Životni stil može biti faktor rizika za obolevanje od karcinoma dojke. Nedovoljno vremena provedenog u šetnji na čistom vazduhu, smanjena fizička aktivnost, loše navike u ishrani, stresan način života i druge slične navike mogu doprineti povećanju rizika.

Faktori rizika koji dovode do pojave karcinoma dojke vode poreklo iz životne i radne sredine, a vezani su za prisustvo štetnih navika kod ljudi, mada se ne može zanemariti i nasledna komponenta (6):

- Kod žena sa višim stepenom obrazovanja, koje žive u zapadnim zemljama povećan je rizik za razvoj karcinoma dojke.
- Prekomerna težina ili gojaznost povećavaju rizik za obolevanje od karcinoma dojke, posebno nakon menopauze. Žene ispod 50 godina imaju malo ili nimalo uvećan rizik povezan sa povećanom telesnom masom (TM), dok žene iznad 60 godina sa 10 kg povećanom TM imaju oko 80% povećan rizik od razvoja RD. Kod gojaznih bolesnica s ovim karcinomom značajno je zastupljenija visceralna tj. duboka abdominalna gojaznost koja se može proceniti pomoću CT.
- Alkohol i pušenje: rizik za obolevanje od karcinoma dojke povećava se upotrebom alkohola i cigareta, iako mehanizami nisu sasvim jasni. Konzumiranje alkohola po nekim studijama povećava rizik od razvoja RD; veći broj prospektivnih studija pokazao je signifikantnu povezanost, dok umerena konzumacija alkohola sigurno deluje protektivno. Vrednosti selena u serumu bolesnica s RD je značajno manji nego u zdravoj populaciji. Vitamin A i povećano konzumiranje povrća i voća smanjuju rizik. U

mediteranskim zemljama, kod žena koje konzumiraju maslinovo ulje, zabeležena je manja incidencija.

Faktori rizika koji ne utiču direktno, ali su u fazi ispitivanja (21):

- visokokalorijske dijetе
- antiperspiranti
- grudnjaci
- indukovani abortusi
- implantanti u dojkama
- hemikalije u okruženju
- pušenje
- noćni rad
- nedovoljna higijena dojki.

Faktori rizika na koje se može uticati: konzumacija alkohola – do 1,5 puta veći rizik ako se konzumira ≥ 15 g alkohola svakodnevno, što je sadržano u, na primer, tri i više čaša vina, gojaznost – gojazne žene sa indeksom telesne mase (BMI) > 30 imaju do dva puta veći rizik, i fizička aktivnost – slaba fizička aktivnost povećava rizik do dva puta (5).

2.2.5. Reproductivni faktori rizika

Hormonski faktori – izloženost estrogenu i progesteronu tokom života (5):

- Kod žena čiji je menstrualni period počeo pre dvanaeste godine i završen je nakon 55 godina starosti, rizik od razvoja karcinoma dojke je povećan;
- Kod žena koje nisu imale dece ili su svoje prvo dete dobile nakon što su navršile 30 godina.

Faktor povezan sa manjim rizikom za nastanak karcinoma dojke je dojenje koje smanjuje rizik za oko 4% sa svakom godinom dojenja. Broj porođaja je obrnuto proporcionalno povezan s nastankom tumora (7).

2.2.6. Endokrini faktori

Endokrini faktori karcinoma dojke su različiti, a neki od njih su sledeći (5):

- Lična istorija: postojeći karcinom dojke povećava rizik od pojave raka na drugom delu dojke ili u drugoj dojci.
- Istorija određenih benignih promena u dojci: rizik od karcinoma dojke posebno je izražen kod žena čije su dojke bile u stanju atipične lobularne hiperplazije i atipične duktalne hiperplazije.
- Gustina žlezdanog tkiva: povećana gustina žlezdanog tkiva četiri puta povećava rizik od nastanka karcinoma dojke (jedno ispitivanje pokazalo je da je gustina žlezdanog tkiva veća kod žena koje konzumiraju pivo i belo vino, kao i to da žene koje žive u gradovima imaju veću gustinu dojki od žena u seoskim sredinama);
- Izmena građe žlezdanog tkiva dojke: proliferativne promene u žlezdanom tkivu, kao što je netipična hiperplazija, koje se dijagnostikuju pregledom patologa nakon biopsije sumnjive promene u dojci dva do četiri puta povećavaju rizik od karcinoma dojke. Jedna od ovakvih promena je i lobularni karcinom *in situ* (LCIS) koji nije karcinom, ali jeste faktor koji označava povećan rizik od nastanka raka bilo u jednoj ili u drugoj dojci.

Endokrini činioci su povezani s endogenim hiperestrogenizmom, a egzogeni unos se dovodi u vezu sa uzimanjem oralnih kontraceptiva hormonskim dodatnim lečenjem. Najčešće pominjani rizični činioci jesu: dugo trajanje generativnog razdoblja (ranija menarha i kasnija menopauza), neplodnost, kasno doba pri rađanju prvog deteta i gojaznost. Uticaj fizičke aktivnosti na vreme dobijanja menstruacije od velikog je značaja; tako devojke koje se redovno bave baletom, plivanjem ili trčanjem imaju kasniju menstruaciju. Jedna studija je pokazala da su devojke koje su se bavile baletom menstruaciju dobile sa 15,4 godina za razliku od kontrolne grupe koja je menstruaciju imala sa 12,5 godina. Postoje nalazi

povezanosti hiperestrinizma s fibrocističnom epitelnom hiperplazijom, skromno povećanog (premda osporavanog) rizika određenog egzogenim estrogenima: duga upotreba oralnih kontraceptiva (OK) ili hormonske terapije za nadoknađivanje (HNL) u menopauzi, i retkosti karcinoma dojke kod kastriranih devojaka pre puberteta. O uticaju OK i HNL na RD je objavljeno mnogo studija čiji su rezultati kontroverzni, a jedini jasan zaključak je da ne štite od karcinoma dojke. Normalni epitel dojke poseduje estrogenske i progesteronske receptore. Oni su potvrđeni samo kod nekih, ali ne i svih karcinoma dojke. Čelije karcinoma dojke kod žena izlučuju različite faktore rasta (*Transforming Growth Factor alpha* – TGF- α , *Platelet-Derived Growth Factor* – PDGF). Proizvodnja tih činilaca rasta uslovljena je estrogenima i moguće je da međudelovanje cirkulišućih hormona, hormonskih receptora tumorskih ćelija i autokrinih činilaca rasta indukovanih tumorskim ćelijama ima ulogu u progresiji karcinoma dojke. U pokušaju da se predvidi odgovor na hormonsku terapiju sada se koristi određivanje količine receptora u tkivima biopsijom. U postmenopauzi, veći izvor estrogena je masno tkivo u kojem se vrši konverzija adrenalnog androgena, androstenediona u estron. Takođe, psihijatrijske bolesnice imaju 3,5 puta veću incidenciju karcinoma dojke u odnosu na ostale bolesnice, tj. 9,5 puta veću u odnosu na opštu žensku populaciju (6).

Postoje i čvrsti dokazi koji idu u prilog velikom značaju seksualnih steroidnih hormona (androgen, estrogen, progesteron) u razvoju tumora dojke. Verovatnoća pojave karcinoma dojke je veća posle menopauze kada se zaustavlja ovarijalna sinteza estrogena i progesterona i dok se ovarijalna produkcija androgena postepeno smanjuje. Rizik od karcinoma dojke direktno zavisi od izloženosti tkiva dojke dejstvu estrogena. Eksperimenti u *in vitro* uslovima pokazuju da estrogeni utiču na povećavanje indeksa proliferacije ćelija dojke i inhibiraju proces apoptoze. Rizik je dodatno povećan kod postmenopauznih žena koje imaju povišen nivo testosterona i androstenediona, redukovane nivoe globulina koji se vezuje za seksualne hormone (engl. *Sex Hormone-Binding Globuline*, SHBG) i povećanje nivoa estrona, estradiola koji se ne vezuju sa SHBG. Jedna od važećih hipoteza „estrogen plus progesteron“, postulira da se rizik od karcinoma dojke dalje povećava kod žena. Hronična hiperinsulinemija može dovesti do povećane ovarijalne ili adrenalne sinteze seksualnih steroida, naročito androgena, i smanjenja hepatičke sinteze SHBG i njegovog nivoa u cirkulaciji. Pogotovo kod žena u postmenopauzi, povećanje androgena u plazmi dovodi do povećanja sinteze estrogena u adipoznom tkivu i otuda povećanje estrona i estradiola, što sve zajedno znatno povećava rizik od pojave i razvoja karcinoma dojke (21).

2.2.7. Benigne bolesti dojke

Benigna stanja dojke se dele u tri grupe (6, 21):

- *Neproliferativne lezije.* To su stanja dojke koja vrlo malo utiču na dalji razvoj karcinoma i nisu povezana sa rastućim promenama u dojci: fibrocistična bolest, srednje teška hiperplazija, adenoza (nesklerizirajuća), jednostavan fibroadenom, masna nekroza, mastitis, jednostavan papilom itd.
- *Proliferativne lezije bez atipije.* U ovim stanjima postoji ekscesivan rast ćelija u duktalnim lobusima dojke, što povećava rizik za nastanak karcinoma od 1,5 do 2 puta. To su: duktalna hiperplazija, složen fibroadenom, sklerozirajuća adenoza, papilomatoza, radijalni ožiljak.
- *Proliferativne lezije sa atipijom.* U ovim stanjima postoji ekscesivan rast ćelija dojke ali sa deformacijom ćelija tj. atipijom. Tu spadaju atipična duktalna hiperplazija (ADH) i atipična lobarna hiperplazija (ALH).

Atipična duktalna hiperplazija povećava rizik od nastanka karcinoma dojke 4 do 5 puta, a sklerozirajuća adenoza i papilomatoza za 1,5 do 2 puta (22).

2.3. Prognostički i prediktivni parametri karcinoma dojke

Karcinom dojke je zloćudni (maligni) tumor koji nastaje iz žlezdanog tkiva dojke, tkiva čija je uloga da stvara mleko kod žene posle porođaja. Najvažniji prognostički faktori kod ranog karcinoma dojke jesu (23):

- zahvaćenost limfnih čvorova pazušne jame
- veličina tumora
- ekspresija estrogenskih i progesteronskih receptora (ER/PR)

- ekspresija receptora humanog epidermalnog faktora rasta 2 (HER2)
- tumorska histologija
- stepen histološke diferencijacije tumora
- marker proliferacije
- prisustvo limfovaskularne invazije.

U novije imunobiološke faktore potencijalnog, kao i dokazanog prognostičkog i prediktivnog značaja za karcinom dojke, ubrajaju se steroidni hormonski receptori, tumorsupresor geni, onkogeni i njihovi produkti, faktori rasta, indeks proliferacije, ploidijska, kao i tumorska angiogeneza (11, 24).

Tabela 2 prikazuje prognostičke činioce karcinoma dojke, a najznačajniji doprinos dat je na nivou istraživanja molekularne biologije u smislu pronalaženja parametara prognoziranja (6).

Tabela 2. Prognostički faktori karcinoma dojke

Prognostički faktori raka dojke
Starost bolesnice
Gojaznost
Odnos tumora i bazalne membrane
Veličina primarnog tumora
Histološki tip tumora
Histološka diferenciranost tumora
Proliferativna sposobnost tumorskih ćelija (mitotski indeks, indeks obeleženih ćelija sa 3H timidinom-LI)
Karakteristika upalnog infiltrata u tumoru i njegovoj periferiji
Prisutnost venske invazije
Status limfnih čvorova (broj, mesto i veličina pozitivnih limfnih čvorova)
Postojanje metastaza i njihova lokacija
Sadržaj estrogenskih i progesteronskih receptora
Ploidnost (količina DNK – DNK indeks)
S frakcija (procenat ćelija u S-fazi deobe)
Nuklearni antigen proliferirajućih ćelija (PCNA)
Proliferacijski marker MB-1

Ekspresija HER2/neu onkogen
Ekspresija tumor-supresornog gena p53
Ekspresija tumor-supresornog gena MMP-2
Ekspresija tumor-supresornog gena nm23
Ekspresija receptora za epidermalni faktor rasta (EGFR)
Ekspresija receptora za laminin (LR)
Ekspresija srp-27 proteina
Ekspresija katepsina D
Nivo 5-hidroksimetil-2'-deoksiuridina u DNK

Prilagođeno prema izvoru: Karelović D. Pilot projekat - Rak dojke - CARNET PROJECT. Split: Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu; 2000. Dostupno na <http://www.kbsplit.hr/rakdojke>

2.3.1. Određivanje kliničkog stadijuma raka dojke

Određivanje kliničkog stadijuma dojke vrši se prema TNM klasifikaciji.

Tabela 3. TNM klasifikacija karcinoma dojke

TNM klasifikacija raka dojke
Tx Primarni tumor se ne može dokazati
T0 Nepalpabilan tumor
Tis Preinvazivni rak (<i>carcinoma in situ</i>), neinfiltrirajući intraduktalni rak
T1 Tumor ≤ 2 cm
T1a Tumor > 0,5 cm
T1b Tumor od 0,5 do 1 cm
T1c Tumor od 1 do 2 cm
T2 Tumor od 2 do 5 cm
T3 Tumor > 5 cm
T4 Tumor bilo koje veličine s direktnim širenjem na zid grudnog koša ili kožu (zid grudnog koša obuhvata: rebra, interkostalnu muskulaturu i <i>musculus serratus anterior</i> , ali ne i pektoralni mišić)
T4a Zahvaćen zid grudnog koša
T4b Edem, prožimanja ili ulceracija kože dojke (uključujući i <i>peau d'orange</i>) ili okolni kožni čvorići, u području iste dojke
T4c Obuhvata T4a i T4b
T4d Inflamatorni karcinom
PNx Regionalni limfni čvorovi se ne mogu odrediti (nisu uklonjeni radi ispitivanja ili su prethodno uklonjeni)
pN0 Regionalni limfni čvorovi nisu zahvaćeni (bez metastaze)
pN1 Istostrani pazušni limfni čvorovi su zahvaćeni i pokretni
pN2 Istostrani pazušni limfni čvorovi srasli međusobno ili na susedne structure

pN3 Zahvaćeni su istostrani unutrašnji limfni čvorovi unutar dojke
Mx Metastaze se ne mogu odrediti
M0 Nema dokaza udaljenih metastaza
M1 Udaljene metastaze (uključujući metastaze u istostrane supraklavikularne limfne čvorove)
pN1a Mikrometastaze, manje od 0,2 cm
pN1b Metastaze u jednom ili više limfnih čvorova veće od 0,2 cm
pN1bI Metastaze u jednom do tri limfna čvora, veličine 0,2 do 2 cm
pN1bII Metastaze u 4 ili više limfnih čvorova, veličine 0,2 do 2 cm
pN1bIII Tumor prelazi kapulu limfnog čvora i manji je od 2 cm
pN1bIV Metastaze u limfnom čvoru veličine 2 cm ili veće

Prilagođeno prema izvoru: Marković I. TNM klinička klasifikacija. Vodič dobre kliničke prakse za dijagnostikovanje i lečenje raka dojke. Beograd: Ministarstvo zdravlja Republike Srbije; 2013. str. 50.

Osnovu za klasifikaciju zloćudnih tumora, prema njihovoj rasprostranjenosti, dao je Francuz Pierre Denoix u razdoblju između 1943. i 1953. godine (Tabela 3). On je tumor (T) svrstao prema tome da li je zahvatio i regionalne limfne čvorove – noduse (N) ili je već stvorio i udaljene metastaze (M) (Tabela 4). Prihvaćena TNM klasifikacija UICC (*International Union against Cancer*), koja je 1987. godine doživela promene u smislu približavanja UICC i AJC (*American Joint Commission on Cancer Staging and End Results Reporting*) rezultat je kliničkog, radiološkog i laboratorijskog pregleda (6).

Tabela 4. Klinička klasifikacija regionalnih limfnih čvorova (N)

Klinička klasifikacija regionalnih limfnih čvorova (N):
NX – regionalni limfni čvorovi se ne mogu proceniti (npr. prethodno su uklonjeni)
N0 – regionalni limfni čvor bez metastaze
N1 – metastaza u pokretnom istostranom aksilarnom limfnom čvoru/čvorovima nivoa I i II
N2 – metastaze u istostranom aksilarnom limfnom čvoru/čvorovima nivoa I i II, klinički fiksirani ili sliveni ili klinički evidentnom istostranom limfnom čvoru/čvorovima oko arterije mamarije interne (ili unutrašnje mamarne arterije) u odsustvu klinički evidentnih metastaza u aksilarnim limfnim čvorovima
N2a – metastaze u aksilarnom limfnom čvoru/čvorovima fiksirane međusobno (slivene) ili za druge strukture
N2b – metastaze samo u klinički evidentnom limfnom čvoru/čvorovima oko arterije mamarije interne (ili unutrašnje mamarne arterije) u odsustvu klinički evidentiranih metastaza u aksilarnim limfnim čvorovima.
N3 – metastaze u istostranom infraklavikularnom (nivo III aksile) limfnom čvoru/čvorovima sa ili bez zahvatanja limfnih čvorova nivoa I i II aksile ili u klinički evidentnom limfnom čvoru/čvorovima oko arterije mamarije interne (ili unutrašnje mamarne arterije) sa klinički evidentnim metastazama u aksilarnim limfnim čvorovima ili

metastaza u istostranom supraklavikularnom limfnom čvoru/čvorovima sa ili bez zahvatanja aksilarnih ili limfnih čvorova oko arterije mamarije interne
N3a – metastaze u infraklavikularnom limfnom čvoru/čvorovima
N3b – metastaze u limfnom čvoru/čvorovima aksile ili oko arterije mamarije interne
N3c – metastaze u supraklavikularnom limfnom čvoru (čvorovima)

Prilagođeno prema izvoru: Marković I. TNM klinička klasifikacija. Vodič dobre kliničke prakse za dijagnostikovanje i lečenje raka dojke. Beograd: Ministarstvo zdravlja Republike Srbije; 2013. str. 51.

Stepenovanje (eng. *staging*) je svrstavanje obolelih u grupe, na osnovu proširenosti bolesti. Ono je važno zbog lečenja, prognoze i upoređivanja različitih vidova lečenja (6).

Grupisanje po stadijumima prikazano je u Tabeli 5.

Tabela 5. Grupisanje po stadijumima

Stadijumi karcinoma dojke prema TNM klasifikaciji				Opis
Stadijum 0	Tis	N0	M0	Abnormalne ćelije su i dalje prisutne u mlečnom kanalu gde su se prvobitno pojavile.
Stadijum IA	T1 *	N0	M0	Veličina tumora je manja od 2 cm u dijametru i male grupe karcinomskih ćelija mogu biti prisutne u limfnim čvorovima.
Stadijum IB	T0, T1*	N1mi	M0	Tumor dojke stadijuma I je podeljen na IA i IB stadijum.
Stadijum IIA	T0, T1*	N1	M0	Tumor je ili manji od 2 cm u dijametru i proširio se na limfne čvorove u pazuhu ili je veličina tumora između 2 cm i 5 cm u dijametru, bez zahvaćenosti limfnih čorova u pazušnoj jami. Tumor dojke stadijuma II je podeljen na stadijume IIA i IIB.
	T2	N0	M0	
Stadijum IIB	T2	N1	M0	
	T3	N0	M0	
Stadijum IIIA	T0	N2	M0	Tumor može biti bilo koje veličine, ali je: – zahvatio grudni koš i/ili kožu dojke – zahvatio najmanje 10 limfnih čvorova pazušne jame ili su limfni čvorovi vezani jedni za druge ili za druge strukture – zahvatio limfne čvorove blizu grudne kosti – zahvatio limfne čvorove ispod ili iznad ključne kosti.
	T1*	N2	M0	
	T2	N2	M0	
	T3	N1,N2	M0	
Stadijum IIIB	T4	Svi N	M0	
Stadijum IIIC	Svi T	N3	M0	Tumor dojke stadijuma III je podeljen na stadijume IIIA, IIIB i IIIC.
Stadijum IV	Svi T	Svi N	M1	Tumor je zahvatio ostale organe tela, najčešće kosti, pluća, jetru ili mozak. Takvi udaljeni depoziti tumorskog tkiva se nazivaju metastaze.
Napomene	*T1 uključuje T1 mic			

Prilagođeno prema izvoru: Marković I. TNM klinička klasifikacija. Vodič dobre kliničke prakse za dijagnostikovanje i lečenje raka dojke. Beograd: Ministarstvo zdravlja Republike Srbije; 2013. str. 54. i European Society for Medical Oncology (ESMO), Anticancer Fund – Udruženje žena obolelih i lečenih od raka dojke, dostupno na <http://budimozajedno.rs/epidemiologija-raka-dojke/>

2.3.2. Veličina tumora

Veličina tumora je jedan od važnijih prognostičkih parametara, pogotovo kod bolesnica s negativnim pazušnim limfnim čvorovima. Između veličine tumora i zahvaćenosti limfnih čvorova, kao i veličine tumora i preživljavanja, postoji linearni odnos. Prognostičko značenje veličine tumora nezavisno je od stanja limfnih čvorova. Između veličine tumora i preživljavanja postoji pozitivna korelacija, odnosno bolesnice sa manjim tumorima imaju bolju prognozu. Petogodišnja stopa recidiva je približno 10% za bolesnice sa tumorom manjim od 10 mm, a 30–50% za one sa tumorom od 50 mm i više (25).

Kada je reč o tumorima manjim od 10 mm, uobičajeni prognostički faktori, kao što je histološki gradus, nisu dovoljni da svrstaju pacijentkinje u različite prognostičke kategorije. U ovim slučajevima, postojanje udruženog dukalnog karcinoma *in situ* (DCIS), njegova rasprostranjenost i njegov gradus (G) predstavljaju novoustanovljene značajne prognostičke faktore. Mali invazivni tumor udružen sa ekstenzivnom DCIS G. III komponentom ima lošiju prognozu od malih tumora bez DCIS ili sa DCIS G. I (26).

Kod tumora manjih od 1 cm u promeru, s negativnom aksilom, 20-godišnje preživljavanje bez bolesti je 88%. Pojam minimalni karcinom dojke (eng. *minimal breast carcinoma*) odnosi se na karcinome koji imaju izuzetno dobru prognozu, a obuhvata slučajeve neinvazivnog karcinoma te invazivne karcinome promera do 10 mm (*American College of Surgeons, UK National Breast Screening Programme*). Neki autori, međutim, za granicu uzimaju 5 mm odnosno 9 mm (27).

Prognoza se pogoršava s veličinom tumora, ali je zanimljivo da ekstremno veliki tumori imaju nešto bolju prognozu od tumora srednje veličine. Veličina tumora se može odrediti na razne načine: klinički, mamografski, makroskopski ili mikroskopski. Uobičajni način je makroskopsko merenje najveće dimenzije nefiksiranog tumora (preporučuje se merenje u tri dimenzije, a najveća se uzima kao veličina tumora), ali je najprecizniji način mikroskopsko merenje najvećeg promera invazivne komponente. Važno je da se tumor primi netaknut, što omogućuje da se palpatorno odredi konfiguracija i rezanje tumora duž najvećeg promera (28).

Kod multifokalnih tumora još se ne zna sa sigurnošću da li prognoza korelira s promerom najvećeg žarišta ili zavisi od ukupne veličine svih žarišta zajedno. Prema jednoj studiji, promer najvećeg žarišta je najpouzdanija mera za *staging*, ali je prognoza multifokalnih tumora ipak lošija od unifokalnih tumora sličnih dimenzija (češće aksilarne metastaze). Zato se preporučuje merenje i navođenje veličine svih žarišta (29).

2.3.3. Status limfnih čvorova

Status limfnih čvorova je jedan od najvažnijih prognostičkih faktora u kontroli bolesti kod bolesnica s karcinomom dojke. Nivo zahvaćenosti limfnih čvorova je prognostički vrlo značajan. Metastaze u viši nivo aksile i apeks ukazuju na lošiju prognozu. Bolesnice sa negativnim limfnim čvorovima imaju petogodišnje preživljavanje bez bolesti preko 80%, a ako su čvorovi pozitivni, preživljavanje je ispod 65%. Rizik od pojave recidiva i ukupno preživljavanje zavise od broja zahvaćenih limfnih čvorova (7, 30, 31). Lokalizacija limfnih čvorova unutar pazuha takođe je važna. Pazuh se može deliti u nivoe, zavisno od odnosa prema malom pektoralnom mišiću (ispod, iza i iznad malog pektoralnog mišića – I, II i III nivo). Prognoza je lošija ako su zahvaćeni viši nivoi (II, III). U pravilu, nalazi se progresivno širenje metastaza iz I prema III nivou, ali su moguće i tzv. preskakajuće (eng. *skip*) metastaze (31). Ako se pregledom limfnog čvora (na HE preparatu, imunohistohemijski ili molekularnim metodama) nađu tek pojedinačne tumorske ćelije ili manje nakupine čiji promer nije veći od 0,2 mm, takav nalaz se izdvaja u posebnu kategoriju – izolovane tumorske ćelije – i klasifikuje kao pN0, a spada u klinički stadijum I (zavisno od veličine primarnog tumora) (32). Prognostički lošije značenje ima širenje tumorskog tkiva izvan kapsule limfnog čvora u okolnu mast (ekstranodalno širenje), kao i invazija hilusa (hilarno meko tkivo i/ili eferentne vene). Danas je prihvaćen stav da bi opseg odstranjenja limfnih čvorova iz aksile trebalo da obuhvati nivoe I i II limfnih čvorova. Nivo III limfnih čvorova pazuha rutinski se ne odstranjuje. Takođe, rutinski se ne odstranjuju interpektoralni (Rotterovi) limfni čvorovi prilikom disekcije pazuha, a retko se i nađu. U literaturi se nalaze brojni kontroverzni podaci o tome da li je za klinički negativan pazuh potrebno raditi kompletnu disekciju ili samo biopsiju limfnog čvora stražara tzv. sentinela. Sentinel čvor je prvi pazušni čvor kroz koji prolazi limfatička drenaža dojke (“stražar” na vratima pazuha). Najčešće se radi o jednom čvoru, ali može ih biti i više. Pozitivan ili negativan sentinel određuje da li primeniti disekciju ili ne.

Odstranjenje limfnih čvorova iz pazuha uzrok je postoperacijskog morbiditeta. Gotovo po pravilu, u postoperacijskom toku je praćeno nakupljanje seroma, tj. često žene imaju parestezije područja pazuha koje su trajne, a neretko se razvije i limfedem ruke. U hirurgiji se nastoji izbeći disekcija pazuha kad god je to moguće, a za klinički negativne čvorove biopsija sentinela predstavlja alternativni zahvat. U Europi i SAD su u toku brojne prospektivne randomizirane studije koje će nam doneti odgovore na ta pitanja. Disekcija aksile se ne preporučuje u slučajevima neinvazivnog i mikroinvazivnog karcinoma, kao i kod tubularnih karcinoma manjih od 1 cm (mali rizik zahvaćenosti aksile, dobra prognoza) (31).

Nakon pazuha, drugo po važnosti drenažno područje je u limfne čvorove duž unutrašnje mamarne arterije. Oni su zahvaćeni ukupno u 22% slučajeva, češće kod tumora u medijalnoj polovini dojke i kod pozitivne aksile. Supraklavikularni limfni čvorovi zahvaćeni su u oko 20% slučajeva sa pozitivnom aksilom, a gotovo nikad nisu zahvaćeni kod negativne aksile (33).

2.3.4. Prisustvo udaljenih metastaza

Zloćudni tumori dojke, za razliku od dobroćudnih, imaju osobinu da se šire limfotokom ili krvotokom u organe koji su udaljeni od dojke, kao što su regionalni limfni čvorovi smešteni u istostranoj pazušnoj jami, ali i koštani sistem, jetra ili pluća. Ovaj proces zove se metastaziranje i on je, kao i rast primarnog zloćudnog tumora u dojci, nekontrolisan, što za posledicu ima poremećaj rada organa u kojem metastaze rastu. Međutim, važno je znati da su, ukoliko se karcinom dojke otkrije u ranijim stadijumima, utoliko veće i šanse za izljećenje. Najčešći simptom raka dojke je opipljiv (palpabilni) čvor u dojci, koji neretko žene napipaju same. Drugi znaci koji ukazuju da se razvija tumor u dojci jesu: uvećanje dojke koje vodi u asimetriju dojki (svaka peta žena ima prirodno asimetrične dojke), crvenilo i zadebljala koža, ponekad koža u vidu „pomorandžine kore“, „mreškanje“ ili uvlaćenje kože, uvlaćenje bradavice ili krvavi iscedak iz bradavice. Istovremeno, ako je došlo do proširenja tumora u regionalne limfne čvorove, mogu se napipati i uvećani limfni čvorovi u istostranoj pazušnoj jami. Trebalo bi imati na umu da nisu svi uvećani limfni čvorovi zahvaćeni metastazama. Međutim, danas se preporučuju preventivni pregledi dojki jer postoji mogućnost da se otkrije prisustvo tumora u dojci pre nego što se može napipati.

U tu svrhu rade se klinički pregledi dojki od strane iskusnog lekara, zatim mamografija koja predstavlja rendgenski pregled dojki i, po potrebi, ultrazvučni (UZ) i pregled dojki magnetnom rezonancijom (MR). Takođe, savetuje se da svaka žena jednom mesečno radi samopregled dojki. Na mamografskom pregledu mogu se uočiti tumori u dojkama, kao i promene koje se vide kao sitne bele tačkice a zovemo ih mikrokalifikacijama. Od izgleda i rasporeda mikrokalifikacija u odsustvu tumorske senke zavisi i procena da li je veća verovatnoća da se radi o zloćudnoj ili dobroćudnoj promeni u dojci. U zavisnosti od toga, planiraju se i terapijske intervencije u cilju uzimanja tkiva u kojem postoje mikrokalifikacije za patohistološku analizu. Mamografija je jedina metoda koja se, na osnovu postojećih dokaza, smatra efikasnom u otkrivanju ranih stadijuma karcinoma dojke. Istraživanja pokazuju da se smrtnost od karcinoma dojke smanjuje za 15–30% kod žena koje redovno rade mamografske preglede u životnoj dobi između 50 i 70 godina. Zbog toga postoji preporuka da se skrining mamografije kod ovih žena rade svake dve godine. Nekoliko godina unazad traje debata oko toga kolika je korist od skrining mamografija, uzimajući u obzir da je potrebno da oko 1.400 žena u dobi od 50 do 70 godine radi skrining mamografije tokom 10 godina, kako bi jedna od njih imala korist, a to je prevencija smrtnog ishoda zbog karcinoma dojke. U grupi mlađih žena (40–49 godina) ova korist je još manja: skrining bi tokom 10 godina trebalo da radi 1.900 žena da bi u jednom slučaju prevenirali smrtni ishod. Isto tako, postoji veći rizik i od lažno pozitivnih rezultata, a to je da se zbog mamografskih nalaza sumnjivih na karcinom dojke rade dodatni pregledi i/ili biopsije dojke kako bi se utvrdilo da se radi o benignim promenama. Definitivna dijagnoza karcinoma dojke postavlja se tako što se izvadi deo tkiva tumora (biopsija) ili ceo tumor, i nakon odgovarajuće obrade tkiva, posmatra pod mikroskopom (patohistološki pregled). Pre nego što se donese odluka o definitivnoj terapiji potrebno je odrediti stadijum bolesti. To se postiže kliničkim pregledom i dijagnostičkim procedurama koje većinom uključuju mamografiju, radiografiju pluća, radiografiju ili scintigrafiju kostiju, ultrazvučni pregled abdomena, krvnu sliku i biohemijske analize. Danas je prepoznato nekoliko tipova karcinoma dojke koji se razlikuju po svom ponašanju; neki su sporijeg toka, manje agresivni, dok su drugi skloni brzom širenju u regionalne limfne čvorove i udaljene organe. Isto tako, ovi podtipovi karcinoma dojke razlikuju se po svojoj osetljivosti na različitu antitumorsku terapiju, što omogućava da se svakoj pacijentkinji predloži ona vrsta terapije od koje se mogu očekivati najbolji rezultati. Tako se određuje da li su u tumoru prisutni estrogenski i progesteronski receptori i HER2 (eng. *Human Epidermal*

Growth Factor Receptor 2), koji nam daju odgovor na pitanje da li primeniti hormonsku terapiju ili hemioterapiju, ili njihovu kombinaciju. Više od 50% tumora dojke ima pozitivne estrogene i/ili progesteronske receptore, što govori o tome da je kod ovih žena indikovana hormonska terapija. Prisustvo velikog broja HER2 receptora na površini tumorskih ćelija (HER2 pozitivni karcinom dojke, sreće se u oko 20% svih tumora dojke) označava sklonost tumora ka bržem rastu i širenju u udaljene organe, ali i mogućnost primene biološke (HER2-usmerene) terapije koja je veoma efikasna u lečenju ove bolesti (5).

Metastaze su sekundarno nastale promene, forme koje nisu u dodiru s primarnim tumorom i nalaze se u udaljenim tkivima. Metastaziranje je jedna od najvažnijih karakteristika zloćudnosti, iako svi zloćudni tumori ne metastaziraju. Metastaziranje označava prenošenje malignih ćelija sa primarnog mesta neoplazme na neko drugo, često udaljeno mesto (u drugi organ). Metastaze liče na primarni tumor od koga su nastale, mada su ponekad toliko anaplastične da zamagljuju sopstveno ćelijsko poreklo. Diseminacija tumora se odvija na više načina: limfnim i krvnim sudovima, seroznim šupljinama, likvorom, kanalima (putem bronhija i uretera), perineuralno a retko i presađivanjem, tj. transplantacijom. Danas smo daleko od toga da su svi pacijenti sa metastazama izgubljeni. Ako su solitarne, pojedinačne metastaze, i preko 50% pacijenata se izleči. Najbolju prognozu imaju one vrste malignih tumora koje se dugo lokalno šire, a najbolji rezultati u lečenju metastaza postižu se hirurškim metodama u kombinaciji sa hemioterapijom i radioterapijom. Glavni uzrok neuspeha u lečenju je pojavljivanje udaljenih metastaza (34). Na osnovu dobro određenih prognostičkih faktora kao što su veličina tumora, status limfnih čvorova, histološki gradus, status hormonskih receptora, HER2 i starost pacijentkinje može se predvideti rizik od pojave udaljenih metastaza. Za precizniju dijagnozu bitan je i broj aksilarnih metastaza. Uzrok smrti od karcinoma dojke su njegove metastaze u udaljene organe: pluća, jetra, mozak, kosti i drugo. Ukoliko je metastatska bolest prisutna samo u kostima, takve bolesnice imaju bolju prognozu nego one sa visceralnim metastazama (22).

Poznato je da kod nekih bolesnica tumor metastazira veoma rano, čak pre nego što se dijagnostikuje. Ako se nakon operacije dokažu metastaze u aksilarnim limfnim čvorovima postoji verovatnoća prisustva udaljenih mikrometastaza koje se ne mogu dokazati dijagnostičkim metodama. Mesta udaljenih metastaza u određenom procentu variraju od tipa tumora. Za razliku od duktalnih karcinoma, lobularni karcinomi pokazuju tendenciju

širenja po seroznim površinama. HER2 pozitivni tumori pokazuju sklonost širenja u visceralne organe i centralni nervni sistem. Hormonski pozitivni tumori učestalo se šire u kosti i ostaju ograničeni na njih duži vremenski period. Povrat bolesti kod ER negativnih tumora najčešće se javlja tokom pet godina od momenta postavljanja dijagnoze. ER pozitivni tumori nose postojaniji rizik od povrata bolesti, koji se proteže na 10–15 godina nakon dijagnoze. Zato se kod tih bolesnica nakon hirurškog lečenja sprovodi adjuvantna hemioterapija sa ciljem da uništi mikrometastaze i tako poboljša ukupno preživljavanje (eng. *Overall Survival*, OS). Smatra se da je preživljavanje bolesnica sa 1–3 pozitivna aksilarna limfna čvora za 25% duže nego kod onih sa 4 ili više.

Ukoliko se karcinom dojke dijagnostifikuje kada je već dao udaljene metastaze preživljavanje se drastično smanjuje. Prognostički faktori služe da predvide ishod karcinoma dojke. Odluka o uvođenju adjuvantne agresivnije sistemske terapije mora biti opravdana kod pacijenata čija je lošija prognoza predviđena uz korišćenje prognostičkih faktora (35). Prisustvo udaljenih metastaza je dokazano najznačajniji prognostički faktor (7).

2.3.5. Histološki tipovi tumora

Procena histološkog tipa se zasniva na tipu ćelija od kojih se tumor sastoji. Karcinom dojke se formira u tkivu dojke, najčešće u kanalima ili lobulima. Glavni histološki tipovi karcinoma dojke su duktalni i lobularni. Histopatološki nalaz takođe klasifikuje karcinom kao invazivni ili neinvazivni. Neinvazivni tip se vodi pod imenom *in situ* (1). S obzirom na odnos malignih ćelija prema bazalnoj membrani, karcinomi mogu biti neinvazivni (ne prelaze bazalnu membranu) ili invazivni (prelaze bazalnu membranu).

Najčešći patohistološki tip karcinoma dojke je invazivni duktalni karcinom (čini preko 80% svih karcinoma dojke); zatim slede, po učestalosti, invazivni lobularni (10%), pa medularni karcinom (5%). Medularni karcinom je ređi u starijoj nego u mlađoj populaciji. Mucinozni i papilarni tumori češći su kod starijih žena, ali čine manje od 10% svih vrsta karcinoma dojke. Duktalni karcinomi su najčešći oblik karcinoma dojke, a prema nekim autorima čine 90% svih mamografski otkrivenih, nepalpabilnih slučajeva. To su najagresivniji oblici karcinoma dojke. Vrlo često prelaze u invazivni oblik i to za dvostruko kraće vreme od intralobularnog, te je tako za prelaz u invazivni oblik intralobularnom potrebno oko 20, a duktalnom samo 10 godina. Nisu svi duktalni

karcinomi jednako agresivni, i prema tome se dele na podtipove: komedo, kribriformni, apokrini, papilarni, mikropapilarni, solidni tip. Komedo i kribriformni su najagresivniji (6, 36).

Podela prema klasifikaciji karcinoma dojke je sledeća (36):

Duktalni karcinom, najagresivniji oblik karcinoma dojke, vrlo često prelazi u invazivni oblik i to za dvostruko kraće vreme od lobularnog karcinoma *in situ* (20 godina). Na osnovu stepena agresivnosti, duktalni karcinom dojke se deli na tipove: komedo, kribriformni, apokrini, papilarni, mikropapilarni i solidni tip. Najzastupljeniji tip karcinoma dojke je invazivni duktalni karcinom koji čini 75% svih karcinoma dojke. Tumor je invazivan i “uvlači” okolno vezivno i masno tkivo, a sam je jako tvrde konzistencije. Može dovesti do uvlačenja kože ili retrakcije bradavice.

Tubularni karcinom čini 10–20% slučajeva svih karcinoma dojke i lako se otkriva mamografijom. To je obično mala lezija, manja od 1 cm, tvrde konzistencije, a histološki se prepoznaju područja skleroze i depozita elastina. U 65% slučajeva javlja se zajedno sa intraduktalnim tumorom dojke. Čelije tumora karakteriše atipičan histološki izgled i brojne mitoze.

Lobularni karcinom čini 11% svih slučajeva karcinoma dojke. Karakteristično je da se javlja u obe dojke čak u 46% slučajeva. Razvija se od završnih kanalića lobulusa. Postoje dva oblika ovog karcinoma: a) *carcinoma lobulare in situ* i b) *carcinoma lobulare invasivum*. Čelije lobularnog karcinoma *in situ* su krupnije od normalnih, imaju ovalne nukleuse i sitne nukleoluse, i uglavnom nema mitozu i polimorfizma. Oko 30% pacijentkinja sa *carcinoma lobulare in situ* razvijaju karcinom u obe dojke. Invazivni lobularni karcinom se javlja u 5–10% slučajeva. Makroskopski je često bez jasnih granica, gumaste konzistencije, ponekad tvrd. Histološki se primećuju zraci malignih ćelija raspršenih po vezivnoj stromi, koje su sitne, sa izraženom polimorfizmom.

Medularni karcinom čini oko 1% svih karcinoma dojke. Mekane je i mesnate konzistencije. Histološki ima oskudnu stromu, a maligne ćelije rastu u vidu sincicijuma, u širokim nepravilnim poljima. Obično postoji infiltracija tumorskih ćelija u regionalne limfne čvorove.

Koloidni (mucinozni) karcinom karakteriše unutarćelijsko i vanćelijsko stvaranje sluzi. Radi se o mekanim, sivkastoplavim čvorovima želatinozne konzistencije. Histološki, postoje dve slike tumora. U prvom slučaju, ćelije plutaju u većoj količini bazofilne sluzi koja otiče u susedne tkivne prostore. U drugom slučaju, tumorske ćelije rastu u dobro izraženim žlezdanim tvorevinama u čijim se lumenima nalazi sluzavi sekret.

Pagetova bolest je oblik dukalnog karcinoma dojke koji se javlja kod nešto starije populacije. Počinje kao tipični intraduktalni karcinom, ali zahvata i glavne izvodne kanale, odakle se širi, vrši infiltraciju kože, bradavice i areole. Zahvaćeni deo kože je ispucao i vlažan, stoga se često nadovezuje i bakterijska infekcija. Histološku sliku karakteriše invazija karcinoma Pagetovim ćelijama koje su krupne, hiperhromatične. Ima povoljnu prognozu i pored širenja na kožu.

Dve najčešće upotrebljavane klasifikacije karcinoma dojke su (6):

- klasifikacija Svetske zdravstvene organizacije (WHO) (Tabela 6)
- klasifikacija *Armed Forces Institute of Patology* (AFIP) (Tabela 7).

Tabela 6. Klasifikacija Svetske zdravstvene organizacije (WHO)

WHO klasifikacija karcinoma dojke
<p>A. Neinvazivni</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Intraduktalni karcinom 2. Intraduktalni papilarni karcinom 3. Lobularni karcinom <i>in situ</i>
<p>B. Invazivni</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Invazivni duktalni karcinom – bez posebnih karakteristika (<i>Not otherwise specified – NOS</i>) 2. Invazivni lobularni karcinom 3. Medularni karcinom 4. Koloidni karcinom (mucinozni karcinom) 5. Pagetova bolest 6. Tubularni karcinom 7. Adenoidni cistični karcinom 8. Invazivni komedo karcinom 9. Apokrini karcinom 10. Invazivni papilarni karcinom

Prilagođeno prema izvoru: Karelović D. Pilot projekat - Rak dojke - CARNET PROJECT. Split: Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu; 2000. Dostupno na: <http://www.kbsplit.hr/rakdojke>

Tabela 7. AFIP klasifikacija karcinoma dojke prilagođena po Rosenu

AFIP (<i>Armed Forces Institute of Pathology</i>) klasifikacija karcinoma dojke modificovana po Rosenu
EPITELNI TUMORI
Neinvazivni
Intraduktalni karcinom Sa Pagetovom bolešću Lobularni karcinom <i>in situ</i>
Invazivni
Invazivni duktalni karcinom Sa Pagetovom bolešću Invazivni duktalni karcinom sa predominantnom intraduktalnom komponentom Invazivni lobularni karcinom Medularni karcinom Mucinozni karcinom Invazivni papilarni karcinom Tubularni karcinom Adenoidni cistični karcinom Sekretorni (juvenilni) karcinom Apokrini karcinom Karcinom s metaplazijom Karcinom s gigantskim ćelijama sličnim osteoklastima Cistični hipersekretorni karcinom s invazijom Karcinom s endokrinom diferencijacijom Karcinom bogat glikogenom Karcinom bogat lipidima Invazivni kribriformni karcinom
KLINIČKI OBLICI KARCINOMA
Upalni karcinom Karcinom u trudnoći i za vreme laktacije Okultni karcinom sa metastazama u aksilarnim limfnim čvorovima Karcinom ektoپیčne dojke Karcinom muškaraca Karcinom dece
MEŠANI TUMORI VEZIVNOG I EPITELNOG TKIVA
Maligni <i>cystosarcoma phalloides</i>
MEZENHIMALNI TUMORI
Angiosarkom Fibrosarkom Leiomiomasarkom Hondrosarkom Osteosarkom Hemangiopericitoma Dermatofibrosarkom protuberans
TUMORI KOŽE DOJKE
Melanom bradavice Karcinom skvamoznih ćelija bradavice Karcinom bazalnih ćelija bradavice Tumor kože
TUMORI LIMFNOG I HEMATOPOETSKEG TKIVA
Non-Hodgkin limfom Plazmacitom Leukemijska infiltracija Hodgkinova bolest

Prilagođeno prema izvoru: Karelović D. Pilot projekat - Rak dojke - CARNET PROJECT. Split: Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu; 2000. Dostupno na <http://www.kbsplit.hr/rakdojke>

Kao posebni klinički entiteti izdvajaju se: zapaljenski karcinom, karcinom u trudnoći i za vreme laktacije, okultni karcinom sa metastazama u aksilarnim limfnim čvorovima, karcinom ektopične dojke, karcinom kod muškaraca i karcinom dojke kod dece (36).

2.3.6. Stepen histološke diferencijacije tumora (gradus)

Procena stepena se zasniva na heterogenosti tumorskih ćelija, arhitekturalnoj strukturi tkiva koje formiraju i učestalosti mitoze (podele ćelija) tumora. Dobro diferencirani tumor (gradus 1) ima slabo izraženu heterogenost ćelija, očuvanu arhitekturalnu strukturu i par mitozu. Loše diferencirani tumor (gradus 3) ukazuje na izraženu heterogenost, gubitak arhitekture i veliki broj mitozu. Srednje diferenciran tumor (gradus 2) je između gradusa 1 i gradusa 3. Što je gradus niži, to je prognoza bolja (1).

Dobro diferencirani tumori (gradus 1) imaju petogodišnje preživljavanje kod oko 75% bolesnica, a deset godina preživi 47% bolesnica. S umereno diferenciranim tumorima (gradus 2) pet godina preživi 53%, a deset godina 27% bolesnica. U grupi bolesnica sa slabo diferenciranim tumorima (gradus 3) pet godina preživi 31%, a deset godina 18%. Histološki gradus je važan prediktivni parametar jer se pokazalo da tumori višeg gradusa bolje reaguju na neke hemioterapijske protokole. Prognostička vrednost histološkog gradusa raste u kombinaciji s drugim prognostičkim parametrima od kojih su najvažniji veličina tumora i histološki status aksilarnih limfnih čvorova. Histopatološko stepenovanje karcinoma dojke po Blom–Richardsonu, pokazuje način rasta dukalnog invazivnog karcinoma i citološke osobine diferenciranosti (Tabela 8) (6).

Tabela 8. Histopatološko stepenovanje (*grading*) infiltrirajućeg duktalnog karcinoma po Blom–Richardsonu – Elstonova modifikacija

Histopatološko stepenovanje (<i>grading</i>) infiltrirajućeg duktalnog karcinoma po Blom–Richardsonu – Elstonova modifikacija
<p>Parametri za graduaciju</p> <p>a) Formacije žlezdastih tubula i acinusa</p> <p>1 bod: izrazita formacija tubula (> 75%)</p> <p>2 boda: umerena formacija tubula (10–75%)</p> <p>3 boda: malo ili bez tubula (< 10%)</p>
<p>b) Pleomorfizam jezgara karcinomskih ćelija (nepravilnost u veličini, obliku i strukturi)</p> <p>1 bod: izomorfija jezgara</p> <p>2 boda: umerena varijabilnost u veličini, obliku i strukturi jezgara</p> <p>3 boda: izraziti polimorfizam</p>
<p>c) Mitoze / 10 hpf</p> <p>1 bod: < 9 mitoza</p> <p>2 boda: 10–19 mitoza</p> <p>3 boda: > 20 mitoza</p>
<p>Nakon sumiranja bodova svih parametara određuje se stepen diferenciranosti po sledećoj shemi:</p> <p>G1 Dobro diferenciran (3–5 bodova)</p> <p>G2 Umereno diferenciran (6–7 bodova)</p> <p>G3 Slabo diferenciran (8–9 bodova)</p>

Prilagođeno prema izvoru: Karelović D. Pilot projekat - Rak dojke - CARNET PROJECT. Split: Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu; 2000. Dostupno na <http://www.kbsplit.hr/rakdojke>

2.3.7. Estrogen i progesteron receptorni status

Polni endokrini sistem žena sastoji se od tri hijerarhijske grupe hormona (37):

- hormona hipotalamusa (GnRH i LHRH);
- hormona adenohipofize (FSH i LH)
- hormona ovarijuma (estrogena – ER i progesterona – PR).

Kod žena postoje tri tipa estrogena: beta-estradiol, estron i estriol. Među progesteronima, najvažniji je progesteron, a luče se i male količine 17- β -hidroksi-progesterona. I estrogen i progesteron su steroidi. Sintetišu se u jajniku uglavnom iz holesterola krvi, a u manjoj meri i iz acetyl-CoA. Estrogen i progesteron su važni regulatori rasta i diferencijacije mlečne žlezde ženskog reproduktivnog trakta i uključeni su u razvoj malignih tumora ovih organa. Steroidni hormoni imaju visok afinitet i specifičnost za intracelularne receptore koji pripadaju superfamiliji proteina uključenih u signalne puteve od značaja za aktivaciju drugih celularnih gena (38).

ER-R i PR-R lokalizovani su u nukleusu. Smatra se da hormon difunduje ili da se transportuje do nukleusa gde se vezuje za steroidni receptor stvarajući kompleks steroidni hormon–receptor putem dimerizacije receptora. Neki od gena čija je aktivnost regulisana steroidnim receptorima uključeni su u kontrolu ćelijskog ciklusa i danas se veruje da je to najvažniji faktor koji određuje uticaj ER-R na biološko ponašanje karcinoma dojke i njegovu terapiju (39).

ER-R i PR-R se eksprimiraju i u epitelnim ćelijama normalnih struktura dojke, tubuloalveolarnih žlezda i duktusa. Oba receptora se vezuju za svoja ciljna mesta na DNK i utiču na regulaciju procesa transkripcije specifične grupe gena. Karakteriše ih šest specifičnih strukturnih domena koji su obeleženi slovima od A do F. Početni domen, A/B, odgovoran je za transkripciju, domen C je DNK-vezujući domen i ujedno je najkonzervativniji, domen D je uključen u održavanje nukleusne stabilnosti, dok domen E ima više različitih funkcija uključujući vezivanje za ligand, dimerizaciju, interakciju sa proteinom toplotnog stresa 90 (HSP90) i transkripcionu aktivnost. F domen predstavlja C terminalni kraj i njegova funkcija još uvek nije u potpunosti razjašnjena (38, 39, 40).

2.3.8. Androgeni receptori

Uloga androgena i androgenih receptora u nastanku karcinoma dojke još uvek nije potpuno objašnjena. Zbog sve većeg razumevanja molekularnih mehanizama uključenih u razvoj karcinoma dojke, kao i definisanja više podtipova karcinoma, javlja se potreba za novim biomarkerima. Nauka se fokusira na ulozi androgena i androgenih receptora kao

prognostičkih markera. S obzirom na to da AR pripada grupi steroidnih receptora, on pokazuje sličnost sa ER i PR kako u strukturi, tako i u funkciji (41, 42).

Poznavanje regulacije ekspresije gena jako je važno za različite grane i oblasti kliničke medicine, kao što su onkologija, virusologija, endokrinologija, imunologija, ali i za sve ostale grane medicine. Za proliferaciju i diferencijaciju ćelija vrlo je bitna specifična aktivnost odgovarajućih gena u datim tkivima (43).

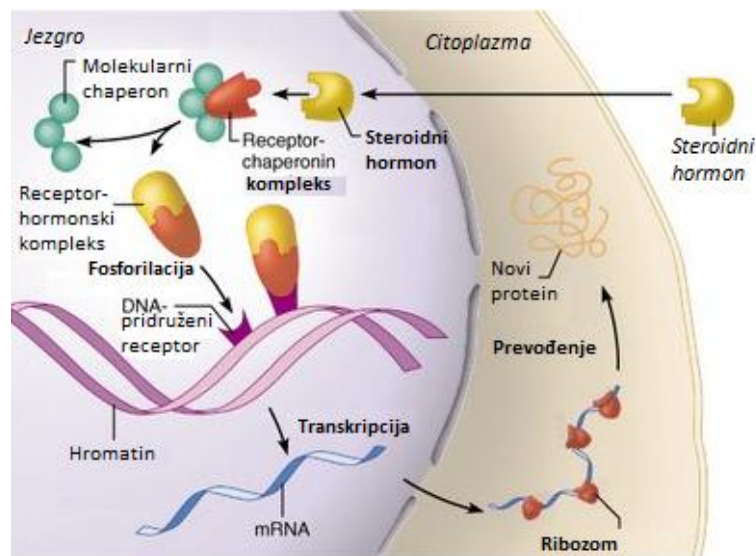
Funkcija androgena (AR) kao steroidnih hormona: Androgeni receptori su endokrini, steroidni, hormonalni receptori visokog afiniteta hormonskih lipida, klase liganda (44). Androgen je otkriven 1936. godine kao hormon testosterona, a prvi ga je pronašao i dao mu ime Ernst Laqueur (45). Testosteron je važan seksualni hormon (androgen) koji postoji kod oba pola, ali se razlikuje u količinama i koncentraciji. Prema hemijskoj prirodi pripada steroidima i sintetiše se iz holesterola. Sintetiše se još i u jajnicima (manja količina) i kori nadbubrežne žlezde (46).

AR su različito prisutni u bazalnim, a konstantno izraženi u sekretornim i stromalnim glatkim mišićnim ćelijama (47).

Steroidni hormon je steroid koji djeluje kao hormon. Steroidni hormoni se mogu grupisati u pet grupa na osnovu receptora za koji se vezuju: glukokortikoidi, mineralokortikoidi, androgeni, estrogeni i progestageni (48). Steroidni hormoni deluju putem indukcije sinteze RNK i proteina. U nekim slučajevima hormon–receptor kompleks kao transkripcijski faktor (TF) deluje smanjujući aktivnost gena. Kontrola ekspresije gena može biti na različitim nivoima, a najvažnija regulacija ekspresije gena ostvaruje se na nivou inicijacije transkripcije. Činjenica da isti TF mogu da aktiviraju različite gene, ukazuje na značaj i učešće kontrolnih elemenata gena u aktivaciji istog. Stabilni kompleks hormon–receptor ponaša se kao aktivator koji se vezuje za različite kontrolne elemente gena (eng. *Hormone-Responsive Element*, HRE). Peptidni hormoni deluju na membranske receptore. Preko membranskih receptora ostvaruju svoje dejstvo na više načina: ili promenom permeabilnosti membrane (vezivanjem hormona za membranski receptor i stvaranjem kompleksa hormon–receptor dolazi do promena u konfiguraciji i konformaciji, što dovodi do promene propustljivosti ćelijske membrane za različite elemente i supstance) ili aktivacijom intracelularnih enzima (sekundarnih glasnika) vezivanjem hormona za membranski receptor. Sekundarni glasnici su ciklični adenozin monofosfat, ciklični

guanozin monofosfat, joni kalcijuma i kalmodulin, te proizvodi razlaganja fosfolipidne membrane. Sekundarni glasnik obično dalje aktivira kaskadu enzima. Hormoni koji deluju preko membranskih receptora uglavnom deluju na aktivnost enzima u ćeliji, koji su odgovorni za sintezu ili lizu različitih produkata. Biološki efekti hormona zavise od njihovog afiniteta i sposobnosti vezivanja za receptore, kao i od koncentracije slobodnih hormona u plazmi (44).

Nuklearni receptori regulišu ekspresiju gena, u zavisnosti od interakcije sa malim lipofilnim molekulima, i na taj način se uključuju u regulaciju velikog broja različitih funkcija ćelija. To su proteini koji su ligand-zavisni transkripcioni faktori, a nalaze u citoplazmi i/ili nukleusu. Ligandi difunduju kroz ćelijsku membranu i vezuju se za receptore u citoplazmi ili u nukleusu. Kompleks ligand–receptor se vezuje za DNK elemente u kontrolnim regionima ciljnih gena i na taj način utiče na transkripciju određenog gena. Ligandi za nuklearne receptore su mali, rigidni hidrofobni molekuli, sa polarnim delovima na jednom kraju, koji im omogućavaju vezivanje za receptore preko Van der Waalsovih i hidrofobnih interakcija, kao i formiranje vodonikovih veza. Prirodni ligandi za nuklearne receptore su lipofilni hormoni, kao što su steroidni hormoni, koji funkcionišu kao ligandi za nuklearne receptore i na taj način regulišu ekspresiju odgovarajućih gena (Slika 1) (44).



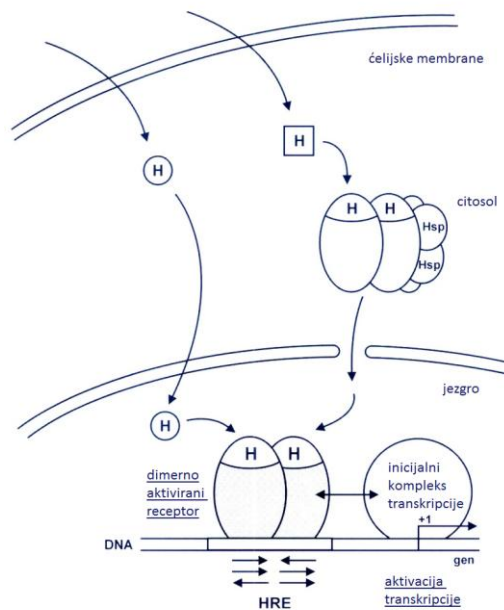
Slika 1. Prenos signala preko nuklearnih receptora

Prilagodeno iz: Nuklearni receptori, ppt: www2.db.e.pmf.uns.ac.rs/PDF/.../09.%20Nuklearni%20

Osnovni principi prenosa signala preko nuklearnih receptora. Nuklearni receptori su ligand-zavisni transkripcioni faktori, koji mogu da funkcionišu kao aktivatori ili represori transkripcije. Oni se specifično vezuju za HRE regulatornog regiona ciljnog gena, tj. gena

čija se transkripcija reguliše. Zavisno od receptora, vezivanje za DNK je povezano sa aktivacijom ili represijom susednih gena. Ipak generalno posmatrano, vezivanje liganda za receptor aktivira transkripciju, a samo u retkim slučajevima dolazi do blokade transkripcije ciljnog gena. U nekim slučajevima, i receptor koji nije aktiviran ligandom je vezan za DNK i ima negativan efekat na transkripciju gena. Vezivanje liganda za takav receptor deblokira aktivaciju transkripcije. Pored vezivanja sa ligandom, nuklearni receptor može biti aktiviran i angažovanjem drugih mehanizama, kao što su fosforilacija receptora nekom od kinaza, kao i vezivanjem za regulatorne proteine, na primer ciklin D1.

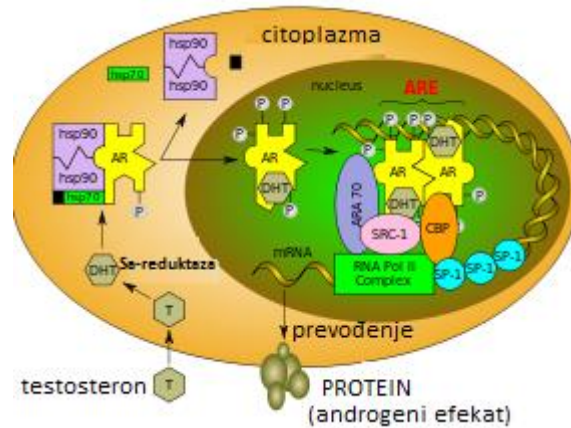
Drugim rečima, može doći do povezivanja drugih signalnih puteva sa signalingom preko nuklearnih receptora. Nuklearni receptori su ligand-zavisni transkripcioni faktori koji se vezuju za određenu DNK sekvencu tzv. HRE hormon i funkcionišu kao ligand koji reguliše aktivnost receptora. Mnogi receptori funkcionišu kao homodimeri i heterodimeri. Aktivirani receptor, vezan za DNK inicira transkripciju direktno ili indirektno preko protein–protein interakcije sa hromatinom i kompleksom proteina koji inicira transkripciju. Strelice pokazuju moguću različitu konfiguraciju HRE (Slika 2) (44).



Slika 2. Signalna transdukcija preko nuklearnih receptora

Prilagodeno iz: Nuklearni receptori, ppt: www2.dbe.pmf.uns.ac.rs/PDF/.../09.%20Nuklearni%20

Normalna funkcija androgenog receptora prikazan je na Slici 3 (44).



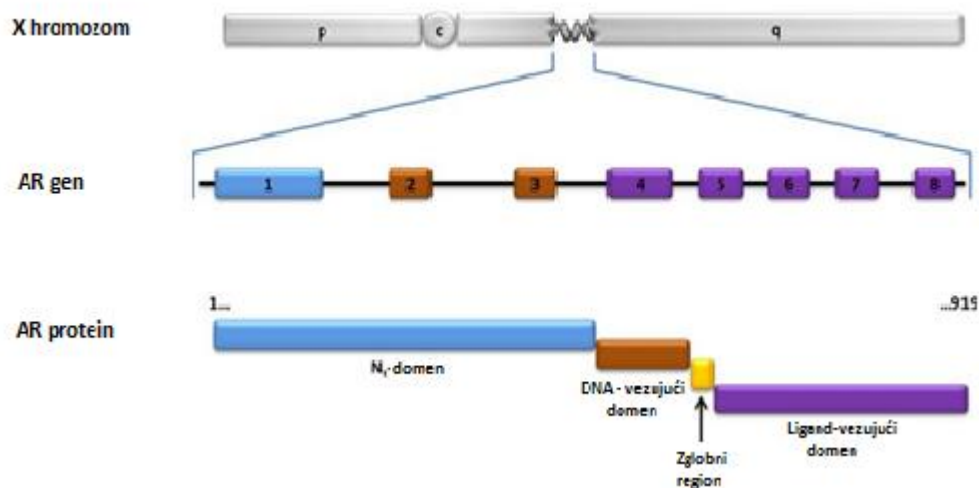
Slika 3. Funkcija androgenog receptora

Prilagodeno iz: Quigley CA, De Bellis A, Marschke KB, el-Awady MK, Wilson EM, French FS. Androgen receptor defects: historical, clinical, and molecular perspectives. *Endocr Rev.* 1995;16(3):271-321.

Testosteron (T) ulazi u ćeliju uz prisustvo 5-alfa-reduktaze (*5-alpha reductase*), konvertuje se u dihidroteston (*dihydrotestone*, DHT). Nakon vezivanja steroid-receptora androgena (AR) dolazi do konformacione promene i oslobađanja toplotnog šoka proteina (HSPS). Fosforilacije (*phosphorylation*, P) se javljaju pre ili posle steroidnog vezivanja. AR se premešta u nukleus gde se vrši dimerizacija, vezivanje DNK i regrutovanje koaktivatorima. Ciljani geni su prepisani (mRNA) i prevedeni na protein (49).

Androgeni pripadaju klasi C-19. Hormonski aktivni androgeni promovišu reproduktivne i anaboličke funkcije čiji efekti posreduju njihove interakcije za androgene receptore (AR). Skoro sve androgene funkcije, osim njegovog pretvaranja u estrogen od strane enzima aromataze u određenim ciljnim ćelijama, posredovane su receptorom androgena. Receptor androgena je kodiran kopiranjem gena koji se nalazi na Ks hromozomu. Interakcija između amino-terminala i karboksi-terminalna usled steroidnih vezivanja pokazuje transaktivacionu funkciju AR da segmentira u okviru hormon-vezujućeg domena i ispoljava inhibitorski uticaj na regulatorne aktivnosti transkripcije AR, a delecija ovog regiona dovodi do ligand-nezavisne aktivacije receptora (50).

Struktura androgena (AR). AR je protein sastavljen od 918 aminokiselina i lociran na X-hromozomu u regionu q11-q12 (Slika 4) (51).



Slika 4. Struktura ljudskog androgenog receptora: genetska i proteinska organizacija
 Prilagođeno iz: Iacopetta D, Rechoum Y, Fuqua SAW. The Role of Androgen Receptor in Breast Cancer. Drug Discov Today Dis Mech. 2012;9(1-2):e19-e27.

AR pokazuje svoje efekte kroz tri glavna načina (51, 52):

- genomsku signalizaciju, gde AR vrši interakciju i direktno kontroliše ekspresiju gena kodiranih u DNK;
- negenomsku signalizaciju, kada se signali nuklearnih receptora povezuju putem interakcije koja postoji s drugim proteinima i međudelovanjem dva signalna mehanizma, i koja još uvijek nije u potpunosti shvaćena;
- signalizaciju preko poprečnog odnosa faktora rasta i citokina. Takvi kombinovani signalni mehanizmi doprinose AR funkciji kod karcinoma dojke.

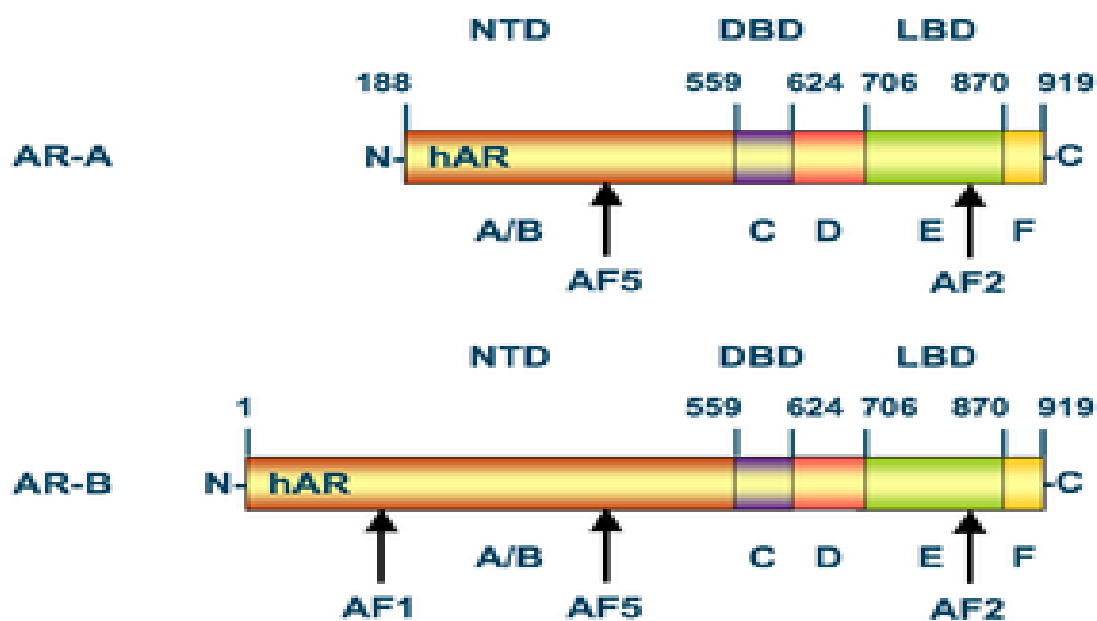
Struktura kompleksnog ligandskog vezujućeg domena androgenog receptora – testosterona (beli štapići) prikazana je na Slici 5.



Slika 5. Struktura kompleksnog ligandskog vezujućeg domena astrogen receptora – testosterona (beli štapići)

Prilagodeno iz: Pereira de Jésus-Tran K, Côté PL, Cantin L, Blanchet J, Labrie F, Breton R. Comparison of crystal structures of human androgen receptor ligand-binding domain complexed with various agonists reveals molecular determinants responsible for binding affinity. *Protein Sci.* 2006;15(5):987–99.

Strukturalni domeni receptora ljudskog androgena imaju dve izoforme (AR-A i AR-B) (Slika 6). Brojevi iznad rešetke odnose se na aminokiselinske ostatake koji razdvajaju domene počevši od N-terminusa (levo) na C-terminusu (desno). NTD označava N-terminalni domen, DBD – DNK vezujući domen, LBD – ligand vezujući domen, a AF funkciju aktivacije (53).



Slika 6. Struktura izoformi androgenog receptora

Prilagođeno iz: Wilson CM, McPhaul MJ. A and B forms of the androgen receptor are present in human genital skin fibroblasts. Proc Natl Acad Sci USA. 1994;91(4):1234-8.

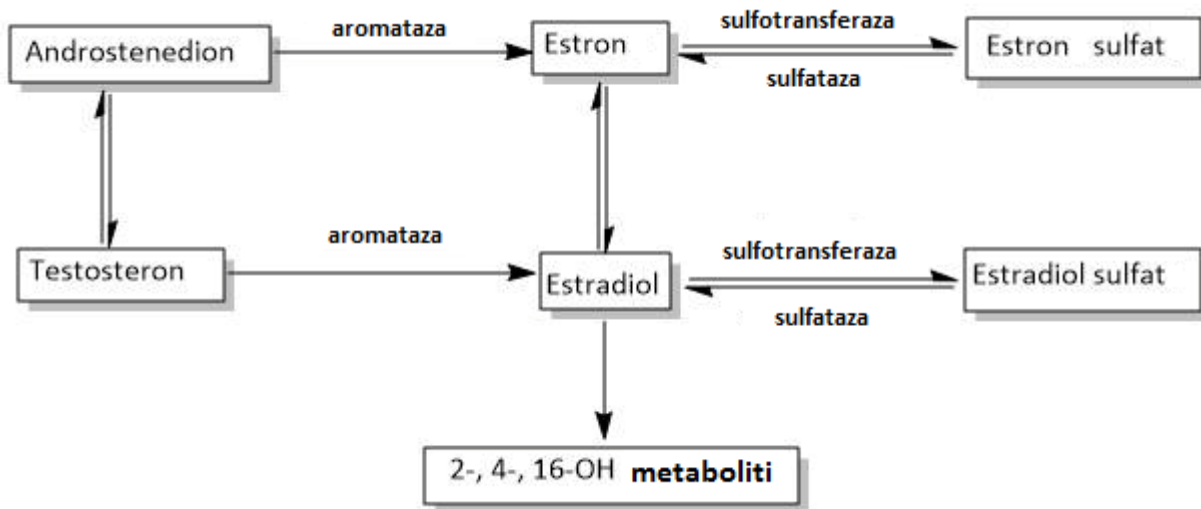
Vrste androgena (AR)

Pored testostosterone, postoji nekoliko vrsta androgena (54):

- Dehidroepiandrosteron (DHEA) je steroidni hormon proizveden u kori nadbubrega iz holesterola kao primarni prekursor prirodnih estrogena. DHEA se naziva dehidroisoandrosteron ili dehidroandrosteron.
- Androstenedion (Andro) je steroid proizveden od strane testisa, kore nadbubrega i jajnika. Korišćenje androstenediona kao atletskog ili bodibilding dodatka je zabranjen od strane Međunarodnog olimpijskog komiteta, kao i drugih sportskih organizacija.
- Androstenediol je steroid metabolita koji deluje kao glavni regulator gonadotropin sekreta.
- Androsteron je hemijski nusproizvod stvoren tokom raspada androgena ili izveden iz progesterona, koji ispoljava manje efekte maskulinizacija, ali sa jednom sedminom intenziteta testostosterone. Nalazi se u približno jednakim količinama u plazmi i urinu kod muškaraca i žena.
- Dihidrotestosterone (DHT) je metabolit testostosterone, ali snažniji androgen nego testosterone jer jače vezuje androgene receptore. Proizvodi se u koži i reproduktivnom tkivu.

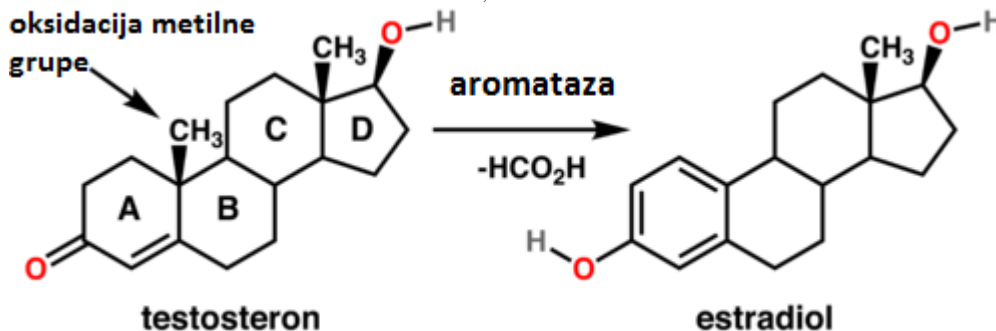
Aromataza. Steroidni hormoni dovode do promene ekspresije gena i sinteze novih proteina (enzima) u ćeliji. Od mesta gde se luče prenose se krvlju, vezani za proteine nosače pošto su slabo rastvorljivi u vodi. Na ciljnom mestu, u tkivu, hormon ulazi u ćeliju. U ćeliji se vezuje za proteinski receptor stvarajući kompleks koji se, zatim, vezuje za specifično mesto na DNK. Tada otpočinje transkripcija određenog gena i kao njen proizvod stvara se RNK prepis tog gena, koji nosi uputstvo za sintezu proteina. Novosintetisani protein ispoljava svoju ulogu koja predstavlja odgovor ćelije na delovanje steroidnog hormona koji je u nju dospelo (45, 55). Aromataza je enzim koji sintetizuje estrogen. Aromataza je citohrom (*cytochrome*) P450 (terminal oksidaza enzima u prenosu elektrona lancima, široko kategorisani kao P450). Pojam P450 je izveden iz

spektrofotometrijskog pika na talasne dužine apsorpcije maksimuma enzima (450 nm) kada je smanjen status u kompleksu sa CO, koji katalizuje tri uzastopne hidroksilacija reakcije, pretvaranje C19 androgene na aromatične C18 estrogene. Nakon sticanja elektrona iz NADPH-citohroma P450 reduktaze, aromataza pretvara androstenedion i testosteron u estron i estradiol (Slika 7). Aromatizacija androgena je terminalna i ograničava brzinu postupaka u sintezi estrogena (56).



Slika 7. Aromataza androgena u estrogen

Prilagodeno iz: Hong Y, Chen S. Aromatase inhibitors: structural features and biochemical characterization. Ann N Y Acad Sci. 2006;1089:237-51.



Slika 8. Reakcija konverzije testosterona u estradiol (katalizacija aromataze)

Prilagodeno iz: Hong Y, Chen S. Aromatase inhibitors: structural features and biochemical characterization. Ann N Y Acad Sci. 2006;1089:237-51.

Slika 8 prikazuje reakciju konverzije testosterona u estradiol (katalizacija aromataze) steroidnih prstenova (oznake A–D) pri čemu se oznaka A menja u aromatazno stanje. Kod žena koje imaju karcinom dojke, a nalaze se u srednjem ili kasnom reproduktivnom dobu, moguće je ciljano zaustaviti modulatore aromataze (eng. *Selective Aromatase Modulators*,

SAMs) koja blokira ekspresiju aromatize, na primer u dojci, ali omogućava estrogenu sintezu u drugim tkivima, na primer kostima (zbog osteoporoze) (57). Kod žena u postmenopauzi estrogen se uglavnom proizvodi u perifernim tkivima jer neki karcinomi dojke reaguju na estrogen. Smanjenje proizvodnje estrogena na mestu karcinoma (tj. masnom tkivu dojke) sa inhibitorima aromataze je dokazano efikasan tretman za hormon-osetljivi karcinom dojke kod žena u postmenopauzi (53). Androgeni i estrogenu imaju pozitivnu ulogu u rastu tkiva dojke kod žena. Određene vrste karcinoma koje reaguju na hormone mogu dovesti do toga da se primena AAS pozitivno odrazi na pacijenta. Ovi lekovi se obično primenjuju kao dodatni lekovi kod žena u postmenopauzi kod kojih rak dojke nije moguće operisati (58). Androgen (AR) može biti korišćen u lečenju karcinoma dojke koji se ponovo javlja (recidiv) jer neutralizuje rast estrogena i usporava rast tumora. Lečenjem androgenima postižu se najbolji rezultati kod žena posle menopauze, kod kojih postoje metastaze u kostima, i tada se daje se testosteron-propionat u dozi od 100 mg tri puta nedeljno. Bolja je i jednostavnija primena fluoksimesterona 20–40 mg dnevno *per os*. Maksimalno poboljšanje se postiže tek za tri meseca od početka terapije (59). Hronična hiperinsulinemija može dovesti do povećane ovarijalne ili adrenalne sinteze seksualnih steroida, naročito androgena, i smanjenja hepatičke sinteze SHBG i njegovog nivoa u cirkulaciji. Pogotovo kod žena u postmenopauzi, povećanje androgena u plazmi dovodi do povećanja sinteze estrogena u adipoznom tkivu i otuda povećanje estrona i estradiola, što sve zajedno znatno povećava rizik od pojave i razvoja karcinoma dojke (20).

Više od 70% humanih karcinoma dojke izražava ekspresiju androgen receptora (AR). Preklinički i klinički podaci sugerišu da AR može igrati ulogu u patogenezi karcinoma dojke i poslužiti kao terapijski cilj (eng. *target*) u nekim od podtipova karcinoma dojke težih za lečenje (eng. *difficult-to-treat*), poput triple negativnog karcinoma dojke. Iako je ovo područje aktivnog istraživanja, klinički značaj ovog hormona receptora kao prognostičkog i prediktivnog markera, i njegova funkcionalna uloga u tumorogenezi je nejasna (60).

Ekspresija androgen (AR) receptora nađena je u preko 70% slučajeva karcinoma dojke i kod 45–50% pacijenata sa ER negativnim karcinomom dojke. Postoje novi dokazi da signalni put androgena igra ključnu ulogu u genezi karcinoma dojke, nezavisno od ER. Klinički podaci sugerišu inhibitornu ulogu dehidroepiandosterone (DHEA) i njegovog sulfata na rast humanih ER negativnih ćelijskih linija karcinoma dojke, kada pokazuju jaku

ekspresiju AR. Ovo potencijalno dovodi do smanjenja ekspresije gena AR. Međutim, DHEA stimuliše rast u ćelijama karcinoma dojke kada je ER, eksprimiran u ćelijama karcinoma dojke, pozitivan. Stoga, ako se efekti mogu razlikovati na osnovu statusa receptora tumor-hormona i ER-tumora/PR-tumora ne može se govoriti o hormonskoj neosetljivosti dojke, tj. ne može biti istinski hormonski “neosetljiva”. Nova istraživanja androgena zasnovana na hormonskoj terapiji su opravdana u ovoj populaciji pacijenata (61).

Kod karcinoma dojke može se pronaći AR ekspresija u 80% slučajeva (62). Tokom istraživanja 189 invazivnih karcinoma dojke, u studiji Gonzalez i sar., utvrđeno je da AR pokazuje reaktivnost u 74,8% tj. kod 111 slučajeva karcinoma dojke (63). U seriji od 76 karcinoma dojke, Isola identifikuje AR izraz u 79% slučajeva (64). U istraživanjima na 100 tkiva karcinoma dojke – SNAP-zamrznut uzorak (eng. *snap-frozen breast cancer tissues*), po Kuenen-Boumeester testu, identifikovan je AR u 76% slučajeva (65). Velika studija od 488 slučajeva iz Poljske pokazuje nižu stopu (43,4%) AR izražavanja kod karcinoma dojke ali, isto tako, ova studija nalazi mnogo niže stope ER (39,3%) i PR (24,6%) ekspresije (66). Prethodne studije su takođe pokazale vezu sa ER ekspresijom (64), a neki izveštaji ukazuju na AR ekspresiju kod ER-negativnih tumora (65, 67). AR se često izražava u primarnim tumorima dojke, procenjuje se između 50% i 90%, zavisno od podtipa karcinoma (51, 68, 69, 70, 71). Međutim, uprkos sve većem broju publikacija, još uvek je zagonetka da li AR deluje kao supresor tumora ili onkogen. U stvari, ova višenamenska uloga može se delimično objasniti brojnim putevima u kojima AR vrši svoju ekspresiju, ali s metaboličkog aspekta mogu imati suprotne funkcije jer se androgeni nalaze između progestina i puteva sinteze estrogena (51).

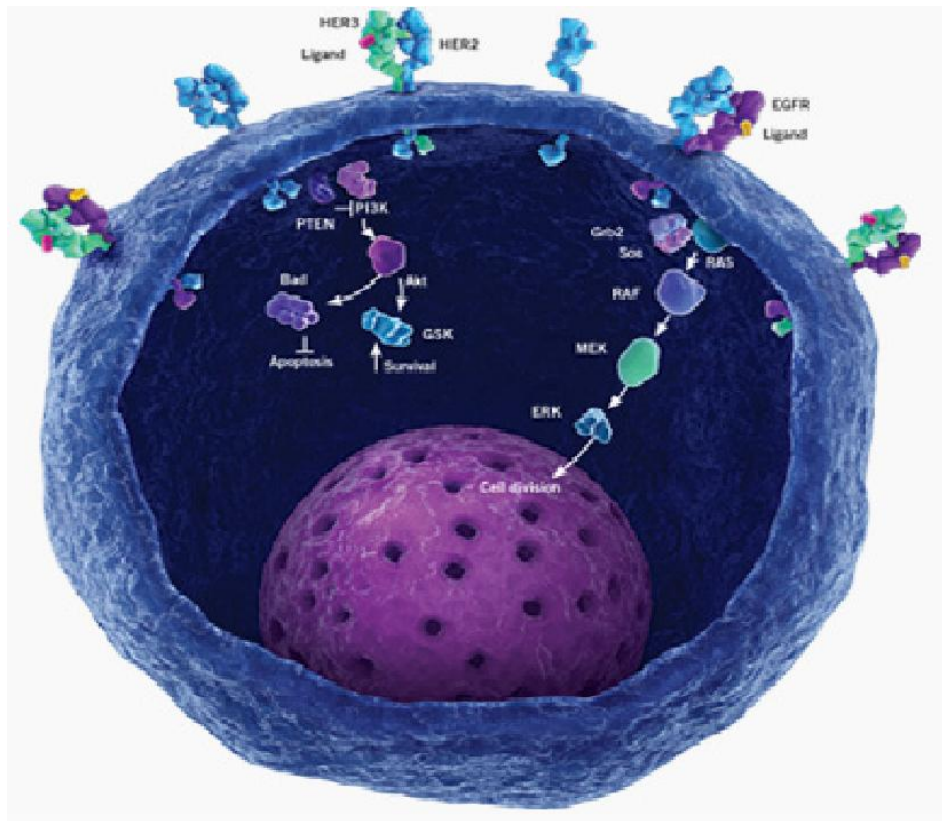
Novija istraživanja pokazuju da i androgeni hormoni, pored do sada dobro istraženih estrogena, imaju značajnu ulogu u nastanku karcinoma dojke. Androgeni receptor je po mnogim studijama najzastupljeniji steroidni receptor u ćelijama karcinoma dojke; karcinom dojke eksprimira AR u velikom procentu, nekad i većem od estrogen receptora (ER) ili progesteron receptora (PR), a objavljen je i veliki broj radova koji se bave značajem ekspresije AR u odnosu na kliničke i patološke karakteristike karcinoma, molekularne podtipove, mogućnost primene određene terapije, kao i uticajem na tok i ishod bolesti. Različiti molekularni podtipovi pokazuju različiti nivo ekspresije AR. Prema nekim autorima, imunohistohemijskom analizom ekspresije AR, pozitivnost AR se nalazi

kod oko 77% invazivnih karcinoma dojke. Prema podtipovima, 88% estrogen pozitivnih (ER+), 59% HER2+ i 32% tripl negativnih (ER-, PR-, HER2-) su pozitivni i imunohistohemijskom analizom karcinoma dojke pokazuju AR ekspresiju. U zavisnosti od prisustva ekspresije, neki autori ukazuju na potrebu za uvođenjem novih podtipova karcinoma dojke. Smatra se da ekspresija AR ima veliki potencijalni značaj zbog mogućnosti lečenja i primene novih terapijskih modaliteta. Slično ER i PR, AR ekspresija je povezana sa dobro diferenciranim histološkim gradusom, sporijim tokom i dobrom prognozom bolesti kod pacijentkinja sa karcinomom dojke. U većini studija, ekspresija AR kod pacijenata sa karcinomom dojke se povezuje sa kliničko–patološkim pokazateljima dobre prognoze, boljim ukupnim preživljavanjem i dužim vremenom do nastanka lokalnog recidiva i/ili udaljenih metastaza (63, 72, 73, 74). Visok nivo androgena koji cirkulišu je, na osnovu epidemioloških studija, u koleraciji sa rizikom od nastanka karcinoma dojke, prvenstveno kod žena u postmenopauzi. Ovakva uloga androgena u tkivu dojke nije biološki u potpunosti razjašnjena (75). Kod HER2+/ER- karcinoma, dokazano je karakteristično prisustvo AR (76). AR su dokazani i u 25% slučajeva udaljenih metastaza karcinoma dojke. Međutim, postoje kontroverze o ulozi AR kod ER+ tumora (77). Na osnovu do sada sprovedenih studija i prethodno navedenih podataka, dokazan je značaj nezavisne ekspresije AR kao faktora dobre prognoze. Dalja ispitivanja bi mogla doprineti inovacijama u sistemu klasifikacije tumora dojke, kao i uvrštavanju AR u grupu standardnih prognostičkih faktora (78).

2.3.9. Receptori epidermalnog faktora rasta

Receptori epidermalnog faktora rasta pripadaju HER (eng. *Human Epidermal Growth Factor Receptor*) porodici sa četiri membranska receptora (proteina): HER1 (EGFR), HER2, HER3 i HER4 (79). HER receptori se sastoje iz tri regiona: ekstracelularno područje za vezivanje liganda, područje u kome se receptor vezuje za ćelijsku membranu i intracelularno područje sa aktivnošću tirozin-kinaze. U inaktivnom stanju HER receptori su monomeri. Vezivanjem liganda i aktivacijom receptora dolazi do njihove homodimerizacije i heterodimerizacije i aktivacije enzima tirozin-kinaze. Na taj način, aktivira se kaskadni mehanizam biohemijskih promena u samoj ćeliji što dovodi do ćelijske proliferacije, apoptoze, angiogeneze, promena u adhezivnosti i motilitetu ćelija.

Poremećaj neke faze ovog mehanizma dovodi do prekomerne proliferacije, migracije ćelija i njihovog metastaziranja (Slika 9) (80).



Slika 9. Regioni HER receptora

Prilagođeno iz: Biooncology. Dostupno na <http://www.biooncology.com/biological-pathways/her-signaling>

HER1. Receptor epidermalnog faktora rasta (EGFR), poznat i kao c-erbB-1, prisutan je u malim količinama u normalnom epitelu dojke i u drugim tkivima. Kod određenog broja invazivnih karcinoma dojke postoji prekomerna ekspresija EGFR. Tumori koji su EGFR+ obično su ER- ili PR-, slabije diferentovani i agresivniji. EGFR je loš prognostički faktor, pogotovo u slučajevima koekspresije EGFR i c-erbB-2 (81).

HER2. Receptorska tirozinska proteinska kinaza erbB-2 (CD340, klaster diferencijacije 340, protoonkogen Neu), jeste protein koji je kod ljudi kodiran ERBB2 genom i često se naziva HER2 ili HER2/neu. HER2 je član familije receptora epidermalnih faktora rasta (HER/EGFR/ERBB). Amplifikacija ili prekomerno izražavanje ovog onkogeno ima važnu ulogu u razvoju i progresiji pojedinih agresivnih tipova karcinoma dojke. Ovaj protein je postao važan biomarker ili meta u lečenju oko 30% pacijenata sa kancerom dojke (82). HER2 pozitivnost je negativan prognostički faktor, povezan je sa agresivnim tokom bolesti, kraćim vremenskim intervalom do relapsa i lošijim preživljavanjem (83). Povećana ekspresija HER2 udružena je i sa drugim faktorima loše prognoze karcinoma dojke, kao

što su pozitivni limfni čvorovi, veći promer tumora, loš stepen histološke diferentovanosti, visoka proliferaciona stopa i negativan estrogen i progesteron receptorni status (84).

HER3 citoplazmatska ekspresija (c-erbB-3) prisutna je u oko četvrtine karcinoma dojke. Povezana je sa ekspresijom HER2/neu i zahvaćenim limfnim čvorovima, ali je veza slaba i verovatno se ne radi o važnijem prognostičkom faktoru (81).

HER4 (c-erbB-4) receptor ima važnu ulogu u rastu i diferencijaciji ćelije, a njegova ekspresija izgleda da je povezana s povoljnijom prognozom. Ovaj receptor funkcioniše drugačije od ostalih članova porodice receptora epidermalnih faktora rasta. U slučajevima u kojima postoji koekspresija HER4 i HER2/neu, HER4 ublažava loš prognostički efekt HER2/neu (81).

2.3.10. Indeks proliferacije Ki67

Ki67 je nehistski protein koji se nalazi unutar jedara ćelija kada se dele, ali ne i kada miruju. Ki67 indeks ukazuje na procenat ćelija u kojima je Ki67 prisutan. Analiza razmere deljenja ćelija je metoda određivanja stepena proliferacije tumora. Brzo proliferišući tumor se ubrzano širi i ima lošiju prognozu od sporo proliferišućeg tumora, ali je brzo proliferišući tumor takođe osetljiviji na dejstvo hemioterapije (40, 85). Ekspresija Ki67 proteina varira u toku različitih ćelijskih ciklusa. Ekspresija proteina je potvrđena tokom G1, S, G2 i M faza ćelijskog ciklusa, ali ne i za vreme G0-faze. Najmanji stepen ekspresije Ki67 javlja se tokom G1 i ranog perioda S-faze, dok se maksimalna ekspresija javlja za vreme G2 i kasne S-faze ćelijskog ciklusa. U zdravom, tumorski nepromenjenom tkivu dojke, ekspresija Ki67 proteina je jako niska tako da je nizak i indeks proliferacije (manje od 3%). Nekoliko studija je pokazalo da je ekspresija Ki67 proteina u zdravom, tumorski nepromenjenom tkivu dojke, ograničena na ćelije u kojima nedostaje pozitivna ekspresija ER-R. ER-R imunoreaktivne ćelije normalnog tkiva dojke ne proliferišu i ne eksprimiraju Ki67 protein. Ova razlika između indeksa proliferacije i steroidnih receptora se ne odnosi i na tumorski promenjeno tkivo dojke. Kod oko 40% ispitanica sa DCIS zabeležen je visok indeks proliferacije. Visok nivo ekspresije Ki67 proteina povezan je sa visokim histološkim gradusom, komedo tipom nekroze tkiva, kao i prisustvom mikroinvazija.

Na osnovu navedenog, Ki67 se smatra lošim prediktivnim faktorom ishoda bolesti kod pacijentkinja sa DCIS. Mnoge studije bavile su se ispitivanjem potencijalnog značaja Ki67

kao prognostičkog markera u karcinomu dojke. Grupa istraživača je ispitivala ekspresiju ER-R, PR-R, HER2 i Ki67 proteina na osnovu kojih su podeljeni luminalni karcinomi dojke na tip A i tip B. Luminalni tip karcinoma dojke koji je karakterisan visokim indeksom proliferacije, većim od 14%, odnosio se na B tip i ukazivao je na lošiju prognozu ishoda bolesti i kraće preživljavanje u odnosu na luminalni A tip kod kojeg je indeks proliferacije bio ispod 14%. Desetogodišnji period praćenja pokazao je da su pacijentkinje sa luminalnim A tipom imale najbolji ishod bolesti, jer je kod 92% zabeleženo preživljavanje bez pojave metastaze i recidiva bolesti. Stopa preživljavanja je nešto manja kod pacijentkinja sa luminalnim B tipom (79%) i luminalnim/HER2 pozitivnim tipom (78%) karcinoma dojke. Studije su potvrdile da veći indeks proliferacije ukazuje na lošiji ishod bolesti i kraći period preživljavanja. Bez obzira na celokupnost informacije koja se dobija određivanjem indeksa proliferacije, Ki67 protein ipak nema status nezavisnog prognostičkog markera kod pacijentkinja sa karcinomom dojke. Podaci koji se odnose na značaj određivanja ekspresije Ki67 proteina kao prediktivnog markera u karcinomu dojke jako su retki i kontroverzni. Osnovni nedostatak studija koje su se bavile određivanjem prediktivnog značaja Ki67 proteina u karcinomu dojke odnosi se na različite laboratorijske metode i statističke modele koji su u njima primenjeni. Generalno, podaci ukazuju na to da pacijentkinje sa visokim indeksom proliferacije imaju bolji odgovor na delovanje taksana u odnosu na netaksansku terapiju, kao i na delovanje terapije Letrozolom u odnosu na Tamoksifen. Potencijalni značaj Ki67 proteina u predviđanju odgovora na terapiju i određivanje prosečne dužine preživljavanja ispitivan je praćenjem pretretmanskog i posttretmanskog indeksa proliferacije prilikom delovanja neoadjuvantnih hemoterapijskih i antihormonskih agensa. Ova metaanaliza je zasnovana na 12 kliničkih studija koje su obuhvatile pacijentkinje sa primenjenom hemoterapijom i kombinacijom hemoterapijskih agensa i Tamoksifena. Sedam kliničkih studija je pokazalo da je Ki67 značajan prediktivni marker i u slučaju kliničkog i u slučaju patološkog odgovora na primenjenu terapijsku kombinaciju. Pored ove studije, poređenjem rezultata dobijenih nakon delovanja neoadjuvantnih hemoterapijskih agensa nije pronađena pozitivna korelacija između ekspresije Ki67 i odgovora na terapiju. Većina studija je pokazala da pacijentkinje sa niskim indeksom proliferacije imaju bolji odgovor na delovanje antihormonskih terapijskih agensa u odnosu na one sa visokim proliferativnim indeksom (40, 86).

2.3.11. Limfovaskularna invazija i perineuralna invazija

Prisustvo tumorskih embolusa u peritumoralnom endotelijalnom linijskom prostoru definisano je kao limfovaskularna invazija (LVI). Identifikacija limfovaskularne invazije vrši determinaciju pacijenata sa povišenim rizikom za zahvaćenost aksilarnih i udaljenih metastaza. Limfovaskularna invazija je nepovoljan prognostički parametar determinisan patološkom procenom karcinoma dojke i prediktor je porasta verovatnoće aksilarnih metastaza. Prisustvo LVI u karcinomu dojke je udruženo sa višim rizikom od lokoregionalnog relapse i udaljenog relapse. Dakle, pacijenti sa malim tumorima sa LVI, bez involviranosti aksilarnih limfonodusa imaju potencijalnu korist od adjuvantne terapije (35).

Više studija je pokazalo da nalaz tumorskih ćelija unutar lumena krvnih ili limfnih prostora znači lošiju prognozu (7).

Vaskularna invazija nađena je u gotovo četvrtini slučajeva karcinoma dojke, a češće se vidi kod slabo diferentovanih, većih tumora, uz duktalni invazivni karcinom, te u slučajevima sa pozitivnom aksilom. Perineuralna invazija (PNI) se može naći kod otprilike 10% invazivnih karcinoma dojke i obično je prisutna u tumorima visokog histološkog gradusa, često uz limfatičku invaziju. Do sada nije dokazano da predstavlja nezavisan prognostički faktor (87).

2.3.12. Nekroza

Nekroza (od grčkog *νεκρός*, mrtav) je naziv za preranu smrt ćelija i živih tkiva. Nekrozu uzrokuju spoljni faktori kao što su infekcije, toksini ili povrede. Razlikuje se od apoptoze, koja predstavlja prirodno uzrokovanu ćelijsku smrt. Dok apoptoza često ima pozitivne efekte na organizam, nekroza je gotovo uvek štetna, a može biti i fatalna. Ćelije koje umiru usled nekroze obično ne šalju iste hemijske signale imunskom sistemu kao što to čine ćelije koje prolaze kroz apoptozu. Ovo sprečava fagocite da lociraju i sprovedu fagocitozu nad mrtvim ćelijama, što vodi do nagomilavanja mrtvog tkiva i ostataka ćelija na mestu

ćelijske smrti i oko njega. Zato je često neophodno da se nekrotično tkivo ukloni hirurškim putem. Ćelijsku nekrozu mogu da izazovu brojni spoljašnji uzročnici kao što su povreda, infekcija, kancer, infarkt, otrov i zapaljenje. Nekrotično tkivo ne prolazi kroz iste hemijske reakcije kao normalno umiruće apoptičko tkivo. Iznenadno otkazivanje jednog dela ćelije pokreće takozvanu kaskadu događaja. Osim odsustva signala imunskom sistemu, ćelije koje prolaze kroz nekrozu mogu da ispuštaju štetne hemikalije u okolno tkivo. Na primer, ćelije sadrže male organele, lizosome, koje su u stanju da svare ćelijski materijal. Oštećenje membrane lizozoma može da dovede do otpuštanja enzima koji se u njemu nalaze i time do uništenja drugih delova ćelije. Kada ovakvi enzimi budu otpušteni iz ćelije mogu da izazovu lančanu reakciju daljih ćelijskih smrti. Tokom hirurške biopsije, ova nekrotička lančana reakcija se zaustavlja fiksacijom ili zamrzavanjem. Nekroza tipično počinje ćelijskim nadimanjem, varenjem hromatina, disrupcijom ćelijske membrane i membrana organela. Kasnu nekrozu odlikuje ekstenzivna hidroliza DNK, vakuolacija endoplazmatičnog retikuluma, raspad organela i liza ćelije. Otpuštanje intracelularnog sadržaja nakon probijanja ćelijske membrane uzrok je zapaljenja tokom nekroze (88). Prisustvo nekroze kod karcinomima dojke, kao i u drugim tumorima, predstavlja loš prognostički znak. Može biti jače ili slabije izražena, ali ne postoji usaglašen stav koji opseg nekroze je klinički značajan. Najčešće se vidi u duktalnom invazivnom karcinomu (7). Budući da je nekroza povezana sa veličinom i slabije diferentovanim tumorima, teško je odrediti da li predstavlja nezavisan prognostički faktor (87).

2.3.13. Angiogeneza

Pod angiogenezom (neovaskularizacijom) podrazumeva se formiranje novih, funkcionalnih krvnih sudova iz postojeće vaskularne mreže. Nekontrolisani rast endotelnih ćelija odlika je patološke angiogeneze i ona leži u osnovi pojedinih bolesti. Za tumorski rast preko 1–2 mm ishrana difuzijom nije dovoljna i neophodno je stvaranje novih krvnih sudova. Neovaskularizacija omogućava rapidni rast, dramatično povećava metastatski potencijal tumora otvaranjem puteva za prodor tumorskih ćelija u cirkulaciju i najavljuje simptome bolesti. Početak procesa neovaskularizacije u tumoru povezan je sa promenama u lokalnom balansu između proangiogenih i antiangiogenih regulatora. Smatra se da su najznačajniji stimulatori angiogeneze članovi porodice faktora rasta fibroblasta (FGF) i faktora rasta vaskularnog endotela (VEGF). Direktna povezanost stepena vaskularizacije i metastatskog

potencijala pokazana je i u primarnim tumorima drugih lokalizacija (89, 90). Visok stepen tumorski indukovane angiogeneze u invazivnom karcinomu duktusa dojke u korelaciji je sa većim promerom tumora i slabijim nivoom histološke diferencijacije. U grupi hipovaskularnih tumora statistički značajno su brojniji karcinomi dojke bez metastaza u limfnim čvorovima, dok su u grupi hipervaskularnih tumora statistički značajno brojniji karcinomi dojke sa metastazama u regionalnim limfnim čvorovima. Povećana ekspresija c-erbB-2 proteina u invazivnom karcinomu duktusa dojke signifikantno koreliše sa visokim stepenom tumorski indukovane angiogeneze. Analiza tumorske neovaskularizacije kod invazivnog karcinoma duktusa dojke, uz određivanje ekspresije p53 i HER2/neu proteina, hormonskih receptora kao i standardnih parametara prognoze, može da ukaže na agresivniji tumorski fenotip i time pomogne pri kreiranju optimalnog individualnog postoperativnog terapijskog pristupa (89).

2.3.14. Proteaze

Proteaza (*peptidaza, proteinaza*) je enzim koji izvodi proteolizu. Proteaza započinje proteinski katabolizam hidrolizom peptidnih veza koje povezuju aminokiseline u polipeptidne lance od kojih je formiran protein (91).

Mehanizam raskidanja peptidne veze obuhvata korak u kojem nukleofil napada peptidnu vezu. Nukleofil je ili aminokiselina peptidaze (cistein, serin, treonin) ili molekul vode kod aspartat-metaloproteaza, metaloproteaza i glutamatne proteaze. Jedan način formiranja nukleofila je putem katalitičke trijade, kada se histidinski ostatak koristi za aktivaciju serina, cisteina ili treonina (92).

Katepsin D je lizosomalna aspartil proteaza izražena u svim tkivima; učestvuje u procesuiranju antigena, ćelijskoj proliferaciji, obnavljanju tkiva i aktivaciji različitih prohormona. On razgrađuje bazalnu membranu tumora i tako ima važnu ulogu u rastu i metastaziranju tumora (93). Neke imunohistohemijske studije su pokazale da bolesnice koje imaju visok sadržaj katepsina D u tumoru imaju veći histološki gradus i kraće preživljavanje, dok su neke studije pokazale duže preživljavanje i vrednost katepsina D kao nezavisnog prognostičkog faktora (94, 95, 96). Novija istraživanja odvojeno analiziraju prognostičke vrednosti katepsina D u stromalnim i tumorskim ćelijama. Prisutnost katepsina D u stromalnim ali ne i u tumorskim ćelijama u korelaciji je sa lošijom

prognozom bolesti i kraćim preživljavanjem (94). Mnoge studije potvrdile su povezanost katepsina D u citosolu i lošije prognoze obolelih od karcinoma dojke u ukupnoj populaciji bolesnica, ali i bolesnica s negativnim čvorovima u aksili (97).

Matriks metaloproteinaze (MMPs) su porodica funkcionalno i strukturno povezanih endopeptitaza, od kojih je poznato oko četrdesetak MMPs. Prema njihovom specifičnom supstratu dele se u nekoliko grupa: kolagenaze, želatinaze, stromelizinaze, matrilizinaze, membranski tip MMPs i druge. One učestvuju u degradaciji vezivnog stromalnog tkiva i bazalne membrane, što su ključni događaji u invaziji i metastaziranju tumora. Cepaju faktore rasta, receptore na površini ćelija, adhezijske molekule, hemokine i citokine, kao i proapoptičke činioce i tako učestvuju u agresivnijem biološkom ponašanju tumora. Ove proteaze regulišu angiogenezu u tumoru putem aktivacije proangiogeničkih faktora ili je inhibiraju kroz nastajanje inhibitornih faktora (98). Aktivnost enzima regulisana je tkivnim inhibitorima matriks metaloproteinaza i očuvanom ravnotežom između enzima i inhibitora unutar ćelije. Visoka ekspresija MMPs u karcinomu dojke, posebno MMP-2 i MMP-9, povezana je s visokim histološkim gradusom, relapsom bolesti i kraćim preživljavanjem (99, 100).

Urokinazni aktivator plazminogena (uPA) i inhibitor-1 aktivatora plazminogena (PAI-1). Studije su pokazale da bolesnice sa negativnim limfnim čvorovima pazuha i niskim vrednostima odnosa uPA/PAI-1 imaju dobru prognozu bez primene sistemske adjuvantne terapije, dok bolesnice s visokim vrednostima odnosa uPA/PAI-1 imaju visoki rizik od relapsa tumora. Visoke vrednosti uPA i PAI-1 kod bolesnica sa primarnim karcinomom dojke povezane su sa većom koristi od adjuvantne hemioterapije u poređenju sa bolesnicama koje su imale niže vrednosti (101).

2.3.15. Tumor-supresorni geni i onkogeni kod tumora dojke

Glavni tumorski markeri koji su se koristili kod tkiva karcinoma dojke jesu: steroidni receptori, p53 tumor-supresorni gen, c-erb B2 (HER-2/neu) i parametri iz ciklusa deobe ćelije – S-faza i broj hromozoma (mere se protočnom citometrijom). Steroidni receptori su trenutno jedini tkivni markeri prihvaćeni u standardnoj praksi (102).

p53. Mutacije tumor-supresornog p53 gena spadaju u najčešće molekularne abnormalnosti koje se detektuju kod solidnih tumora. Tumor-supresorsni gen p53 se nalazi na

hromozomu 17p i ima glavnu ulogu u regulaciji ćelijskog ciklusa i DNK reparacije. Mutirani geni kodiraju za mutirane proteine koji se nakupljaju u jezgri i u većini slučajeva mogu se imunohistohemijski dokazati (za razliku od normalnog tipa proteina p53 koji je vrlo nestabilan i ne može se, u pravilu, imunohistohemijski dokazati). Mutacija p53 je povezana s lošijom prognozom, višim gradusom jezgra i višim histološkim gradusom tumora, negativnim hormonskim receptorima te, prema nekim studijama, s prekomernom ekspresijom proteina HER2/neu (103). Mutirani proteini p53, kao i antitela na p53, mogu biti prisutni u serumu bolesnica s karcinomom dojke. Prisustvo mutiranog proteina p53 u serumu upućuje na agresivniji fenotip tumora i kraće preživljavanje bolesnica (104). Dokazano je da su abnormalnosti ovog gena udružene sa agresivnijim biološkim fenotipom tumora i lošijom prognozom za bolesnice sa karcinomom dojke, a čest su nalaz u invazivnom duktalnom karcinomu dojke (105).

C-myc. Gen c-myc kodira transkripcijski faktor koji se veže sa proteinima iz Max i Myc (*Myc associated factor X*) porodice i ima važnu ulogu u rastu, proliferaciji i diferencijaciji ćelija, stabilnosti genoma i apoptozi. Prekomerna ekspresija gena c-myc je jedna od najčešćih genetskih promena kod obolelih od karcinoma dojke, a javlja se kod trećine bolesnica. Amplifikacija gena c-myc povezana je sa lošijom prognozom bolesti i kraćim preživljavanjem bolesnica sa karcinomom dojke (106).

nm23. Gen nm23 kodira enzime nukleozid-difosfat kinaze koje katalizuju prelaz nukleozid-trifosfata u nukleozid-difosfat. Ovaj enzim učestvuje u razvoju, proliferaciji i diferencijaciji ćelije. Nukleozid-difosfat kinaze imaju ulogu u genskoj ekspresiji, ćelijskoj migraciji i apoptozi (107). Smanjena izraženost proteina nm23 povezana je s lošijom prognozom, metastazama u limfne čvorove pazuha, vaskularnom invazijom i češćim recidivima karcinoma dojke (108).

Bcl-2. Protoonkogen bcl-2 programira protein koji inhibira programiranu ćelijsku smrt (apoptozu). Bcl-2 blokira apoptozu preko mitohondrijskog puta inhibirajući oslobađanje citohroma C iz mitohondrija. Visoka izraženost bcl-2 prisutna je u ER i PR pozitivnim tumorima i dobar je prognostički pokazatelj, tj. bolesnice sa karcinomom dojke i visokom ekspresijom bcl-2 imaju bolje preživljavanje. Poznata je i njegova uloga prediktivnog faktora. Tako je pokazano da bolesnice sa hormonski pozitivnim karcinomom dojke imaju bolji odgovor na Tamoksifen ako je prisutna visoka izraženost bcl-2 (109).

2.3.16. Molekularna klasifikacija karcinoma dojke

Na internacionalnoj St. Galen konferenciji za dojku 2011. godine prikazana je nova klasifikacija zasnovana na ekspresiji estrogenog receptora (ER), progesteronskog receptora (PR), humanog epidermalnog faktora rasta HER2 (eng. *Human Epidermal Growth Factor Receptor 2*), kao i proliferativnog markera Ki67. Navedeni podtipovi zasnovani su na kliničko-patološkim kriterijumima. Zbog velike sličnosti sa prethodno iznetim molekularnim podtipovima karcinoma i jednostavnosti u svakodnevnoj primeni našli su veću kliničku upotrebu. Podela na osnovu kliničko-patoloških kriterijuma deli karcinom dojke na četiri podtipa: luminal A, luminal B, HER2 ekspimirajući i trostruko negativni podtip (Tabela 9) (110, 111).

Tabela 9. Molekularna klasifikacija karcinoma dojke

KLASIFIKACIJA JE IZVEDENA NA OSNOVU EKSPRESIJE ER-R, PR-R, HER-2 RECEPTORA I EKSPRESIJE PROLIFERATIVNOG MARKERA Ki67
1. LUMINALNI A TIP (ER-R+ i/ili PR-R+ i HER2-)
2. LUMINALNI B TIP (ER-R+ i /ili PR-R+ i HER2+)
3. HER2 POZITIVNI TIP (ER-R-, PR-R- i HER2+)
4. TRIPL – TROSTRUKO NEGATIVNI KARCINOMI ILI BAZALNI TIP KARCINOMA (ER-R-, PR-R- i HER2-)

Prilagođeno prema izvoru: Calza S, Hal P, Auer G, Bjöhle J, Klaar S, Kronenwett U, et al. Intrinsic molecular signature of breast cancer in a population-based cohort of 412 patients. *Breast Cancer Res.* 2006;8:1-9.

Prvu grupu čini takozvani luminalni A tip karcinoma dojke koji karakteriše molekularni fenotip sa ER-R i/ili PR-R pozitivnom ekspresijom, a negativnom ekspresijom HER2 receptora.

Drugu grupu čini luminalni B tip karcinoma dojke koji je po svom molekularnom fenotipu vrlo sličan luminalnom A tipu od kojeg se razlikuje samo po pozitivnoj ekspresiji HER2 receptora. Treću grupu čine HER2 pozitivni karcinomi dojke kod kojih postoji pozitivna ekspresija HER2 receptora, kao i amplifikacija gena za HER2 i nekoliko drugih gena koji

se nalaze na hromozomu 17 (najčešće gen *TOP2A*). Trostruko (tripl) negativni tumori ili bazalnom tipu slični tumori, koji su ER-R, ER-R i HER2 negativni tumori, svrstani su u četvrtu molekularnu kategoriju karcinoma dojke (112).

Luminalni tip karcinoma dojke je dobio ime po veoma sličnoj ekspresiji bioloških markera ovih tumora i luminalnog epitela dojke. Naime, i za normalno, tumorski nepromenjeno tkivo dojke, kao i za ovaj tip tumora, specifična je ekspresija luminalnih citokeratina 8 i 18. Luminalni tip karcinoma dojke čini većinu ER-R pozitivnih karcinoma dojke, a karakteriše se i ekspresijom PR-R i specifičnih gena koji su uključeni u aktivaciju estrogena. Luminalni A i B tipovi karcinoma dojke se međusobno razlikuju po svom osnovnom molekularnom profilu i prognostičkim osobinama. Luminalni A tip čini više od 40% svih tipova karcinoma dojke, obično ima visoku ekspresiju ER-R, nisku ekspresiju HER2 receptora, te nizak nivo ekspresije markera proliferacije, manji od 14%. Dodatni marker koji se eksprimira uglavnom kod luminalnog A tipa karcinoma dojke je GATA3. Definicija luminalnog tipa karcinoma dojke ne zasniva se na pozitivnoj ekspresiji EGFR i CK5/6, mada se može zabeležiti u nekim slučajevima. Manje od 9% karcinoma ovog tipa ima histološki gradus 3. U odnosu na druge tipove karcinoma dojke, ovaj tip tumora karakteriše najbolja prognoza ishoda bolesti. Na osnovu molekularnog profila, svi tipovi čistog lobularnog karcinoma *in situ* pripadaju luminalnom A tipu karcinoma dojke. Luminalni B tip je zastupljen kod 9–16% svih pacijentkinja sa karcinomima dojke. Karakteriše ga agresivniji tok bolesti, lošiji ishod, kao i ER-R, PR-R pozitivnost i pozitivna ekspresija EGFR-1, HER2 i ciklin E1. Indeks proliferacije je kod ovog tipa karcinoma dojke povećan u odnosu na luminalni A tip i iznosi uglavnom više od 14% (113).

HER2 pozitivni tip karcinoma dojke se javlja sa učestalošću između 8% i 16%. Na osnovu ekspresije ER-R, u okviru ovog tipa karcinoma dojke klasifikuju se dve podgrupe: ER-R negativni koji su slični bazalnom tipu karcinoma dojke (ER-R- i HER-2+ pozitivni karcinomi) i ER-R pozitivni koji su slični luminalnom B tipu karcinoma dojke (mogu da ekspimiraju i PR-R). U nekim slučajevima, pored HER2 receptora eksprimira se i EGFR. U većini slučajeva, tumor-supresorni protein p53 se ne eksprimira u ovom tipu karcinoma dojke, dok je ekspresija CK8/18 izrazito heterogena. Ukoliko je prisutna, pozitivna ekspresija EGFR je fokalnog karaktera i zastupljena je u manje od 5% tumorskih ćelija. Ovaj tip karcinoma dojke je uglavnom prisutan kod duktalnog *in situ* karcinoma i karakteriše ga loša prognoza ishoda bolesti (114).

Bazalni karcinomi čine do 15% svih karcinoma dojke. Ova podgrupa je nazvana tako jer neoplastične ćelije bazalnog karcinoma eksprimiraju gene koji se uobičajeno nalaze u normalnim bazalnim/mioepitelnim ćelijama, uključujući one odgovorne za citokeratine visoke molekularne mase, HMW (eng. *High Molecular Weight*) ili „bazalne” citokeratine (CK5/6, CK14 i CK17), kao i neke druge markere bazalne diferencijacije. U više studija je dokazano da su bazalni karcinomi dojke pretežno loše diferencijirani tumori, često sa medularnim i metaplastičnim elementima. Imunohistohemijski, oni su pretežno hormonski i HER2 negativni (ER-, PR-, HER2-). Pozitivna ekspresija bazalnih markera povezana je sa lošom prognozom i sa BRCA1 mutacijama, najverovatnije kao odraz visokog proliferativnog kapaciteta ovih tumora, kao i nepostojanja adekvatne, individualizovane, direktno ciljane terapije (112, 115).

2.4. Terapija karcinoma dojke

Tretman i lečenje karcinoma dojke obuhvata primenu terapije sa ciljem da se uzročno deluje na tumor i zavisi od stadijuma u kojem se karcinom dojke otkriva. U ranom stadijumu moguće je operacijom odstraniti tumor u dojci i otkloniti pripadajuće (regionalne) limfne čvorove u pazušnoj jami. Zbog mogućnosti metastaziranja, nakon operacije se sprovodi radioterapija operisane dojke i regionalnih limfnih čvorova da bi se smanjio rizik od pojave lokalnog recidiva. Koja će se vrsta sistemske adjuvantne terapije preporučiti zavisi pre svega od biologije tumora (statusa hormonskih receptora i HER2 statusa). Danas se jasno prepoznaje nekoliko tipova karcinoma dojke koji su svrstani u posebne podgrupe prema riziku od relapsa bolesti i osetljivosti na posebnu vrstu terapije. Tako prepoznajemo (1):

- Tumore sa pozitivnim ER i/ili PR (oko 70% svih tumora dojke) koji označavaju da pacijentkinje imaju veliku korist od primene hormonske terapije, ali se ona može kombinovati i sa hemioterapijom, ako za to postoje indikacije;
- Trostruko negativni (eng. *triple-negative*) karcinom dojke (10–15% svih tumora dojke) gde su svi receptori negativni (ER-/PR-/HER2-), što označava da je terapija izbora kod ovih pacijentkinja hemioterapija;

- HER2 pozitivni karcinomi dojke (oko 20% svih tumora dojke) imaju veliku korist od primene biološke terapije Trastuzumab (antitelo usmereno na HER2 molekul) čiji je efekat naročito veliki ako se primenjuje sa hemioterapijom.

2.4.1. Hirurgija

Operabilni karcinom dojke inicijalno se leči hirurški, poštednom intervencijom ili mastektomijom, u oba slučaja u kombinaciji sa disekcijom aksile (116).

Poštednom operacijom karcinoma dojke (eng. *Breast Conservation Surgery*, BCS; *Breast Conservation Therapy*, BCT) uklanja se tumor, ali ne i dojka. Ovim su obuhvaćeni zahvati: **tumorektomija (lumpektomija)**, parcijalna resekcija – **segmentektomija** (eng. *Wide Excision*), **kvadrantektomija** (eng. *Wedge Excision*). Indikacije (117):

- Kod pacijenata u stadijumu 0 (TisN0M0), I (T1N0M0), IIa (T0-1N1M0; T2N0M0) i IIb (T2N1M0), sa solitarnim tumorima veličine do 3 cm u najvećem prečniku;
- Tip tumora i lokalizacija nisu kontraindikacija za poštednu operaciju;
- Tumori veći od 3 cm i manji od 5 cm, ukoliko pacijent odbija mastektomiju ili se na konzilijumu proceni da odnos veličine tumora i dojke omogućava onkološki bezbednu i estetski prihvatljivu poštednu operaciju;
- Posle dobrog odgovara na neoadjuvantnu terapiju uz neophodnu odluku konzilijuma.

U poštednoj operaciji hirurg odstranjuje tumor u dojci i okolno tkivo oko tumora, uklanja limfne čvorove iz odgovarajuće pazušne jame (**limfadenektomija**). U novije vreme se s vrlo dobrim rezultatima primenjuje tehnika odstranjenja *sentinel node* – prvog limfnog čvora koji prima kontrastno sredstvo ubrizgano u ležište tumora. U slučaju negativnog nalaza, odnosno odsustva metastaza u *sentinel node*, hirurški zahvat se ovim završava, i obrnuto – kod metastatske zahvaćenosti otklanjanju se i ostali limfni čvorovi aksile. Poštedni operativni zahvati su metoda izbora u lečenju prekanceroza (DCIS) (118).

Mastektomija je hirurška intervencija pri kojoj se uklanja dojka. Primenjuje se kod uznapredovalih stadijuma karcinoma dojke, nepovoljne lokalizacije ili nesrazmere između veličine tumora i veličine dojke. Vrste mastektomija (117):

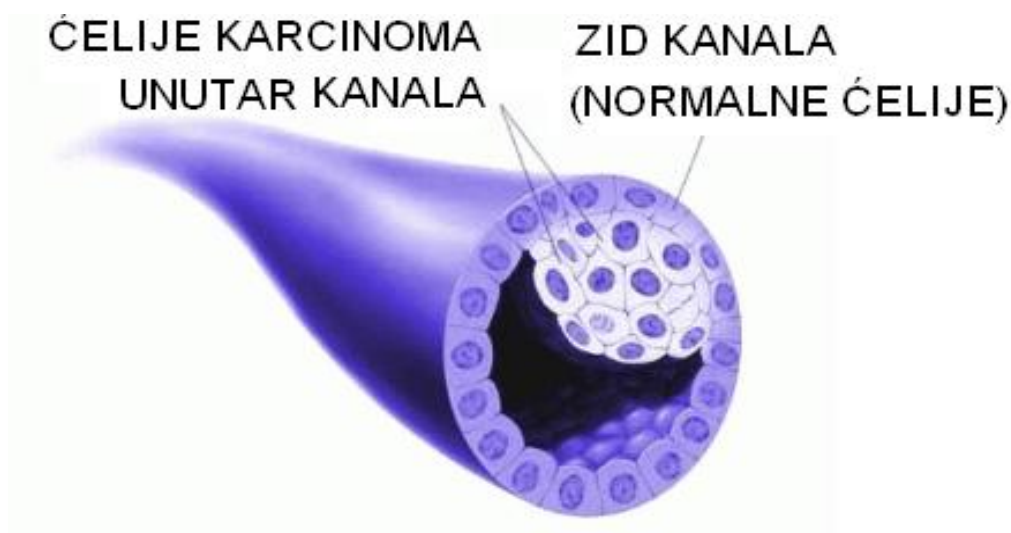
- Klasična modifikovana radikalna mastektomija podrazumeva uklanjanje kompletnog tkiva dojke sa većim delom eliptično ekscidirane kože i disekcijom pazušne jame;
- Prosta mastektomija (*simplex*);
- Modifikovana radikalna mastektomija (Madden, Patey) podrazumeva odstranjenje dojke u celini s odstranjenjem malog grudnog mišića i aksilarnih limfnih čvorova i, često, tkiva koje prekriva grudne mišiće;
- Radikalna mastektomija (Rotter–Halsted) znači da se uz dojku, mali grudni mišić i aksilarnu limfonodektomiju, odstranjuje i veliki grudni mišić i nešto masnog tkiva i kože;
- Mastektomija sa očuvanjem kože dojke (eng. *skin sparing mastectomy*) sa primarnom rekonstrukcijom dojke implantacijom endoproteze subpektoralno.

Indikacije (117):

- U svim slučajevima kontraindikacija za poštednu operaciju;
- Po proceni konzilijuma, hirurga ili odluci pacijenta;
- Parcijalni odgovor na neoadjuvantnu terapiju;
- Kada je procena da se ne može uraditi zadovoljavajuća primarna rekonstrukcija.

Terapijski postupci u pazušnoj jami. Ako postavimo dijagnozu pozitivnog limfnog nodusa neoperativnom metodom kod pacijenata sa ranim rakom dojke, potrebno je uraditi i disekciju aksile i svi limfni nodusi moraju biti uklonjeni. Kod kompletne aksilarne disekcije u više od 90% slučajeva nalazimo najmanje 10 limfnih nodusa. Stopa recidiva se kreće 3–5% u petogodišnjem intervalu. Edinburgška studija je pokazala da pacijenti kod kojih su biopsijom dokazani pozitivni aksilarni limfni nodusi i kod kojih je potom primenjena radioterapija imaju sličnu stopu recidiva kao pacijenti kod kojih je rađena kompletna (nivo III) disekcija (*level 2 evidence*).

U poslednje vreme je *sentinel node* biopsija postala standard u lečenju. Ova tehnika obezbeđuje preciznu procenu aksilarnog statusa, nisku stopu lažno negativnih rezultata uz značajnu redukciju hirurškog morbiditeta, posebno limfedema. Ukoliko je dijagnoza karcinoma dojke postavljena neoperativnom tehnikom, stažiranje aksile bi trebalo da se radi u isto vreme kada i hirurgija karcinoma dojke. Stažiranje aksile može biti izvedeno sentinel biopsijom (preporučeno), biopsijom ili nakon disekcije. Ukoliko se izvodi biopsija aksile, moraju biti uklonjena najmanje četiri limfna nodusa (117).



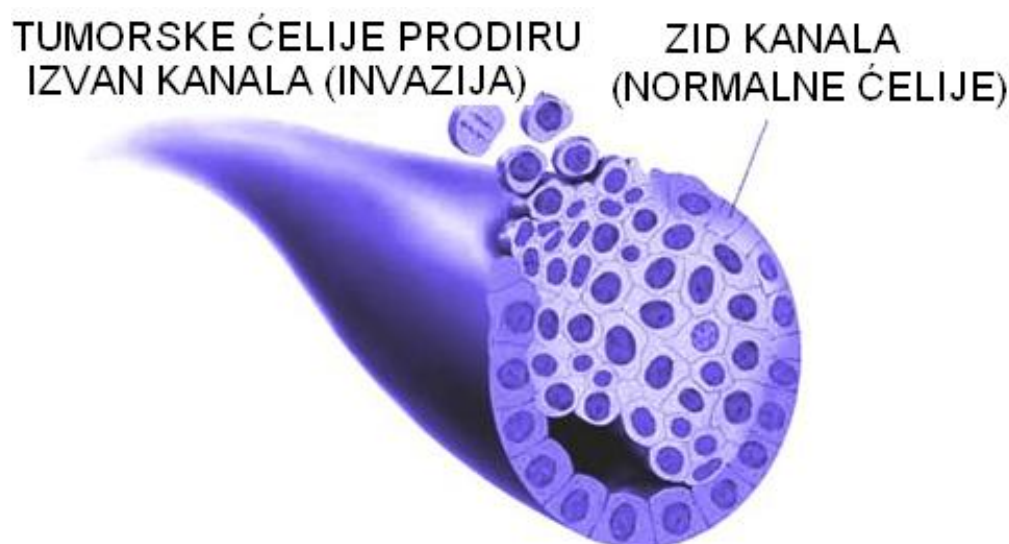
Slika 10. Duktalni karcinom *in situ* (DCIS)

Prilagođeno iz: Časopis Zdrave vijesti. Dostupno na <http://www.svezanju.hr/rak-dojke.html?start=5>

Hirurško lečenje duktalnog karcinoma *in situ* (DCIS), malignog prekursora invazivnog raka dojke. Cilj hirurškog zahvata je da se izvrši kompletna ekscizija tumora i da se lokalni recidiv svede na minimum. Stadijum tumora i čiste ivice resekcije (ivice > 1 mm) važni su faktori u tretmanu DCIS (Slika 10). Multifokalni tumor nije redak i može da bude razlog za visok procenat lokalnih recidiva. Približno 50% lokalnih recidiva posle tretmana DCIS je invazivno i nije *in situ*. Terapijske procedure kod DCIS (117):

- Indikacije za poštednu operaciju:
 - Mamografski ili klinički lokalizovan solitarni DCIS;
 - Veličina nije apsolutna kontraindikacija.
 - Indikacije za mastektomiju:
 - Dva ili više primarnih tumora ili difuzne radiološki maligne mikrokalcifikacije;
 - Pozitivne ivice resekcije posle ponavljanih operacija;
 - Veliki primarni tumori kod kojih nije moguće postići dobar kozmetički efekat poštednom operacijom;
 - Tumori kod mladih žena kod kojih je zbog malih dojki moguće postići samo minimalnu negativnu ivicu resekcije.
- Obavezno je pacijentu ponuditi primarnu rekonstrukciju dojki.

Hirurško lečenje lobularnih *in situ* neoplazija (LISN). Lobularna *in situ* neoplazija, LISN (ranije poznata kao lobularni karcinom *in situ* ili LCIS) često je incidentni nalaz i obično je okultni. LISN ne mora biti prekursor lokalne maligne lezije, ali potvrđuje povećani rizik u budućnosti, približno sedmostruki, od pojave invazivnog karcinoma u obe dojke (*level 3 evidence*) (Slika 11). Rizik za razvoj karcinoma dojke je oko 1% godišnje (117).



Slika 11. Invazivni karcinom dojke

Prilagođeno iz: Časopis Zdrave vijesti. Dostupno na <http://www.svezanju.hr/rak-dojke.html?start=5>

2.4.2. Radioterapija

Postoperativna radioterapija apsolutno se preporučuje posle sprovedene poštedne hirurške intervencije (116).

- **Radioterapija ranog karcinoma dojke (119):**

- **Neinvazivni karcinom dojke**

Duktalni karcinom *in situ* (DCIS). Ukoliko se načini samo lokalna ekscizija DCIS, lokalni recidiv (LR) će se javiti u 20–30% slučajeva u toku 10 godina praćenja, a poznato je da se 50% recidiva javlja u formi invazivnog karcinoma (119, 120, 121, 122).

Dodavanje postoperativne radioterapije (RT) po učinjenoj eksciziji, značajno smanjuje pojavu lokalnog recidiva (za 50%) kako invazivnog, tako i DCIS.

Preporuka (119):

- Postoperativna RT preostalog tkiva dojke nakon učinjene poštedne operacije;
- U slučaju mastektomije nema potrebe za sprovođenjem RT;
- Mogućnost izostavljanja postoperativne RT nakon ekscizije tumora u slučajevima sa vrlo niskim rizikom za relaps bolesti (mali tumori, nizak gradus).

Rani invazivni karcinom dojke. Danas je postoperativna RT nakon poštedne operacije postala standard u konzervativnom tretmanu ranog karcinoma dojke, dok se nakon učinjene mastektomije RT sprovodi u slučajevima kada postoji povećani rizik za pojavu relapsa bolesti. Saradnička grupa za studije ranog karcinoma dojke (*Early Breast Cancer Trialists Colaborative Group*, EBCTCG) je pokazala da postoperativna RT, nakon poštedne operacije ili nakon mastektomije, smanjuje pojavu lokalnog recidiva za oko 70% (119, 123). Takođe, po prvi put je pokazano da, pored toga što ima povoljan efekat na lokalnu kontrolu bolesti, postoperativna RT smanjuje i mortalitet od karcinoma dojke. Postoperativna RT nakon poštedne operacije invazivnog karcinoma dojke podrazumeva zračnu terapiju preostalog tkiva dojke koja se sprovodi uvek, dok se regionalni limfni čvorovi zrače samo u posebnim slučajevima kada je povećan rizik za pojavu relapsa bolesti (119).

EBCTCG je u svom izveštaju iz 2005. godine pokazao da postoperativna RT nakon poštedne operacije smanjuje 5-godišnji rizik za pojavu LR sa 26% na 7% (apsolutna redukcija je 19%), dok je 15-godišnji rizik od umiranja od karcinoma dojke smanjen sa 35,9% na 30,5% (apsolutna redukcija 5,4%). Ako se posebno izdvoje N0 i N+ pacijenti, prema najnovijem izveštaju EBCTCG iz 2011. godine vidi se da je 10-godišnja stopa prvog relapsa bolesti (lokoregionalna ili distalna) znatno veća kod N+ pacijenata, i samim tim je i apsolutna redukcija dodavanjem RT bila veća kod N+ pacijenata u odnosu na N0 (30,1% vs. 16,1%) (119, 124).

Danas je postoperativna RT preostalog tkiva dojke standard u lečenju svih pacijenata sa invazivnim karcinomom dojke koji su poštedno operisani. Dojka se zrači iz dva flankirana polja tumorskom dozom (TD) od 50 Gy u 25 frakcija (5 nedelja). Pored toga, u određenim slučajevima dodaje se *boost* – dodatna doza na ležište tumora sa TD 10–16 Gy u 5–8 frakcija (119).

Preporuka: (119)

- Postoperativna RT preostalog tkiva dojke u svim slučajevima ranog invazivnog karcinoma dojke;
- Predviđeno je dodavanje *boosta* na ležište tumora kod svih pacijentkinja mlađih od 50 godina i s gradusom III tumora, kao i kod starijih od 50 godina koje imaju povećani rizik za pojavu lokalnog recidiva;
- Mogućnost izostavljanja postoperativne RT kod pacijenata starijih od 70 godina koji imaju dobre prognostičke parametre (mali tumor, N0, pozitivne steroidne receptore) i kod kojih se primenjuje adjuvantna terapija Tamoksifenom.

Kontraindikacije za poštednu operaciju i postoperativnu RT su prethodno zračenje dojke ili grudnog koša, sprovođenje RT u toku trudnoće, velika zona rasutih suspektnih mikrokalifikacija na mamografskom nalazu, dok su relativne kontraindikacije aktivna bolest vezivnog tkiva koja involvira kožu (sklerodermija i lupus) i tumori veći od 5 cm (17, 119). Nakon radikalne mastektomije, postoperativna RT podrazumeva zračenje zida grudnog koša i regionalnih limfnih čvorova kod pacijenata sa povećanim rizikom za relaps bolesti.

Redosled postoperativne RT i adjuvantne HT – preporučuje se da se postoperativna RT započne unutar osam nedelja od učinjene operacije (119, 125).

Ukoliko se kombinuje postoperativna RT sa adjuvantnom HT redosled njihovog primenjivanja je prilično kontroverzan. Režimi koji sadrže antracikline i taksane ne bi trebalo da se daju istovremeno sa radioterapijom zbog potencijalne povećane toksičnosti. Preporučuje se da se prvo da adjuvantna HT a potom postoperativna RT (17, 119, 125, 126, 127).

• Radioterapija lokalno odmaklog karcinoma dojke

S obzirom na to da je inicijalna terapija lokalno odmaklog karcinoma dojke hemioterapija, zračna terapija može da se sprovede u slučaju odgovora na neoadjuvantnu hemioterapiju i učinjenu mastektomiju ili poštednu operaciju kao postoperativna ili, u slučaju izostanka odgovora na hemioterapiju i inoperabilnosti tumora, kao preoperativna ili radikalna RT (119, 128, 129, 130).

- **Neoadjuvantna hemioterapija i mastektomija** – kod pacijenata koji su primili neoadjuvantnu hemioterapiju odluka o sprovođenju postoperativne RT donosi se na osnovu

karakteristika tumora pre primenjene hemioterapije, bez obzira na odgovor na hemioterapiju (17, 119). Regionalni limfatici se zrače prema istim indikacijama kao i nakon operacije ranog karcinoma dojke. Uz to se dodaju sledeće indikacije (119):

– *Lgl a. mammaria int.* ako postoji klinički/patohistološki dokazana zahvaćenost lgl uz *a. mammarium int.*

– aksilarna regija se zrači kada je pozitivno više od 50% pregledanih lgl ili kada je pozitivno više od 10 lgl bez obzira na broj pregledanih lgl.

- **Neoadjuvantna HT + poštedna operacija**

– Postoperativna RT ostatka dojke je obavezna;

– Regionalni limfatici se zrače prema istim indikacijama kao i nakon operacije ranog karcinoma dojke.

- **Ako je tumor inoperabilan posle neoadjuvantne HT** sprovodi se zračenje dojke i svih regionalnih limfatika (preoperativna ili radikalna RT).

Za zračenje dojke predviđena je tumorska doza ranga 50–70 Gy.

Inflamatorni karcinom dojke – zračna terapija dojke i regionalnih limfatika sprovodi se u okviru *sandwich* terapije (u kombinaciji sa hemioterapijom). Ukoliko se nakon HT načini mastektomija, obavezno se sprovodi postoperativna RT zida grudog koša, a regionalni limfatici se zrače u odnosu na nalaz u aksili (128).

2.4.3. Adjuvantna sistemska terapija

Većina operisanih žena posle operacije prima tzv. adjuvantnu sistemska terapiju koja podrazumeva primenu hemioterapije, hormonske terapije, biološke (eng. *targeted*) terapije ili kombinaciju ove tri vrste terapije sa ciljem da se smanji rizik od ponovne pojave bolesti u udaljenim organima (1).

Hemioterapija je sistemska terapija što znači da se lekovi prenose putem krvotoka kroz celo telo; obično se savetuje većini obolelih od karcinoma dojke i zavisi od nekoliko faktora (131):

- tipa tumora
- gradusa (stepena diferenciranosti tumorskih ćelija od kojeg zavisi agresivnost tumora)

- veličine tumora
- vrste receptora na površini tumorskih ćelija i njihovog statusa
- broja i stepena zahvaćenosti limfnih žlezda
- rizika od metastaziranja
- prisustva metastaza.

Ako je indikovana hemioterapija, najčešće se primenjuju kombinacije lekova označenih skraćenicom FAC koja podrazumeva kombinaciju doksorubicina i ciklofosfamida, sa ili bez 5-fluorouracila, a kod nekih žena se primenjuju taksani (Paklitaksel ili Docetaksel). Postoji više načina na koje se ovi lekovi kombinuju (terapijski protokoli). Broj ciklusa hemioterapije posle operacije je ograničen (6–8 ciklusa), a hemioterapija se započinje obično do dva meseca od operacije (1). U adjuvantnom lečenju karcinoma dojke hemioterapijom koriste se antraciklinski režimi (FAC/CAF, AC, FEC, EC) i neantraciklinski režimi u koje spadaju taksani (nedeljni i tronedeljni), Paklitaksel i Taksotera i CMF režim, a u sistemsnoj terapiji metastatske bolesti još i kombinacije drugih citostatičkih lekova sa taksanima, zatim Kapecitabin (Xeloda), Vinorelbim, Gemcitabin i njihove međusobne kombinacije (132).

Hormonska terapija. Hormonska terapija uništava ćelije kancera prekidajući njihovu vezu sa hormonima koji stimulušu rast ćelija karcinoma dojke. Verovatno najduže korišćen lek iz ove grupe je Tamoksifen. On blokira ulaz estrogena u ćelije karcinoma dojke i na taj način zaustavlja njihov rast. Hormonska terapija može smanjiti produkciju hormona u telu ili, vezujući se za hormonske receptore na ćeliji karcinoma dojke, onemogućiti vezivanje hormona za iste, što ćeliju karcinoma vodi u proces umiranja. Hormonska terapija se može kombinovati i sa hemioterapijom čime se ostvaruje veća terapijska korist. Ukoliko je karcinom dojke „pozitivan na hormonske receptore“, može se savetovati i hemioterapija i hormonska terapija (131).

Adjuvantna hormonska terapija podrazumeva smanjenje uticaja estrogena na rast tumorskih ćelija. To se postiže smanjenjem stvaranja estrogena u telu (1).

Najčešće opcije pre menopauze (131)

- **Tamoksifen:** Neželjeni efekti Tamoksifena slični su simptomima menopauze. Najčešći su naleti toplote – „valunzi“, suvoća vagine, neredovne menstruacije, bol u kostima, glavobolje, mučnina, povraćanje, iritacija kože i slično. Ozbiljni neželjeni efekti su retki i uključuju tromboze krvnih sudova, moždani udar, kataraktu.

- **LH-RH agonisti:** Ovi lekovi sprečavaju jajnike da stvaraju estrogen pa se nivo estrogena u krvi se snižava.
- **Hirurško (laparoskopsko) uklanjanje jajnika ili zračenje jajnika:** Jajnici predstavljaju glavni izvor estrogena u telu; njihovim uklanjanjem uklanja se i izvor stvaranja estrogena. Ukoliko bolesnik primi LH-RH agoniste ili se primeni kastracija, moguće je uključiti aromataza inhibitore umesto Tamoksifena, mada Tamoksifen može ostati opcija lečenja.

Najčešće opcije posle menopauze

- **Aromataza inhibitori:** Ovi lekovi inhibiraju enzim aromatazu koji je odgovoran za sintezu estrogena. Najčešće se koriste Anastrozol, Eksamesten i Letrozol. Neželjeni efekti su smanjenje gustine kostiju, porast holesterola. U proseku, hormonska terapija smanjuje rizik od povratka karcinoma dojke za 50% (131).

Važno je upamtiti da adjuvantna hormonska terapija traje minimalno pet godina i da je ne treba prekidati ako se dobro podnosi (1). U hormonskoj terapiji ranog karcinoma dojke koriste se ovarijalna ablacija (medikamentozna, hirurška ili radijaciona), Tamoksifen i inhibitori aromataze (IA) treće generacije, a u sistemske terapiji još i Fulvestrant, Medroksi progesteron acetat (MPA, Dugen), Megestrol acetat (Megace), Fluoksimesteron (Halotestin), Depo-Testosteron, a ređe i Etilnil-estradiol (132).

Biološka, ciljana (*target*) terapija. Ova terapija se obično kombinuje sa hemioterapijom. Biološka, ciljana terapija često ima manje neželjenih efekata nego hemioterapija. Ciljana terapija karcinoma dojke koristi lekove koji blokiraju rast ćelija karcinoma na specifične načine. Na primer, mogu blokirati delovanje prekomerno stvorenog proteina (kao što je HER2) koji stimuliše rast ćelija karcinoma dojke. Najčešće korišćena vrsta biološke, ciljane terapije su monoklonska antitela. To su proteini proizvedeni u laboratorijama koji se specifično vezuju za ćelije karcinoma. Hormoni rasta malignih ćelija se vezuju za maligne ćelije, stimulišući ih da se ubrzano dele i umnožavaju. Trastuzumab dovodi do odumiranja ćelija karcinoma dojke, HER2 pozitivnih, pronalazeći ih, vezujući se za njih i blokirajući akciju receptora na hormone rasta. Ovaj lek se daje venskim putem, sam ili uz hemioterapiju. Druga vrsta ciljane terapije je Bevacizumab koji sprečava stvaranje novih krvnih sudova tumora i onemogućava njegovu ishranu. Lapatinib blokira abnormalni protein koji daje signal ćelijama kancera da se umnožavaju. Ovaj lek se proizvodi u

tabletama i može se dati s hemioterapijom ili u situaciji kada drugi metodi lečenja ne daju rezultate (131).

2.4.4. Neoadjuvantna hemioterapija

Primarna neoadjuvantna terapija indikovana je za inoperabilni lokalno uznapredovali karcinom dojke (stadijum IIIB, T4 – uključujući i T4d, N2–3, regionalne M1) (133). Neoadjuvantna (primarna sistemska, preoperativna, indukciona) terapija je sistemska aplikacija agensa (citotoksičnih, hormonskih, bioloških) pre lokoregionalne terapije u nemetastatskoj bolesti karcinoma dojke. Lokalno odmakli karcinom dojke čini vrlo heterogena grupa odmaklih nemetastatskih tumora dojke: s jedne strane, to su indolentni, spororastući ili zapušteni tumori, a s druge strane, agresivni, brzonapredujući karcinomi ili manji tumori sa velikim, fiksiranim Igl, ili Igl sraslim u konglomerat. Lokalno odmakli karcinom dojke može imati različitu kliničku prezentaciju: veliki tumori (> 5 cm), tumori koji direktno zahvataju zid grudnog koša ili kožu sa edemom, uključujući *peau d'orange*, tumori u vidu ulceracija, satelitski čvorovi na koži dojke, zahvatanje aksilarnih / natključnih / parasternalnih limfnih nodusa, inflamatorni karcinom dojke. Iako nema standardne definicije za lokalno odmakli karcinom dojke, to nije sinonim za inoperabilni karcinom već mu pripadaju i kategorije resektabilnih karcinoma dojke, a najčešće prihvaćena definicija je ona koja obuhvata karakteristike predstavljene u Tabeli 10 (134).

Tabela 10. Lokalno odmakli karcinom dojke

Lokalno odmakli karcinom dojke	
Klinički stadijum	TNM
Stadijum III A	T3 N1 M0, T0–3 N2 M0
Stadijum III B	T4 N0–2 M0
Stadijum III C	Svaki T N3 M0
Stadijum II B	T3 N0 M0

Prilagođeno prema izvoru: Neo-adjuvantna terapija. Deo VI. Nacionalni vodič dobre kliničke prakse za dijagnostikovanje i lečenje raka dojke. Beograd: Ministarstvo zdravlja Republike Srbije, Agencija za akreditaciju zdravstvenih ustanova Srbije; 2013. str. 123.

Pacijenti sa lokalno odmaklim karcinomom dojke imaju lošiju prognozu nego pacijenti sa ranim operabilnim karcinomom dojke (veći rizik za lokalni relaps i udaljene metastaze, kao i lošije ukupno preživljavanje), ali imaju bolju prognozu nego pacijenti sa udaljenim metastazama. Inflamatorni karcinom dojke predstavlja klinički i patološki podtip lokalno odmaklog karcinoma koji ima posebno agresivan tok i lošu prognozu.

Neoadjuvantna hemioterapija (134):

- Antraciklinski i taksanski režimi su savremeni standard neoadjuvantne hemioterapije.
- Duže trajanje neoadjuvantne hemioterapije (6–8 ciklusa) je efikasnije nego kraće trajanje (3–4 ciklusa), te se ne preporučuje primena manje od 6 ciklusa neoadjuvantne hemioterapije.
- Sekvencijalna neoadjuvantna hemioterapija antraciklinske kombinacije i taksana (antraciklinski režim → taksan) pokazala je sličnu efikasnost u odnosu na kombinovanu hemioterapiju antraciklina i taksana (AT ili TAC), ali uz bolje tolerisanje sekvencijalnog pristupa.

Dalja terapija (134):

O indikacijama za primenu adjuvantne posle neoadjuvantne hemioterapije i hirurškog zahvata inicijalno lokalno odmaklog karcinoma dojke procenjuje se individualno, na osnovu postignutog efekta neoadjuvantne terapije kod pojedinačnog pacijenta: u slučaju povoljnog terapijskog efekta, predlaže se nastavak adjuvantnog sistemskog lečenja samo hormonskom i/ili biološkom terapijom ukoliko su ER/PR i/ili HER2 receptori pozitivni, a u slučaju nepovoljnog efekta neoadjuvantne hemioterapije predlaže se primena i adjuvantne hemioterapije, obično 3–4 ciklusa (uglavnom primena HT režima bez ukrštene rezistencije sa agensima primenjenim preoperativno, npr. taksani – ako nisu primenjeni preoperativno, ili CMF režim – u slučaju da je primenjena neoadjuvantna HT koja sadrži antracikline i taksane).

HER2 pozitivni lokalno odmakli karcinom dojke. Amplifikacija ili prekomerna ekspresija HER2 je nađena u oko 35% lokalno odmaklih i metastatskih tumora i oko 40% inflamatornih karcinoma dojke, i udružena je sa agresivnim tokom bolesti i lošom prognozom. Zbog toga je izuzetno važno pacijentima sa HER2 pozitivnim lokalno odmaklim, a posebno onima sa inflamatornim karcinomom dojke, ponuditi efikasnu neoadjuvantnu terapiju.

Hormono-senzitivni (hr pozitivni) lokalno odmakli karcinom dojke (134)

Kada je reč o pacijentkinjama sa hormone receptor pozitivnim lokalno odmaklim karcinomom dojke, primena neoadjuvantne hormonske terapije može biti alternativna terapijska opcija neoadjuvantnoj hemioterapiji kod:

- pacijenata lošijeg opšteg stanja (svih životnih doba) ili onih sa komorbiditetima koji predstavljaju kontraindikacije za primenu hemioterapije,
- pacijentkinja sa visokopozitivnom ekspresijom ER i/ili PR kada se proceni da se radi o lokalno odmaklom karcinomu dojke sa indolentnim tokom,
- starijih pacijentkinja sa visokopozitivnom ekspresijom ER i/ili PR.

S obzirom na to da se odgovor na preoperativnu hormonsku terapiju postiže sporije, za razliku od hemioterapije, osnovni cilj primene neoadjuvantne hormonske terapije je klinički terapijski odgovor (a ne patohistološki). Preporučuje se primena neoadjuvantne hormonske terapije tokom najmanje tri (obično četiri) meseca pre procene terapijskog odgovora i planiranja daljeg lečenja, a optimalno je da se produži do šest do osam meseci u slučaju postojanja inicijalnog odgovora (134).

2.4.5. Terapija metastatskog karcinoma dojke

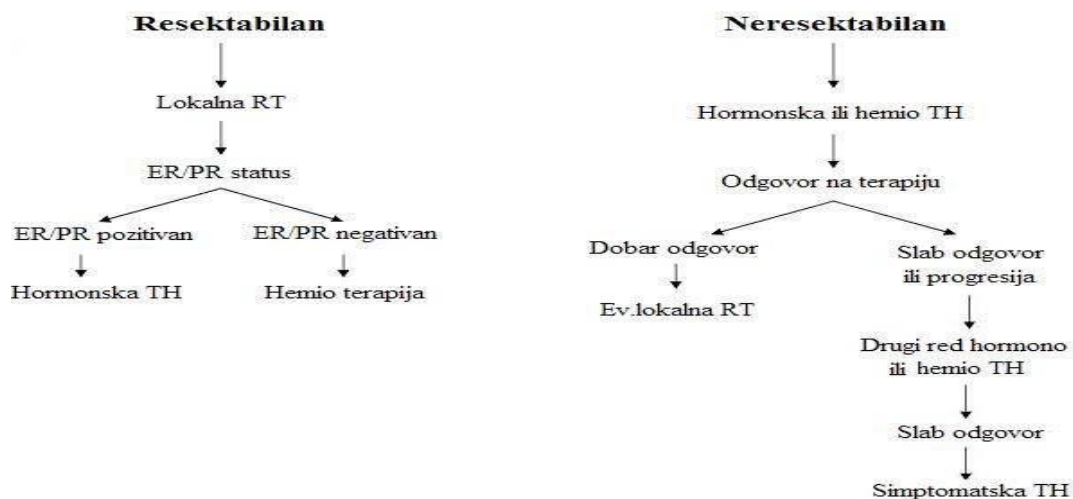
Do pojave rekurentne bolesti može doći u toku sprovođenja adjuvantnog lečenja ili posle završetka istog. Ona se češće javlja kod bolesnica koje su imale agresivniji tumor od početka bolesti (na primer, inflamatorni karcinom, veliki primarni tumor ili zahvaćenost limfnih žlezda aksile tumorom). Postoje dva tipa lokalno rekurentne bolesti (135):

- Lokalni recidiv: tumor se javlja na mestu ranijeg tumora;
- Regionalni recidiv: ovo je ozbiljniji problem nego lokalni recidiv i dolazi do ponovnog javljanja tumora u pektoralnom mišiću, u zidu grudnog koša, u koži u predelu dojke, limfnim žlezdama oko *a. mammae interne*, ispod grudne kosti, između rebara, u supraklavikularnim limfnim žlezdama i u žlezdama vrata i istostrane aksile.

U oba slučaja neophodno je uraditi hiruršku eksciziju promene, a ako to nije moguće, biopsiju promene radi PH verifikacije, odnosno dobijanja uvida u hormonski i HER2 status

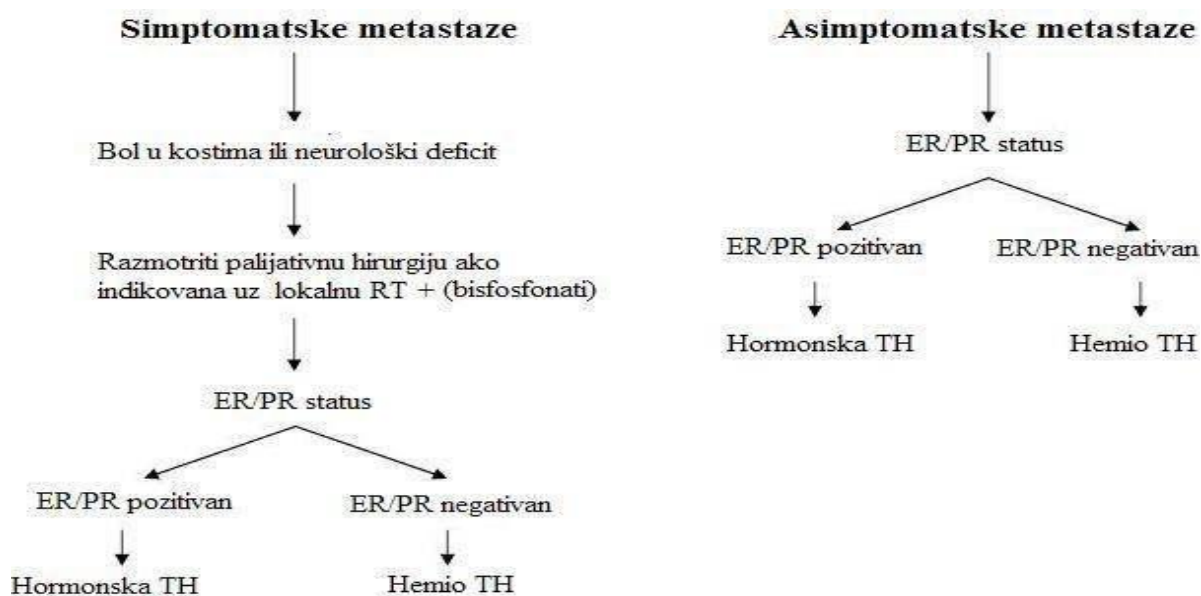
(u oko 20% slučajeva dolazi do promena). To može u značajnoj meri da utiče na izbor prve sistemske terapije. Potrebno je napomenuti da je ekscizija/biopsija često neophodna radi diferencijalne dijagnoze u odnosu na benigne promene koje ne zahtevaju dalju terapiju. U slučaju pojave recidiva bolesti, neophodno je isključiti druge udaljene metastaze, jer pojava lokoregionalnog recidiva može da predstavlja i uvod u dalju diseminaciju bolesti. Zato je potrebno uraditi standardne laboratorijske pretrage, RTG pluća (po potrebi i CT), zatim UZ abdomena i male karlice (eventualno CT ili MRI) i scintigrafiju kostiju (suspektne promene iziskuju RTG snimak ili CT, odnosno MR pregled) (135).

Lečenje izolovanog lokalnog recidiva je hirurška ekstirpacija promene (kad god je to moguće) (Slika 12). Ako je do recidiva došlo kod bolesnice koja je prethodno tretirana poštednom hirurškom metodom, predlaže se mastektomija i eventualno dodatno ozračivanje, a potom dalje lečenje hormonskom odnosno hemioterapijom. Ukoliko je lokalni recidiv nastao kod bolesnice koja je mastektomirana a nije zračena, tada je nakon biopsije (ili ekstirpacije) indikovana zračna terapija i, kao što je navedeno, sistemska terapija koja podrazumeva hemioterapiju, ciljnu ili hormonalnu terapiju. Ovakvim pristupom, 60–75% bolesnica preživi 5 godina, a nije retko da žive i 15 godina bez ikakvih recidiva (135).



Slika 12. Terapijski algoritam za lokoregionalni recidiv

Prilagođeno iz: Nacionalni vodič dobre kliničke prakse za dijagnostikovanje i lečenje raka dojke. Deo VII. Beograd: Ministarstvo zdravlja Republike Srbije, Agencija za akreditaciju zdravstvenih ustanova Srbije; 2013.



Slika 13. Algoritam terapije za bolesnike sa koštanim metastazama

Prilagođeno iz: Nacionalni vodič dobre kliničke prakse za dijagnostikovanje i lečenje raka dojke. Deo VII. Beograd: Ministarstvo zdravlja Republike Srbije, Agencija za akreditaciju zdravstvenih ustanova Srbije; 2013.

Utvrđivanje stadijuma bolesti i procena rizika prikazani su u Tabeli 11 (136).

Tabela 11. Faktori koji utiču na prognozu metastatskog karcinoma dojke

Faktori koji utiču na prognozu metastatskog karcinoma dojke	
Dobra prognoza	Loša prognoza
ER/PR pozitivni tumor	ER/PR negativni tumor
Dugotrajni interval bez bolesti (> 1 godine)	Kratak interval bez bolesti (< 1 godine)
Ostvaren terapijski odgovor na prvu liniju hemioterapije	Nije ostvaren primarni terapijski odgovor
Nema visceralnih metastaza	Visceralna metastaza
Ograničen broj metastatskih mesta, mali volumen bolesti	Veliki broj metastatskih mesta i/ili voluminozna bolest
HER2 negativni tumor	HER2 pozitivni tumor

Prilagođeno prema izvoru: Minimalne kliničke preporuke za dijagnostiku, lečenje, adjuvantnu terapiju i praćenje pacijenta sa primarnim, rekurentnim / metastatskim karcinomom dojke. Vodič kliničke prakse. Beograd; 2002. str. 9.

3. PREDMET, CILJEVI, HIPOTEZE I FAZE ISTRAŽIVANJA

3.1. Predmet i problem istraživanja

Novija istraživanja pokazuju da i androgeni hormoni, pored do sada dobro istraženih estrogena, imaju značajnu ulogu u nastanku karcinoma dojke. Visok nivo androgena koji cirkulišu je na osnovu epidemioloških studija u koleraciji sa prisutnim rizikom od nastanka karcinoma dojke prvenstveno kod žena u postmenopauzi. Ovakva uloga androgena u tkivu dojke nije biološki u potpunosti razjašnjena (75).

Androgeni receptor je po mnogim studijama najzastupljeniji steroidni receptor u ćelijama karcinoma dojke (41). Kod HER2+/ER- karcinoma, dokazano je karakteristično prisustvo AR (76). AR su dokazani i kod 25% slučajeva udaljenih metastaza karcinoma dojke. Međutim, postoje kontroverze o ulozi AR kod ER+ tumora (77).

Na osnovu do sada sprovedenih studija i prethodno navedenih podataka, dokazan je značaj nezavisne ekspresije AR kao faktora dobre prognoze kod karcinoma dojke. Dalja ispitivanja bi mogla doprineti inovacijama u sistemu klasifikacije tumora dojke, kao i uvrštavanju AR u grupu standardnih prognostičkih faktora (78).

3.2. Cilj istraživanja sa naglaskom na rezultate koji se očekuju

Cilj istraživanja sa naglaskom na rezultate koji se očekuju:

- Određivanje učestalosti ekspresije AR u infiltrativnom duktalnom karcinomu dojke
- Utvrđivanje povezanosti ekspresije AR i kliničko-patoloških prognostičkih faktora u infiltrativnom duktalnom karcinomu dojke
- Odnos ekspresije AR i ekspresije estrogen receptora (ER), progesteron receptora (PR) i humanog epidermalnog faktora rasta (HER2)

- Procena povezanosti pozitivne ekspresije AR, kao i odnosa AR/ER, sa odgovorom na primenjenu hormonsku terapiju kod ER pozitivnih bolesnica
- Procena povezanosti ekspresije AR, kao i odnosa AR/ER, sa kliničkim tokom bolesti: pojavom recidiva, metastaza, kao i smrtnim ishodom u toku petogodišnjeg perioda praćenja pacijentkinja

3.3. Hipoteze istraživanja

Hipoteze istraživanja:

Hipoteza 1. Učestalost ekspresije androgenih receptora u infiltrativnom duktalnom karcinomu dojke udružena je sa kliničko-patološkim pokazateljima bolje prognoze.

Hipoteza 2. Infiltrativne duktalne karcinome dojke koji su ER-/AR+ karakteriše visoka HER2 proteinska ekspresija.

Hipoteza 3. Duktalni infiltrativni karcinom dojke, tripl negativni podtip (ER-, PR-, HER2-) karakteriše AR+ status.

Hipoteza 4. Pacijentkinje sa visokim odnosom ekspresije AR i ER (≥ 2) u tumoru imaju lošiji odgovor na hormonoterapiju i kraće vreme preživljavanja u odnosu na bolesnice sa tumorom u kojem je odnos AR i ER manji od 2.

Hipoteza 5. Pacijentkinje sa AR+ infiltrativnim duktalnim karcinomom dojke imaju duže vreme preživljavanja i duže vreme do pojave lokalnog recidiva ili udaljenih metastaza u odnosu na pacijentkinje istog stadijuma bolesti sa AR- tumorom.

3.4. Program istraživanja (faze)

Program istraživanja (faze) i okvirni sadržaj doktorke disertacije:

Prva faza istraživanja podrazumeva odabir pacijentkinja koje će činiti statistički uzorak.

U okviru druge faze izvršiće se mikroskopska analiza gotovih histoloških preparata iz arhive, kao i analiza dodatno napravljenih imunohistohemijskih preparata. Istovremeno će se prikupljati podaci o kliničkom toku bolesti nakon tretmana pacijentkinja sa karcinomom dojke, operacijama i primenjenoj terapiji. Podaci će biti prikupljeni iz bolesničkog informacionog sistema (Birpis), a ukoliko je potrebno i intervjuima sa bolesnicama ili njihovim porodicama.

U trećoj fazi podaci će se statistički obraditi, a dobijeni rezultati analizirati u cilju donošenja zaključaka.

Studija je dizajnirana kao retrospektivna sa praćenjem slobodnog perioda bez bolesti, vremena do pojave metastaza ili lokalnog recidiva, kao i ukupnog preživljavanja pacijentkinja sa karcinomom dojke, a prema zadatim parametrima praćenja.

4. METODE, UZORCI I MESTO ISTRAŽIVANJA

4.1. Metode istraživanja

Isečki tkiva uzeti iz operativnog materijala odabranih pacijentkinja sa karcinomom dojke, patohistološki se obrađuju prema standardnoj proceduri, fiksiraju u formalinu, ukalupljeni u parafin, a zatim su sečeni na rezove debljine 5 μm .

Deparafinisani isecci boje se standardnom histološkom metodom hematoksilin i eozin (HE). Ovako pripremljeni histološki preparati se analiziraju svetlosnim mikroskopom. Pri proceni histološkog gradusa tumora, primenjivan je semikvantitativni Bloom–Richardson sistem gradiranja modifikovan po Ellston–Ellisu (137).

Veličina tumora određena makroskopskim pregledom ekscidiranog čvora definisana je kao najveći dijametar infiltrativnog fokusa. Pregledom HE preparata odabran je reprezentativni uzorak tumorskog tkiva za imunohistohemijsku analizu, kao i za određivanje amplifikacije HER2 gena metodom CISH ili SISH *in situ* hibridizacije. Pri imunohistohemijskoj analizi koriste se primarna antitela na estrogen receptor (ER), progesteron receptor (PR), androgen receptor (AR), humani epidermalni faktor rasta (HER2), kao i Ki67 za procenu proliferativnog indeksa.

Ekspresija AR, ER i PR biće ocenjena kao pozitivna u slučaju jasne jedarne pozitivnosti. U evaluaciji ekspresije ER, PR i AR vrednuje se intenzitet bojenja i procentualni udeo pozitivnih ćelija. Svi slučajevi sa jasnom jedarnom pozitivnošću u više od 1% tumorskih ćelija vrednovaće se kao pozitivni. U proceni ekspresije HER2 proteina koristi se scoring sistem sa četiri kategorije (0–3). Jasno negativni (skor 0 i 1+) i pozitivni slučajevi (3+) definisaće se primenom imunohistohemijske metode. Svi slučajevi sa skorom 2+ su retestirani u cilju utvrđivanja postojanja genske amplifikacije korišćenjem sistema HER2, CISH ili SISH.

Vrednost proliferativnog indeksa Ki67 izražena je kao procenat pozitivno obojenih jedara tumorskih ćelija bilo kojeg intenziteta procenjen na 200 ćelija sa barem jednim poljem u kojem ima najviše obojenih jedara (*hot spot*) (138). Za svako primenjeno antitelo koristiće se pozitivna i negativna kontrola.

4.2. Način izbora, veličina i konstrukcija uzorka

Način izbora, veličina i konstrukcija uzorka:

Studijom je obuhvaćeno preko 200 pacijentkinja obolelih od infiltrativnog dukalnog karcinoma dojke, koje su operisane na Institutu za onkologiju Vojvodine u periodu od 2010. do 2012. godine. Pacijentkinje su odabrane metodom slučajnog izbora.

U studiju nisu uključene pacijentkinje sa drugim histološkim tipovima karcinoma dojke, sa multifokalnim i difuznim tipom karcinoma, one koje su primile preoperativnu terapiju, kao i one o čijem praćenju kliničkog toka bolesti nedostaju potrebni podaci.

Celokupna histološka, imunohistohemijska i *in situ* hibridizaciona metoda primenjena je na Odeljenju za patologiju i citodijagnostiku Instituta za onkologiju Vojvodine, Sremska Kamenica. Za sprovođenje studije nije bilo potrebno angažovanje drugih ustanova.

4.3. Planirano vreme i mesto eksperimentalnog istraživanja

Analiza patohistoloških preparata, prikupljanje podataka iz informacionog sistema, kao i statistička obrada obavljani su u periodu 2015–2019. godine, za kada je planiran i završetak doktorske disertacije. Mesto eksperimentalnog istraživanja je Institut za onkologiju Vojvodine.

5. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

5.1. Statistika i deskripcija uzorka

U radu će od metoda deskriptivne statistike naći primenu mere centralne tendencije i to aritmetička sredina, mere varijabiliteta i to standardna devijacija, kao i relativni brojevi.

Od metoda analitičke statistike u radu će biti korišćene metode identifikacije empirijskih raspodela, metode za procenu značajnosti razlike i to: u zavisnosti od tipa raspodele podataka t-test, analiza varijanse, Mann–Withney U test i χ^2 test.

Za procenu značajnosti povezanosti ulaznih varijabli i ishoda, prema vremenu proteklom do ishoda, korišćene su univarijantna i multivarijantna Cox proporcionalna hazardna regresiona analiza. Kaplan–Meierove krive su korišćene da se proceni stopa ishoda za pojedine varijable tokom godinu dana.

U studiju su uključene 232 pacijentkinje, čija je prosečna starost u vreme postavljanja dijagnoze bolesti bila $57,24 \pm 11,15$ godina (medijana 58 godina, a raspon od 24 do 84 godine), od kojih je 56 (24,1%) bilo u premenopauzalnom periodu.

Kod 141 (60,8%) pacijentkinje učinjena je kvadrantektomija, kod 34 (14,7%) segmentektomija, kod 26 (11,2%) mestektomija, kod 25 (10,8%) amputacija, kod 3 (1,3%) tumorektomija, kod 2 (0,9%) *core* biopsija, a kod 1 (0,4%) ekstirpacija.

Hemioterapijom je lečeno 157 (67,67%), a hormonskom terapijom 217 (93,5%) pacijentkinja.

Hemioterapiju i hormonsku terapiju dobile su 144 (62,1%) pacijentkinje, samo hemioterapiju 13 (5,6%) pacijentkinja, a samo hormonsku terapiju 73 (31,5%) pacijentkinje.

U odnosu na vrstu hormonske terapije, samo Tamoksifenom lečeno je 118 (50,9%) pacijentkinja, samo inhibitorima aromataze 20 (8,6%), a obe vrste hormonskih lekova dobilo je 79 (34,1%) pacijentkinja.

Veličina tumora je kod 101 (43,5%) pacijentkinje iznosila manje od 2 cm, kod 19 (8,2%) je iznosila 2 cm, a kod 110 (47,4%) više od 2 cm.

Tumor u stadijumu T1 imalo je 10 (4,3%) pacijentkinja, u stadijumu T1a 3 (1,3%), u stadijumu T1b 22 (9,5%), a u T1c stadijumu 81 (35,1%) pacijentkinja. Tumor u stadijumu T2 imalo je 98 (42,4%) pacijentkinja, u stadijumu T3 7 (3,0%), a u stadijumu T4 8 (3,5%) pacijentkinja. T4b i T4d stadijume imala je po jedna pacijentkinja (0,4%).

Histološki gradus 1 imale su 23 (9,9%) pacijentkinje, gradus 2 je imalo 113 (48,7%), a gradus 3 96 (41,4%) pacijentkinja.

Perineuralna invazija registrovana je kod 34 (14,7%) pacijentkinje, a perivaskularna invazija kod 100 (43,1%) pacijentkinja.

Regionalni limfni čvorovi nisu bili zahvaćeni kod 131 (56,7%) pacijentkinje, dok je N1 stadijum imala 61 (26,3%) pacijentkinja, N2 stadijum 20 (8,7%), N3 stadijum 17 (7,4%), a N4 i Nx po jedna (0,4%) pacijentkinja.

Prvi stadijum bolesti registrovan je kod 113 (48,9%) pacijentkinja, drugi kod 82 (35,5%) pacijentkinje, a treći stadijum kod 36 (15,5%) pacijentkinja.

Tokom pet godina praćenja, relaps bolesti registrovan je kod 31 (13,4%) pacijentkinje, prosečno vreme do pojave relapsa je iznosilo $1200,48 \pm 424,95$ dana (minimum 240 dana – maksimum 1.825 dana), a medijana 1.150 dana. Smrtni ishod registrovan je kod 30 (12,9%) pacijentkinja, prosečno vreme do pojave smrtnog ishoda je iznosilo $1408,43 \pm 325,91$ dana (minimum 545 dana – maksimum 1.820 dana), a medijana 1.430 dana. Četiri pacijentkinje (12,9%) koje su imale relaps umrle su tokom praćenja.

Tumorsko tkivo kod 203 (87,5%) pacijentkinje je bilo pozitivno na androgenske receptore, sa medijanom 8 i rasponom 1–10. U prvom stadijumu bolesti androgenski receptori su

registrovani kod 102 (50,2%) pacijentkinje (medijana 8, raspon 1–10), u drugom stadijumu bolesti kod 72 (35,5%) pacijentkinje (medijana 8, raspon 1–10), a u trećem stadijumu bolesti kod 29 (14,3%) pacijentkinja (medijana 8, raspon 1–10) ($p = 0,299$).

5.2. Deskriptivni parametri svih pacijentkinja u odnosu na prisustvo androgenskih receptora

Deskriptivni parametri svih pacijentkinja u odnosu na prisustvo androgenskih receptora prikazani su u Tabeli 12. Pacijentkinje kod kojih su androgenski receptori bili pozitivni bile su statistički značajno starije u odnosu na pacijentkinje bez androgenskih receptora ($p = 0,019$). Nije registrovana statistički značajna razlika u broju receptora za progesteron, estrogen, HER2 i Ki67 u odnosu na prisustvo androgenskih receptora ($p > 0,05$) (Tabela 12).

Tabela 12. Deskriptivni parametri svih pacijentkinja u odnosu na prisustvo androgenskih receptora

	Svi pacijenti			Androgenski receptori						p
	Medijana	Minimum	Maksimum	Ne			Da			
				Medijana	Minimum	Maksimum	Medijana	Minimum	Maksimum	
Starost pri postavljanju dijagnoze (godine)	58,00	24,00	84,00	57,00	25,00	73,00	59,00	24,00	84,00	0,019
Receptori za progesteron (%)	6,00	,00	8,00	6,00	,00	8,00	6,00	,00	8,00	0,346
Receptori za estrogen (%)	7,00	,00	8,00	7,00	3,00	8,00	7,00	,00	8,00	0,887
Receptori za HER2	,00	,00	3,00	,00	,00	3,00	,00	,00	3,00	0,452
Ki67 (%)	10,00	1,00	75,00	20,00	20,00	20,00	10,00	1,00	75,00	0,778

5.3. Učestalost hormonskih receptora i molekularna klasifikacija svih pacijentkinja u odnosu na prisustvo androgenskih receptora

Učestalost hormonskih receptora i molekularna klasifikacija svih pacijentkinja u odnosu na prisustvo androgenskih receptora, prikazani su u Tabeli 13. Nije registrovana statistički značajna razlika u učestalosti receptora za progesteron, estrogen, HER2, Ki67 triple negativnih ćelija, kao i u vrsti tumora prema molekularnoj klasifikaciji u odnosu na prisustvo androgenskih receptora ($p > 0,05$) (Tabela 13).

Tabela 13. Učestalost hormonskih receptora i molekularna klasifikacija svih pacijentkinja u odnosu na prisustvo androgenskih receptora

	Svi pacijenti		Androgenski receptori				p	
			Ne		Da			
			Ukupno	N %	Ukupno	N %		
Receptori za progesteron	Negativan	34	14,7%	4	13,8%	30	14,8%	0,888
	Pozitivan	198	85,3%	25	86,2%	173	85,2%	
Receptori za estrogen	Negativan	15	6,5%	0	,0%	15	7,4%	0,130
	Pozitivan	217	93,5%	29	100,0%	188	92,6%	
Receptori za HER2	Negativan	220	94,8%	28	96,6%	192	94,6%	0,654
	Pozitivan	12	5,2%	1	3,4%	11	5,4%	
Triple negative	Ne	217	93,5%	29	100,0%	188	92,6%	0,130
	Da	15	6,5%	0	,0%	15	7,4%	
Ki67	Ne	207	89,2%	28	96,6%	179	88,2%	0,325
	Nizak	13	5,6%	0	,0%	13	6,4%	
	Visok	12	5,2%	1	3,4%	11	5,4%	
Molekularna klasifikacija	Luminalni A	205	88,4%	28	96,6%	177	87,2%	0,275
	Luminalni B	12	5,2%	1	3,4%	11	5,4%	
	Triple negative	15	6,5%	0	,0%	15	7,4%	

5.4. Veličina tumora, stadijum, histološki gradus, perineuralna i perivaskularna invazija, zahvatanje limfnih žlezda i stadijum bolesti u odnosu na prisustvo androgenskih receptora

Nema statistički značajne razlike u učestalosti različitih veličina tumora, stadijuma tumora, histološkog gradusa, perineuralne i perivaskularne invazije, zahvatanja limfnih žlezda i stadijuma bolesti u odnosu na status androgenskih receptora ($p > 0,05$) (Tabela 14).

Tabela 14. Veličina tumora, stadijum, histološki gradus, perineuralna i perivaskularna invazija, zahvatanje limfnih žlezda i stadijum bolesti u odnosu na prisustvo androgenskih receptora

		Androgenski receptori				p
		Ne		Da		
		Ukupno	N %	Ukupno	N %	
Veličina tumora	Manje od 2 cm	12	42,9%	89	44,1%	0,455
	2 cm	4	14,3%	15	7,4%	
	Veće od 2cm	12	42,9%	98	48,5%	
Stadijum tumora	T1	1	3,6%	9	4,4%	0,834
	T1a	1	3,6%	2	1,0%	
	T1b	1	3,6%	21	10,3%	
	T1c	9	32,1%	72	35,5%	
	T2	13	46,4%	85	41,9%	
	T3	1	3,6%	6	3,0%	
	T4	2	7,1%	6	3,0%	
	T4b	0	,0%	1	,5%	
	T4d	0	,0%	1	,5%	
Histološki gradus	1,00	2	6,9%	21	10,3%	0,818
	2,00	14	48,3%	99	48,8%	
	3,00	13	44,8%	83	40,9%	
PNI	Ne	24	82,8%	174	85,7%	0,674
	Da	5	17,2%	29	14,3%	
PVI	Ne	17	58,6%	115	56,7%	0,841
	Da	12	41,4%	88	43,3%	
Limfne žlezde	N0	14	50,0%	117	57,6%	0,504
	N1	8	28,6%	53	26,1%	
	N2	5	17,9%	15	7,4%	
	N3	1	3,6%	16	7,9%	
	N4	0	,0%	1	,5%	
	Nx	0	,0%	1	,5%	
Stadijum bolesti	I	11	39,3%	102	50,2%	0,299
	II	10	35,7%	72	35,5%	
	III	7	25,0%	29	14,3%	
	IV	0	,0%	0	,0%	

5.5. Učestalost pojedinih vrsta hirurških procedura kojima su podvrgavane ispitivane pacijentkinje, kao i učestalost primene hemioterapije i hormonske terapije u odnosu na prisustvo androgenskih receptora

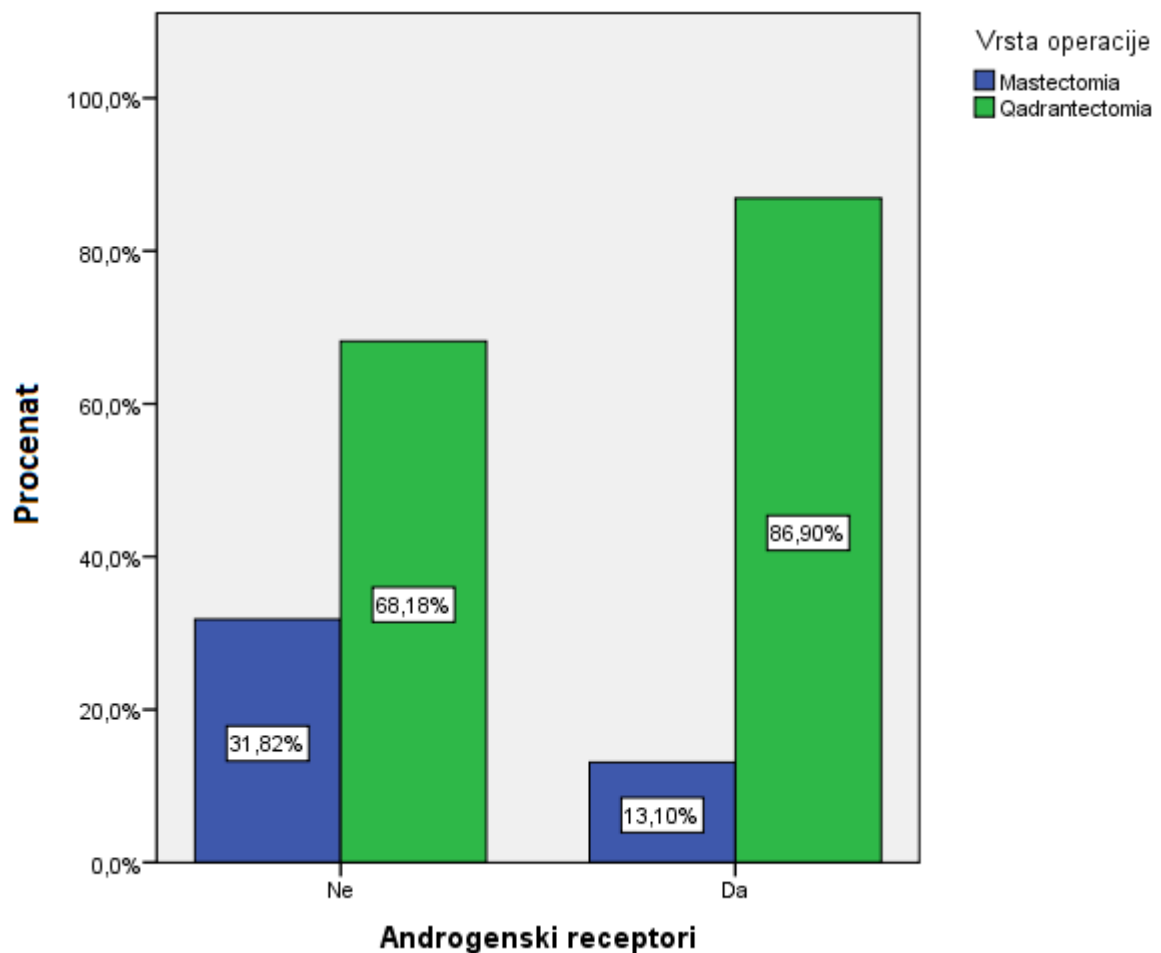
U Tabeli 15 prikazana je učestalost pojedinih vrsta hirurških procedura kojima su podvrgavane ispitivane pacijentkinje, i učestalost primene hemioterapije i hormonske terapije u odnosu na prisustvo androgenskih receptora. Nema statistički značajne razlike u učestalosti pojedinih vrsta hirurških procedura kojima su podvrgavane ispitivane pacijentkinje, kao i učestalosti primene hemioterapije i hormonske terapije u odnosu na prisustvo androgenskih receptora ($p > 0,05$).

Tabela 15. Učestalost pojedinih vrsta hirurških procedura kojima su podvrgavane ispitivane pacijentkinje, kao i učestalost primene hemioterapije i hormonske terapije u odnosu na prisustvo androgenskih receptora

		Androgenski receptori				P
		Ne		Da		
		Ukupno	N %	Ukupno	N %	
Vrsta operacije	<i>Mastectomia</i>	7	24,1%	19	9,4%	0,173
	<i>Qadrantectomia</i>	15	51,7%	126	62,1%	
	<i>Segmentectomia</i>	4	13,8%	30	14,8%	
	<i>Tumorectomia</i>	0	,0%	3	1,5%	
	<i>Amputatio</i>	2	6,9%	23	11,3%	
	<i>Extirpatio</i>	0	,0%	1	,5%	
	<i>Core biopsia</i>	1	3,4%	1	,5%	
Hemio i hormonska terapija	Ne	0	,0%	2	1,0%	0,175
	Hemioterapija	0	,0%	13	6,4%	
	Hormonska terapija	6	20,7%	67	33,0%	
	Hemio i hormonska terapija	23	79,3%	121	59,6%	

5.6. Vrsta operacije tumora dojke u odnosu na prisustvo androgenskih receptora

Na Grafikonu 1 prikazane su vrste operacija tumora dojke u odnosu na prisustvo androgenskih receptora. Kod pacijentkinja koje su bile pozitivne na androgenske receptore statistički značajno češće je rađena kvadrantektomija od mastektomije u odnosu na pacijentkinje koje su bile androgen receptor negativne: 126 (86,9%) vs. 15 (68,2%); $p = 0,024$.



Grafikon 1. Vrsta operacije tumora dojke u odnosu na prisustvo androgenskih receptora

5.7. Učestalost pozitivnosti HER receptora kod pacijentkinja koje su estrogen receptor negativne, a pozitivne za androgen receptore, u odnosu na pacijentkinje koje nemaju takav status

Nema statistički značajne razlike u učestalosti pozitivnosti HER receptora kod pacijentkinja koje su estrogen receptor negativne, a pozitivne za androgen receptore, u odnosu na pacijentkinje koje nemaju takav status ($p = 0,350$) (Tabela 16).

Tabela 16. Učestalost pozitivnosti HER receptora kod pacijentkinja koje su estrogen receptor negativne, a pozitivne za androgen receptore, u odnosu na pacijentkinje koje nemaju takav status

			<i>ER negativni i AR pozitivni</i>		<i>Ukupno</i>
			<i>Ne</i>	<i>Da</i>	
<i>Receptori za HER2</i>	<i>Negativan</i>	<i>Ukupno</i>	205	15	220
		<i>% bez receptora za HER2</i>	93,2%	6,8%	100,0%
		<i>% ER negativni i AR pozitivni</i>	94,5%	100,0%	94,8%
		<i>% ukupno</i>	88,4%	6,5%	94,8%
	<i>Pozitivan</i>	<i>Ukupno</i>	12	0	12
		<i>% bez receptora za HER2</i>	100,0%	,0%	100,0%
		<i>% ER negativni i AR pozitivni</i>	5,5%	,0%	5,2%
		<i>% ukupno</i>	5,2%	,0%	5,2%
<i>Ukupno</i>	<i>Ukupno</i>	217	15	232	
	<i>% bez receptora za HER2</i>	93,5%	6,5%	100,0%	
	<i>% ER negativni i AR pozitivni</i>	100,0%	100,0%	100,0%	
	<i>% ukupno</i>	93,5%	6,5%	100,0%	

5.8. Učestalost relapsa i smrtnog ishoda kod estrogen pozitivnih pacijentkinja sa pozitivnim i negativnim androgenskim receptorima i pacijentkinja kod kojih je AR/ER < 2 i AR/ER ≥ 2

Nema statistički značajne razlike u učestalosti relapsa i smrtnog ishoda kod pacijentkinja sa pozitivnim i negativnim androgenskim receptorima i pacijentkinja kod kojih je AR/ER < 2 u odnosu na pacijentkinje kod kojih je AR/ER ≥ 2 ($p > 0,05$) (Tabela 17).

Tabela 17. Učestalost relapsa i smrtnog ishoda kod estrogen pozitivnih pacijentkinja sa pozitivnim i negativnim androgenskim receptorima i pacijentkinja kod kojih je AR/ER < 2 i AR/ER ≥ 2

		Androgenski receptori				p	AR/ER (%)				p
		Ne		Da			< 2		≥ 2		
		Ukupno	N %	Ukupno	N %		Ukupno	N %	Ukupno	N %	
Relaps	Ne	23	79,3%	178	87,7%	0,215	156	86,7%	7	87,5%	0,946
	Da	6	20,7%	25	12,3%		24	13,3%	1	12,5%	
Smrtni ishod	Ne	25	86,2%	177	87,2%	0,882	158	87,8%	6	75,0%	0,289
	Da	4	13,8%	26	12,8%		22	12,2%	2	25,0%	

5.9. Vreme do relapsa i vreme do smrtnog ishoda kod estrogen pozitivnih pacijentkinja sa pozitivnim i negativnim androgenskim receptorima

Nema statistički značajne razlike u vremenu do relapsa i vremenu do smrtnog ishoda između estrogen pozitivnih pacijentkinja sa pozitivnim i negativnim androgenskim receptorima ($p > 0,05$) (Tabela 18).

Tabela 18. Vreme do relapsa i vreme do smrtnog ishoda kod estrogen pozitivnih pacijentkinja sa pozitivnim i negativnim androgenskim receptorima

	Androgenski receptori										p
	Ne					Da					
	Mean	Standard Deviation	Median	Minimum	Maximum	Mean	Standard Deviation	Median	Minimum	Maximum	
Vreme do relapsa (dani)	1660,00	381,19	1825,00	365,00	1825,00	1747,47	248,20	1825,00	240,00	1825,00	0,168
Vreme do smrti (dani)	1789,14	116,22	1825,00	1300,00	1825,00	1774,12	169,48	1825,00	910,00	1825,00	0,939

5.10. Vreme do relapsa i vreme do smrtnog ishoda kod estrogen pozitivnih pacijentkinja sa AR/ER < 2 i pacijentkinja kod kojih je AR/ER ≥ 2

Nema statistički značajne razlike u vremenu do relapsa između estrogen pozitivnih pacijentkinja kod kojih je AR/ER < 2 i pacijentkinja kod kojih je AR/ER ≥ 2 ($p > 0,05$) (Tabela 8). Pacijentkinje kod kojih je AR/ER ≥ 2 statistički značajno kraće preživljavaju u odnosu na pacijentkinje kod kojih je AR/ER < 2 ($p = 0,022$) (Tabela 19).

Tabela 19. Vreme do relapsa i vreme do smrtnog ishoda kod estrogen pozitivnih pacijentkinja sa AR/ER < 2 i pacijentkinja kod kojih je AR/ER ≥ 2

	AR/ER (%)										p
	< 2					≥ 2					
	Mean	Standard Deviation	Median	Minimum	Maximum	Mean	Standard Deviation	Median	Minimum	Maximum	
Vreme do relapsa (dani)	1747,42	250,08	1825,00	240,00	1825,00	1748,75	215,67	1825,00	1215,00	1825,00	0,988
Vreme do smrti (dani)	1780,08	156,30	1825,00	910,00	1825,00	1640,00	348,03	1825,00	970,00	1825,00	0,022

5.11. Vreme do relapsa i vreme do smrtnog ishoda kod pacijentkinja sa pozitivnim i negativnim androgenskim receptorima po stadijumima bolesti

Nema statistički značajne razlike u vremenu do relapsa i vremenu do smrtnog ishoda između pacijentkinja sa pozitivnim i negativnim androgenskim receptorima u prvom i

trećem stadijumu bolesti, kao i u vremenu do smrtnog ishoda u drugom stadijumu bolesti ($p > 0,05$) (Tabela 20). U drugom stadijumu bolesti pacijentkinje sa pozitivnim androgenskim receptorima su imale, statistički granično značajno, duže vreme do relapsa u odnosu na pacijentkinje sa negativnim androgenskim receptorima ($p = 0,053$) (Tabela 20).

Tabela 20. Vreme do relapsa i vreme do smrtnog ishoda pacijentkinja sa pozitivnim i negativnim androgenskim receptorima po stadijumima bolesti

	Androgenski receptori										P	
	Ne					Da						
	Mea n	Standard Deviation	Median	Minim um	Maxim um	Mean	Standard Deviation	Median	Minim um	Maxim um		
Stadijum I bolesti	Vreme do relapsa (dani)	1825,00	,00	1825,00	1825,00	1825,00	1786,76	177,39	1825,00	605,00	1825,00	0,455
	Vreme do smrti (dani)	1824,55	1,51	1825,00	1820,00	1825,00	1791,62	157,25	1825,00	545,00	1825,00	0,836
II	Vreme do relapsa (dani)	1523,00	437,35	1825,00	760,00	1825,00	1721,74	294,56	1825,00	240,00	1825,00	0,053
	Vreme do smrti (dani)	1754,00	169,78	1825,00	1300,00	1825,00	1780,74	168,46	1825,00	910,00	1825,00	0,518
III	Vreme do relapsa (dani)	1616,43	551,83	1825,00	365,00	1825,00	1713,28	269,44	1825,00	785,00	1825,00	0,907
	Vreme do smrti (dani)	1778,57	122,84	1825,00	1500,00	1825,00	1657,24	285,81	1825,00	970,00	1825,00	0,387

5.12. Učestalost relapsa i smrtnog ishoda kod pacijentkinja sa pozitivnim i negativnim androgenskim receptorima u ispitivanim stadijumima bolesti

Nema statistički značajne razlike u učestalosti relapsa i smrtnog ishoda između pacijentkinja sa pozitivnim i negativnim androgenskim receptorima u svim ispitivanim stadijumima bolesti ($p > 0,05$) (Tabela 21).

Tabela 21. Učestalost relapsa i smrtnog ishoda kod pacijentkinja sa pozitivnim i negativnim androgenskim receptorima u ispitivanim stadijumima bolesti

				Androgenski receptori				p
				Ne		Da		
				Ukupno	N %	Ukupno	N %	
Stadijum bolesti	I	Relaps	Ne	11	100,0%	95	93,1%	0,370
			Da	0	,0%	7	6,9%	
		Smrtni ishod	Ne	10	90,9%	95	93,1%	0,784
			Da	1	9,1%	7	6,9%	
	II	Relaps	Ne	6	60,0%	60	83,3%	0,081
			Da	4	40,0%	12	16,7%	
		Smrtni ishod	Ne	8	80,0%	63	87,5%	0,514
			Da	2	20,0%	9	12,5%	
	III	Relaps	Ne	6	85,7%	23	79,3%	0,701
			Da	1	14,3%	6	20,7%	
		Smrtni ishod	Ne	6	85,7%	19	65,5%	0,298
			Da	1	14,3%	10	34,5%	

5.13. Vreme do relapsa i vreme do smrtnog ishoda kod pacijentkinja sa AR/ER < 2 i pacijentkinja kod kojih je AR/ER ≥ 2 po stadijumima bolesti

Nema statistički značajne razlike u vremenu do relapsa i vremenu do smrtnog ishoda između pacijentkinja kod kojih je AR/ER < 2 i pacijentkinja kod kojih je AR/ER ≥ 2 u prvom i drugom stadijumu bolesti ($p > 0,05$) (Tabela 22). U trećem stadijumu bolesti nema statistički značajne razlike u vremenu do relapsa između pacijentkinja kod kojih je AR/ER < 2 i pacijentkinja kod kojih je AR/ER ≥ 2 ($p > 0,05$), dok pacijentkinje kod kojih je AR/ER ≥ 2 statistički značajno kraće preživljavaju u odnosu na pacijentkinje kod kojih je AR/ER < 2 (Tabela 22).

Tabela 22. Vreme do relapsa i vreme do smrtnog ishoda kod pacijentkinja sa AR/ER < 2 i pacijentkinja kod kojih je AR/ER ≥ 2 po stadijumima bolesti

		AR/ER (%)									p	
		< 2					≥ 2					
		Mean	Standard Deviation	Median	Minimum	Maximum	Mean	Standard Deviation	Median	Minimum		Maximum
Stadij I um boles ti	Vreme do relapsa (dani)	1782,61	186,40	1825,00	605,00	1825,00	1825,00	0,00	1825,00	1825,00	1825,00	0,750
	Vreme do smrti (dani)	1801,90	100,75	1825,00	1200,00	1825,00	1825,00	0,00	1825,00	1825,00	1825,00	0,748
II	Vreme do relapsa (dani)	1716,67	306,29	1825,00	240,00	1825,00	1621,67	352,18	1825,00	1215,00	1825,00	0,603
	Vreme do smrti (dani)	1784,13	164,43	1825,00	910,00	1825,00	1825,00	0,00	1825,00	1825,00	1825,00	0,671
III	Vreme do relapsa (dani)	1695,40	286,86	1825,00	785,00	1825,00	1825,00	0,00	1825,00	1825,00	1825,00	0,448
	Vreme do smrti (dani)	1689,60	251,94	1825,00	970,00	1825,00	1331,67	442,45	1200,00	0970,00	1825,00	0,040

5.14. Učestalost relapsa i smrtnog ishoda kod pacijentkinja sa AR/ER < 2 u odnosu na pacijentkinje kod kojih je AR/ER ≥ 2 u ispitivanim stadijumima bolesti

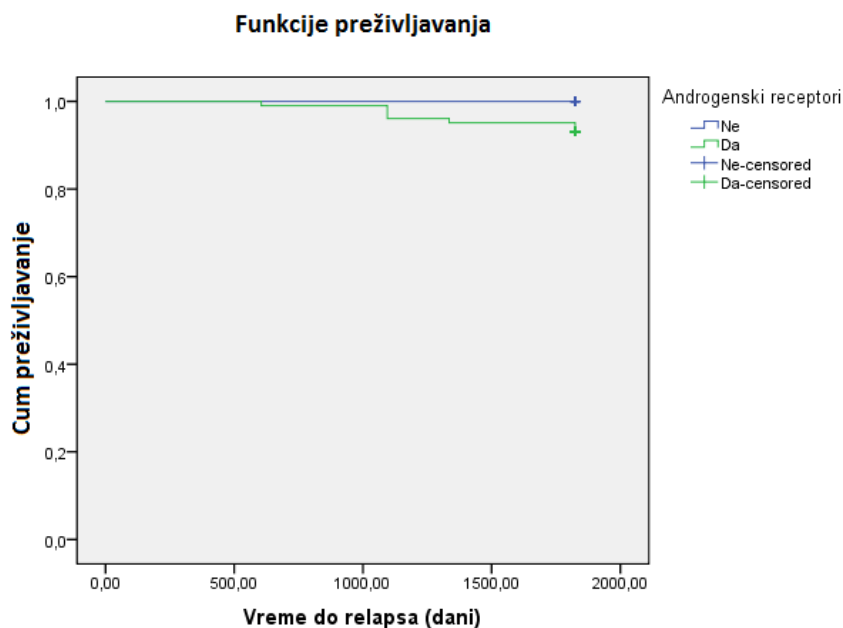
Nema statistički značajne razlike u učestalosti relapsa i smrtnog ishoda između pacijentkinja kod kojih je AR/ER < 2 i pacijentkinja kod kojih je AR/ER ≥ 2 u svim ispitivanim stadijumima bolesti (p > 0,05) (Tabela 23).

Tabela 23. Učestalost relapsa i smrtnog ishoda kod pacijentkinja sa AR/ER < 2 u odnosu na pacijentkinje kod kojih je AR/ER ≥ 2 u ispitivanim stadijumima bolesti

				AR/ER (%)				p
				< 2		≥ 2		
				Ukupno	N %	Ukupno	N %	
Stadijum bolesti	I	Relaps	Ne	85	92,4%	2	100,0%	0,685
			Da	7	7,6%	0	,0%	
		Smrtni ishod	Ne	86	93,5%	2	100,0%	0,709
			Da	6	6,5%	0	,0%	
	II	Relaps	Ne	52	82,5%	2	66,7%	0,486
			Da	11	17,5%	1	33,3%	
	Smrtni ishod	Ne	55	87,3%	3	100,0%	0,510	
		Da	8	12,7%	0	,0%		
III	Relaps	Ne	19	76,0%	3	100,0%	0,338	
		Da	6	24,0%	0	,0%		
	Smrtni ishod	Ne	17	68,0%	1	33,3%	0,236	
		Da	8	32,0%	2	66,7%		

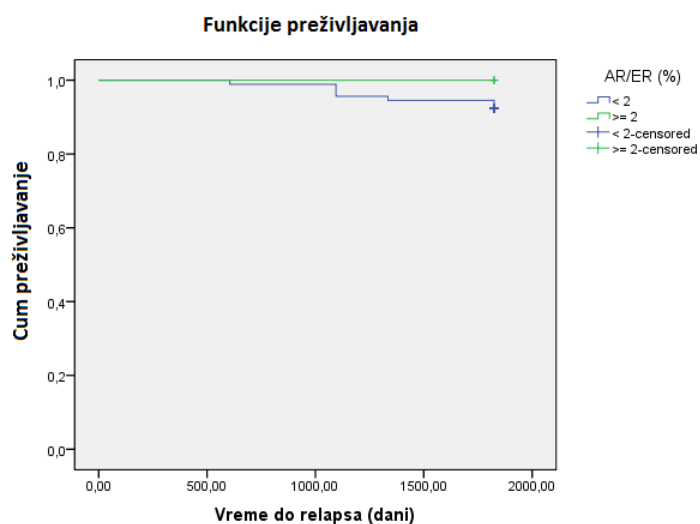
5.15. Kaplan–Meierove krive

Nema statistički značajne razlike u incidenciji relapsa kod pacijentkinja u prvom stadijumu bolesti čije je tumorsko tkivo bilo pozitivno, u odnosu na one čije je tumorsko tkivo bilo negativno na androgenske receptore, u sve tri kategorije vremena posmatranja (Log Rank p = 0,377, Breslow p = 0,377 i Tarone–Ware p = 0,377) (Grafikon 2).



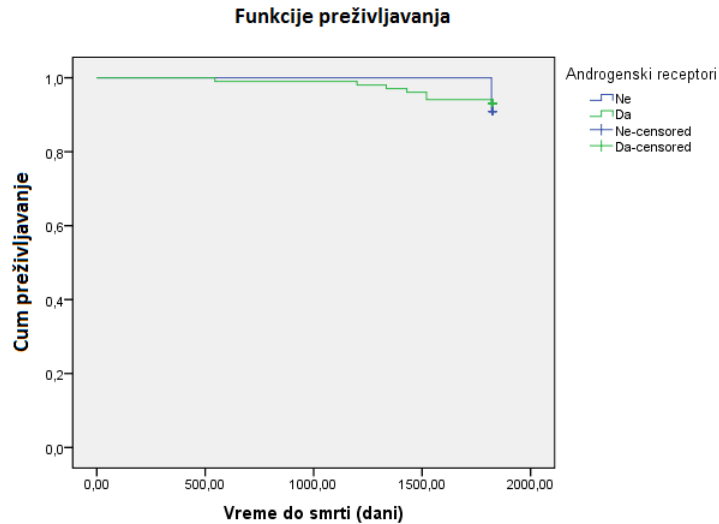
Grafikon 2. Kaplan–Meierova kriva kumulativne incidencije relapsa kod pacijentkinja u prvom stadijumu bolesti, u odnosu na prisustvo androgenskih receptora

Nema statistički značajne razlike u incidenciji relapsa kod pacijentkinja u prvom stadijumu bolesti kod kojih je u tumorskim ćelijama AR/ER < 2, u odnosu na one čije su tumorske ćelije imale AR/ER ≥ 2, u sve tri kategorije vremena posmatranja (Log Rank p = 0,691, Breslow p = 0,691 i Tarone–Ware p = 0,691) (Grafikon 3).



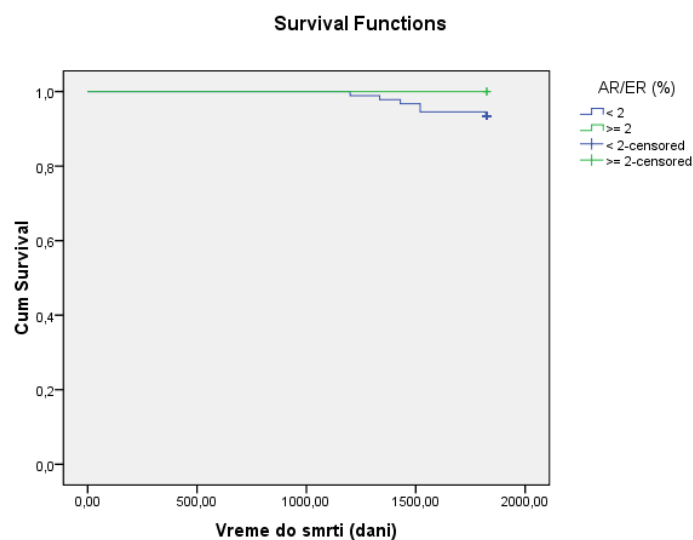
Grafikon 3. Kaplan–Meierova kriva kumulativne incidencije relapsa kod pacijentkinja u prvom stadijumu bolesti, s obzirom na odnos androgenskih i estrogenskih receptora

Nema statistički značajne razlike u incidenciji smrti kod pacijentkinja u prvom stadijumu bolesti čije je tumorsko tkivo bilo pozitivno, u odnosu na one čije je tumorsko tkivo bilo negativno na androgenske receptore, u sve tri kategorije vremena posmatranja (Log Rank $p = 0,815$, Breslow $p = 0,838$ i Tarone–Ware $p = 0,827$) (Grafikon 4).



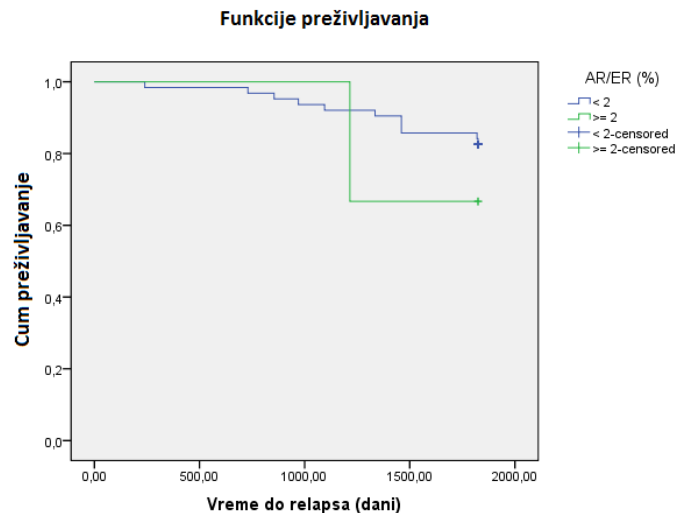
Grafikon 4. Kaplan–Meierova kriva kumulativne incidencije preživljavanja kod pacijentkinja u prvom stadijumu bolesti, u odnosu na prisustvo androgenskih receptora

Nema statistički značajne razlike u u incidenciji smrti kod pacijentkinja u prvom stadijumu bolesti kod kojih je u tumorskim ćelijama $AR/ER < 2$, u odnosu na one čije su tumorske ćelije imale $AR/ER \geq 2$, u sve tri kategorije vremena posmatranja (Log Rank $p = 0,714$, Breslow $p = 0,714$ i Tarone–Ware $p = 0,714$) (Grafikon 5).

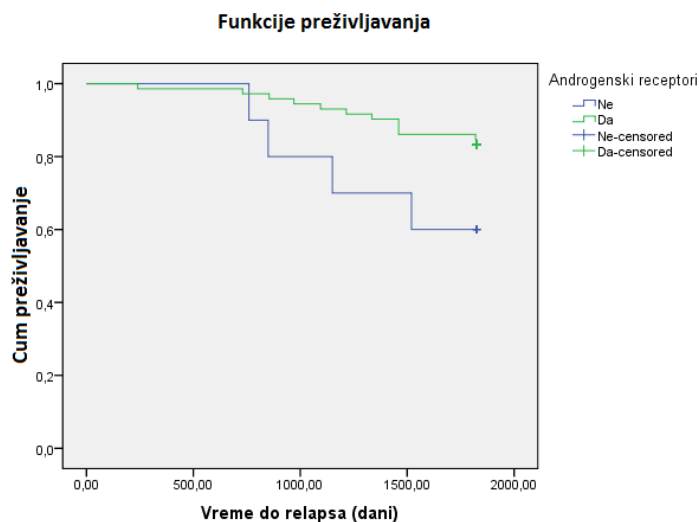


Grafikon 5. Kaplan–Meierova kriva kumulativne incidencije preživljavanja kod pacijentkinja u prvom stadijumu bolesti, s obzirom na odnos androgenskih i estrogenskih receptora

Nema statistički značajne razlike u incidenciji relapsa između pacijentkinja u drugom stadijumu bolesti kod kojih je u tumorskim ćelijama AR/ER < 2, u odnosu na one čije su tumorske ćelije imale AR/ER ≥ 2, u sve tri kategorije vremena posmatranja (Log Rank p = 0,456, Breslow p = 0,459 i Tarone–Ware p = 0,457) (Grafikon 6).

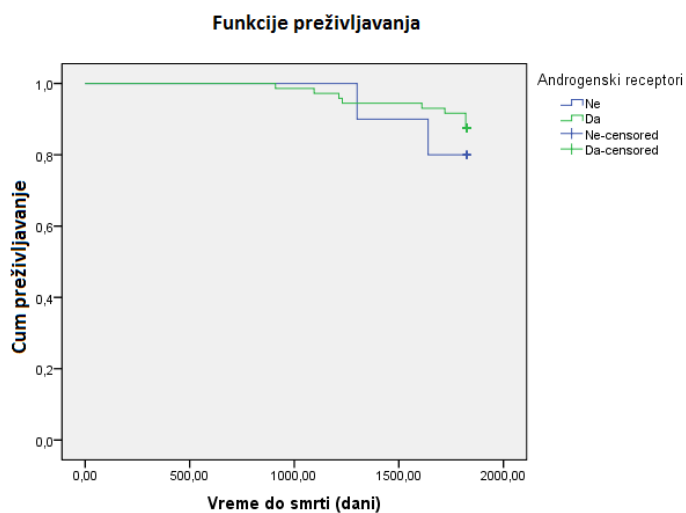


Grafikon 6. Kaplan–Meierova kriva kumulativne incidencije relapsa kod pacijentkinja u drugom stadijumu bolesti, s obzirom na odnos androgenskih i estrogenskih receptora Pacijentkinje u drugom stadijumu bolesti čije je tumorsko tkivo bilo pozitivno na androgenske receptore imale su statistički značajno manju incidenciju relapsa u odnosu na one čije je tumorsko tkivo bilo negativno na androgenske receptore, u sve tri kategorije vremena posmatranja (Log Rank p = 0,048, Breslow p = 0,045 i Tarone–Ware p = 0,046) (Grafikon 7).



Grafikon 7. Kaplan–Meierova kriva kumulativne incidencije relapsa kod pacijentkinja u drugom stadijumu bolesti, u odnosu na prisustvo androgenskih receptora

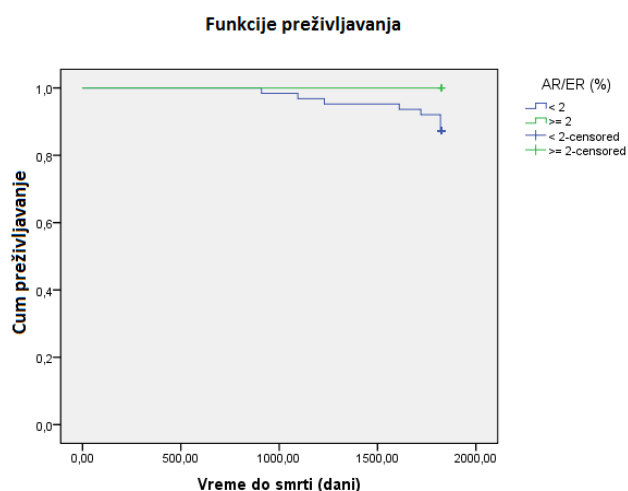
Nema statistički značajne razlike u incidenciji smrti između pacijentkinja u drugom stadijumu bolesti čije je tumorsko tkivo bilo pozitivno, u odnosu na one čije je tumorsko tkivo bilo negativno na androgenske receptore, u sve tri kategorije vremena posmatranja (Log Rank $p = 0,505$, Breslow $p = 0,512$ i Tarone–Ware $p = 0,509$) (Grafikon 8).



Grafikon 8. Kaplan–Meierova kriva kumulativne incidencije preživljavanja kod pacijentkinja u drugom stadijumu bolesti, u odnosu na prisustvo androgenskih receptora

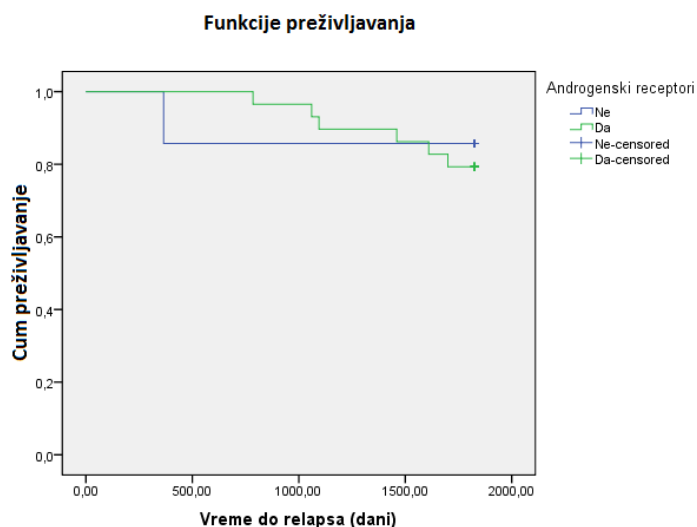
Nema statistički značajne razlike u incidenciji smrti između pacijentkinja u drugom stadijumu bolesti kod kojih je u tumorskim ćelijama $AR/ER < 2$, u odnosu na one čije su tumorske ćelije imale $AR/ER \geq 2$, u sve tri kategorije vremena posmatranja (Log Rank $p =$

0,524, Breslow $p = 0,524$ i Tarone–Ware $p = 0,524$) (Grafikon 9).



Grafikon 9. Kaplan–Meierova kriva kumulativne incidencije preživljavanja kod pacijentkinja u drugom stadijumu bolesti, s obzirom na odnos androgenskih i estrogenskih receptora

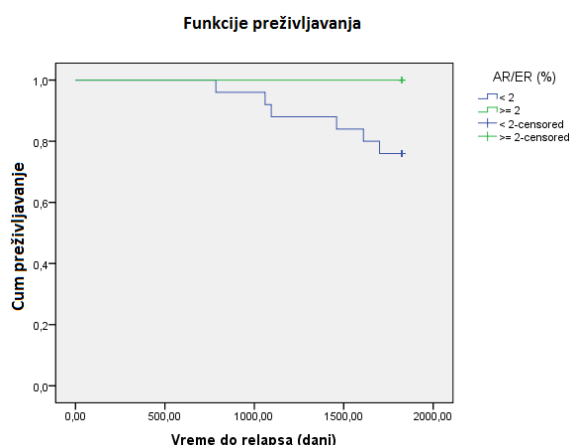
Nema statistički značajne razlike u incidenciji relapsa između pacijentkinja u trećem stadijumu bolesti čije je tumorsko tkivo bilo pozitivno, u odnosu na one čije je tumorsko tkivo bilo negativno na androgenske receptore, u sve tri kategorije vremena posmatranja (Log Rank $p = 0,767$, Breslow $p = 0,837$ i Tarone–Ware $p = 0,801$) (Grafikon 10).



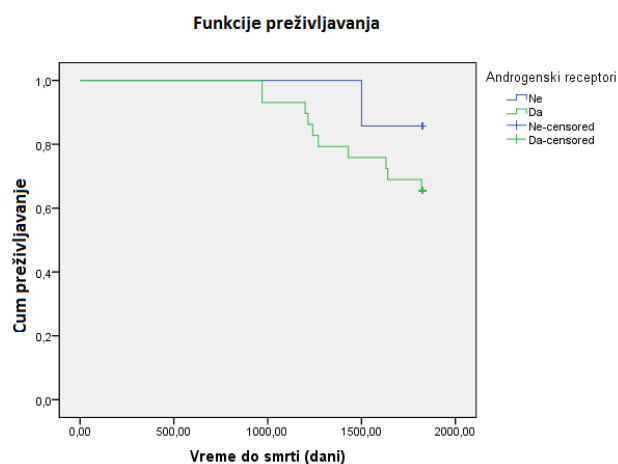
Grafikon 10. Kaplan–Meierova kriva kumulativne incidencije relapsa kod pacijentkinja u trećem stadijumu bolesti, u odnosu na prisustvo androgenskih receptora

Nema statistički značajne razlike u incidenciji relapsa između pacijentkinja u trećem stadijumu bolesti kod kojih je u tumorskim ćelijama $AR/ER < 2$, u odnosu na one čije su tumorske ćelije imale $AR/ER \geq 2$, u sve tri kategorije vremena posmatranja (Log Rank $p =$

0,370, Breslow $p = 0,371$ i Tarone–Ware $p = 0,370$) (Grafikon 11).

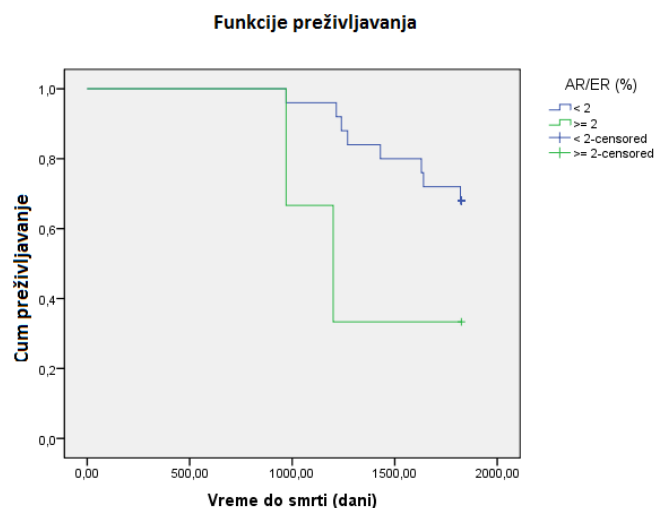


Grafikon 11. Kaplan–Meierova kriva kumulativne incidencije relapsa kod pacijentkinja u trećem stadijumu bolesti, s obzirom na odnos androgenskih i estrogenskih receptora. Nema statistički značajne razlike u incidenciji smrti između pacijentkinja u trećem stadijumu bolesti čije je tumorsko tkivo bilo pozitivno, u odnosu na one čije je tumorsko tkivo bilo negativno na androgenske receptore, u sve tri kategorije vremena posmatranja (Log Rank $p = 0,307$, Breslow $p = 0,289$ i Tarone–Ware $p = 0,298$) (Grafikon 12).



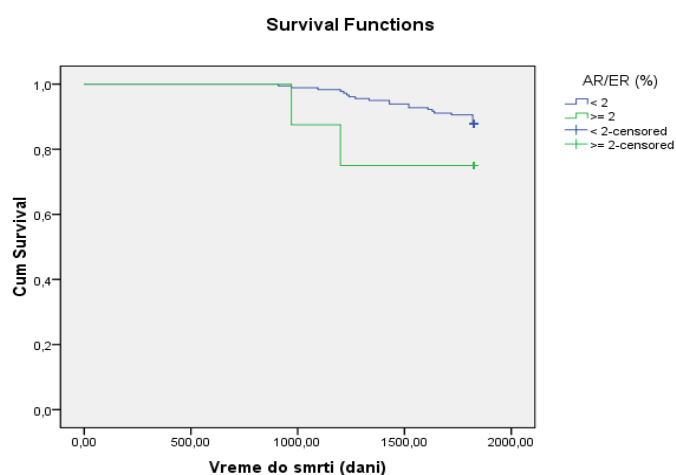
Grafikon 12. Kaplan–Meierova kriva kumulativne incidencije preživljavanja kod pacijentkinja u trećem stadijumu bolesti, u odnosu na prisustvo androgenskih receptora.

Pacijentkinje u trećem stadijumu bolesti čije je su tumorske ćelije imale $AR/ER \geq 2$ imale su statistički značajno manju incidenciju smrtnih ishoda u odnosu na one čije su tumorske ćelije imale $AR/ER < 2$, u sve tri kategorije vremena posmatranja (Log Rank $p = 0,056$, Breslow $p = 0,034$ i Tarone–Ware $p = 0,046$) (Grafikon 13).



Grafikon 13. Kaplan–Meierova kriva kumulativne incidencije preživljavanja kod pacijentkinja u trećem stadijumu bolesti, s obzirom na odnos androgenskih i estrogenskih receptora

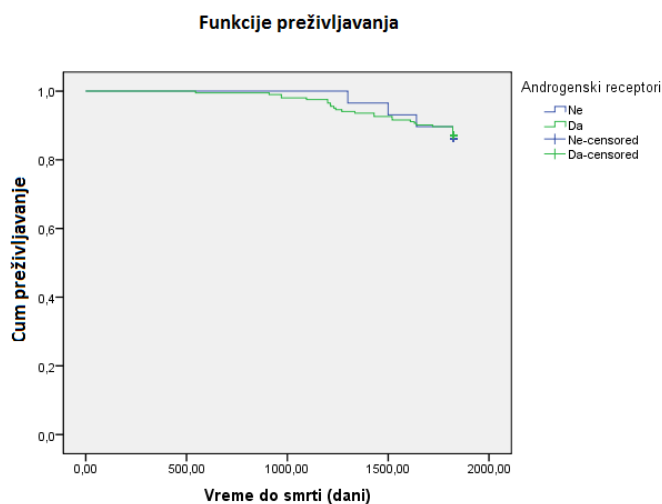
Ukoliko se posmatraju sve studijske pacijentkinje, nema statistički značajne razlike u incidenciji smrti kod pacijentkinja kod kojih je u tumorskim ćelijama AR/ER < 2, u odnosu na one čije su tumorske ćelije imale AR/ER \geq 2, u sve tri kategorije vremena posmatranja (Log Rank $p = 0,211$, Breslow $p = 0,177$ i Tarone–Ware $p = 0,193$) (Grafikon 14).



Grafikon 14. Kaplan–Meierova kriva kumulativne incidencije preživljavanja kod svih pacijentkinja, s obzirom na odnos androgenskih i estrogenskih receptora

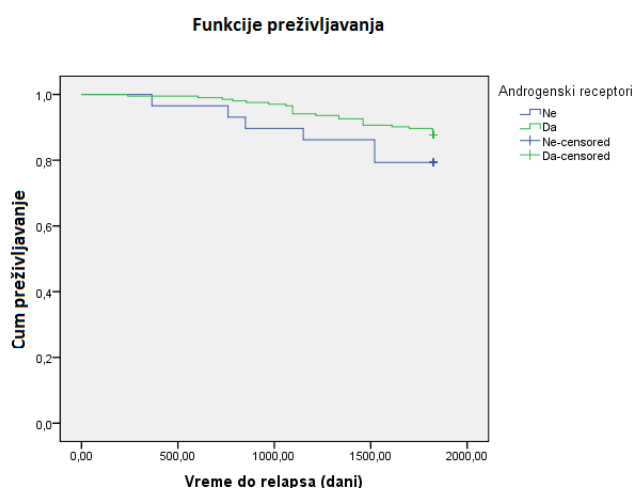
Ukoliko se posmatraju sve pacijentkinje uključene u studiju, nema statistički značajne

razlike u incidenciji smrti između onih čije je tumorsko tkivo bilo pozitivno u odnosu na one čije je tumorsko tkivo bilo negativno na androgenske receptore, u sve tri kategorije vremena posmatranja (Log Rank $p = 0,920$, Breslow $p = 0,956$ i Tarone–Ware $p = 0,938$) (Grafikon 15).



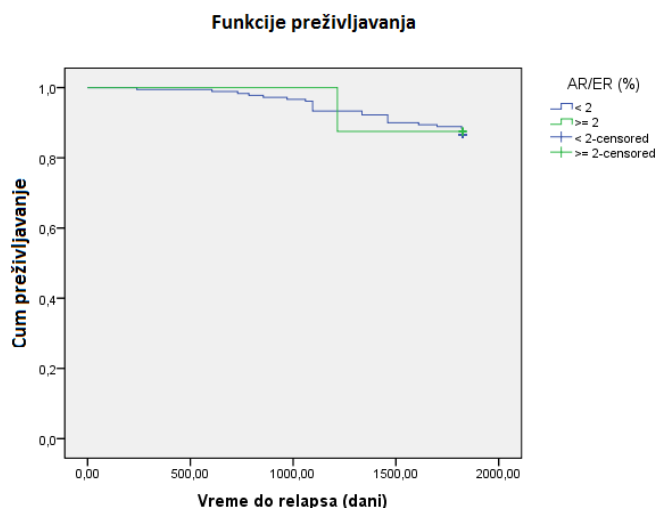
Grafikon 15. Kaplan–Meierova kriva kumulativne incidencije preživljavanja kod svih pacijentkinja, u odnosu na prisustvo androgenskih receptora

Ukoliko se posmatraju sve pacijentkinje uključene u studiju, nema statistički značajne razlike u incidenciji relapsa između onih čije je tumorsko tkivo bilo pozitivno u odnosu na one čije je tumorsko tkivo bilo negativno na androgenske receptore, u sve tri kategorije vremena posmatranja (Log Rank $p = 0,186$, Breslow $p = 0,176$ i Tarone–Ware $p = 0,181$) (Grafikon 16).



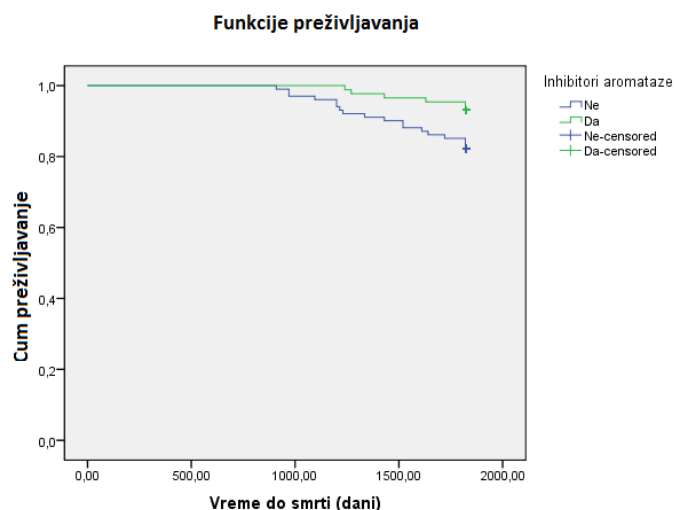
Grafikon 16. Kaplan–Meierova kriva kumulativne incidencije relapsa kod svih pacijentkinja, u odnosu na prisustvo androgenskih receptora

Ukoliko se posmatraju sve pacijentkinje uključene u studiju, nema statistički značajne razlike u incidenciji relapsa kod onih kod kojih je u tumorskim ćelijama AR/ER < 2 u odnosu na one čije su tumorske ćelije imale AR/ER ≥ 2 , u sve tri kategorije vremena posmatranja (Log Rank $p = 0,950$, Breslow $p = 0,946$ i Tarone–Ware $p = 0,948$) (Grafikon 17).



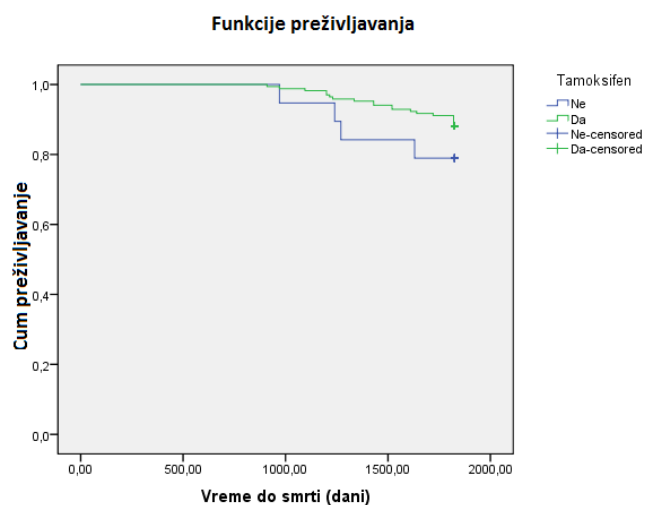
Grafikon 17. Kaplan–Meierova kriva kumulativne incidencije relapsa kod svih pacijentkinja, s obzirom na odnos androgenskih i estrogenskih receptora

Pacijentkinje koje su hormon i androgen receptor pozitivne, lečene inhibitorima aromataze, imale su statistički značajno manju incidenciju smrtnog ishoda u odnosu na one koje nisu lečene inhibitorima aromataze, u sve tri kategorije vremena posmatranja (Log Rank $p = 0,023$, Breslow $p = 0,021$ i Tarone–Ware $p = 0,022$) (Grafikon 18). Pacijentkinje koje su hormon i androgen receptor pozitivne, lečene inhibitorima aromataze, imale su statistički značajno duže preživljavanje u odnosu na pacijentkinje koje nisu lečene inhibitorima aromataze (1805,00 \pm 97,02 vs. 1747,52 \pm 209,93 dana; $p = 0,020$).



Grafikon 18. Kaplan–Meierova kriva kumulativne incidencije preživljavanja hormon i androgen pozitivnih pacijentkinja u odnosu na lečenje inhibitorima aromataze

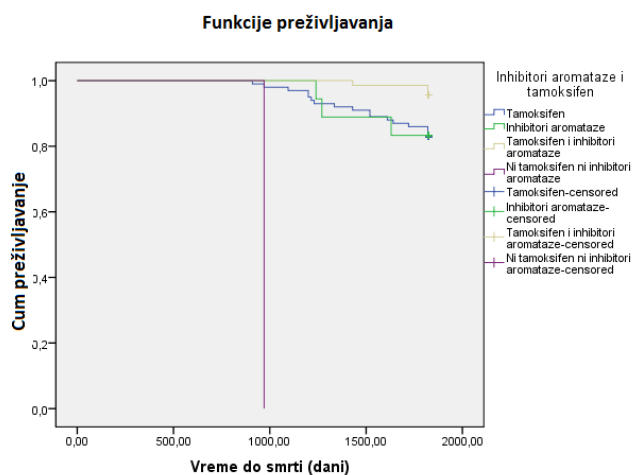
Ukoliko se posmatraju pacijentkinje koje su hormon i androgen receptor pozitivne, nema statistički značajne razlike u incidenciji smrtnog ishoda između pacijentkinja koje su lečene Tamoksifenom i onih koje nisu, u sve tri kategorije vremena posmatranja (Log Rank $p = 0,219$, Breslow $p = 0,207$ i Tarone–Ware $p = 0,212$) (Grafikon 19). Nema statistički značajne razlike u vremenu do smrtnog ishoda kod pacijentkinja hormon receptor i androgen receptor pozitivnih koje su lečene Tamoksifenom i onih koje to nisu ($1781,36 \pm 156,53$ vs. $1709,74 \pm 254,61$ dana; $p = 0,081$).



Grafikon 19. Kaplan–Meierova kriva kumulativne incidencije hormon i androgen pozitivnih pacijentkinja u odnosu na lečenje Tamoksifenom

Pacijentkinje koje su hormon i androgen receptor pozitivne, lečene inhibitorima aromataze i Tamoksifenom, imale su statistički značajno manju incidenciju smrtnog ishoda u odnosu na one koje su lečene pojedinačnim lekovima ili nisu lečene ni inhibitorima aromataze, ni Tamoksifenom, u sve tri kategorije vremena posmatranja (Log Rank $p < 0,001$, Breslow $p < 0,001$ i Tarone–Ware $p < 0,001$) (Grafikon 20).

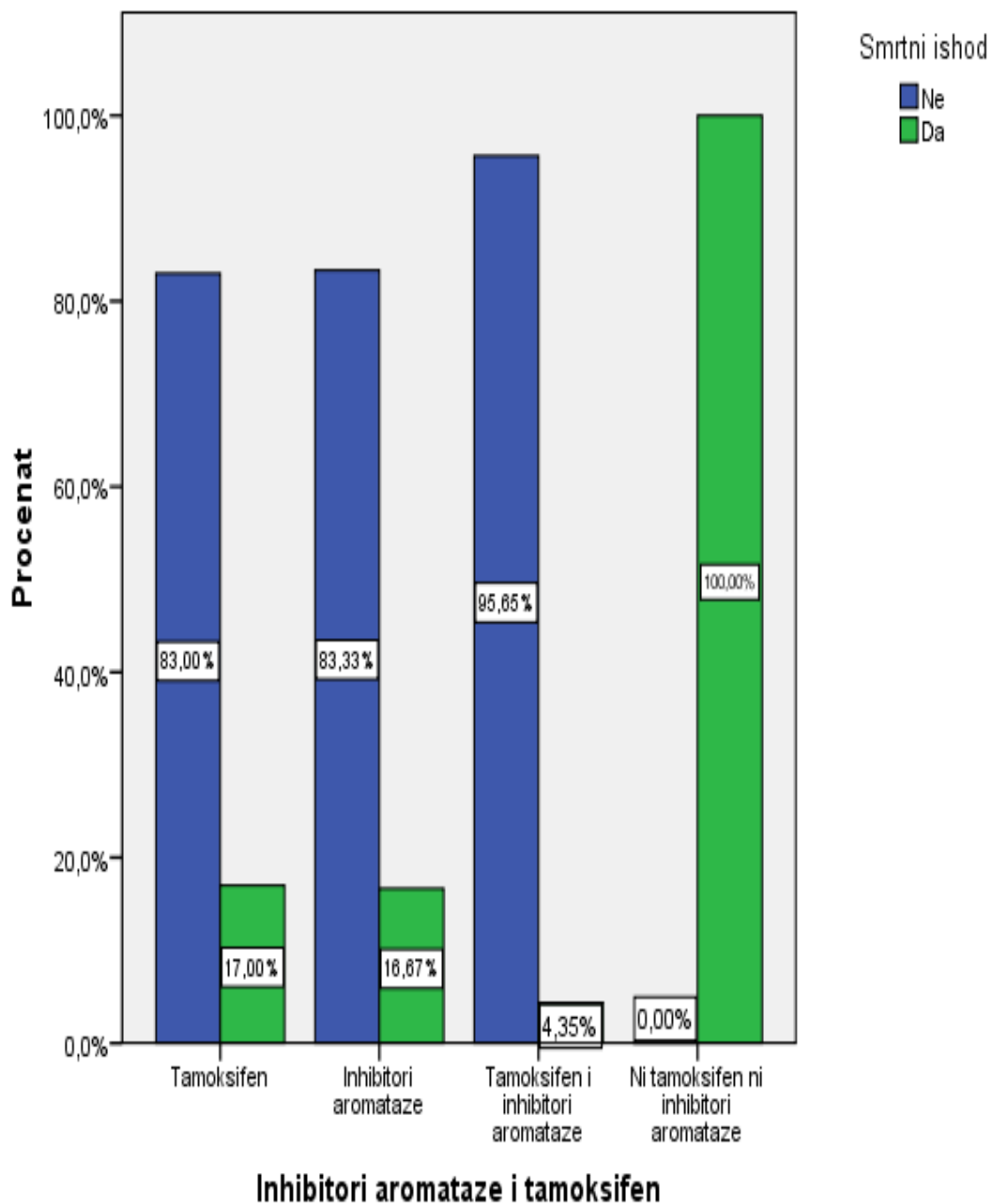
Pacijentkinje koje su hormon i androgen receptor pozitivne, a lečene su inhibitorima aromataze i Tamoksifenom, imale su statistički značajno duže preživljavanje u odnosu na pacijentkinje koje su lečene Tamoksifenom ($1819,13 \pm 47,54$ vs. $1755,39 \pm 195,83$ dana; $p = 0,010$). Samo jedna pacijentkinja iz ove grupe nije lečena ni inhibitorima aromataze ni Tamoksifenom, a njeno preživljavanje je iznosilo 970 dana.



Grafikon 20. Kaplan–Meierova kriva kumulativne incidencije preživljavanja hormon i androgen pozitivnih pacijentkinja u odnosu na lečenje inhibitorima aromataze i Tamoksifenom

5.16. Distribucija učestalosti smrtnog ishoda kod hormon i androgen pozitivnih pacijentkinja lečenih inhibitorima aromataze i Tamoksifenom

Na Grafikonu 21 prikazana je distribucija učestalosti smrtnog ishoda kod hormon i androgen pozitivnih pacijentkinja lečenih inhibitorima aromataze, Tamoksifenom, s oba leka ili nijednim od njih. Postoji visokostatistički signifikantna razlika u učestalosti smrtnog ishoda između posmatranih grupa ($p = 0,004$), pri čemu je učestalost smrtnog ishoda najmanja u grupi lečenih inhibitorima aromataze i Tamoksifenom – 3 (4,3%) u odnosu na pacijentkinje lečene inhibitorima aromataze – 3 (16,7%) i Tamoksifenom – 17 (17,0%). Samo jedna pacijentkinja nije dobijala ovu terapiju i umrla je.



Grafikon 21. Distribucija učestalosti smrtnog ishoda kod hormon i androgen pozitivnih pacijentkinja lečenih inhibitorima aromataze i Tamoksifenom

5.17. Coxova proporcionalna hazardna regresiona analiza

Prediktori smrtnog ishoda, prema rezultatima univarijantne Cox regresione analize, prikazani su u Tabeli 24. Prema rezultatima univarijantne Cox regresione analize,

estrogenski, progesteronski, androgenski receptori, odnos androgenskih i estrogenskih receptora, Ki67, HER2, triple negativne ćelije, pozitivnost limfnih žlezda, histološki gradus, perineuralna i perivaskularna invazija, premenopauzalni i postmenopauzalni period, molekularna klasifikacija, primena Tamoksifena, kao ni relaps nisu prediktori smrtnog ishoda ($p > 0,05$).

Tabela 24. Rezultati univarijantne Cox regresione analize ispitivanih varijabli u odnosu na smrtni ishod

	Hazard količnik	95% Interval poverenja	p
Starost pri postavljanju dijagnoze (godine)	1,09	1,05–1,14	< 0,001
Premenopauzalni period	0,33	0,10–1,10	0,07
Postmenopauzalni period	3,01	0,91–9,91	0,07
Receptori za progesteron (%)	0,98	0,86–1,12	0,81
Receptori za estrogen (%)	1,02	0,86–1,21	0,85
Receptori za HER2	1,25	0,86–1,81	0,23
Ki67 (%)	0,98	0,92–1,05	0,55
Androgenski receptori	1,20	0,94–1,53	0,15
AR/ER ≥ 2 (%)	2,44	0,57–10,38	0,23
Triple negative	1,10	0,26–4,62	0,89
Veličina tumora ≥ 2 cm	3,40	1,39–8,33	0,007
Stadijum tumora	1,56	1,18–2,05	0,002
Histološki gradus	3,42	0,46–25,13	0,23
PVI	0,65	0,30–1,39	0,26
PNI	0,91	0,32–2,62	0,87
Limfne žlezde	1,36	0,66–2,78	0,40
Molekularna klasifikacija	0,97	0,48–1,97	0,93
III Stadijum bolesti	5,03	2,02–12,51	0,001
Hemioterapija	0,012	0,001–1,152	0,001
Hormonska terapija	0,031	0,006–1,164	< 0,001
Hemioterapija i hormonska terapija	0,014	0,003–0,073	< 0,001
Tamoksifen	0,53	0,23–1,24	0,14
Inhibitori aromatize	0,38	0,17–0,89	0,03
Tamoksifen i inhibitori aromatize	0,158	0,03–0,78	0,02
Relaps	0,99	0,35–2,86	0,99

Prema rezultatima multivarijantne Coxove regresione analize, nezavisni prediktor smrtnog ishoda je treći stadijum bolesti (hazard količnik: 4,86; 95% interval poverenja: 1,87–12,64; $p = 0,001$), godine starosti u vreme postavljanja dijagnoze (hazard količnik: 1,06; 95% interval poverenja: 1,02–1,11; $p = 0,008$), dok su nezavisni protektivni faktori primena inhibitora aromataze (hazard količnik 0,33; 95% interval poverenja 0,14–0,77; $p = 0,011$),

hemioterapija (hazard količnik: 0,058; 95% interval poverenja: 0,004–0,806; $p = 0,034$), hormonska terapija (hazard količnik: 0,163; 95% interval poverenja: 0,03–0,94; $p = 0,043$) i hemioterapija i hormonska terapija (hazard količnik: 0,100; 95% interval poverenja: 0,15–0,67; $p = 0,018$).

Prediktori relapsa, prema rezultatima univarijantne Cox regresione analize, prikazani su u Tabeli 25.

Tabela 25. Rezultati univarijantne Cox regresione analize ispitivanih varijabli u odnosu na relaps bolesti

	Hazard količnik	95% Interval poverenja	p
Starost pri postavljanju dijagnoze (godine)	0,99	0,96–1,03	0,76
Premenopauzalni period	0,92	0,40–2,14	0,85
Postmenopauzalni period	1,09	0,47–2,52	0,85
Receptori za progesteron (%)	0,95	0,84–1,07	0,39
Receptori za estrogen (%)	1,10	0,91–1,33	0,32
Receptori za HER2	1,17	0,80–1,72	0,41
Ki67 (%)	1,02	0,96–1,09	0,46
Androgenski receptori	0,95	0,79–1,15	0,60
AR/ER ≥ 2 (%)	0,94	0,13–6,94	0,95
Triple negative	0,04	0,01–20,67	0,32
Veličina tumora ≥ 2 cm	2,63	1,12–6,16	0,026
Stadijum tumora	1,49	1,12–1,97	0,006
Histološki gradus ≥ 2	2,78	1,33–5,80	0,007
PVI	1,29	0,64–2,61	0,48
PNI	1,44	0,59–3,50	0,43
Limfne žlezde	1,27	0,94–1,73	0,12
Molekularna klasifikacija	0,66	0,27–1,64	0,38
II Stadijum bolesti	3,40	1,40–8,26	0,007
III Stadijum bolesti	3,40	1,19–9,67	0,022
Hemioterapija	1,04	1,00–1,08	0,044
Hormonska terapija	22,39	0,04–103,22	0,321
Hemioterapija i hormonska terapija	4,07	1,49–11,06	0,006
Tamoksifen	2,67	0,64–11,17	0,18
Inhibitori aromataze	5,09	2,19–11,83	< 0,001

Prema rezultatima univarijantne Cox regresione analize, starost pri postavljanju dijagnoze, premenopauzalni i postmenopauzalni period, estrogenski, progesteronski, androgenski receptori, odnos androgenskih i progesteronskih receptora, Ki67, HER2, triple negativne

ćelije, pozitivnost limfnih žlezda, perineuralna i perivaskularna invazija i Tamoksifen nisu prediktori relapsa bolesti ($p > 0,05$).

Prema rezultatima multivarijantne Coxove regresione analize nezavisni prediktori relapsa bolesti jesu drugi stadijum bolesti (hazard količnik: 3,10; 95% interval poverenja: 1,20–7,99; $p = 0,019$), hemioterapija i hormonska terapija (hazard količnik: 3,17; 95% interval poverenja: 1,13–8,87; $p = 0,028$) i inhibitori aromataze (hazard količnik: 4,03; 95% interval poverenja: 1,71–9,46; $p = 0,001$).

6. DISKUSIJA

Karcinom dojke je najčešća maligna bolest kod žena. U većini razvijenih zemalja broj obolelih je u stalnom porastu, a bolest se sve češće pojavljuje kod mladih žena što se objašnjava promenama u načinu života (139). Za uspešno lečenje karcinoma dojke najvažnija je rana dijagnostika i kako predvideti, na osnovu morfoloških osobina tumora i kliničke klasifikacije, njegovo dalje ponašanje. U praksi se najčešće koriste prognostički faktori koji uključuju veličinu tumora, broj pozitivnih limfnih čvorova u pazuhu, status hormonskih receptora, histološki gradus, HER2 status, limfovaskularnu i perineuralnu invaziju i indeks proliferacije Ki67. Međutim, vrlo često ni kombinacija navedenih prognostičkih faktora ne daje sigurnost i odgovor o potrebi sprovođenja odgovarajuće terapije. Princip modernog terapijskog pristupa kod obolelih od raka dojke jeste pronaći one bolesnice koje imaju povećan rizik od razvoja relapsa bolesti i kraće preživljavanje, uzimajući u obzir tradicionalne i nove prognostičke faktore.

Deskriptivni parametri prikazanog istraživanja pokazuju da je grupa pacijentkinja sa pozitivnim androgenim receptorima statistički značajno starija u odnosu na pacijentkinje bez androgenih receptora ($p = 0,019$). Više studija je potvrdilo da je nastanak bolesti u starijem životnom dobu udružen sa povoljnijim biološkim profilom tumora, uključujući veću učestalost pozitivne ekspresije estrogenskih receptora, dok istraživanja sa androgenim receptorima pokazuju isti trend kao i u radovima Berrino i sar. i McNamara i sar. (140, 140). Slično je i u radu Agrawal i sar. Kod ispitivanih pacijentkinja nije pokazana

statistički značajna razlika prilikom poređenja učestalosti veličine tumora, stadijuma, histološkog gradusa, perineuralne i perivaskularne invazije, zahvatanja limfnih žlezda i stadijuma bolesti u odnosu na status androgenskih receptora (141).

U prikazanom istraživanju nije dobijena statistički značajna razlika u učestalosti pozitivnosti HER receptora kod pacijentkinja koje su estrogen receptor negativne, a pozitivne za androgen receptore, u odnosu na pacijentkinje koje nemaju takav status ($p = 0,350$). Međutim, Agrawal i sar. su pokazali da je značajan broj androgen pozitivnih receptora povezan sa pozitivnošću HER receptora (142).

U ovom istraživanju nema statistički značajne razlike u učestalosti relapsa i smrtnog ishoda između pacijentkinja sa pozitivnim i negativnim androgenskim receptorima i pacijentkinja kod kojih je $AR/ER < 2$ u odnosu na pacijentkinje kod kojih je $AR/ER \geq 2$, nasuprot rezultatima koje su prikazali Rangel i sar. (142). Oni su, naime, pokazali da se relaps javlja pet puta češće kod $AR/ER \geq 2$, kao i da je osam puta češći smrtni ishod u odnosu na $AR/ER < 2$.

Cochrane i sar., kao i Regland i sar. takođe su pokazali da je veći odnos AR/ER sam po sebi negativan prognostički faktor i ukazuje na kraće preživljavanje pacijentkinja (77), (143).

U sprovedenom istraživanju nije pronađena statistički značajna razlika između androgen receptor pozitivnih i androgen receptor negativnih bolesnica koje su imale determinisane estrogen pozitivne receptore. Slične rezultate su objavili Hilborn i sar. i Bronte i sar. Naime, Hilborn i sar. na uzorku od 590 žena, a Bronte i sar. na 102 bolesnice nisu dobili statističku značajnost u smislu odgovora na terapiju, a samim tim i uticaja na vreme proteklo do relapsa i smrtnog ishoda (143), (144).

Analize u prikazanom istraživanju nisu pokazale statističku značajnost kada se porede učestalost relapsa i smrtnog ishoda po stadijumima bolesti. Statistički značajna razlika nije pronađena ni kada se u obzir uzme vreme do smrtnog ishoda kod pacijentkinja iz grupe sa pozitivnim androgenim receptorima u odnosu na pacijentkinje sa negativnim androgenim receptorima podeljenih prema stadijumima bolesti, ali postoji trend dužeg vremena do

relapsa u drugom stadijumu bolesti kod pacijentkinja sa pozitivnim u odnosu na one sa negativnim androgenim receptorima. Radi se o statistički značajno graničnim vrednostima ($p = 0,053$). Qu i sar. sugerišu da se kod pacijentkinja sa pozitivnim AR javlja signifikantno duže vreme do relapsa, kao i duže vreme preživljavanja. Prema pomenutim autorima, prisustvo pozitivne ekspresije AR može biti prediktorni faktor boljeg odgovora i u odnosu na vreme javljanja relapsa i na ukupno preživljavanje. Važno je naglasiti da su rezultati kod ER pozitivnih bolji (145).

Pacijentkinje u trećem stadijumu sa odnosom $AR/ER \geq 2$ detektuje se statistički značajno kraće preživljavanje u odnosu na pacijentkinje kod kojih je $AR/ER < 2$ ($p < 0,040$). Ovi rezultati su potvrđeni u nekoliko studija. Odnos AR/ER se nameće kao veoma važan prognostički faktor kod bolesnica sa karcinomom dojke (143, 146, 147, 148).

Koristeći Kaplan–Meierovu krivu preživljavanja izvršeno je poređenje incidencije relapsa bolesti, kao i smrtnog ishoda između $AR+$ i $AR-$ patohistoloških uzoraka. Nisu pronađene statistički značajne razlike osim za vreme javljanja relapsa kod pacijentkinja u drugom stadijumu bolesti čije je tumorsko tkivo bilo pozitivno u odnosu na one čije je tumorsko tkivo bilo negativno na androgenske receptore (Log Rank $p = 0,048$, Breslow $p = 0,045$ i Tarone–Ware $p = 0,046$). Što se tiče poređenja $AR/ER \geq 2$ i $AR/ER < 2$ jedini statistički značajan rezultat koji je prikazan bio je vezan za manju incidenciju smrtnih ishoda u grupi pacijentkinja sa odnosom $AR/ER \geq 2$ (Log Rank $p = 0,056$, Breslow $p = 0,034$ i Tarone–Ware $p = 0,046$).

Analiza korišćenih lekova navedenih u rezultatima kod hormon ER i AR pozitivnih pacijentkinja pokazala je da se nakon primene inhibitora aromataze detektuje smanjena incidencija smrtnih ishoda te duže preživljavanje, za razliku od slučajeva kada se koristio Tamoksifen. Nakon obrade podataka, kod pacijentkinja koje su lečene i inhibitorima aromataze i Tamoksifenom AR i ER pozitivne su imale statistički značajno nižu incidenciju smrtnih ishoda u odnosu na one koje su lečene pojedinačnim lekovima ili nisu lečene ni inhibitorima aromataze ni Tamoksifenom (Log Rank $p < 0,001$, Breslow $p < 0,001$ i Tarone–Ware $p < 0,001$). Takođe, lečenje primenom oba leka pokazalo je statistički značajno duže preživljavanje u odnosu na pacijentkinje koje su lečene samo Tamoksifenom.

Kod bolesnica sa karcinomom dojke uloga AR ekspresije je važna jer može da utiče kako na stimulaciju, tako i na inhibiciju ćelijskog rasta (149).

Nakon analize uz pomoć Kaplan–Meierove krive slobodni interval kacinoma dojke (eng. *Breast Cancer Free Interval*, BCFI) je bio bolji za one koji su primali inhibitore aromataze (Letrozol) nego inhibitore estrogena (Tamoksifen), što se može videti u radu Kensler i sar. (150).

Postoje studije koje pokazuju obrnuto proporcionalnu povezanost AR ekspresije i smrtnosti kod ER pozitivnih pacijentkinja. U metaanalizi rađenoj na 1.571 pacijentkinji, kao i u ranijim studijama, pokazana je povezanost ekspresije AR kod ER pozitivnih pacijentkinja i dužeg vremena do relapsa bolesti (73, 146, 150, 151, 151).

U ovom istraživanju prikazana je distribucija učestalosti smrtnog ishoda kod hormon i androgen pozitivnih pacijentkinja lečenih inhibitorima aromataze, Tamoksifenom, s oba leka ili nijednim od njih. Postoji visokostatistički signifikantna razlika u učestalosti smrtnog ishoda između posmatranih grupa ($p = 0,004$), pri čemu je učestalost smrtnog ishoda najmanja u grupi lečenih inhibitorima aromataze i Tamoksifenom – 3 (4,3%), u odnosu na pacijentkinje lečene inhibitorima aromataze – 3 (16,7%) ili Tamoksifenom – 17 (17,0%). Prema rezultatima ATAC istraživačke grupe pokazano je da kod hormon pozitivnih pacijentkinja nema statistički značajne razlike između dve grupe, odnosno između pacijentkinja koje su s jedne strane koristile oba hormonska preparata iz pomenutih grupa i pacijentkinja koje su koristile samo jedan ili drugi hormonski preparat (Tamoxifen ili inhibitor aromataze). Pomenuta studija je veoma značajna i respektabilna s obzirom na to da je bilo uključeno 9.366 pacijentkinja (152). Jedno od mogućih objašnjenja za opservirane različite rezultate može biti i evaluacija androgenih receptora u prikazanom istraživanju koja nije bila uključena u rezultate ATAC studije.

Prema rezultatima univarijantne Cox regresione analize, estrogenski, progesteronski, androgenski receptori, kao i odnos androgenskih i estrogenskih receptora, zatim Ki67, HER2, triple negativne ćelije, pozitivnost limfnih žlezda, histološki gradus, perineuralna i perivaskularna invazija, premenopauzalni i postmenopauzalni period, molekularna

klasifikacija, primena Tamoksifena i relaps nisu prediktori smrtnog ishoda ($p > 0,05$). Nakon evaluacije rezultata 158 pacijentkinja, Chang i sar. su zaključili da estrogen i progesteron receptori nisu pokazali statističku značajnost kao prediktori smrtnog ishoda, niti snažnu povezanost sa statistički značajno manjim trendom smrtnog ishoda, što je dokazano statusom metastaza limfnih čvorova kao i nivoom Ki67 (153).

Prema rezultatima multivarijantne Coxove regresione analize, nezavisni prediktori smrtnog ishoda su: treći stadijum bolesti (hazard količnik 4,86; 95% interval poverenja 1,87–12,64; $p = 0,001$) i godine starosti u vreme postavljanja dijagnoze (hazard količnik 1,06; 95% interval poverenja 1,02–1,11; $p = 0,008$), dok su nezavisni protektivni faktori primena inhibitora aromataze (hazard količnik 0,33; 95% interval poverenja 0,14–0,77; $p = 0,011$), hemioterapija (hazard količnik 0,058; 95% interval poverenja 0,004–0,806; $p = 0,034$), hormonska terapija (hazard količnik 0,163; 95% interval poverenja 0,03–0,94; $p = 0,043$) i hemioterapija i hormonska terapija (hazard količnik 0,100; 95% interval poverenja 0,15–0,67; $p = 0,018$). Takođe, prema istraživanju na 79 bolesnica, Voogd i sar. su pokazali da su statistički značajno loši prediktori godine života ispod 35. i pozitivne resekcione margine (154).

Prema rezultatima univarijantne Cox regresione analize, prediktori relapsa bolesti nisu: starost pri postavljanju dijagnoze, premenopauzalni i postmenopauzalni period, estrogenski, progesteronski, androgenski receptori, odnos androgenskih i progesteronskih receptora, Ki67, HER2, triple negativne ćelije, pozitivnost limfnih žlezda, perineuralna i perivaskularna invazija i Tamoksifen ($p > 0,05$). Nešto drugačiji rezultati, u smislu uticaja prediktora na relaps bolesti, pokazani su od strane Voduc i sar. koji ukazuju na značaj podele prediktornih faktora uz pomoć molekularne tipizacije. Voduc i sar. su istraživanje objavili determinišući 2.985 tumora. S tim u vezi, pojedini prediktori navedeni u prikazanom istraživanju nisu pokazali statističku značajnost, ali imamo razloga da pretpostavimo da bi, da su bili podeljeni prema molekularnoj klasifikaciji (intraluminal A, B, HER+), prezentovani rezultati bili sličniji (155).

Prema rezultatima multivarijantne Coxove regresione analize, nezavisni prediktori relapsa bolesti jesu drugi stadijum bolesti (hazard količnik 3,10; 95% interval poverenja 1,20–7,99; $p = 0,019$), hemioterapija i hormonska terapija (hazard količnik 3,17; 95% interval

poverenja 1,13–8,87; $p = 0,028$) i inhibitori aromataze (hazard količnik 4,03; 95% interval poverenja 1,71–9,46; $p = 0,001$). Kao kod već pomenutog trećeg, a i drugog stadijuma bolesti statistički signifikantno je dokazana povezanost sa relapsom bolesti, što je pokazano i u drugim studijama, na primer, kod Lofourcade i sar., gde se na uzorku od 4.692 bolesnice veličina tumora nedvosmisleno pominje kao nezavisni prediktor relapsa (156).

6.1. Obrazloženje o potrebama istraživanja

Molekularni mehanizmi koji su uključeni u procese hormonske zavisnosti karcinoma dojke posebno su izučavani u poslednjih 20 godina. Na osnovu toga, sada je poznata uloga estrogenih i progesteronskih receptora za nastanak i razvoj karcinoma dojke, te je zato neophodno određivanje hormonsko receptorskog statusa u prognostičke i prediktivne svrhe (41, 63).

Zbog sve većeg razumevanja molekularnih mehanizama uključenih u razvoj karcinoma dojke, kao i definisanja više podtipova karcinoma, javlja se potreba za novim biomarkerima. Nauka se fokusira na ulogu androgena i androgenih receptora kao prognostičkih markera. Pošto AR pripada grupi steroidnih receptora, on pokazuje i strukturne i funkcionalne sličnost sa ER i PR (41, 42).

Uloga AR u nastanku karcinoma dojke još nije u potpunosti razjašnjena. Pošto u velikom procentu karcinom dojke eksprimira AR, po određenim studijama nekad i većem od estrogen receptora (ER) ili progesteron receptora (PR), objavljen je veliki broj radova koji se bavio značajem ekspresije AR u odnosu na kliničke i patološke karakteristike karcinoma, molekularne podtipove, mogućnost primene određene terapije, kao i za tok i ishod bolesti. Različiti molekularni podtipovi pokazuju različit nivo ekspresije AR.

Prema nekim autorima, imunohistohemijskom analizom ekspresije AR, pozitivnost se nalazi u oko 77% invazivnih karcinoma dojke. Prema podtipovima, 88% estrogen

pozitivnih (ER+), 59% HER2+ i 32% tripl negativnih (ER-, PR-, HER2-) pozitivni su i pokazuju AR ekspresiju imunohistochemijskom analizom karcinoma dojke.

U zavisnosti od prisustva ekspresije, neki autori ukazuju na potrebu za uvođenjem novih podtipova karcinoma dojke. Smatra se da ekspresija AR ima veliki potencijalni značaj zbog mogućnosti lečenja i primene novih terapijskih modaliteta. Slično ER i PR, AR ekspresija je povezana sa dobro diferenciranim histološkim gradusom, sporijim tokom i dobrom prognozom bolesti pacijentkinja sa karcinomom dojke.

U većini studija, ekspresija AR kod pacijenata sa karcinomom dojke se povezuje sa kliničko- patološkim pokazateljima dobre prognoze, boljim ukupnim preživljavanjem i dužim vremenom do nastanka lokalnog recidiva i/ili udaljenih metastaza (63, 72, 73, 74).

Pacijentkinje sa ER+ i/ili PR+ tumorima pokazuju odgovor na hormonsku terapiju Tamoksifenom ili inhibitorima aromataze. Kod ER+ karcinoma dojke, adjuvantna (postoperativna) hormonoterapija je generalno efektivna i inhibira progresiju bolesti, i time poboljšava preživljavanje.

Međutim, određen broj pacijentkinja sa ER+ karcinomom dojke razvija rezistenciju na tradicionalnu endokrinu terapiju u adjuvantom ili metastatskom lečenju. To je povezano i sa ekspresijom AR receptora i utiče na efektivnost određene terapije. Prema nekim studijama, AR ekspresija povećava Tamoksifen rezistenciju.

Kod postmenopauzalnih pacijentkinja sa ER+ statusom koje su tretirane inhibitorima aromataze izrazito je nizak nivo estradiola. Izgleda da odnos ER i AR kod karcinoma dojke može uticati na odgovor na tradicionalnu endokrinu terapiju Tamoksifenom ili inhibitorima aromataze, koji blokiraju konverziju androgena u estrogen. Autori posebno ističu značaj odnosa AR i ER kako na biološki razvoj karcinoma, tako i na odgovor na endokrinu terapiju (77).

Ekspresija AR je značajna i zbog mogućnosti lečenja i primene nekih novih terapijskih modaliteta, odnosno primena lekova (npr. Enzalutamid, inhibitor AR) kojima bi meta bili AR (77).

Zbog svoje multifaktorijalne etiopatogeneze, danas je vrlo teško predvideti tok i ishod karcinoma dojke uz korišćenje standardnih histopatoloških faktora i biomarkera. Zato bi u prognostičke i prediktivne svrhe trebalo definisati nove tipove biomarkera. Na osnovu imunoloških i biohemijskih studija ustanovljeno je 70–90% AR pozitivnih karcinoma dojke. Kod raznovrsnih molekularnih tipova dojke varira procenat ekspresije AR, a najveći procenat zastupljenosti je u luminalnim podtipovima dok je najmanji u trostruko negativnom podtipu karcinoma (oko 15%) (72).

U poslednje vreme, brojne studije se usmeravaju na proučavanje uloge androgena i AR vezanog za nastanak i razvoj karcinoma dojke.

Upotreba androgena, kao što je Fluoksimesteron koji se primenjivao više od 50 godina, davala je pozitivan terapijski odgovor od 15–55%, ali zainteresovanost za njegovu primenu polako nestaje zbog nedovoljnog razumevanja dejstva androgena, neusaglašenih kliničkih podataka i neželjnih pojava u vidu virilizacije, saznanja da postoji mogućnost prelaska androgena u estrogene, kao i zbog razvoja inhibitora aromataze u terapiji karcinoma dojke (157, 158).

Nekoliko godina unazad, istraživanja se usmeravaju na individualizovane terapije karcinoma i na stvaranje novih biomarkera. Deo patohistološkog nalaza čini standardna pretraga karcinoma dojke sa procenom statusa ER, PR i ekspresije HER2 proteina (159).

Američka asocijacija za istraživanje karcinoma (*American Association for Cancer Research, AACR*), na svom godišnjem sastanku 2013. godine u Vašingtonu, predložila je uvođenje četvrtog biomarkera za karcinom dojke – androgenog receptora (160).

Objavljene su i studije usmerene na ispitivanje lekova na pacijentima obolelim od karcinoma dojke čije ćelije ekspimiraju AR.

Novija istraživanja navode mogućnosti upotrebe Enzalutamida, antagoniste AR u terapiji ER-/AR+, kao i ER+/AR+ karcinoma dojke. Što se tiče biološkog razvoja karcinoma i njegovog odgovora na endokrinu terapiju, pojedini autori prevashodno ističu značaj odnosa AR i ER (77).

7. ZAKLJUČAK

Na osnovu ove studije može se utvrditi da rezultati istraživanja pokazuju sledeće zaključke:

1. U prikazanom istraživanju nije dobijena statistički značajna razlika između kliničko-patoloških faktora i ekspresije androgenih receptora ($p < 0,05$), čime nije potvrđena prva hipoteza iz navedenog istraživanja.
2. Kod pacijentkinja sa infiltrativnim duktalnim karcinomom dojke koje su ER-/AR+ nije pokazana statistički značajna razlika u HER2 proteinskoj ekspresiji. Druga hipoteza ovog istraživanja nije potvrđena. Zaključuje se da je HER2 proteinska ekspresija nezavisna u odnosu na pacijentkinje sa statusom ER-/AR+.
3. Učestalost receptora za progesteron, estrogen, HER2, Ki67, tripl negativne ćelije ne karakteriše prisustvo androgenskih receptora. Postavljena hipoteza za duktalni infiltrativni karcinom dojke, tripl negativni podtip (ER-, PR-, HER2-) nije potvrđena.
4. Nije dokazana statistička značajnost za prvi i drugi stadijum bolesti duktalnog invazivnog karcinoma dojke kada se uzme u obzir kraće vreme preživljavanja kod pacijentkinja koje su primale hormonoterapiju. Statistički značajno kraće vreme preživljavanja pokazano je za treći stadijum bolesti kod pacijentkinja koje su AR i ER (≥ 2) u odnosu na pacijentkinje kod kojih je odnos AR/ER < 2 , čime je za treći stadijum bolesti dokazana inicijalna hipoteza.
5. Analize u prikazanom istraživanju nisu pokazale statističku značajnost kada se poredi učestalost relapsa i smrtnog ishoda kod pacijentkinja sa AR pozitivnim i AR negativnim infiltrativnim duktalnim karcinomom dojke.

Pokazana je statistički značajna razlika u učestalosti smrtnog ishoda kod pacijentkinja koje su lečene i inhibitorima aromataze i Tamoksifenom, u odnosu na pacijentkinje koje su koristile samo jedan od pomenutih lekova ($p = 0,004$).

7.1. Mogućnost primene očekivanih rezultata

Rezultati ove studije mogli bi biti osnova za preporuku da se utvrđivanje ekspresije AR kod karcinoma dojke uvrsti u rutinsku praksu i sadržaj patohistološkog nalaza.

Određivanje odnosa ekspresije AR i ER u grupi ER pozitivnih bolesnica moglo bi poslužiti kao vodič za primenu konvencionalne hormonske terapije ili, s druge strane, preporuka za terapiju antiandrogenima.

Rezultati ovog ispitivanja će doprineti boljem sagledavanju biologije karcinoma dojke i dati osnov za dalja istraživanja, s ciljem da se izborom novih terapijskih modaliteta poboljša efikasnost lečenja bolesnica sa karcinomom dojke.

S obzirom na postojanje kontroverznih stavova u odnosu na AR, posebno kod ER+ karcinoma dojke, veoma su važna dalja istraživanja u budućnosti. I ova studija je planirana sa ciljem da pruži makar i mali doprinos ovom problemu.

REFERENCE

1. European Society for Medical Oncology - ESMO, Anticancer Fund - Udruženje žena obolelih i lečenih od raka dojke [Internet], [cited 2016]. Available from: <http://budimozajedno.rs/epidemiologija-raka-dojke/.pdf>
2. Pekmezović T. Epidemiologija raka dojke. U: Milašinović G, urednik. Nacionalni vodič dobre kliničke prakse za dijagnostikovanje i lečenje raka dojke. Beograd: Ministarstvo zdravlja Republike Srbije; 2013. p. 8-9.
3. Incidenca i mortalitet raka dojke. Registar za rak Vojvodine. Institut za onkologiju Vojvodine; 2011.
4. Dugandžija T, Miladinov Mikov M, Malenković G, Ivković-Kapicl T, Prvulović N, Ristić M. Epidemiological analysis of breast cancer in Vojvodina in three periods from 1978 to 2007. Abstract book of 13th Biennial Meeting of the Interbational Gynecologic Cancer Society (IGCS 2010); 2010 Oct 23-26; Prague, Czech Republic; 2010. p. 256.
5. Šušnjar S. Institut za onkologiju i radiologiju Srbije, Beograd, Pharma medica [Internet], [cited 2016 feb], Available from: <http://www.pharmamedica.rs/onkologija/rak-dojke>
6. Karelović D. Pilot projekat-Rak dojke - CARNET PROJECT. Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, 2000 [Internet], [cited 2016]. Available from: <http://www.kbsplit.hr/rakdojke>
7. De Vita VT, Hellman S, Rosenberg SA. Cancer. Principles & Practice of Oncology [CD-ROM]. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005.
8. Washbrook E. Risk factors and epidemiology of breast cancer. *Women's Health Med.* 2006;3(1):8-14.
9. Eppenberger-Castori S, Moore H Jr, Thor D, Edgerton SM, Kueng W, Eppenberger U, et al. Age-associated biomarker profiles of human breast cancer. *Int J Biochem Cell Biol.* 2002;34(11):1318–30.
10. Diab SG, Elledge RM, Clark GM. Tumor characteristics and clinical outcome of elderly women with breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92(7):550-6.
11. Ivković-Kapicl T, Knežević-Ušaj S, Panjković M, Ninčić D, Mastilović K. Uticaj životnog doba na patološke i imunobiološke karakteristike duktusnog invazivnog karcinoma dojke. *Vojnosanit Pregl.* 2006;63(11):921-7.
12. King MC, Marks JH, Mandell JB; New York Breast Cancer Study Group. Breast and ovarian cancer risks due to inherited mutations in BRCA1 and BRCA2. *Science.* 2003;302(5645):643-6.
13. Branković-Magić M. Nasledni karcinom dojke, pregled: Vodič dobre kliničke prakse za dijagnostikovanje i lečenje raka dojke. Beograd: Ministarstvo zdravlja Republike Srbije, Agencija za akreditaciju zdravstvenih ustanova Srbije; 2012. p11-5.
14. Lindor MM, McMaster M, Lindor CJ, Greene MH. Concise handbook of familial cancer susceptibility syndromes. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2008;2008(38):3-93.
15. Antoniou A, Pharoah PD, Narod S, Risch HA, Eyfjord JE, Hopper JL, et al. Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 and BRCA2 mutations detected in case series unselected for family history – a combined analysis of 22

-
- studies. *Am J Hum Genet.* 2003;72(5):1117-30.
16. Gadzicki D, Evans GD, Harris H, Julian-Reynier C, Nippert I, Schmidtke J, et al. Genetic testing for familial/hereditary breast cancer – comparison of guidelines and recommendations from UK, France, the Netherlands and Germany. *J Community Genet.* 2011;2(2):53-69.
 17. National Comprehensive Cancer Network: NCCN Clinical Guidelines in Oncology. Genetic/Familial high risk assessment. Breast and Ovarian, NCCN.org, version 1.2012. [Internet], [cited 2018]. Available from: <https://www.nccn.org>
 18. Rebbeck TR, Friebel T, Lynch HT, Neuhausen SL, van 't Veer L, Garber JE, et al. Bilateral prophylactic mastectomy reduces breast cancer risk in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: the PROSE study group. *J Clin Oncol.* 2004;22(6):1055-62.
 19. Rebbeck TR, Kauff ND, Domchek SM. Meta-analysis of risk reduction estimates associated with risk-reducing salpingo-oophorectomy in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst.* 2009;101(2):80-7.
 20. Henderson BE, Feigelson HS. Hormonal carcinogenesis. *Carcinogenesis.* 2000;21:427–33.
 21. Ristić J, Mladenović M. Uticaj faktora rizika na bolesti dojke (karcinom dojke). *Timočki medicinski glasnik.* 2010;35(3-4):76-80.
 22. Šamija M, Vrdoljak E, Krajina Z. Rak dojke. U: Šamija M, urednik. *Klinička onkologija.* Zagreb: Medicinska naklada; 2006. p. 291-304.
 23. Cardoso F, Kyriakides S, Penault-Llorca F, Poortmans P, Senkus E, Thompson A, et al. Primary Breast Cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol.* 2013;24(Suppl 6):vi7-vi23.
 24. Symmers W, Elston C, Ellis I. The Breast. In: Symmers W, editor. *Systemic Pathology.* 2nd ed. New York: Churchill Livingstone Company; 1998. p. 1759-861.
 25. Fisher ER, Constantino J, Redmond C. Pathologic findings from the national surgical adjuvant breast project (protocol 4): Discriminants for 15-year survival. *Cancer.* 1993;71:2141-50.
 26. Tot T, Tabar L, Dean PB. *Practical Breast Pathology.* 1st ed. Thieme: Medical Publishers; 2002.
 27. Goldstein NS, Mani A, Vicini F, Ingold J. Prognostic features in patients with stage T1 breast carcinoma and 0,5 cm or less lymph node metastasis. Significance of lymph node hilar tissue invasion. *Am J Clin Pathol.* 1999;111(1):21-8.
 28. Rosai J. Breast. In: Ackerman's surgical pathology. Rosai J, ed. St. Louis: Mosby - Year Book Inc; 1996. p. 1621-2.
 29. Andea AA, Bouwman D, Wallis T, Visscher DW. Correlation of tumor volume and surface area with lymph node status in patients with multifocal/multicentric breast carcinoma. *Cancer.* 2004;100(1):20-7.
 30. Schnitt SJ. Traditional and newer pathologic factors. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2001;(30):22-6.
 31. Goldhirsch A, Glick H, Gelber D, Coates S, Senn J. Meeting highlights: International Consensus Panel on the Treatment of Primary Breast Cancer. Seventh International Conference on Adjuvant Therapy of Primary Breast Cancer. *J Clin Oncol.* 2001;19(18):3817-27.

-
32. Weaver DL. Sentinel lymph nodes and breast carcinoma. Which micrometastases are clinically significant? *Am J Surg Pathol.* 2003;27(6):842-5.
 33. Desrichard A, Bidet Y, Uhrhammer N, Bignon YJ. CHEK2 contribution to hereditary breast cancer in non-BRCA families. *Breast Cancer Res.* 2011;13(6):R119.
 34. Karcinom RS [Internet], [cited 2016]. Available from: <http://www.kancer.rs/tag/metastaze/>.pdf
 35. Cvijetić Ž. Uticaj nepovoljnih prognostičkih faktora na klinički ishod HER2 pozitivnih karcinoma dojke, Banja Luka: Panevropski univerzitet Aperion; 2012. p.10-80.
 36. Tavassoeli FA, Devilee P. World Health Organization: tumours of the breast and female genital organs (WHO/IARC classification of tumours) (IARC WHO classification of tumours). 2003.
 37. Stanta G, Bonin S, Losi L, Eusebi V. Molecular characterization of intraductal breast carcinomas. *Virchows Arch.* 1998;432(2):107-11.
 38. Rhodes A, Jasani B, Balaton AJ, Barnes DM, Miller KD. Frequency of estrogen and progesterone receptor positivity by immunohistochemical analysis in 7,016 breast carcinoma: correlation with patient age, assay sensitivity, threshold value and mammographic screening. *J Clin Pathol.* 2000;53(9):688-96.
 39. Rhodes A, Jasani B, Barnes DM, Bobrow IG, Miller KD. Reliability of immunohistochemical demonstration of estrogen receptors in routine practice: inter-laboratory variance in the sensitivity of detection and evaluation of scoring system. *J Clin Pathol.* 2000;53(2):125-30.
 40. Mitrović OS. Korelacija između proteinske i genske ekspresije HER-2 i topoizomeraze 2a kod infiltrativnog duktalnog karcinoma dojke. [Disertacija], Beograd: Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet Beograd; 2013.
 41. Park S, Koo J, Park HS, Kim JH, Choi SY, Lee JH, et al. Expression of androgen receptors in primary breast cancer. *Ann Oncol.* 2010;21(3):488-92.
 42. Nahleh Z. Functional and structural analysis of androgen receptors for anti-cancer drug discovery. *Cancer Therapy.* 2008;6:439-4.
 43. Zdravković D, Aleksić A, Aleksić Ž, Mitov V, Jović M. Mehanizmi delovanja hormona. *Timočki medicinski glasnik.* 2007;4:176-82.
 44. Nuklearni receptori [Internet], [cited 2016]. Available from: <http://www2.dbe.pmf.uns.ac.rs>
 45. DIASource [Internet], [cited 2016]. Available from: <http://www.diasource-iagnostics.com/en/IVDProducts/ImmunoAssays/Fertility/Androgens>.
 46. Davidović V. Fiziologija I. Beograd: Biološki Fakultet, ZUNS; 2003.
 47. Leav I, Lau KM, Adams JY, McNeal JE, Taplin ME, Wang J, et al. Comparative studies of the estrogen receptors beta and alpha and the androgen receptor in normal human prostate glands, dysplasia, and in primary and metastatic carcinoma. *Am J Pathol.* 2001;159(1):79-92.
 48. Brook CG. Mechanism of puberty. *Hormone Res.* 1999;51(Suppl 3):52-4.
 49. Quigley CA, De Bellis A, Marschke KB, el-Awady MK, Wilson EM, French FS. Androgen receptor defects: historical, clinical, and molecular perspectives. *Endocr*

-
- Rev. 1995;16(3):271-321.
50. Roy AK, Lavrovsky Y, Song CS, Chen S, Jung MH, Velu NK, et al. Regulation of Androgen Action. *Vitam Horm.* 1999;55:309-52.
 51. Iacopetta D, Rechoum Y, Fuqua SAW. The Role of Androgen Receptor in Breast Cancer. *Drug Discov Today Dis Mech.* 2012;9(1-2):e-19-e-27.
 52. Rahman F, Christian HC. Non-classical actions of testosterone: an update. *Trends Endocrinol Metab.* 2007;18(10):371-8.
 53. Wilson CM, McPhaul MJ. A and B forms of the androgen receptor are present in human genital skin fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994;91(4):1234-8.
 54. Sriram D. *Steroids, Medicinal Chemistry.* Pearson Education India; p. 437.
 55. Carlson N. *Physiology of Behavior. Reproductive Behavior.* 11th ed. Pearson; 2012. p. 326.
 56. Hong Y, Chen S. Aromatase Inhibitors. *Ann NY Acad Sci.* 2008;1089(1):237-51.
 57. Simpson ER, Clyne C, Rubin G, Boon WC, Robertson K, Britt K, et al. Aromatase - a brief overview. *Ann Rev Physiol.* 2002;64:93-127.
 58. Ogistra, Anabolic steroids. [Internet], [cited 2016]. Available from: <http://www.ogistra-nutrition-shop.blogspot.rs/2014/03/anabolic-steroids-primer.html>
 59. Moj lekar [Internet], [cited 2016]. Available from: <http://dijagnostika.mojlekar.net/bolesti-dojke/karcinom-dojke>
 60. Payal D, Shah PD, Ayca Guclalp A, Traina TA. The role of the androgen receptor in triple-negative breast cancer. *Women's Health.* 2013;9(4):351-60.
 61. Nahleh Z. Androgen receptor as a target for the treatment of hormone receptor-negative breast cancer: an uncharted territory. *Future Oncology.* 2008;4(1):15-21.
 62. Niemeier LA, Dabbs DJ, Beriwal S, Striebel JM, Bhargava R. Androgen receptor in breast cancer: expression in estrogen receptor-positive tumors and in estrogen receptor-negative tumors with apocrine differentiation. *Modern Pathology.* 2010;23:205-12.
 63. Gonzalez LO, Corte MD, Vazquez J, Junquera S, Sanchez R, Alvarez AC, et al. Androgen receptor expression in breast cancer: relationship with clinicopathological characteristics of the tumors, prognosis, and expression of metalloproteases and their inhibitors. *BMC Cancer.* 2008;8:149.
 64. Isola JJ. Immunohistochemical demonstration of androgen receptor in breast cancer and its relationship to other prognostic factors. *J Pathol.* 1993;170:31-5.
 65. Kuenen-Boumeester V, Van der Kwast TH, van Putten WL, Claassen C, van Ooijen B, et al. Immunohistochemical determination of androgen receptors in relation to oestrogen and progesterone receptors in female breast cancer. *Int J Cancer.* 1992;52(4):581-4.
 66. Agrawal AK, Jelen M, Grzebieniak Z, Zukrowski P, Rudnicki J, Nienartowicz E. Androgen receptors as a prognostic and predictive factor in breast cancer. *Folia Histochem Cytobiol.* 2008;46(3):269-76.
 67. Moinfar F, Okcu M, Tsybrovskyy O, Regitnig P, Lax SF, Weybora W, Ratschek M, et al. Androgen receptors frequently are expressed in breast carcinomas: potential relevance to new therapeutic strategies. *Cancer.* 2003;98(4):703-11.
 68. Gonzalez-Angulo AM, Stemke-Hale K, Palla SL, Carey M, Agarwal R, Meric-

-
- Berstam F, et al. Androgen receptor levels and association with PIK3CA mutations and prognosis in breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2009;15(7):2472–8.
69. Birrell SN, Bentel JM, Hickey TE, Ricciardelli C, Weger MA, Horsfall DJ, et al. Androgens induce divergent proliferative responses in human breast cancer cell lines. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1995;52(5):459–67.
70. Buchanan G, Birrell SN, Peters AA, Bianco-Miotto T, Ramsay K, Cops EJ, et al. Decreased androgen receptor levels and receptor function in breast cancer contribute to the failure of response to medroxyprogesterone acetate. *Cancer Res.* 2005;65(18):8487–96.
71. Doane AS, Danso M, Lal P, Donaton M, Zhang L, Hudis C, et al. An estrogen receptor-negative breast cancer subset characterized by a hormonally regulated transcriptional program and response to androgen. *Oncogene.* 2006;25(28):3994–4008.
72. Collins LC, Cole KS, Marotti JD, Hu R, Schnitt SJ, Tamimi RM. Androgen receptor expression in breast cancer in relation to molecular phenotype: results from the Nurses' Health Study. *Mod Pathol.* 2011;24(7):924-31.
73. Vera-Badillo FE, Templeton AJ, de Gouveia P, Diaz-Padilla I, Bedard PL, Al-Mubarak M, et al. Androgen receptor expression and outcomes in early breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst.* 2014;106(1):djt319.
74. Tot T. Early and more advanced unifocal and multifocal breast carcinomas and their molecular phenotypes. *Clin Breast Cancer.* 2011;11(4):258-63.
75. Dimitrakakis C, Bondy C. Androgens and the breast. *Breast Cancer Res.* 2009;11(5):212.
76. Micello D, Marando A, Sahnane N, Riva C, Capella C, Sessa F. Androgen receptor is frequently expressed in HER2-positive, ER/PR-negative breast cancers. *Virchows Arch.* 2010;457(4):467-76.
77. Cochrane DR, Bernales S, Jacobsen BM, Cittelly DM, Howe EN, D' Amato NC, et al. Role of the androgen receptor in breast cancer and preclinical analysis of enzalutamide. *Breast Cancer Res.* 2014;16(1):R7.
78. Yu Q, Niu Y, Liu N, Zhang JZ, Liu TJ, Zhang RJ, et al. Expression of androgen receptor in breast cancer and its significance as a prognostic factor. *Ann Oncol.* 2011;22(6):1288-94.
79. Ménard S, Tagliabue E, Campiglio M, Pupa SM. Role of HER2 gene overexpression in breast carcinoma. *J Cell Physiol.* 2000;281:150-62.
80. Perez-Soler R. HER1/EGFR targeting: refining the strategy. *The Oncologist.* 2004;9:58-67.
81. Suo Z, Risberg B, Kalsson MG. EGFR family expression in breast carcinomas. c-erbB-2 and c-erbB-4 receptors have different effects on survival. *J Pathol.* 2002;196:17-25.
82. Mitri Z, Constantine T, O'Regan R., The HER2 Receptor in Breast Cancer: Pathophysiology, Clinical Use, and New Advances in Therapy. *Chemother Res Pract.* 2012;2012:743193.
83. Salomon DJ, Clarc GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human

-
- breast cancer: correlation of relaps and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science*. 1987;235(4785):177-82.
84. Prati R, Apple SK, He J, Gornbei JA, Chanh HR. Histopathologic characteristics predicting HER-2/neu amplification in breast cancer. *Breast J*. 2005;11(6):433-9.
 85. Schonk DM, Kuijpers HJ, van Drunen E, van Dalen CH, Geurts van Kessel AH, Verheijen R, et al. Assignment of the gene(s) involved in the expression of the proliferation-related Ki-67 antigen to human chromosome 10. *Hum Genet*. 1989;83(3):297-9.
 86. Yerushalmi R, Woods R, Ravdin P, Hayes MM, Gelmon KA. Ki67 in breast cancer: prognostic and predictive potential. *Lancet Oncol*. 2010;11(2):174-83.
 87. Elston CW, Ellis IO, Goulding H. Role of pathology in the prognosis and management of breast cancer. In: Elston CW, Ellis IO, eds. *The Breast*. London: Churchill Livingstone; 1998. p. 385-433.
 88. Balać I, Raković D, Uskoković D. *Biomaterijali*. Beograd: Institut tehničkih nauka Srpske akademije nauka i umetnosti - Društvo za istraživanje materijala; 2010.
 89. Ivković-Kapriel T, Knežević-Ušaj S, Panjković M, Mastilović K. Imunohistochemijska analiza angiogeneze kod invazivnog carcinoma duktusa dojke i korelacija sa kliničko-patološkim faktorima. *Vojnosanit Pregl*. 2006;63(7):635-42.
 90. Folkman J. Clinical applications of research on angiogenesis. *N Engl J Med*. 1995;333(26):1757-63.
 91. Branden C, Tooze J. *Introduction to Proteine Structure*. New York: Garland Publishing; 2006.
 92. Barrett AJ, Rawlings ND, Woessner JF. *The Handbook of Proteolytic Enzymes*, 2nd ed. Amstrdam: Elsevier Academic Press, 2003.
 93. Brujan I, Margaritescu C, Simeonascu C. Cathepsin-D expression in breast lesion: on imunohistochemical study. *Rom J Morpholog Embryol*. 2009;50:31-9.
 94. Tetu B, Brisson J, Lapointe H, Wang CS, Bernard P, Blanchette C. Cathepsin D expression by cancer and stromal cells in breast cancer: an immunohistochemical study of 1348 cases. *Breast Cancer Res Treat*. 1999;55:137-47.
 95. Laurent-Matha V, Huesgen F, Masson O, Derocq D, Prébois C, Gary-Bobo M, et al. Proteolysis of cystatin C by cathepsin D in the breast cancer microenvironment. *FASEB J*. 2012;26(12):5172-81.
 96. Azis S, Pervez S, Khan S, Kayani N, Rohbar M. Imunohistochemical cathepsin D expression in breast cancer: correlation with established pathological parameters and survival. *Pathol Res Proct*. 2001;197:551-7.
 97. Foekens JA, Look MP, Boltde Vries J, Meijervan Gelde M, van Putten WLJ, Klijin JGM. Cathepsin D in primary breast cancer: prognostic evaluation 2810 patients. *Br J Cancer*. 1999;79:300-7.
 98. Del Casar JM, González-Reyes S, González LO, González JM, Junquera S, Bongera M, et al. Expression of metalloproteases and their inhibitors in different histological types of breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2009;136:811-9.
 99. Köhrmann A, Kammerer U, Kapp M, Dietl J, Anacker J. Expression of matrix metalloproteinases (MMPs) in primary human breast cancer cell lines: New findings and review of the literature. *BMC Cancer*. 2009;9:188-208.

-
100. McGowan PM, Duffy MJ. Matrix metalloproteinase expression and outcome in patients with breast cancer: analysis of a published database. *Ann Oncol.* 2008;19(9):1566-72.
 101. Pedersen N, Christensen J, Stephens W, Briand P, Mourdisen T, Dano K., The complex between urokinase and its type-1 inhibitor in primary breast cancer: relation to survival. *Cancer Res.* 2000;60:6927-34.
 102. Bast RC, Radvin O, Hayes DF, Bates S, Fritsche H, Jessup JM, et al. 2000 update of recommendations for the use of tumor markers in breast and colorectal cancer: clinical practice guidelines of the American Society. *J Clin Oncol.* 2001;19(6):1865-78.
 103. Agrawal AK, Jelen M, Rudnicki J, et al. Molecular markers (cerbB2, p53) in breast cancer. *Folia Histochem Cytobiol.* 2008;46:449-55.
 104. Müller M, Meyer M, Schilling E, Ulsperger E, Lehnert T, Zentgraf H, et al. Testing for a anti p53 antibodies increases the diagnostic sensitivity of conventional tumor markers. *Int J Oncol.* 2006;29:973-80.
 105. Liu Y, Kulesz-Martin M. p53 protein at the hub of cellular DNA damage response pathways through sequence-specific and non-sequence-specific DNA binding. *Carcinogenesis.* 2001;22(6):851-60.
 106. Yin X, Giap C, Lazo JS, Prochownik EV. Low molecular weight inhibitors of Myc/Max interaction and function. *Oncogene.* 2003;22:6151-9.
 107. Fournier HN, Albiges-Rizo C, Block MR. New insights into Nm23 control of cell adhesion and migration. *J Bioenerg Biomembr.* 2003;35:81-7.
 108. Curtis CD, Likhite VS, McLeod IX, Yates JR, Nardulli AM. Interaction of the tumor metastasis suppressor nonmetastatic protein 23 homologue H1 and estrogen receptor α alters estrogen responsive gene expression. *Cancer Res.* 2007;67:10600-8.
 109. Nadler Y, Camp L, Giltnane JM. Expression patterns and prognostic value of Bag-1 and Bcl-2 in breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2008;10:1-12.
 110. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, B. Thürlimann B, Senn H-J. Strategies for subtypes - dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. *Ann Oncol.* 2011;22(8):1736-47.
 111. 12. Internacionalni kongres o karcinomu dojke St. Gallen, Švajcarska, 2011 [Internet], [cited 2016]. Available from: <http://www.oncoconferences.ch/Breast-Cancer-Conferences>
 112. Verma S, Bal A, Joshi K, Arora S, Singh L. Immunohistochemical characterization of molecular subtypes of invasive breast cancer: a study from North India. *APMIS* 2012;120:1008-19.
 113. Reis-Filho JS, Tutt ANJ. Triple negative tumours: a critical review. *Histopathol.* 2008;52:108-18.
 114. Cheang MCU, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, Snider J, et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with Luminal B breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2009;101:736-50.
 115. Ivković-Kapicel T, Panjković M, Nikolić I, Djilas-Ivanović D, Knezević-Usaj S. Expression of cytokeratins 5/6 and cytokeratin 17 in invasive breast carcinoma.

-
- Vojnosanitet Pregl. 2012;69(12):1031-8.
116. ¹¹⁶ Nacionalni komitet za izradu Vodiča kliničke prakse u Srbiji, Radna grupa za maligne bolesti, Minimalne kliničke preporuke za dijagnostiku, lečenje, adjuvantnu terapiju i praćenje pacijenata sa primarnim karcinomom dojke. 2002. p. 4, izvor: Fisher B, et al. Monograph 11, J Natl Cancer Inst. 1992;11:7.
 117. Džodić R, Marković I, Buta M. Hirurške preporuke za dijagnostiku i lečenje karcinoma dojke. Nacionalni vodič dobre kliničke prakse za dijagnostikovanje i lečenje raka dojke. Beograd: Agencija za akreditaciju zdravstvenih ustanova Srbije; 2013. p. 28-34.
 118. Časopis Zdrave vijesti [Internet], [cited 2016]. Available from: <http://www.svezanju.hr/rak-dojke.html>
 119. Mladenović J. Radioterapija karcinoma dojke. Nacionalni vodič dobre kliničke prakse za dijagnostikovanje i lečenje raka dojke. Beograd: Agencija za akreditaciju zdravstvenih ustanova Srbije; 2013. p. 94-106.
 120. Correa C, McGale P, Taylor C, Wang Y, Clarke M, Davies C, et al, Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group (EBCTCG). Overview of the randomized trials of radiotherapy in ductal carcinoma in situ of the breast. J Natl Cancer Inst Monogr. 2010;2010(41):162-77.
 121. Goodwin A, Parker S, Ghersi D, Wilcken N. Post-operative radiotherapy for ductal carcinoma in situ of the breast - A systematic review of the randomised trials. Breast. 2009;18:143-9.
 122. Solin LJ. The impact of adding radiation treatment after breast conservation surgery for ductal carcinoma in situ of the breast. JNCI Monogr. 2010;41:187-92.
 123. Clarke M, Collins R, Darby S, Davies C, Elphinstone P, Evans V, et al; Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Effects of radiotherapy and of differences in the extent of surgery for early breast cancer on local recurrence and 15-year survival: an overview of the randomized trials. Lancet. 2005;366(9503):2087-106.
 124. Darby S, McGale P, Correa C, Taylor C, Arriagada R. Early Breast Cancer Trialists Group (EBCTCG). Effect of radiotherapy after breast-conserving surgery on 10-year recurrence and 15-year breast cancer death: meta-analysis of individual patient data for 10801 women in 17 randomised trials. Lancet. 2011;378:1707-16.
 125. Scientific support of the College of Oncology:update of the national guidelines on breast cancer. Belgian Health Care Knowledge Centre. 2010. [Internet], [cited 2017]. Available from: https://kce.fgov.be/sites/files/atoms/files/KCE_143Cs_Breast_cancer
 126. National Institute for Health and Clinical Excellence. Early and locally advanced breast cancer: diagnosis and treatment. NICE Clinical guideline 80. London: NICE; 2009.
 127. Poortmans P. Evidence based radiation oncology: Breast cancer. Radiother Oncol. 2007;84:84-101.
 128. Giordano SH. Update on locally advanced breast cancer. The Oncologist. 2003;8:521-30.
 129. Chia S, Swain SM, Byrd DR, Mankoff DA. Locally advanced and inflammatory

-
- breast cancer. *JCO*. 2008;26(5);786-90.
130. Shenkier T, Weir L, Levine M, Olivotto I, Whelan T, Reyno L, et al. Clinical practice guidelines for the care and treatment of breast cancer: 15. Treatment for women with stage III or locally advanced breast cancer. *CMAJ*. 2004;170(6);983-94.
 131. Popov I. Hemioterapija. [Internet], [cited 2017]. Available from: <http://www.pinterest.com/pin/444308319460863980/>
 132. Grupa autora. Vodič medikalnog lečenja karcinoma dojke, pregled. Vodič dobre kliničke prakse za dijagnostikovanje i lečenje raka dojke. Beograd: Ministarstvo zdravlja Republike Srbije; 2012. p. 35.
 133. Brito RA, Valero V, Buzdar AU, Booser DJ, Ames F, Strom E, et al. Long-term results of combined-modality therapy for locally advanced breast cancer with ipsilateral supraclavicular metastases: The University of Texas M.D. Anderson Cancer Center experience. *J Clin Oncol*. 2001 Feb 1;19(3):628-33.
 134. Nacionalni vodič dobre kliničke prakse za dijagnostikovanje i lečenje raka dojke. Neoadjuvantna terapija. Deo VI. Beograd Ministarstvo zdravlja Republike Srbije, Agencija za akreditaciju zdravstvenih ustanova Srbije; 2013. p. 122-4.
 135. Nacionalni vodič dobre kliničke prakse za dijagnostikovanje i lečenje raka dojke. Deo VII. Beograd: Ministarstvo zdravlja Republike Srbije, Agencija za akreditaciju zdravstvenih ustanova Srbije; 2013. p. 127.
 136. Minimalne kliničke preporuke za dijagnostiku, lečenje, adjuvantnu terapiju i praćenje pacijenta sa primarnim, rekurentnim / metastatskim karcinomom dojke. Vodič kliničke prakse. Beograd; 2002. p. 9-12.
 137. Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, Dowset M, McShane LM, Allison KH, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *J Clin Oncol*, 2013;31(31):3997-4013.
 138. Pekar G, Gere M, Tarjan M, Hellberg D, Tot T. Molecular phenotype of the foci in multifocal invasive breast carcinomas: intertumoral heterogeneity is related to shorter survival and may influence the choice of therapy. *Cancer*. 2014;120(1):26-34.
 139. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, et al. Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC Cancer Base No. 11, Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; GLOBOCAN 2012 v1.0. *Int J Cancer*. 2015;136(5):E359-86.
 140. McNamara KM, Moore NL, Hickey TE, Sasano H, Tilley WD. Complexities of androgen receptor signalling in breast cancer. *Endocr Relat Cancer*. 2014;21(4):T161-81.
 141. Agrawal A, Ziolkowski P, Grzebieniak Z, Jelen M, Bobinski P, Agrawal S . Expression of Androgen Receptor in Estrogen Receptor-positive Breast Cancer. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2016 Sep;24(8):550-5.
 142. Rangel N, Rondon-Lagos M, Annaratone L, Osella-Abate S, Metovic J, Mano MP, Bertero et al., The role of the AR/ER ratio in ER-positive breast cancer patients. *Endocr Relat Cancer*. 2018;25(3):163-72.
 143. Hilborn E, Gacic J, Fornander T, Nordenskjold B, Stal O, Jansson A. Androgenreceptor expression predicts beneficial tamoxifen response in

-
- oestrogenreceptor-alpha-negative breast cancer. *Br J Cancer*. 2016;114(3):248-55.
144. Bronte G, Rocca A, Ravaioli S, Puccetti M, Tumedei MM, Scarpi E, et al. Androgen receptor in advanced breast cancer: is it useful to predict the efficacy of anti-estrogen therapy. *BMC Cancer*. 2018;18(1):348.
 145. Qu Q, Mao Y, Fei XC, Shen KW. The Impact of Androgen Receptor Expression on Breast Cancer Survival: A Retrospective Study and Meta-Analysis. *PloS One*. 2013 Dec 4;8(12):e82650.
 146. Park S, Koo JS, Kim MS, Park HS, Lee JS, Lee JS, et al. Characteristics and outcomes according to molecular subtypes of breast cancer as classified by a panel of four biomarkers using immunohistochemistry. *Breast*. 2012;21(1):50-7.
 147. Castellano I, Allia E, Accortanzo V, Vandone AM, Chiusa L, Arisio R, et al. Androgen receptor expression is a significant prognostic factor in estrogen receptor positive breast cancers. *Breast Cancer Res Treat*. 2010 Dec 17;124(3):607-17.
 148. Kim MK, Kim T, Moon HG, Jin US, Kim K, Kim J, et al. Effect of cosmetic outcome on quality of life after breast cancer surgery. 2015;41(3):426-32.
 149. Rechoum Y, Rovito D, Iacopetta D, Barone I, Andò S, Nancy L, et al. AR collaborates with ER α in aromatase inhibitor-resistant breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2014 Oct;147(3):473-85.
 150. Kensler KH, Regan MM, Heng YJ, Baker GM, Pyle ME, Schnitt SJ, et al. Prognostic and predictive value of androgen receptor expression in postmenopausal women with estrogen receptor-positive breast cancer: results from the Breast International Group Trial 1–98. *Breast Cancer Res*. 2019;21(1):30.
 151. Bozovic-Spasojevic I, Zardavas D, Brohee S, Ameye L, Fumagalli D, Ades F, et al. The prognostic role of androgen receptor in patients with early-stage breast cancer: a meta-analysis of clinical and gene expression data. *Clin Cancer Res*. 2017;23(11):2702-12.
 152. Trialists' Group (ref The ATAC (Arimidex, Tamoxifen Alone or in Combination). Anastrozole alone or in combination with tamoxifen versus tamoxifen alone for adjuvant treatment of postmenopausal women with early breast cancer: first results of the ATAC randomised trial. *Lancet*. 2002;359(9324):2131-9.
 153. Chang J, Powles TJ, Allred DC, Ashley SE, Clark GM, et al. Biologic markers as predictors of clinical outcome from systemic therapy for primary operable breast cancer. *J Clin Oncol*. 1999;17(19):3058-63.
 154. Voogd AC, Nielsen M, Peterse JL, Blichert-Toft M, Bartelink H, Overgaard M, et al, Danish Breast Cancer Cooperative Group. Breast Cancer Cooperative Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer Differences in risk factors for local and distant recurrence after breast-conserving therapy or mastectomy for stage I and II breast cancer: pooled results of two large European randomized trials. *J Clin Oncol*. 2001 Mar 15;19(6):1688-97.
 155. 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.
 156. Lafourcade A, His M, Baglietto L, Boutron-Ruault M-C, Dossus L, Rondeau V. Factors associated with breast cancer recurrences or mortality and dynamic

-
- prediction of death using history of cancer recurrences: the French E3N cohort. *BMC Cancer*. 2018 Feb 9;18(1):171.
157. Smith EI, Dowsett M. Aromatase inhibitors in breast cancer. *N Engl J Med*. 2003;348(24):2431-42.
 158. Henry NL, Chan HP, Dantzer J, Goswami CP, Li L, Skaar TC, et al. Aromatase inhibitor-induced modulation of breast density: clinical and genetic effects. *Br J Cancer*. 2013;109(9):2331-9.
 159. Lester SC. Breast. In: *Manual of surgical pathology*. 3th ed. Philadelphia: Elsevier sounders; 2010. p. 276-9.
 160. AACR: Personalizing cancer care trough discovery science. Philadelphia: American Assotiation for Cancer Research 2011-2013. Annual meeting 2013 [Internet], [cited 2017]. Available from: <https://www.aacr.org>