

# Odnos parametara metaboličkoga sindroma i obilježja novootkrivenoga karcinoma dojke prema koncentraciji 25-hidroksikolekalciferola

---

**Vučić, Katarina**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2020**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:930245>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-09-09**



*Repository / Repozitorij:*

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Katarina Vučić**

**Odnos parametara metaboličkoga  
sindroma i obilježja novootkrivenoga  
karcinoma dojke prema koncentraciji  
25-hidroksikolekalciferola**

**DISERTACIJA**



**Zagreb, 2020.**

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Katarina Vučić**

**Odnos parametara metaboličkoga  
sindroma i obilježja novootkrivenoga  
karcinoma dojke prema koncentraciji  
25-hidroksikolekalciferola**

**DISERTACIJA**

Zagreb, 2020.

Disertacija je izrađena u Klinici za tumore Kliničkoga bolničkoga centra Sestre milosrdnice i Odjelu za maligne bolesti Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo

Mentori: dr. sc. Mario Šekerija, dr. med., spec. i dr. sc. Iva Kirac, dr. med., spec., znanstveni suradnik

Iznimno sam zahvalna prvenstveno mentorima dr.sc. Ivi Kirac i dr.sc. Mariu Šekeriji na svesrdnoj pomoći, poticajima, entuzijazmu i savjetima, bez kojih ovaj rad ne bi mogao biti dovršen.

Zahvaljujem se djelatnicama Klinike za tumore višim medicinskim sestrama Zavoda za kiruršku onkologiju Karolini Habljak i Mariji Kahlini, te pročelnici Kliničke jedinice za medicinsku biokemiju u onkologiji dr.sc. Ljiljani Mayer, inženjerkama medicinske biokemije Josipi Periša, Petri Bulić i Sanji Langer, voditeljici Odjela za transfuzijsku medicinu i koagulaciju onkoloških bolesnika prim.dr.sc. Deani Šturm, koji su mi pomogli analizom uzoraka, kao i gospođama Đurđi i Štefici na kavi tijekom dugotrajnog rada na Klinici. Zahvaljujem se i svim pacijenticama koje su pristale sudjelovati u ovom znanstvenom istraživanju u za njih teškim životnim trenutcima.

Prof.dr.sc. Boženi Šarčević zahvaljujem na dragocjenim prijedlozima poboljšanja dijela napisanog rada za karcinom dojke, a doc.dr.sc. Tomislavu Kelavi na cjelokupnoj pomoći kod složene statističke analize istraživanja.

Ravnatelju Agencije za lijekove i medicinske proizvode prof.dr.sc. Siniši Tomiću zahvaljujem na kontinuiranom podupiranju znanstvenog napredovanja.

Obitelji i prijateljima koji su mi bili bezgranična podrška tijekom izrade ovog rada zahvaljujem na strpljenju i razumijevanju za sve zajedničke trenutke i vikende koje smo propustili zbog ovog rada.

Ovaj rad posvećujem svojoj majci koja mi je uvijek bila najveća potpora.

## Sadržaj:

I. Popis tablica, slika i priloga .....	iv
II. Kratice i oznake .....	vi
1) Uvod .....	1
1.1 Rak dojke .....	1
1.1.1 Epidemiologija raka dojke .....	1
1.1.2 Vrste raka dojke .....	3
1.1.3 Prognostički i prediktivni čimbenici kod karcinoma dojke .....	5
1.1.3.1 Kliničko stupnjevanje .....	5
1.1.3.2 Patohistološko stupnjevanje .....	6
1.1.4 Etiologija i patogeneza karcinoma dojke .....	10
1.1.4.1 Genetski čimbenici rizika .....	12
1.1.4.2 Vanjski čimbenici rizika .....	14
1.2 Metabolički sindrom .....	16
1.2.1 Epidemiologija metaboličkoga sindroma .....	16
1.2.2 Etiologija i patogeneza metaboličkoga sindroma .....	16
1.2.3 Metabolički sindrom i karcinom dojke .....	19
1.3 Vitamin D .....	27
1.3.1 Epidemiologija deficijencije vitamina D .....	27
1.3.2 Etiologija i patogeneza deficijencije vitamina D .....	28
1.3.3 Mehanizmi djelovanja vitamina D .....	31
1.3.4 Vitamin D i metabolički sindrom .....	32
1.3.5 Vitamin D i karcinom dojke .....	33
1.4 Poveznice između vitamina D, metaboličkoga sindroma i karcinoma dojke .....	36
2) Hipoteza i ciljevi istraživanja .....	39
3) Bolesnice i metode .....	41
3.1 Metodologija .....	41
3.1.1 Pretraga literature .....	41
3.1.2 Ispitanice .....	41
3.1.3 Dizajn i metode .....	42
3.1.4 Definicije .....	43
3.2 Statističke metode analize podataka .....	48
4) Rezultati .....	51
4.1 Deskriptivna statistika .....	51
4.1.1 Obilježja bolesnica .....	51
4.1.2 Obilježja raka dojke .....	55
4.2 Statistička analiza .....	58
4.2.1 Obilježja karcinoma dojke spram 25(OH)D, metaboličkog sindroma i menopauze ....	58
4.2.2 Analiza korelacije 25-hidroksikolekalciferola i biokemijskih varijabli .....	65
5) Rasprava .....	67
6) Zaključak .....	77
7) Sažetak na hrvatskom jeziku .....	79
Sažetak na engleskom jeziku .....	80
8) Literatura .....	81
III. Prilozi .....	89
IV. Kratki životopis .....	95

## I. Popis tablica, slika i priloga:

Tablica 1. Novi slučajevi raka dojke (MKB C50) mortalitet, prosječna dob i očekivano trajanje života u žena 2009-2015 u RH .....	2
Tablica 2. Uloga (proto)onkogeni i gena supresora tumora u staničnom ciklusu i mehanizam oštećenja kod raka dojke .....	9
Tablica 3. Čimbenici rizika za nastanak invazivnog karcinoma dojke .....	11
Tablica 4. Adipokini i njihovo djelovanje .....	18
Tablica 5. Mehanizmi supresije tumora i primjeri potencijalnih kemopreventivnih tvari za rak .....	36
Tablica 6. Usporedba čimbenika rizika (ne uključujući genetske) za razvoj karcinoma dojke, metaboličkoga sindroma i deficijencije vitamina D .....	37
Tablica 7. Razlike u dijagnostičkim kriterijima za MetS .....	43
Tablica 8. Granične vrijednosti opsega struka prema spolu i regiji svijeta prema IDF-u .....	44
Tablica 9. Nottinghamski sustav stupnjevanja karcinoma dojke (modifikacija Scarff-Bloom-Richardson sustava prema Elstonu i Ellisu) .....	46
Tablica 10. Histološki gradus .....	46
Tablica 11. Sažetak TNM klasifikacije raka dojke (Prilog I.) .....	47
Tablica 12. AJCC anatomske stadij/prognostičke grupe na temelju TNM .....	47
Tablica 13. Osnovna obilježja ispitivane populacije bolesnica .....	52
Tablica 14. Rizični čimbenici bolesnica za rak dojke .....	53
Tablica 15. Anamnestički podatci bolesnica u ispitivanju .....	54
Tablica 16. Obilježja tumora dojke .....	55
Tablica 17. Deficijencija 25(OH)D i MetS-a prema intrinzičnim podvrstama tumora .....	56
Tablica 18. Usporedba bolesnica u postmenopauzi s bolesnicama u premenopauzi/perimenopauzi... ..	58
Tablica 19. Usporedba bolesnica s deficijencijom 25(OH)D s bolesnicama bez deficijencije .....	59
Tablica 20. Podanaliza usporedbe bolesnica s deficijencijom 25(OH)D s bolesnicama bez deficijencije ovisno o periodu mjerenja .....	60
Tablica 21. Usporedba bolesnica s metaboličkim sindromom s bolesnicama bez metaboličkoga sindroma .....	61
Tablica 22. Kombinirana usporedba utjecaja prisutnosti deficijencije 25(OH)D i metaboličkoga sindroma .....	62
Tablica 23. Multinomialna logistička analiza povezanosti deficijencije 25(OH)D i metaboličkoga sindroma, u osnovnom i prilagođenim modelima, s intrinzičnim tipovima tumora dojke (luminalni A, luminalni B i trostruko negativni tip) .....	63
Tablica 24. Multinomialna logistička analiza povezanosti deficijencije 25(OH)D i metaboličkoga sindroma, u osnovnom i prilagođenim modelima, s različitim tipovima tumora dojke ... ..	64
Tablica 25. Multivarijatne analize povezanosti deficijencije 25(OH)D i metaboličkoga sindroma, u osnovnom i prilagođenim modelima, s pojavnošću HER2 receptora u luminalnom tip B tumoru dojke .....	64
Tablica 26. Korelacija serumskih koncentracija 25(OH)D s komponentama MetS-a .....	66
Slika 1. Dobno standardizirane stope incidencije raka dojke u žena u svijetu za 2018. ....	1
Slika 2. Broj i gruba stopa novih slučajeva raka dojke u žena prema dobi za 2009-2015 u RH (srednja vrijednost za period) .....	2
Slika 3. Porast udjela žena starije dobi u populaciji RH .....	2
Slika 4. Učestalost i utjecaj genetskih varijanti na rizik od karcinoma dojke .....	12

Slika 5. Ključni signalni putevi i stanični procesi u tumorskoj stanici .....	12
Slika 6. Signalni putevi kod molekularnih podvrsta karcinoma dojke .....	13
Slika 7. Utjecaj prehrane, pretilosti i fizičke aktivnosti na stanične procese povezane s rakom .....	15
Slika 8. Algoritam patogeneze metaboličkoga sindroma .....	17
Slika 9. Doprinos pretilosti u karcinogenezi .....	21
Slika 10. Signalni putevi IGF-1-R nakon vezanja inzulina, IGF-1 i IGF-2 .....	22
Slika 11. Signalni putevi leptina i adiponektina .....	24
Slika 12. Metabolički sindrom i karcinogeneza .....	25
Slika 13. Status vitamina D u općoj populaciji u svijetu .....	27
Slika 14. Metabolizam vitamina D .....	30
Slika 15. Razvoj raka dojke, deficijencije vitamina D i MetS-a .....	37
Slika 16. Rak i komponente MetS-a s kojima se povezuje deficijencija vitamina D .....	38
Slika 17. Subanaliza prema ljetnom i zimskom periodu uzorkovanja .....	48
Slika 18. Algoritam uključivanja bolesnica s novodijagnosticiranim rakom dojke .....	51
Slika 19. Broj bolesnica s karcinomom dojke po TNM stadijima .....	57
Slika 20. Koncentracije 25(OH)D po tipu tumora .....	57
Slika 21. Koncentracije 25(OH)D prema gradusu i stadiju .....	57
Slika 22. Korelacije koncentracije 25(OH)D s biokemijskim nalazima .....	65
Prilog I. SZO histološka klasifikacija primarnog raka dojke u žena .....	90
Prilog II. TNM Klasifikacija raka dojke (AJCC) .....	91
Prilog III. Anamnestički upitnik .....	92

## II. Kratice i oznake:

AACE – engl. <i>American Association of Clinical Endocrinologists</i>	KBC/O – klinički bolnički centar/odjel
AHA/NHLBI – engl. <i>American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute</i>	Ki-67 – protein jezgre marker stanične proliferacije
AJCC – engl. <i>The American Joint Committee on Cancer</i>	KV – kardiovaskularni
ADP – adenozin difosfat	LDH – laktatdehidrogenaza
AMPK – engl. <i>AMP-activated protein kinase</i>	LDL – engl. <i>low density lipoprotein</i> ; lipoprotein male gustoće
APTV – aktivirano parcijalno protrombinsko vrijeme	LXR – engl. <i>liver X receptor</i>
ATP – adenozin trifosfat	M – postmenopauzalno
BRCA1, BRCA2 – engl. <i>breast cancer 1 and 2 gene</i> ; gen raka dojke 1 i 2	MAPK – engl. <i>mitogen activated protein kinase</i>
cAMP – ciklički adenozin monofosfat	MetS – metabolički sindrom
Ca – karcinom	MKB-10 – Međunarodna klasifikacija bolesti
CCND1 – gen koji kodira ciklin D1	MMP – matriks metaloproteinaze
CD10, -31, -34 – engl. <i>cluster designation 10, -31, -34</i>	mTOR – engl. <i>mamalian target of rapamycin</i>
CHEK 2 – engl. <i>cell-cycle checkpoint kinase 2</i>	NCEP ATP III – engl. <i>National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III</i>
CI – engl. <i>confidence interval</i> ; interval pouzdanosti	NO – engl. <i>nitric oxide</i> ; dušični oksid
CK – citokeratin	NSAIL – nesteroidni antiinflamatorni lijekovi
COX – engl. <i>cyclooxygenase</i> ; ciklooksigenaza	ORP – engl. <i>oxysterol binding protein-related proteins</i>
CRP – C-reaktivni protein	OS – opseg struka
CYP – citokrom P450	P – pre-/perimenopauzalno
DALY – engl. <i>Disability-Adjusted Life Year</i>	PAI-1 – engl. <i>Plasminogen Activator Inhibitor-1</i>
DCIS – duktalni karcinom <i>in situ</i>	PCR – engl. <i>polymerase chain reaction</i>
DMT2 – dijabetes melitus tip 2	PHD – patohistološka dijagnostika
DSS – dobno standardizirane stope	PI3K – engl. <i>phosphoinositide 3-kinase</i>
DZS – Državni zavod za statistiku	PPAR – engl. <i>peroxisome proliferator-activated receptor</i>
ECOG – engl. <i>Eastern Cooperative Oncology Group</i>	PR – progesteronski receptor
EGF(R) – engl. <i>epidermal growth factor (receptor)</i> ; (receptor za) epidermalni čimbenik rasta	PV – protrombinsko vrijeme
EGIR – engl. <i>European Group for the Study of Insulin Resistance</i>	RH – Republika Hrvatska
ER – estrogenski receptor	ROS – engl. <i>reactive oxygen species</i> ; reaktivne skupine kisika
EU – Europska unija	SAD – Sjedinjene Američke Države
FGF – čimbenik rasta fibroblasta	SD – standardna devijacija
GGT – $\gamma$ -glutamil transpeptidaza (transaminaza)	SERM – engl. <i>endogenous selective estrogen receptor modulator</i>
GST – glutation S-transferaza	SMK – slobodne masne kiseline
GUK – glukoza u krvi	SREBP1 – engl. <i>sterol regulatory element-binding protein 1</i>
HDL – engl. <i>high density lipoprotein</i> ; lipoprotein velike gustoće	SV – standardna vrijednost
HER2/neu – engl. <i>human epidermal growth factor receptor 2</i> ; receptor 2 za ljudski epidermalni čimbenik rasta	SZO – Svjetska zdravstvena organizacija
HNT – hormonska nadomjesna terapija	TG – trigliceridi
HSP – engl. <i>heat shock protein</i> ; stanični protein stresa	TGF – engl. <i>transforming growth factor</i>
HZJZ – Hrvatski zavod za javno zdravstvo	Tm – tumor
IARC – engl. <i>International Agency for Research on Cancer</i>	TNF $\alpha$ – engl. <i>tumor necrosis factor <math>\alpha</math></i>
IDF – engl. <i>International Diabetes Federation</i> ; Međunarodna federacija za dijabetes	TNM – engl. <i>tumor, node, metastasis</i>
IGF-1, IGF-2 – engl. <i>insulin-like growth factor 1 and 2</i> ; inzulinu sličan čimbenik rasta 1 i 2	TNT – trostruko negativni tumor
IGFBP – engl. <i>insulin-like growth factor binding proteins</i>	UICC – engl. <i>Union for International Cancer Control</i> ; Unija za međunarodnu kontrolu raka
IL – interleukin	VDR – vitamin D receptor
INR – engl. <i>international normalized ratio</i> ; međunarodni normalizirani omjer	VEGF – engl. <i>vascular endothelial growth factor</i>
ITM – indeks tjelesne mase	VLDL – engl. <i>very low density lipoprotein</i> ; lipoprotein vrlo male gustoće
	25(OH)D – 25-hidroksikolekalciferol
	1,25(OH)D – 1,25-hidroksikolekalciferol
	↓ – sniženje
	↑ – povećanje



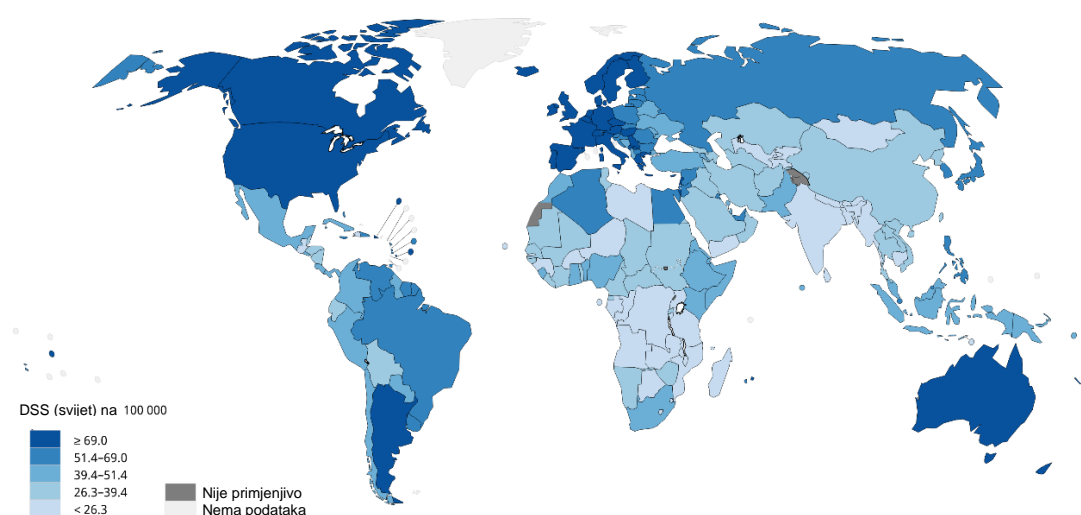
## 1) UVOD

### 1.1 Rak dojke

#### 1.1.1 Epidemiologija raka dojke

U svijetu i svim zemljama Europe, kao i u Republici Hrvatskoj (RH), najčešće sijelo raka kod žena općenito je rak dojke <sup>1, 2</sup>. Prema podacima Međunarodne agencije za istraživanje raka (engl. *International Agency for Research on Cancer*; IARC) Svjetske Zdravstvene Organizacije (SZO), u 2018.g. u svijetu je bilo oko 2,09 milijuna novootkrivenih slučajeva raka dojke u žena (oko 25% od svih slučajeva raka), a u Europi oko 523 000 novih slučajeva raka dojke u žena (od čega oko 405 000 u zemljama EU-28; odnosno s RH) <sup>2, 3</sup>.

Prema GLOBOCAN procjenama za 2018.g., dobno standardizirane (svijet) stope incidencije najveće su u razvijenim dijelovima svijeta (npr. 84,8/100 000 u Sjevernoj Americi; 90,1 u sjevernoj Europi; 94,2 u Australiji/Novom Zelandu), a drugu najveću dobno standardiziranu stopu ima regija zapadne Europe (92,6 na 100 000) <sup>1, 2</sup> (Slika 1.). Promatrano od 1980.g., incidencija raka dojke globalno je rasla godišnjom stopom od 3,1%, a mortalitet 1,8% <sup>4</sup>.



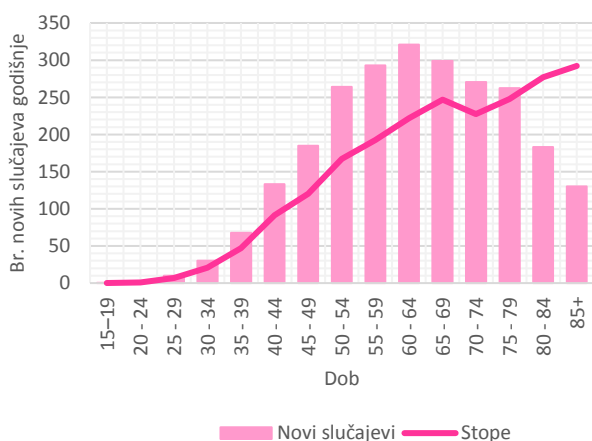
Slika 1. Dobno standardizirane stope incidencije raka dojke u žena u svijetu za 2018.; GLOBOCAN

Prema podacima Registra za rak Republike Hrvatske Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo (HZJZ), broj novootkrivenih slučajeva raka dojke kod žena u 2015.g. u Republici Hrvatskoj iznosi 2748 što čini 26% od ukupnog broja od svih vrsta raka, uz dobno standardiziranu (EU) stopu incidencije 89,2 te je najčešće sijelo u žena <sup>5</sup> (Tablica 1.). Ova stopa incidencije je u RH u blagom porastu unazad nekoliko desetljeća <sup>6</sup>.

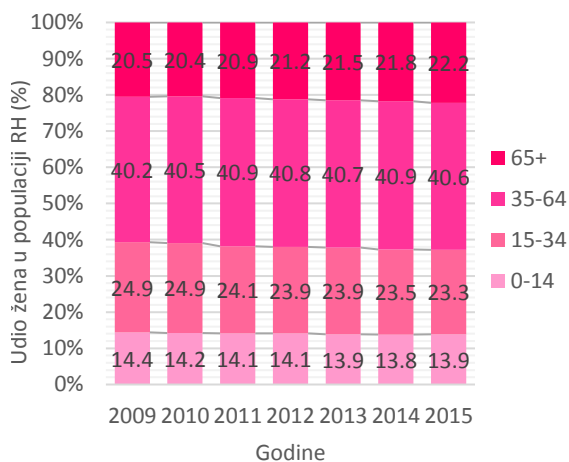
Tablica 1. Novi slučajevi raka dojke (MKB-10 C50), mortalitet, prosječna dob i očekivano trajanje života žena, 2008-2014 u RH <sup>5</sup>

Promatrana obilježja \ godine	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
Broj novih slučajeva raka dojke u žena (% od svih vrsta raka)	2500 (23,2%)	2401 (22,6%)	2450 (23,5%)	2562 (24,1%)	2644 (26%)	2748 (26%)	2735 (24,8)
Br. novih slučajeva raka dojke u žena (gruba stopa incidencije na 100 000 žena) po dobi:							
20-24	2 (1,5)	1 (0,7)	3 (2,4)	2 (1,6)	3 (2,4)	1 (0,8)	0
25-29	14 (9,8)	15 (10,6)	11 (7,9)	7 (5,1)	15 (11,4)	6 (4,6)	12 (9,5)
30-34	38 (26,2)	38 (26,2)	39 (26,9)	24 (16,6)	40 (27,9)	31 (21,8)	36 (25,9)
35-39	65 (46,2)	64 (45,3)	63 (44,6)	67 (47,3)	98 (68,8)	77 (54,2)	93 (65,4)
40-44	123 (85,1)	149 (105,6)	148 (106,3)	141 (102,1)	141 (101,9)	151 (110,1)	149 (108,3)
45-49	179 (115,2)	187 (121,5)	196 (129,2)	201 (134,3)	208 (142,1)	200 (138,6)	200 (143,5)
50-54	252 (154,5)	300 (186,3)	256 (160,5)	250 (159,1)	277 (181)	258 (169)	241 (159,4)
55-59	336 (213,6)	254 (157,6)	339 (210,6)	327 (203,6)	313 (198,6)	304 (190,7)	335 (212,3)
60-64	332 (234)	298 (206,9)	278 (189,9)	388 (260,8)	367 (247,9)	356 (235,8)	364 (237,2)
65-69	354 (311,8)	250 (220,1)	296 (258,4)	338 (286,9)	339 (273,2)	359 (276,7)	421 (305,9)
70-74	272 (219,7)	280 (231,9)	277 (232,5)	268 (230,4)	278 (250,7)	300 (275,7)	279 (271,1)
75-79	265 (244,2)	282 (259,2)	232 (213,6)	252 (233,2)	253 (240,1)	316 (293,9)	249 (233,8)
80-84	158 (223,9)	163 (224)	196 (257,9)	181 (230,5)	166 (209)	226 (277,3)	214 (260,9)
85+	110 (251,3)	120 (259,6)	116 (242,6)	116 (230,9)	146 (277,4)	163 (299,9)	141 (245,3)
Nepoznato	0	0	0	0	0	0	0
Br. novih slučajeva po stadiju (%):							
- lokaliziran	934 (37,3)	932 (38,8)	994 (40,5)	1211 (47,2)	1123 (42,5)	1240 (45,1)	1217 (44,5)
- regionalne limfne žlijezde	859 (34,3)	731 (30,4)	807 (32,9)	750 (29,2)	644 (24,3)	885 (32,2)	798 (29,2)
- udaljene metastaze	153 (6,1)	140 (5,8)	154 (6,2)	131 (5,1)	101 (3,8)	95 (3,5)	87 (3,2)
- nepoznato	449 (17,9)	514 (21,4)	388 (15,8)	377 (14,7)	610 (23)	528 (19,2)	633 (23,1)
Br. smrtnih slučajeva od raka dojke (% od svih vrsta raka)	983 (16,8)	894 (15,5)	1033 (17,8)	994 (16,8)	1071 (17,4)	1038 (17,4)	990 (16,2)
<b>Prosječna dob žena u RH (god.)</b>	43,0	43,4	43,7	43,9	44,1	44,3	44,5
Očekivano trajanje života žena (god.)	79,6	79,9	80,1	80,2	80,5	80,4	81,3

Dob-specifična stopa incidencije novih slučajeva raka dojke na 100 000 žena u RH (i EU) raste gotovo linearno nakon 35-te godine života do 69-te godine, nakon čega je primjetan blagi pad te ponovno strmi porast nakon 75-te godine života <sup>5</sup> (Slika 2.). U populaciji stanovništva RH (i EU), kod žena je primjetan trend porasta prosječne dobi, očekivanog trajanja života te udjela žena starije životne dobi <sup>7</sup>, zbog čega se može očekivati godišnji porast broja novih slučajeva raka dojke s obzirom da je starija životna dob jedan od rizičnih faktora <sup>8</sup> za njegov nastanak (Tablica 2., Slika 3.).



Slika 2. Broj i gruba stopa novih slučajeva raka dojke u žena prema dobi za 2009-2015 u RH (srednja vrijednost za period)



Slika 3. Porast udjela žena starije dobi

Prema podacima IARC SZO-a, u 2018.g. rak dojke je u svijetu bio sveukupno 1. uzrok smrti žena od raka s oko 627 000 smrtnih slučajeva (15% od ukupnog broja) <sup>3</sup>. Broj smrtnih slučajeva u Europi 2018.g. uslijed raka dojke iznosio je oko 138 000 i oko 16,2% od svih vrsta raka <sup>2</sup>. Prema podacima Registra za rak Republike Hrvatske Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo (HZJZ), u RH je broj smrtnih slučajeva zbog raka dojke kod žena u 2015.g. iznosio 1038 što čini 17,4% od svih vrsta raka <sup>5</sup> (Tablica 1.).

### 1.1.2 Vrste raka dojke

Primarni rak dojke može nastati iz dijela tkiva koje tvori žljezdane strukture dojke odnosno iz dvosloja epitelnih stanica podrijetla luminalnoga epitela (područja duktusa ili lobula mliječnih žlijezda) ili mioepitelnih/bazalnih stanica uz bazalnu membranu (15-20%) i to je najčešće podrijetlo tumora dojke (ukupno >95%), a patohistološki im odgovara naziv **karcinom** (Ca dojke). Dodatno, primarni rak dojke također može vrlo rijetko biti podrijetla drugih stanica u dojci (<1%) kao npr. mezenhima (lipom, miofibroblastom, liposarkom, leiomiosarkom i dr.), fibroepitelnih stanica (fibroadenom, *phylloides*, hamartom i dr.) ili maligni limfomi, dok ostatak čine metastatski tumori većinom limfomi, leukemije i melanom, zatim rabdiosarkom (djeca, adolescenti), podrijetla pluća, jajnika, bubrega, štitnjače, cerviksa, želuca i prostate <sup>9,10</sup>.

Promjene epitela žljezdanih struktura u dojci se općenito mogu patohistološki klasificirati kao benigne, granične/nesigurnoga ponašanja, *in situ* ili kao maligni tipovi raka <sup>10</sup> (Prilog I.). Najčešće benigne promjene u dojci su fibroadenomi (podrijetla fibroepitelnih stanica). Proliferacijske promjene epitela mogu biti benigne epitelne proliferacije (adenoma, adenomi, kompleksne sklerozirajuće lezije), te prekursorske lezije lobularna neoplazija, intraduktalne proliferacijske lezije, kao i intraduktalne papilarne neoplazme i mikroinvazivni karcinom.

Karcinomi dojke se **histološki** dijele na neinvazivni karcinom (duktalni i lobularni) ili *in situ* (~25%), te invazivne karcinome (ukupno ~75%) od kojih većinu čine invazivni karcinom bez određenih karakteristika (50-75%) a ostatak čine specijalni tipovi lobularni invazivni Ca (oko 5-15%), zatim tubularni Ca (1-5%), mucinozni Ca (1-5%), medularni Ca (<1%), invazivni papilarni karcinom (<1%), dok su rijetke podvrste poput metaplastičnoga Ca, mikropapilarnoga Ca, miješanoga duktalno-lobularnoga, inflamatornoga raka dojke, te Pagetove bolesti bradavice. Najčešća lokalizacija karcinoma dojke je gornji vanjski kvadrant (do 50%), potom po učestalosti slijede središnji dio dojke, gornji unutarnji kvadrant, donji vanjski kvadrant, donji unutarnji kvadrant, a invazivni karcinom dojke je nešto češći u lijevoj dojci <sup>10</sup>.

Neinvazivni karcinom dojke *in situ* dijagnosticira se u SAD-u kod 1 na 33 žene i većina su duktalni (DCIS, 83%) dok manji dio čine lobularni (LCIS) i njihove vršne dobne incidencije prate one

duktalnih odnosno lobularnih invazivnih karcinoma. DCIS se smatra prekursorom invazivnoga karcinoma, patohistološki se klasificira kao papilarni, solidni, komedo, mikropapilarni ili kribriformni tip. Osim histološkog tipa određuju mu se gradus jezgre, veličina, status estrogenskih (ER) i progesteronskih receptora (PR), te udaljenost Tm od najbližeg resekcijskog ruba i većina DCIS je ER+ kao i kod invazivnih duktalnih karcinoma (72% naspram 74%) <sup>11</sup>. LCIS se više smatra markerom za povišeni rizik za razvoj invazivnoga karcinoma dojke, prije nego njegovim prekursorom, a većina pokazuje gubitak transmembranskog proteina E-kadherina. Tijekom 10-godišnjeg perioda oko 20-53% DCIS-a i 7% LCIS-a progredira u invazivni karcinom (oko 1% godišnje). Liječenje DCIS-a često je slično kao i za mali invazivni karcinom dojke negativnih limfnih čvorova, najčešće kirurško liječenje DCIS-a je poštediti kirurški zahvat (a rjeđe jednostavna mastektomija), praćen radioterapijom, ili kod ER+ tamoksifenom. Povrat bolesti 5 godina nakon liječenja je 18% samo uz poštediti zahvat odnosno 8% uz dodatnu radioterapiju. Kod LCIS-a preporuke su praćenje i redovite pretrage i druge dojke, poštediti zahvat, posebno kod pleomorfnooga tipa i uz nekrozu jer se češće razvija u invazivni oblik, a moguća je i primjena tamoksifena, dok se pojedine žene iznimno odlučuju i za obostranu jednostavnu mastektomiju jer LCIS povećava rizik od invazivnoga Ca u obje dojke <sup>11</sup>.

Invazivni karcinom bez određenih karakteristika je najučestaliji invazivni rak dojke (50-75%) (engl. *Not Otherwise Specified*; NOS ili *No Special Type*; NST), kada se ne radi o posebnim i rijetkim podvrstama. Karakteriziran je znatnim fibroznim odgovorom te su žarišta ili tračci tumorskih stanica uklopljeni u bogatu vezivnu stromu, zbog čega tumor tvori čvrstu palpabilnu masu na pregledu. Često su prisutni vaskularna i perineuralna invazija, mikrokalcifikati, a 70-80% su ER+, 60-70% PR+, te općenito ima najlošiju prognozu, iako se ona može razlikovati ovisno o podvrstama. Lobularni invazivni karcinom karakteriziran je gubitkom kohezije tumorskih stanica (tipičan je gubitak E-kadherina) koje su raspršene u fibroznom vezivnom tkivu ili tvore tračke koji difuzno invadiraju stromu, znatno manjim fibroznim odgovorom, a 70-95% su ER+ i 60-70% PR+.

Invazivni karcinomi dojke dijele se prema **molekularnim biljezima** statusa hormonskih ER i PR receptora, HER2 onkogeni i Ki-67 proliferacijskog indeksa u podvrste <sup>12</sup>; luminalni tip A (s ER+ i PR+, HER2- i Ki-67 <20% <sup>13</sup>) koji čini 40% Ca dojke; luminalni tip B (s ER+, HER2- i PR- ili <20% ili Ki-67 ≥20%; ili ER+, HER2+ i bilo koji PR i Ki-67) obuhvaća 20% Ca dojke; HER2-tip (s ER-, PR- i HER2+) čini udio od 10-15%; *basal-like*/trostruko negativan (ER-, PR- i HER2-) koji obuhvaća oko 15-20% Ca dojke.

Terapija izbora za rani rak dojke je poštediti ili radikalno kirurško liječenje s ciljem kompletne resekcije primarnoga tumora i negativnih resekcijskih rubova, disekcija aksile kod klinički pozitivnih limfnih čvorova, te prateća adjuvantna terapija – radioterapija (ležišta tumora i regionalnih limfnih čvorova) ili sistemska terapija, s ciljem liječenja mikrometastaza. Ovisno o molekularnoj podvrsti ranoga invazivnoga raka dojke različite su preporuke St. Gallen konsenzusa za adjuvantno sistemsko liječenje <sup>13</sup>, kao i prognoza. Trostruko negativni tip ima često visoki histološki gradus (III),

lošu prognozu, povezan je s BRCA1 i BRCA2 mutacijama, a najbolje odgovara na citotoksičnu terapiju. Luminalni tip A češće je niskog histološkog gradusa (I), dobre prognoze, te ER+/PR+ i stoga najbolje odgovara na endokrinu terapiju (antiestrogen ili inhibitor aromataze), a citotoksična terapija može se dodati kod pacijentica s visokim rizikom (npr. gradus III,  $\geq 4$  pozitivna limfna čvora, <35 godina). Za HER2-tip (50% ih ima mutaciju p53), kao i HER2+ luminalni tip B, preporuka je citotoksična i anti-HER2 terapija (trastuzumab), a za HER2+ luminalni B (ER+) dodatno i endokrina terapija. Kod HER2- luminalnoga tipa B (ER+) primjenjuje se endokrina terapija za sve te citotoksična za većinu pacijentica [13](#).

### 1.1.3 Prognostički i prediktivni čimbenici kod karcinoma dojke

Određivanje prognoze ukupnog preživljenja i preživljenja bez znakova bolesti kod dijagnoze karcinoma dojke postavlja se na temelju: a) kliničke procjene proširenosti bolesti (kliničko stupnjevanje) detaljnim pregledom i palpacijom, dijagnostičkim oslikavanjem i patohistološkom dijagnostikom uzorka tkiva nakon aspiracijske punkcije ili biopsije, te b) određivanjem patohistoloških obilježja tumora dojke iz tkiva dobivenih nakon kirurškog zahvata (patohistološko stupnjevanje) [12](#). Patohistološki prognostički faktori za rak dojke su npr. veličina T<sub>m</sub>, status limfnih čvorova, histološki tip i gradus, gradus jezgre, limfovaskularna i perineuralna invazija, te uz njih proliferacijski indeks Ki-67, status hormonskih estrogenskih i progesteronskih receptora, HER2 status, imunofenotipski profil. Pojedini od njih su neovisno prognostički za ponašanje tumora i sklonost metastaziranju odnosno ukupno preživljenje, ili preživljenje bez znakova bolesti, a pojedini su i prediktivni za odgovor na liječenje (npr. status hormonskih receptora) i povezani su s osjetljivošću ili rezistencijom tumora na specifičnu terapiju [12](#). Analizom kliničkih, radioloških i patohistoloških nalaza određuje se stupnjevanje i procjenjuju prognostički i prediktivni faktori temeljem kojih se određuje terapija.

#### 1.1.3.1 Kliničko stupnjevanje

Za procjenu anatomske proširenosti raka dojke odnosno stadija bolesti najčešće se koristi međunarodno prihvaćena TNM klasifikacija prema *Union for International Cancer Control* (UICC) nastala u suradnji s *American Joint Committee on Cancer* (AJCC) [10](#), [12](#), koja ima veliku prognostičku vrijednost. TNM klasifikacija za određivanje stadija bolesti klasično promatra parametre lokalnoga rasta primarnoga tumora (T), zahvaćenost regionalnih limfnih čvorova (N) i postojanje udaljenih metastaza (M). Viši stadiji određeni prema TNM-u, koji podrazumijevaju veće tumore, zahvaćene limfne čvorove i udaljene metastaze, imaju lošiju prognozu (Tablica 12., Prilog II.).

Osim direktnom infiltracijom okolnih tkiva, invazivni karcinom dojke bez obzira na lokalizaciju tumora u dojci najčešće metastazira limfnim putem u limfne čvorove aksile (do 95% slučajeva), u koje se fiziološki drenira preko 95% limfe dojke, a Ca u donjem medijalnom kvadrantu

dojke često metastaziraju u limfne čvorove uz a. mammariu internu. Najčešća sjela udaljenoga metastaziranja raka dojke putem krvi su kosti (47-60%), pluća (16-34%), jetra (20%), mozak (10-16%), ali i mnogi drugi organi, te putem limfe udaljeni limfni čvorovi.

Kao prognostički faktori vezani uz kliničke osobitosti bolesnica dob se pokazala prognostičkim faktorom, a status menopauze i trudnoća su dali nejasne rezultate. U nekim studijama su mlađe bolesnice <sup>10</sup> (obično je pojava raka dojke u mlađoj dobi vezana uz nasljeđene mutacije gena), kao i one s ranom menarhom <sup>14</sup> imale slabiju prognozu i češće pozitivne limfne čvorove. Karcinom dojke koji se dijagnosticira za vrijeme trudnoće ima lošiju prognozu, iako nije jasno je li trudnoća neovisni faktor ili i mlađa dob kod koje se javio tumor. Prema istraživanju temeljenom na podacima SEER studije (*Surveillance, Epidemiology, and End Results Program*) provedene na velikom broju bolesnica, dob kao kliničko obilježje pacijentice govori o mogućem obrascu metastaziranja primarnog karcinoma dojke. Primjerice s obzirom na promatranu prisutnost jednog metastatskoga mjesta, metastaze u mozgu ili jetri imalo je 64,4% bolesnica mlađih od 65 godina, dok je 47,4% s  $\geq 65$  godina imalo metastaze u pluća. Multiple metastaze bile su također češće kod bolesnica  $< 65$  godina; 3 metastatska mjesta imalo ih je 65,6% a 4 metastatska mjesta 73,3% <sup>15</sup>.

Prema SEER studiji, u Sjedinjenim Američkim Državama se 62% bolesnica dijagnosticira u stadiju lokaliziranoga raka dojke, 31% u stadiju proširenosti na regionalne limfne čvorove, 6% pri dijagnozi ima udaljene metastaze (za 2% nije poznat stadij), a 5-godišnje relativno preživljenje iznosi 98,9% za lokalizirani rak, 85,2% za proširen u regionalne limfne čvorove, 26,9% za udaljene metastaze (i 53,2% nije određen stadij). Prema podacima Registra za rak RH, u 2014.g. 42,5% bolesnica dijagnosticiralo se u lokaliziranom stadiju, 24,3% je imalo proširenost na regionalne limfne čvorove, 3,8% udaljene metastaze, a za 23% proširenost nije poznata (Tablica 1.).

### 1.1.3.2 Patohistološko stupnjevanje

U patohistološkom stupnjevanju važna je histološka podvrsta tumora, ali je između podvrsta tumora prisutna znatna heterogenost te se prognoza procjenjuje individualno na temelju više prognostičkih faktora. Određena morfološka obilježja i izražavanje tumorskih biljega Ca dojke imaju veliki prognostički i prediktivni značaj, s obzirom na velike razlike u preživljenju, odgovoru na terapiju i njenom odabiru, a mogu i upućivati na moguće mjesto metastaziranja.

#### • Morfološki patohistološki faktori

*Status limfnih čvorova:* Prisutnost metastaza u regionalnim limfnim čvorovima je najvažniji prognostički faktor kod raka dojke i povezana je s nižim stopama ukupnoga i preživljenja bez povrata bolesti, kao i prisutnost mikrometastaza (0,2 mm do 2 mm) u čvorovima ali uz manji utjecaj.

*Veličina tumora:* Veličina tumora je važan prognostički faktor za status limfnih čvorova ali je i neovisan prognostički faktor za ishod bolesti; bolja je prognoza i dulje preživljenje kod manjih tumora. S obzirom da se veličina mjerena makroskopski i mikroskopski može razlikovati, za patološku klasifikaciju veličine tumora (pT) i stupnjevanje mjeri se mikroskopska veličina invazivne komponente tumora. Kod prisutnih multiplih ipsilateralnih primarnih Ca dojke, T klasifikacija se određuje prema najvećem Ca, dok se kod bilateralnih Ca odvojeno navodi stadij za svaku dojku <sup>12</sup>.

*Histološki tip:* Određeni histološki tipovi raka dojke (tubularni, invazivni kribriiformni, mucinozni i adenoidni cistični karcinomi) povezani su s povoljnijim kliničkim ishodom i imaju slično 20-godišnje preživljenje do povrata bolesti za veličine tumora 1-3 cm u usporedbi s invazivnim duktalnim karcinomom veličine do 1 cm. Čisti tubularni, mucinozni i mikroinvazivni Ca koji su <1 cm imaju nisku incidenciju širenja u aksilarne limfne čvorove i obično ne zahtijevaju disekciju ovih čvorova. Invazivni duktalni tumori dojke općenito imaju najlošiju prognozu, a razlikuje se i mjesto rasapa bolesti; primjerice lobularni invazivni Ca metastazira u gastrointestinalni trakt, jajnike, uterus, kosti, meninge, dok invazivni duktalni Ca češće metastazira u pluća <sup>10</sup>.

*Histološki gradus:* Slabo diferencirani tumori su agresivniji te većeg rizika od povrata bolesti i lošije prognoze (Tablice 9. i 10.). Histološki gradus može biti i prediktivni faktor za odgovor na kemoterapiju, pri čemu je kod većeg gradusa odgovor na kemoterapiju bolji. Kombinacija histološkog gradusa i histološkog tipa daje točniju procjenu prognoze od samog histološkog tipa <sup>10</sup>.

*Proliferacija tumorskih stanica:* Marker proliferacije su broj mitozu, koji se određuje tijekom procjene histološkog gradusa i uključen je u njega, te Ki-67, koji je nehistski protein jezgre prisutan u G1 do M fazi staničnoga ciklusa ali ne i u stanicama koje se ne dijele (faza mirovanja G0). Stoga je Ki-67 direktan indikator frakcije koja se dijeli, a povećana proliferacijska aktivnost upućuje na lošije preživljenje i veći rizik od relapsa.

*Limfovaskularna i perineuralna invazija:* Prisutnost vaskularne invazije označava nepovoljniji klinički ishod, kao i perineuralne invazije ali se ona nije pokazala neovisni prognostički faktor. Prisutnost peritumorske limfovaskularne invazije je važan neovisan prognostički faktor za povećani rizik od širenja u limfne čvorove, recidiva i lošijeg ishoda, pogotovo kod bolesnica s T1 status tumora bez prisutnoga širenja u limfne čvorove <sup>10</sup>.

*Tumorska nekroza:* Prisutnost nekroze unutar tumora povezana je s lošijim kliničkim ishodom.

*Tumor infiltrirajući limfociti:* Prisutnost infiltrata mononuklearnih stanica korelira sa većim histološkim gradusom, a u nekim studijama i s lošijim kliničkim ishodom.

*Opseg duktalnoga karcinoma in situ:* Prisutnost opsežne intraduktalne komponente je prognostički faktor za lokalni povrat bolesti kod bolesnica liječenih kirurški i zračenjem kada nije poznat status granica ekscizije.

*Stroma tumora:* Naglašena stromalna elastoza ili prisutnost fibrotičkoga centra može imati lošiji prognostički značaj.

*Kombinirani morfološki prognostički faktori:* Postoji nekoliko prijedloga za prognostičke indekse koji se sastoje osim od veličine tumora i statusa limfnih čvorova uz to i od npr. histološkog gradusa (Nottingham prognostički indeks) ili mitotičkoga indeksa (morfometrijski prognostički indeks) radi stratifikacije bolesnica u prognostičke grupe, ali nije definiran najbolji način integracije histoloških prognostičkih faktora [10](#).

- **Molekularni biljezi i ekspresija gena**

Invazivni tumori podrijetla bazalnoga epitela imaju lošiju prognozu od onih podrijetla luminalnoga epitela. Prema molekularnim podvrstama tumora, HER2+ češće metastaziraju u jetru, trostruko negativni u pluća, a hormonski receptor-/HER2+ u mozak [15](#). Prema jednoj studiji koja je promatrala bolesnice s Ca dojke s metastazama u mozak, ovisno o podvrsti tumora razlikovala se učestalost metastaza (28% bolesnica imalo je trostruko negativni, 53% HER2+ i 19% luminalni Ca dojke), kao i medijan preživljenja uslijed moždanih metastaza (iznosio je 3,7 mjeseci kod trostruko negativnog, 9 mjeseci kod HER2+ i 15 mjeseci kod luminalnoga Ca) [16](#).

#### *Steroidni hormonski receptori*

Status hormonskih receptora je preporučeni molekularni biljeg na temelju kojeg se donosi odluka o liječenju jer daju uvid u hormonsku ovisnost Ca dojke. Tumori koji izražavaju estrogenski receptor (ER+) povezani su sa boljom prognozom, češće su dobro diferencirani, rastu sporije, ali nemaju niži metastatski potencijal. ER+ status ima i prediktivnu vrijednost za odgovor na adjuvantnu terapiju tamoksifenom. Progesteronski receptor (PR) je dodatni prediktivni faktor za hormonsku terapiju. ER+/PR+ tumori pokazuju 60-70% stopu odgovora, dok je ona kod ER-/PR- manja od 10%, a ER+/PR- imaju imaju srednju stopu odgovora od oko 40% [10](#).

#### *Receptori čimbenika rasta*

Povećana ekspresija receptora za epidermalni faktor rasta (EGFR), u odsustvu amplifikacije gena povezana je s ER- statusom. Amplifikacija gena za FGFR1 (engl. *fibroblast growth factor receptor 1*) korelira sa smanjenim preživljenjem bez povrata bolesti, pogotovo uz amplifikaciju gena za ciklin D1.

#### *Onkogeni i geni supresori tumora*

Prekomjerna ekspresija HER-2/neu (c-erbB-2) onkogeni je srednje jaki neovisni prognostički faktor za preživljenje, kod bolesnica s pozitivnim statusom limfnih čvorova. Također može biti i umjereno negativno prediktivan za odgovor na alkilirajuće agense, te umjereno pozitivno prediktivan za odgovor na antracikline. Monoklonsko protutijelo trastuzumab primjenjuje se kod prekomjerne



ekspresije HER2, i pokazao se učinkovit kod 20% ovih bolesnica. *Myc* onkogen (transkripcijski faktor) je amplificiran u oko 20% Ca dojke što je povezano s ER– statusom, lokalno uznapredovalom bolesti i lošijom prognozom. Ciklin D1 (CCND1) amplificiran je u 15-20% tumora dojke što je kod ER+ tumora povezano s lošijom prognozom i češće je prisutno kod lobularnih karcinoma <sup>10</sup>.

Mutirani TP53 gen supresor tumora prisutan je u oko 25% karcinoma dojke, većinom se radi o *missense* mutacijama, a specifične mutacije (gubitak heterozigotnosti) pokazuju posebno loše preživljenje i prognostičku i prediktivnu vrijednost (Tablica 2.). Ostali potencijalno prognostički biljezi su TNF $\alpha$ , antiapoptotički protein bcl-2 (engl. *B-cell leukemia/lymphoma-2*), p27 inhibitor ciklin ovisne kinaze <sup>10</sup>, nm23, kadherini, katepsin D, telomeraza te pojedini drugi.

Tablica 2. Uloga (proto)onkogeni i gena supresora tumora u staničnom ciklusu i mehanizam oštećenja kod raka dojke <sup>17</sup>

(Proto)onkogeni			Supresori tumora		
Gen	Funkcija	Mehanizam	Gen	Funkcija	Mehanizam
<i>c-myc</i>	Transkripcijski faktor	Prekomjerna ekspresija/amplifikacija	<i>TP53 (p53)</i>	Popravlak DNK, stanični ciklus, apoptoza, regulator angiogeneze	Intragenska mutacija, delecija
<i>AIB1</i>	Transkripcijski koaktivator	Prekomjerna ekspresija/amplifikacija	<i>RB1</i>	Inhibitor staničnog ciklusa	Intragenska mutacija, delecija
<i>EGFR (HER-1)</i>	Tirozin kinaza	Prekomjerna ekspresija/amplifikacija	<i>PTEN</i>	Dvojno specifična fosfataza	Intragenska mutacija, delecija
<i>ERBB2 (HER-2)</i>	Tirozin kinaza	Prekomjerna ekspresija/amplifikacija	<i>BRCA1</i>	Popravlak DNK	Intragenska mutacija, delecija
<i>FGFR1</i>	Tirozin kinaza	Prekomjerna ekspresija/amplifikacija	<i>BRCA2</i>	Popravlak DNK	Intragenska mutacija, delecija
<i>FGFR2</i>	Tirozin kinaza	Prekomjerna ekspresija/amplifikacija	<i>ATM</i>	Popravlak DNK	Intragenska mutacija, delecija
<i>SRC</i>	Tirozin kinaza	Prekomjerna ekspresija/amplifikacija	<i>STK11 (LKB1)</i>	Serin-treonin kinaza	Delecija
<i>FGF2</i>	Tirozin kinaza	Prekomjerna ekspresija/amplifikacija	<i>CDKN1B (p27kip1)</i>	Inhibitor staničnog ciklusa	Proteolitička degradacija, relokalizacija
<i>FGF4</i>	Ligand tirozin kinaze	Prekomjerna ekspresija/amplifikacija	<i>CDKN2A (p16INK4)</i>	Inhibitor staničnog ciklusa	Delecija, metilacija
<i>Neuregulin</i>	Ligand tirozin kinaze	Translokacija	<i>SERPINR5 (Maspin)</i>	Inhibitor serin proteaze	Smanjena ekspresija
<i>PSK1</i>	Serin-treonin kinaza	Prekomjerna ekspresija	<i>IGFII-R</i>	Receptor faktora rasta	Delecija
<i>AKT</i>	Serin-treonin kinaza	Prekomjerna ekspresija	<i>CDH1 (E-kadherin)</i>	Molekula stanične adhezije	Metilacija
<i>Ciklin D1</i>	Regulator staničnog ciklusa	Prekomjerna ekspresija/amplifikacija	<i>RARbeta2</i>	Receptor retinoične kiseline	Intragenska mutacija, delecija, metilacija
<i>Ciklin E1</i>	Regulator staničnog ciklusa	Prekomjerna ekspresija	<i>MLH1</i>	Popravlak krivo sparenih baza	Metilacija
<i>EMS1</i>	Protein koji veže aktin	Prekomjerna ekspresija/amplifikacija	<i>MSH2</i>	Popravlak krivo sparenih baza	Inaktivirajuća mutacija
<i>TGF-<math>\alpha</math></i>	Faktor rasta	Prekomjerna ekspresija	<i>APC</i>	Inhibitor transkripcije b-katenina	Delecija, metilacija
<i>Bcl-2</i>	Inhibitor apoptoze	Prekomjerna ekspresija			
<i>MDM2</i>	Regulator p53	Prekomjerna ekspresija			
<i>Katepsin D</i>	Lizosomska proteaza	Prekomjerna ekspresija			
<i>Hras</i>	GTP-aza	Aktivirajuća mutacija			
<i>B-Katenin</i>	Protein stanične adhezije	Prekomjerna ekspresija			
<i>CD44</i>	Protein stanične adhezije	Prekomjerna ekspresija			

Prilagođeno prema Ross JS, *Molecular Oncology of Breast Cancer* <sup>17</sup>

### Genetski profil

Bolesnice s *basal-like* i HER2+ podtipovima imaju najkraće preživljenje, dok s luminalnim tipom B s ER+ imaju lošiji ishod od luminalnoga tipa A i moguće ne odgovaraju na tamoksifen. Podtipovi tumora dojke mogu predstavljati biološki različite entitete bolesti s različitim kliničkim ishodom. Određeni uzorci ekspresije gena povezani su s pozitivnim limfnim čvorovima ili udaljenim metastazama i jak su i neovisni prognostički pokazatelj za tijek bolesti s visokom preciznošću (90%), te se nazivaju „metastatski potpis“. Molekularna karakterizacija tumora omogućila je razvoj testova za određivanje genske ekspresije i predviđanja podgrupa bolesnica s lošijom prognozom. Primjerice OncotypeDX test analizira ekspresiju 21 gena i daje skor povrata bolesti koji korelira s ishodom za ER+ tumore s negativnim ali i pozitivnim limfnim čvorovima. Test Mammaprint analizira ekspresiju 70 gena radi određivanja prognoze Ca dojke kod svih podvrsta, uključujući HER2+, ER–/PR– i pozitivne limfne čvorove <sup>12</sup>.

#### 1.1.4 Etiologija i patogeneza karcinoma dojke

Rizik od razvoja raka dojke (i incidencija) povećava se s dobi i procjenjuje se na oko 10-14% do 70-te godine života u općoj populaciji, dok uz prisustvo čimbenika visokog rizika može biti znatno veći <sup>18</sup>. Kod žena mladih od 40 godina javlja se samo oko 7% slučajeva invazivnoga raka dojke i on čini oko 40% slučajeva svih vrsta raka u ovoj dobnoj skupini, a preko 60% invazivnih karcinoma dojke dijagnosticira se nakon 55 godine života <sup>19</sup>.

Prema jednom američkom istraživanju udjeli slučajeva raka dojke koji su bili pripisivi poznatim rizičnim faktorima procjenjeni su na oko 30% za nerađanje ili rađanje prvog djeteta u kasnijoj dobi, oko 19% za veće prihode, oko 9% za rak dojke u obitelji <sup>20</sup>, prema drugim istraživanjima oko 10% pripisivo je nedovoljnoj tjelesnoj aktivnosti, oko 2% redovitom prekomjernom unosu alkohola. U istraživanju provedenom na blizancima u Skandinaviji 27% rizika raka dojke moglo se objasniti genetskim faktorima što sugerira da se ostatak rizika stoga odnosio na štetna djelovanja vanjskih čimbenika <sup>21</sup>.

Rizik od invazivnoga karcinoma dojke najviše povećavaju genetske mutacije npr. BRCA1, BRCA2, p53 i pojedinih drugih gena, zatim nalaz dukalnog ili lobularnog karcinoma *in situ*, ženski spol, starija životna dob, zračenje kod Hodgkinove bolesti, prethodni karcinom u drugoj dojci, duktalna hiperplazija s atipijom (Tablica 3.). Također je rizik znatno povećan uz rak dojke kod najbližih rođakinja (naslijeđe mogućih genetskih mutacija), izloženosti povećanoj koncentraciji estrogena posebno tijekom postmenopauze dugotrajnim uzimanjem nadomjesne hormonske terapije, kao i duži period izloženosti endogenim i egzogenim estrogenima tijekom života <sup>8</sup>, pretilost u menopauzi, veća gustoća dojki, rođenje u razvijenijoj zemlji, veća razina edukacije, viši prihod, veća visina žene <sup>22</sup> i drugi koji nose manji rizik ali mogu doprinosti aditivnim učinkom.

Produžena izloženost visokim razinama endogenih estrogena je rizični faktor za rak dojke i kod premenopauzalnih i postmenopauzalnih žena, a rizik je najveći kod žena s najvišim razinama estradiola. Procjenjuje se da se za svaku godinu ranije menarhe od prosjeka rizik za rak dojke povećava za oko 5%, a za svaku godinu kasnije menopauze za oko 3% godišnje. Prema menopauzalnom statusu, na rizik od raka dojke u premenopauzalnih žena najviše utječu čimbenici koji nisu povezani s ponašanjem - veća težina pri rođenju i ranija dob menarhe, a kod postmenopauzalnih žena - prethodna benigna promjena u dojci i ranija dob menarhe (nepovezani s ponašanjem) ali dodatno i čimbenici povezani s ponašanjem poput primjene HNT-a, prehrane, konzumacije alkohola, tjelesne neaktivnosti <sup>23</sup>.

Tablica 3. Čimbenici rizika za nastanak invazivnoga karcinoma dojke <sup>8</sup>

Čimbenik rizika	Kategorija rizika	Relativni rizik
<i>Unos alkohola</i>	2 pića dnevno	1,2
<i>Indeks tjelesne mase</i>	80-ta percentila, uz dob 55 ili veću	1,2
<i>Hormonska nadomjesna terapija s estrogenima i progesteronima</i>	Trenutna primjena i tijekom najmanje 5 godina	1,3
<i>Rana menarha</i>	Prije 12-te godine	1,3
<i>Kasna menopauza</i>	Nakon 55-te godine	1,2-1,5
<i>Pozitivna obiteljska anamneza</i>	Rak dojke kod rođakinje u 2. koljenu	1,5
	Rak dojke u postmenopauzi kod rođakinje u 1. koljenu, 50 g. ili starije	1,8
	Rak dojke u premenopauzi kod rođakinje u 1. koljenu	3,3
	Rak dojke kod dvije rođakinje u 1. koljenu	3,6
<i>Izlaganje zračenju</i>	Ponavljana fluoroskopija	1,6
	Terapija zračenjem kod Hodgkinove bolesti	5,2
<i>Dob pri rođenju prvog djeteta</i>	Nerađanje ili 1. dijete nakon 30-te godine	1,7-1,9
<i>Pozitivan nalaz biopsije dojke</i>	Hiperplazija bez atipije	1,9
	Hiperplazija s atipijom	5,3
	Hiperplazija s atipijom i pozitivnom obiteljskom anamnezom	11
<i>Pozitivan nalaz citologije (aspiracija finom iglom, aspiracija tekućine iz bradavice)</i>	Proliferacija bez atipije	2,5
	Proliferacija s atipijom	4,9-5
	Proliferacija s atipijom i pozitivnom obiteljskom anamnezom	18,1
<i>Trenutna dob</i>	65 godina ili više	5,8
<i>Prethodni karcinom dojke</i>	Invazivni karcinom dojke	6,8
<i>Drugi patohistološki nalazi</i>	Lobularni karcinom <i>in situ</i>	16,4
	Duktalni karcinom <i>in situ</i>	17,3
<i>Genska mutacija</i>	Heterozigot za BRCA1, dob 60-69 g.	15
	Heterozigot za BRCA1, dob <40 g.	200

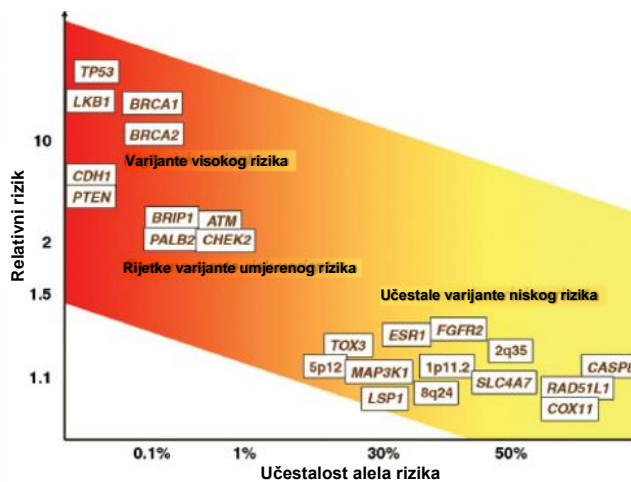
Prilagođeno prema: Singletary ES, *Rating the Risk Factors for Breast Cancer* <sup>8</sup>

Čimbenici koji se smatraju protektivnima su npr. kasna menarha vjerojatno zbog kraćeg perioda izloženosti estrogenima, rađanje (naspram nerađanja), mlađa dob pri prvom porodu (<25 g.), duže dojenje; procjenjuje se da svaka trudnoća smanjuje rizik za oko 7%, a svakih 12 mjeseci dojenja smanjuje rizik za oko 4,3% <sup>24</sup>. Dodatno, rizik smanjuju i dovoljna tjelesna aktivnost, uravnotežena prehrana, nepušenje duhana, uobičajeno radno vrijeme bez smjenskog rada (noću) koje ne ometa cirkadijani ritam i drugi vanjski čimbenici.

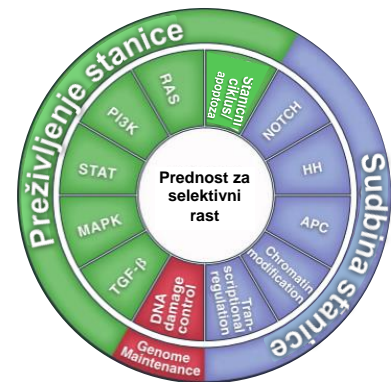
### 1.1.4.1 Genetski čimbenici rizika

Procjenjuje se da je oko 5-10% slučajeva raka dojke nasljedno odnosno može se pripisati mutacijama gena prisutnim već u zametnim stanicama, od kojih ukupno oko 49% slučajeva uzrokuju definirani visoko- (30%), srednje- (5%) i/ili niskopenetrantni (14%) geni rizika dok se u ostatku od 51% slučajeva nasljednog raka dojke nisu definirale mutacije odnosno drugi geni predispozicije <sup>25</sup>.

Nasljedne mutacije visokopenetrantnih gena BRCA1, BRCA2, TP53 (p53), CDH1, PTEN, STK11 nose **visoki rizik** za razvoj karcinoma dojke <sup>26, 27</sup>, a radi se o genima supresorima tumora (Tablica 2.). Oko 20-30% slučajeva nasljednog raka dojke povezuje se s BRCA1 i BRCA2 (engl. *BReast CAncer 1*; 2) genima visokog rizika, čije mutacije nose 65-85% (BRCA1) odnosno 45-85% (BRCA2) rizika od razvoja raka dojke u usporedbi s 10-14% rizika za opću populaciju <sup>18</sup> i obično su praćene mutacijom i gena p53 <sup>25</sup>. Geni čija nasljedna mutacija predstavlja **umjereni rizik** za razvoj nasljednoga karcinoma dojke su ATM, CHEK2, PALB2, BARD1, BRIP1, RAD51C, MRE11, RAD50, NBS1, XRCC2, ABRAXAS, RAD51D (Slika 4.) <sup>27, 28</sup>. Osim s rizikom od raka dojke, nasljedne mutacije istih gena povezane su i s drugim tumorima npr. jajnika, endometrija te drugima. Smatra se da niskopenetrantni geni koji nose niski rizik i čine mali udio u nasljednom raku dojke, sudjeluju poligeniski u njegovom nastanku ili sinergistički s vanjskim čimbenicima (okoliš, navike), to su npr. geni MAP3K1, FGFR2, LSP1, TNRC19, H19, CASP8 <sup>27</sup>.



Slika 4. Učestalost genetskih varijanti i rizik od karcinoma dojke (Prema: Varghese JS, 2010. <sup>28</sup>)



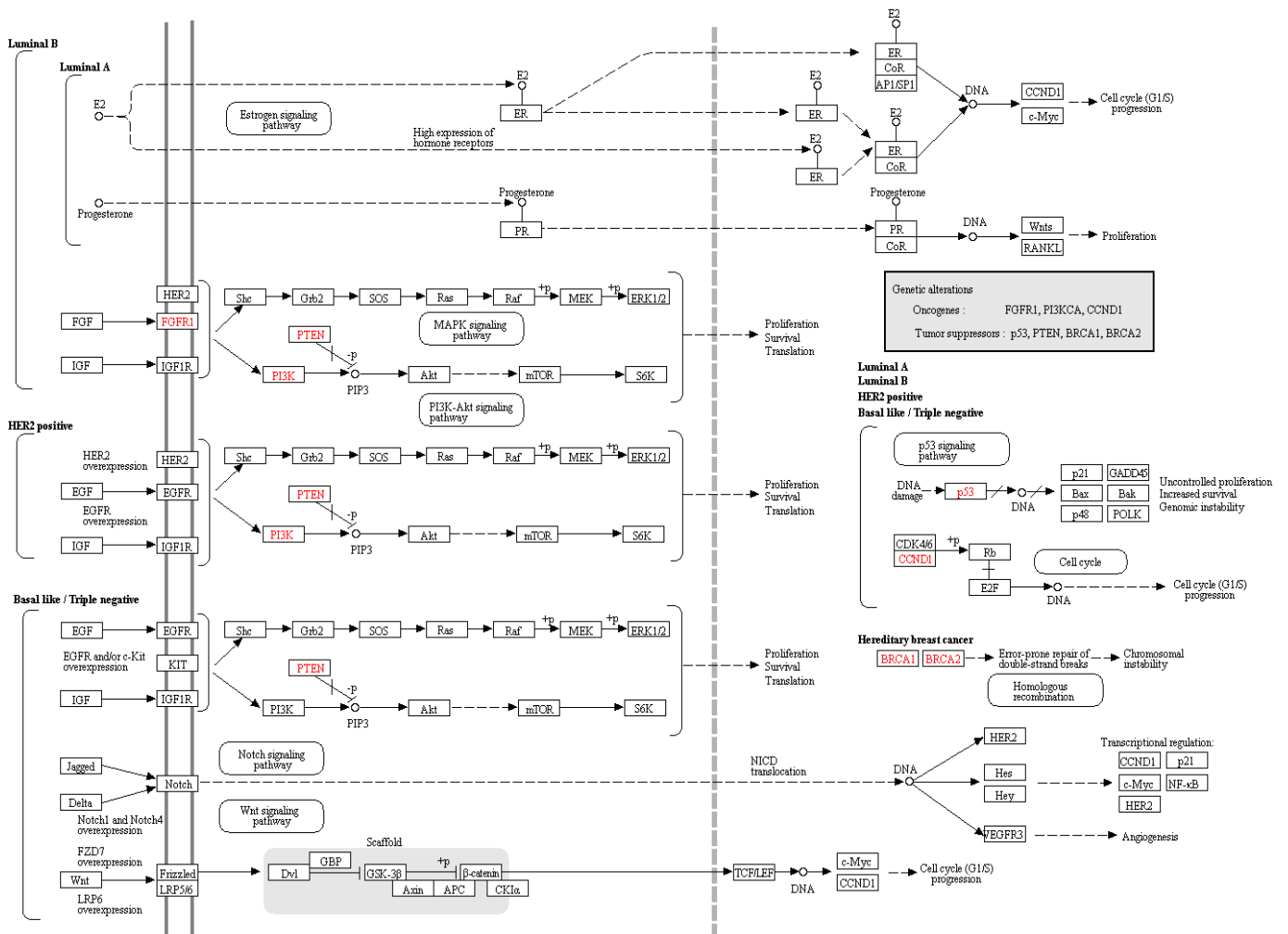
Slika 5. Ključni signalni putevi i stanični procesi u tumorskoj stanici (Prema: Vogelstein B, 2013. <sup>29</sup>)

Pogonske (*driver*) somatske mutacije gena u karcinogenezi potiču selektivni rast tumorske stanice i klonalnu ekspanziju, odnose se na neke od 12 važnih signalnih puteva i ključnih staničnih procesa (Slika 5.), a obuhvaćaju aktivaciju protoonkogeni (točkasta mutacija, translokacija, amplifikacija), inaktivaciju gena supresora tumora (točkasta mutacija, delecija, epigenetski čimbenici) te inaktivaciju gena odgovornih za popravak oštećene DNK (dovodi do nestabilnosti genoma i učestalijih mutacija). Procjenjuje se da solidni tumori posjeduju oko 2-8 pogonskih mutacija i 10 puta

više popratnih (*passenger*) mutacija <sup>30 29</sup>. Pogonske modifikacije mogu također biti uzrokovane i epigenetskim modifikacijama u metilaciji DNK, kao i poticane posttranslacijskim modifikacijama proteina staničnih signalnih puteva koje mijenjaju njihovu aktivnost <sup>30</sup>.

Kod raka dojke najveći prosječni broj mutacija u tumoru odnosi se na zamjenu jedne baze (izračunati medijan broja nesinonimnih mutacija u tumoru dojke iznosi 33), dok je nekoliko malih insercija ili delecija (indel), amplifikacija, homozigotnih delecija i translokacija (Tablica 2.). Mali broj mutacija se nalazi u istim genima, većina se odnosi na mut-driver gene, a mutacije su često na različitim mjestu istih *driver* gena te se stoga različito očituju na ciljnom proteinu i nemaju iste učinke na obilježja stanice (raka), što je uzrok heterogenosti između bolesnika i otežava liječenje. Dodatno, i kod istog bolesnika je prisutna intratumorska genomska heterogenost unutar pojedinačnih lezija kao i između primarnog tumora i metastatskih stanica uslijed klonalnih i subklonalnih mutacija <sup>29</sup>.

Različiti histološki tipovi Ca dojke kao i molekularne podvrste tumora imaju istodobno prisutne somatske mutacije različitih (proto)onkogeno i gena supresora tumora i s različitim učestalošću <sup>31</sup>. Primjerice za ER+/HER2- (PIK3CA, TP53, CDH1, PTEN, GATA3, MAP3K1, MLL3 i dr.), HER2+ (TP53, PIK3CA i dr.), trostruko negativne tumore (TP53, PIK3CA i dr.) (Slika 6.) <sup>31 32</sup>.



Slika 6. Signalni putevi kod molekularnih podvrsta karcinoma dojke (Prema: KEGG, 2018. <sup>33</sup>)

### 1.1.4.2 Vanjski čimbenici rizika i protektivni čimbenici

- **IARC klasificirani karcinogeni za rak dojke**

Prema IARC monografijama sveobuhvatne ocjene čimbenika karcinogenog rizika u ljudi, dovoljno dokaza za klasifikaciju kao **karcinogene tvari** (Skupina 1) za razvoj raka dojke u ljudi postoji za:

- alkoholna pića, dietilstilbestrol, estrogen/progesteron kombinirane kontraceptive i estrogen/progesteron menopauzalnu terapiju, rentgensko i gama zračenje,

a kao tvari za koje postoje **ograničeni dokazi karcinogeneze** (Skupina 2) za rak dojke navode se:

- estrogenska menopauzalna monoterapija, digoksin, etilenoksid, poliklorirani bifenili (endokrini disruptori), rad u smjenama koji dovodi do prekidanja cirkadijanog ritma i pušenje duhana [34](#), [35](#).

- **Ostali čimbenici rizika**

#### *Tjelesna aktivnost i prehrana*

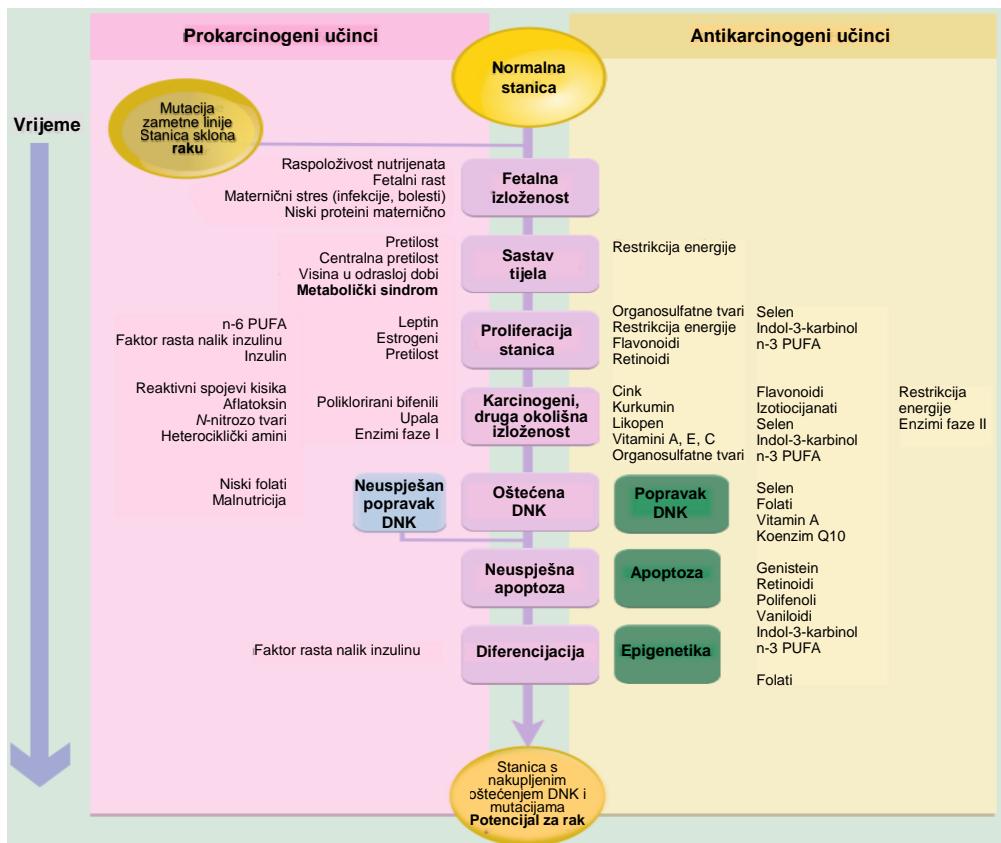
S povećanim rizikom za nastanak raka dojke (i većinu vrsta raka) povezuju se dodatni čimbenici kao što su nedovoljna tjelesna aktivnost, neuravnotežena prehrana [36](#), kronični psihološki stres, i drugi. Preporuke organizacije *World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research* (WCRF/AICR), koje se redovito obnavljaju i sistematski sažimaju novu znanstvenu literaturu, postoje za dovoljnu tjelesnu aktivnost i uravnoteženu prehranu (konzumaciju povrća bez škroba (samo za ER– rak dojke), hrane koja sadrži karotenoide, visok unos kalcija hranom) kao dio prevencije premenopauzalnog i postmenopauzalnog Ca dojke [36](#) i nakon postavljanja dijagnoze Ca dojke [37](#) (Slika 7.).

#### *Deficijencija vitamina D*

Deficijencija vitamina D, mjerena u istraživanjima kao snižene koncentracije 25-hidroksikolekalciferola (25(OH)D) u krvi, povezuje se s povećanim rizikom od razvoja raka dojke u žena, a više koncentracije u krvi sa smanjenim rizikom [38-42](#) (dio 1.3 Vitamin D).

#### *Metabolički sindrom*

Pojedine sastavnice metaboličkoga sindroma, kao i sam MetS povezuju se sa povećanim rizikom od razvoja Ca dojke [43](#), [44](#), a neke su studije pokazale povećani rizik uz MetS samo kod postmenopauzalnih žena [45](#) (dio 1.2 Metabolički sindrom).



Slika 7. Utjecaj prehrane, pretilosti i fizičke aktivnosti na stanične procese povezane s rakom (Prema: World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research, 2007. [46](#))

## 1.2 Metabolički sindrom

### 1.2.1 Epidemiologija metaboličkoga sindroma

Metabolički sindrom (MetS) karakteriziraju istovremeno postojanje intolerancije glukoze, abdominalne pretilosti, arterijske hipertenzije i (aterogene) dislipidemije, od kojih barem 3 moraju biti prisutna istovremeno za utvrđivanje MetS-a. Kod MetS-a se također javlja proupalno i protrombotično stanje, mikroalbuminurija i hiperuricemija [47](#), [48](#).

Procjenjuje se da u svijetu 20-25% odrasle populacije ima MetS [47](#), a prevalencija varira ovisno o regiji, rasi, definiciji kriterija MetS-a, spolu i dobi (češći kod starijih) [49](#), [50](#). Osobe s MetS-om imaju 5 puta veći rizik od razvoja dijabetesa [47](#), kao i povišen mortalitet od svih uzroka [51](#).

U općoj populaciji u RH procjenjuje se da metabolički sindrom ima oko 40% žena [52](#), a prevalencija je manja kod pušača, odnosno veća ili manja u pojedinim regijama, varira i ovisno o definiranim kriterijima za MetS, dok u starijoj populaciji iznosi i preko 60% [53](#). U uzorku ukupne populacije osoba sa šećernom bolešću (CroDiab registar; nisu objavljeni podaci prema spolu), oko 40% je pretilih a do 85% ima prekomjernu tjelesnu težinu, te u ovoj populaciji udio MetS-a može biti i veći što ovisi i o kriterijima definicije graničnih vrijednosti njegovih sastavnica [54](#).

Pojedinačna istraživanja pokazuju da prevalencija metaboličkoga sindroma ili pojedinih sastavnica u usporedbi s općom populacijom može biti značajno veća kod bolesnika s različitim vrstama raka ovisno o dobi [55](#) (i razlikovati se po subtipovima Ca dojke [56](#)), kod novootkrivenih slučajeva raka i kao posljedica liječenja od raka [57](#), ali se postojanje razlike u prevalenciji kod liječenih bolesnika pokazalo nekonzistentno s obzirom na populaciju a ovisi i o vrsti raka (npr. pokazala se manja kod raka želuca [58](#)).

Nije provedeno istraživanje u RH koje bi omogućilo definiranje udjela bolesnika s MetS-om ili njegovim sastavnicama u populaciji s rakom dojke ili drugim tumorom. Pronađeni su samo prikazani podaci pojedinih sastavnica MetS-a iz publiciranih istraživanja. Istraživanje bolesnica s karcinomom dojke u kontinentalnom dijelu RH koje su liječene operativno uz disekciju aksilarnih limfnih čvorova pokazalo je da je više od pola imalo hipertenziju, većina je imala prekomjernu tjelesnu težinu ili pretilost (ITM  $\geq 25$  ili  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>), a navodi se da je 27,2% hipertenzivnih bolesnica primalo terapiju za endokrinološku bolest (definiranu kao dijabetes ili bolest štitnjače) [59](#), što je znatno više u usporedbi s općom populacijom za žene.

### 1.2.2 Etiologija i patogeneza metaboličkoga sindroma

- **Čimbenici rizika za metabolički sindrom**

Prema IDF-u (engl. *International Diabetes Federation*) uzroci MetS-a nisu sasvim razjašnjeni,



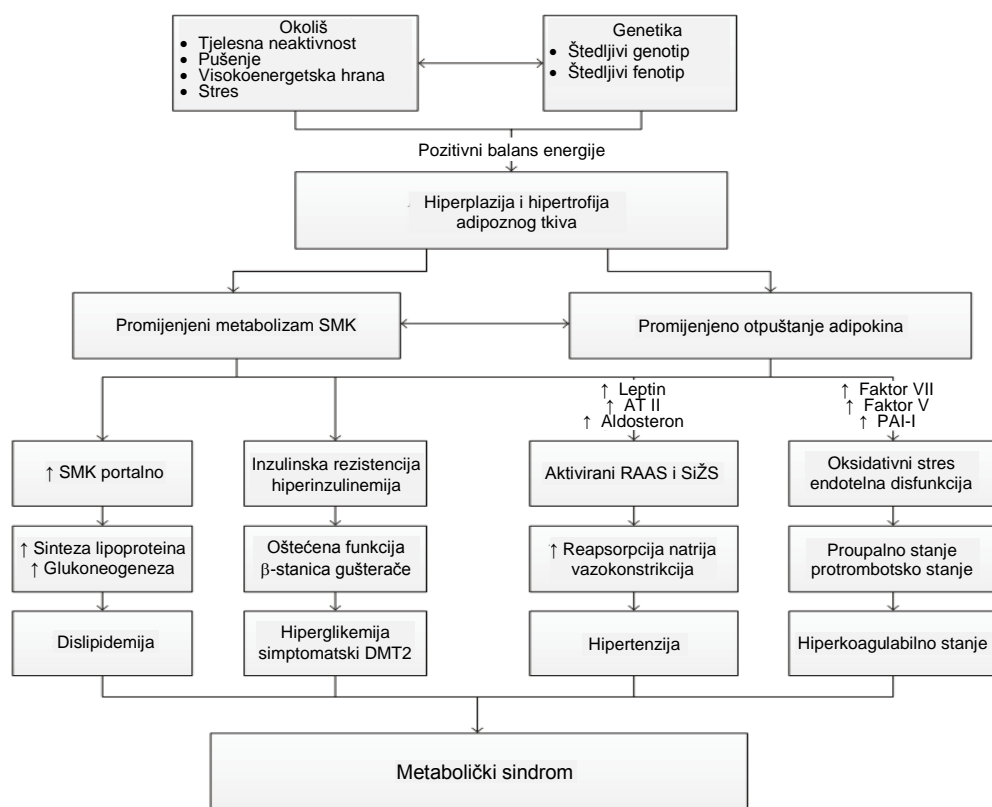
vjerojatno su multifaktorijalni i kompleksni, a značajnim uzročnim faktorima u njegovom nastanku se smatraju inzulinska rezistencija i centralna pretilost [47](#). Dodatnu ulogu mogu imati genetika, nedovoljna tjelesna aktivnost, starenje, proupalno stanje i hormonske promjene [47](#), odnosno kombinacija genetskih i okolišnih čimbenika (neuravnotežena prehrana (previše soli, masti i kalorija, premalo voća i povrća), pušenje, prekomjerna konzumacija alkohola, kontinuirani stres, metabolički disruptori, lijekovi [57](#) i dr.).

### Vitamin D

Deficijencija vitamina D (25-hidroksikolekalciferola; 25(OH)D) također se smatra jednim od faktora povećanog rizika za MetS [60](#) (dio 1.3 Vitamin D).

### • Patogeneza metaboličkoga sindroma

MetS je karakteriziran nizom metaboličkih poremećaja u kojima abdominalna pretilost i inzulinska rezistencija imaju centralnu ulogu, te pratećim proupalnim, protrombotskim i prooksidativnim stanjem. Abdominalna pretilost je jedan od glavnih uzroka inzulinske rezistencije, koja dovodi do hiperinzulinemije, poremećene tolerancije glukoze i povećava rizik za razvoj dijabetesa tipa 2. Pretilost doprinosi i razvoju hipertenzije, hiperglikemije i hiperkolesterolemije odnosno u konačnici MetS-a [47](#) (Slika 8.).



Slika 8. Algoritam patogeneze metaboličkoga sindroma (Prema: Kaur J, 2014. [61](#))

Adipociti visceralnog bijelog masnog tkiva otpuštaju brojne adipokine (više od 100) koji potom djeluju autokrino, parakrino i endokrino, a sudjeluju i u reguliranju sistemske homeostaze lipida i glukoze u metabolički ključnim organima (jetra, gušterača, mišići) ali i središnjem živčanom sustavu (SŽS). Adipokini koji djeluju na metabolizam uključuju primjerice leptin (djeluje anoreksigeno u SŽS-u), adiponektin (senzibilizira tkiva na učinke inzulina), rezistin, RBP4, aP2 i dr. (potiču rezistenciju na inzulin). Uslijed lokalne hipoksije u masnom tkivu zbog hipertrofije i hiperplazije adipocita, dolazi do infiltracije i interakcije s makrofagima (i drugim imunološkim stanicama) te se otpuštaju brojni adipocitokini (od strane adipocita i/ili aktiviranih podtipova makrofaga) koji djeluju kao faktori rasta, proangiogeno, citokini, komplement-slični faktori, adhezijske molekule i komponente ekstracelularnog matriksa, proteini akutne faze ili kemokini, a uključuju primjerice TNF $\alpha$ , IL-6, IL-10, IL-18, TNF $\alpha$ , TGF $\beta$ , VEGF, PAI-1 i dr. <sup>62</sup> (Tablica 4.).

Tablica 4. Adipokini i njihovo djelovanje

<b>Uloga</b>	<b>Adipokini</b>
<i>Metabolizam + Proupalni faktori i faktori akutne faze</i>	Adipsin, Apelin, Rezistin
<i>Metabolizam + Promitogeni i proangiogeni faktori</i>	Adiponektin, Inzulinu-sličan faktor rasta-1 (IGF-1)
<i>Metabolizam</i>	<i>Adipocyte fatty acid binding protein</i> (aP2), Leptin, Lipoprotein lipaza, Omentin, RBP4, Sfrp5, Visfatin, Apolipoprotein E
<i>Proupalni i faktori akutne faze</i>	Alfa-1 kiseli glikoprotein, IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, <i>Macrophage migration inhibitory factor</i> (MIF), <i>Macrophage chemoattractant protein</i> (MCP1), Serumski amiloid A3, TNF $\alpha$ , <i>Plasminogen activator inhibitor-1</i> (PAI-1), C-reaktivni protein (CRP)
<i>Promitogeni i proangiogeni faktori</i>	Angiopoetin 1, Angiopoetin 2, <i>Fibroblast growth factor</i> (FGF), <i>Hepatic growth factor</i> (HGF), <i>Nerve growth factor</i> , <i>Stromal derived factor</i> (SDF-1), Tkivni faktor, TGF $\beta$ , VEGF
<i>Komponente ekstracelularnog matriksa</i>	Alfa 2 makroglobulin, Kolagen I, Kolagen III, Kolagen IV, Kolagen VI, Fibronektin, Gelsolin, Lizil oksidaza, metaloproteinaze; MMP1, MMP7, MMP9, MMP10, MMP11, MMP14, MMP15

(Prilagođeno prema: Deng Y, 2010. <sup>62</sup>)

Skup metaboličkih poremećaja u MetS-u je biokemijski praćen povećanom koncentracijom triglicerida, LDL-a i glukozom natašte, a sniženim HDL-om. Uz ova obilježja, MetS prate i promjene drugih biomarkera u serumu kao što su povećanje CRP-a, proupalnih citokina (IL-6, TNF- $\alpha$ ), markera prooksidativnog statusa (OxLDL, urična kiselina), protrombičnih faktora (PAI-1) i leptina, a smanjena koncentracija antiinflamatornih citokina (IL-10), grelina, adiponektina i antioksidativnih faktora (PON-1) <sup>61. 63</sup>, te drugih (Tablica 4.).

C-reaktivni protein (CRP) je nespecifični protein akutne faze upale i biomarker upale, a njegovo stvaranje potiče IL-6 kojeg oko 30% kod zdravih osoba nastaje u masnom tkivu. CRP raste s porastom ITM i njegove vrijednosti su povišene u oko 60% pretilih žena s ITM >30 kg/m<sup>2</sup> (i 35%

muškaraca) <sup>64</sup>. Povišeni CRP je povezan s povećanim rizikom od KV bolesti, ishemijskim moždanim udarom, vaskularnim mortalitetom te različitih drugih kroničnih i malignih bolesti <sup>65</sup>.

Gama-glutamil-transpeptidaza ( $\gamma$ -glutamil-transaminaza; GGT) je enzim koji se nalazi ektoocelularno u mnogim tkivima a čija je najvažnija uloga metaboliziranje glutationa (glutamil-cisteinil-glicin; GSH); glavnog antioksidansa u stanicama koji neutralizira reaktivne spojeve kisika i slobodne radikale; kako bi se njegove prekursorske aminokiseline ponovno iskoristile za sintezu GSH u stanici. Uključen je i u metabolizam endogenih i egzogenih gama-glutamil tvari poput antioksidansa, leukotriena (pretvorbu LTC<sub>4</sub> u LTD<sub>4</sub>), metabolita lijekova, neuroreaktivnih tvari. Stoga GGT može biti marker izloženosti ksenobioticima i deplecije GSH uslijed detoksifikacije <sup>66</sup>. Povišena koncentracija GGT-a smatra se ranim prediktorom razvoja metaboličkih bolesti; pretilosti, inzulinske rezistencije, intolerancije glukoze i prehipertenzije, a i rizikom za MetS <sup>67</sup>, aterosklerozi, KV i druge bolesti, uključujući rak <sup>66, 68</sup>.

### 1.2.3 Metabolički sindrom i karcinom dojke

Pojedinačna istraživanja, kao i sustavni pregledi i metaanalize povezuju metabolički sindrom i pojedine sastavnice (npr. pretilost <sup>69</sup>, dijabetes <sup>70</sup>, hiperglikemija <sup>71</sup>) s povećanim rizikom od nastanka različitih vrsta raka, uključujući i rak dojke <sup>72</sup>. Rizik za razvoj različitih vrsta raka se pokazao većim ako je istovremeno prisutno više sastavnica MetS-a <sup>73, 74</sup>. Procjenjuje se da prekomjerna tjelesna težina i pretilost uzrokuju oko 20% svih slučajeva raka <sup>75</sup> (npr. kolorektalni, rak jednjaka, gušterače, endometrija, bubrega, postmenopauzalni rak dojke <sup>76</sup>, izuzev raka pluća s kojim je obrnuto povezana), te kao i dijabetes povećava mortalitet od raka.

#### • Čimbenici rizika za karcinom dojke vezani uz MetS

Pojedine sastavnice metaboličkoga sindroma (dijabetes <sup>70</sup>, pretilost <sup>69</sup>, arterijska hipertenzija <sup>77</sup>, sniženi HDL <sup>78</sup>, povišeni trigliceridi <sup>149</sup>), kao i sam MetS povezuju se sa povećanim rizikom od razvoja Ca dojke <sup>43, 44, 79</sup>. Neke su studije pokazale rizik uz MetS samo kod postmenopauzalnih žena <sup>45</sup> dok su rezultati ispitivanja povezanosti pojedinih komponenti MetS-a i rizika za Ca dojke su nekonzistentni za premenopauzalne žene <sup>80</sup>. Prema jednoj studiji na europskoj populaciji koja je uključivala 287.320 žena koje su bile praćene 11 godina, MetS i pretilost smanjuju rizik od Ca dojke kod premenopauzalnih žena ispod 50 g., dok kod žena iznad 60 g. povećani ITM povećava rizik, a MetS povećava mortalitet od Ca dojke <sup>80</sup>. Epidemiološke studije također pokazuju da je rizik za nekoliko vrsta raka, uključujući i dojke, povišen kod bolesnika s dijabetesom <sup>70, 81</sup> i kod pretilosti <sup>69</sup>. Za postmenopauzalni Ca dojke procijenjeni relativni rizik (RR) iznosi 1,12 za svako povećanje od 5 kg/m<sup>2</sup> ITM <sup>82</sup>. U sustavnom pregledu i metaanalizi arterijska hipertenzija pokazala se rizični faktor

kod postmenopauzalnih žena i u ukupnoj populaciji žena ali ne i kod premenopauzalnih <sup>77</sup>. Snižena koncentracija HDL-a povezana je s povećanim rizikom od Ca dojke kod postmenopauzalnih žena <sup>78</sup> dok bi povećana koncentracija HDL-a mogla smanjivati rizik <sup>83</sup>.

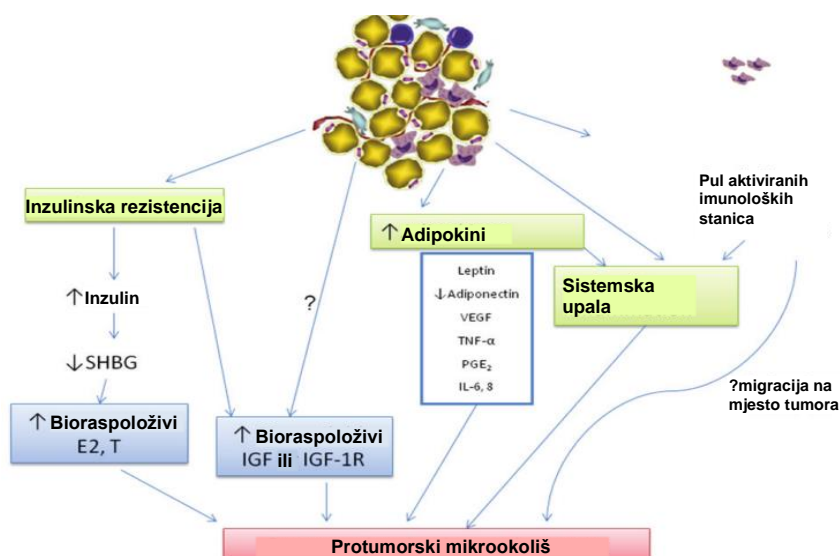
S obzirom na vrstu Ca dojke, pretilost je u nekim studijama povećavala rizik kod postmenopauzalnih žena za nastanak tumora s pozitivnim hormonskim receptorima <sup>84</sup>, s lošijim TNM prognostičkim obilježjima <sup>69</sup> i *basal-like* Ca <sup>85</sup>. Ispitivanja na životinjama pokazala su protektivni učinak gubitka težine smanjenjem koncentracije leptina i posljedičnim reprogramiranjem nekoliko kinaza na čiju aktivnost utječe pretilost <sup>86</sup>. Opseg struka  $\geq 88$  cm odnosno inzulinska rezistencija pokazali su se povezani s HER-2+ i luminalnim B podvrstama Ca dojke <sup>56</sup>.

Prema jednoj studiji (n=105) koja je promatrala MetS, postmenopauzalne žene sa patološkim stadijem II-IV novodijagnosticiranog Ca dojke češće su imale MetS u usporedbi sa ženama s ranim stadijem bolesti, češće su bile pretile, imale centralnu pretilost, hiperglikemiju i hiperinzulinemiju, a žene s pozitivnim limfnim čvorovima češće su imale MetS i hiperinzulinemiju u usporedbi sa ženama s negativnim limfnim čvorovima <sup>87</sup>. Druga je studija (n=176) pokazala da su žene s agresivnijim trostruko negativnim Ca češće imale MetS, uz značajnu neovisnu asocijaciju GUK-a, koncentracije triglicerida i HDL-a (ali ne i ITM i hipertenzije) s navedenim karcinomima dojke, te da su oni bili većeg histološkog gradusa i s manje prisutnog DCIS-a u usporedbi s ne-trostruko negativnim tumorima <sup>88</sup>.

Smatra se da kronična upala predisponira za nastanak različitih oblika raka <sup>89, 90</sup>. Na povećani rizik za Ca dojke uz povišeni CRP upućuje i sustavni pregled i metaanaliza, a koja je uključivala i 5 prospektivnih studija <sup>91</sup>. Povećana GGT (možda i kao indikator izloženosti toksičnim tvarima), također se povezuje s povećanim rizikom za razvoj raka, uključujući i Ca dojke <sup>68, 92-95</sup>.

- **Metabolički sindrom i karcinogeneza**

Kao mogući mehanizmi koji su poveznice između sastavnica MetS-a odnosno MetS-a i razvoja različitih vrsta raka (uključujući i dojke) smatraju se npr. hiperinzulinemija, povišena koncentracija IGF-1, hiperglikemija, povišena koncentracija cirkulirajućih estrogena (zbog povećane aktivnosti aromataze u masnom tkivu kod pretilosti), hiperkolesterolemija, povećana koncentracija proupalnih citokina (IL-6, TNF- $\alpha$ ) i adipokina leptina a smanjena adiponektina, te drugi koji na različite načine potiču proliferaciju tumorskih stanica <sup>64, 75</sup>. Sva ova stanja prisutna su kod pretilosti (Slika 9.), a masno tkivo dojke također stvara brojne signalne molekule, hormone (uključujući leptin i adiponektin), citokine i faktore rasta <sup>96</sup>.

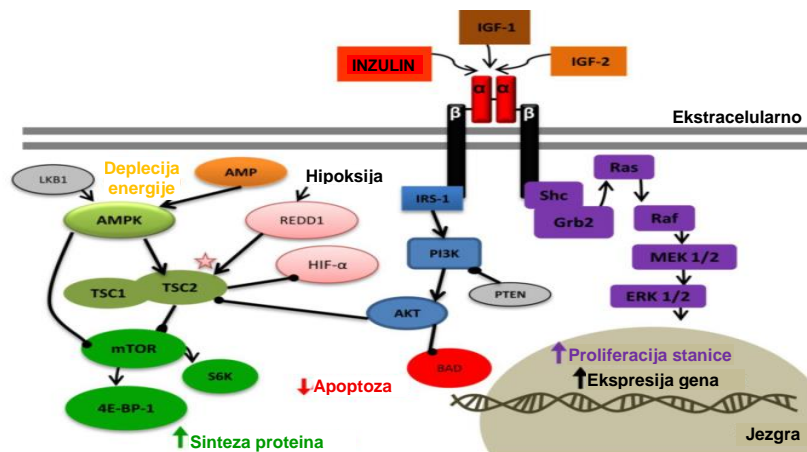


Slika 9. Doprinos pretilosti u karcinogenezi (Prema: Donohoe CL, 2011. [97](#))

Kronična **hiperinzulinemija** i posljedično povećani IGF-1 može poticati rast i metastaziranje tumorskih stanica dojke, te se pokazalo da tumorske stanice pojačano izražavaju inzulinske (I-R) i IGF (IGF-1-R) receptore [76](#). Osim što potiče sintezu IGF-1 u jetri, inzulin također smanjuje stvaranje proteina koji ga vežu IGFBP (engl. *insulin-like growth factor binding proteins*) i prenose te je povećana bioraspoloživost IGF-1 i IGF-2 u krvi. Supresor tumora p53, vitamin D, antiestrogeni, retinoidi i TGFβ smanjuju stvaranje IGFBP-a te tako i bioaktivnost IGF-a [97](#).

Dva glavna signalna puta receptora IGF-1-R (može aktivirati i mitogeni i metabolički signal) u stanici su mitogeni MAPK put te metabolički i antiapoptotički PI3K/AKT put, ali ostvaruje učinke i putem drugih signalnih kaskada. Aktivacijom PI3K/AKT puta aktivira se mTOR (engl. *mammalian target of rapamycin*) te povećava sinteza proteina u ribosomima, a stanja poput hipoksije i manjka energije (povećan AMP) uslijed manjka nutrijenata ili aktivacija AMPK inaktiviraju mTOR (Slika 10.). PI3K put je inaktiviran od strane PTEN koji je nakon p53 najčešće mutiran/inaktiviran supresor tumora u Ca dojke. IGF-1 antiapoptotičke učinke ostvaruje inaktivacijom kaspaze-9, Bcl-2 obitelji proteina (poput BAD), regulacijom receptora koji inducira smrt, te regulira i mnoge transkripcijske faktore kao CREB, FKHR, NF-κB, mdm2 i p53 koji su uključeni u regulaciju apoptoze. IGFBP-i ostvaruju i učinke neovisne o IGF i mogu inhibirati ili stimulirati učinke IGF-a, primjerice IGFBP-2 suprimira supresor tumora PTEN u staničnim linijama Ca dojke, dok IGFBP-3 može poticati apoptozu putem p53 mehanizma ili kaspaze-8 [64](#).

Hiperinzulinemija i IGF-1 smanjuju sintezu SHBG (engl. *sex hormone-binding globulin*) te tako potiču Ca dojke ovisan o hormonima povećanjem koncentracije slobodnih hormona u krvi. Inzulin također inducira aromatazu, dok estrogen inducira ekspresiju IGF-1-R te IRS-1 i IRS-2 (engl. *insulin receptor substrates*) što je u staničnoj liniji raka dojke povećalo aktivaciju MAPK puta [64](#).

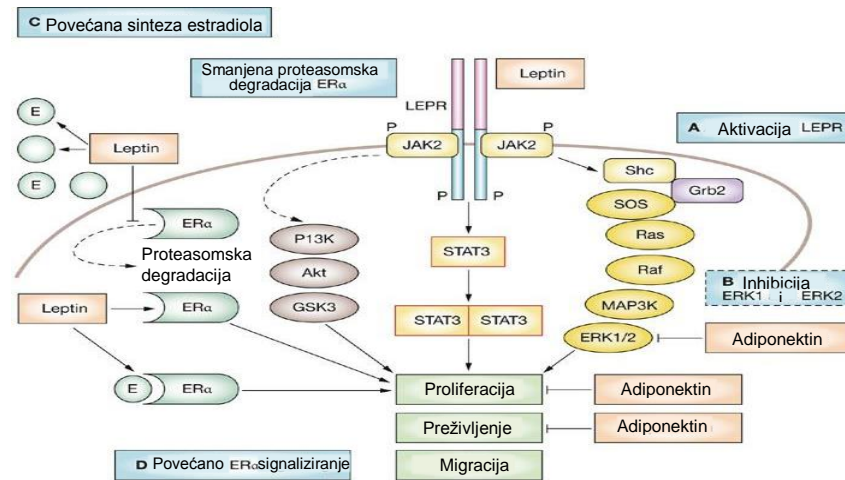


Slika 10. Signalni putevi IGF-1-R nakon vezanja inzulina, IGF-1 i IGF-2 (Prema: Braun S, 2011. [64](#))

Kronična **hiperglikemija** može poticati rast i proliferaciju tumorskih stanica, budući da one pojačano izražavaju GLUT transportere za pojačani unos glukoze u tumorsku stanicu gdje se, umjesto u oksidativnu fosforilaciju u mitohondrijima kao kod netumorskih stanica uz stvaranje ATP-a i CO<sub>2</sub>, usmjerava u aerobnu glikolizu (Warburgov efekt) i koristi za sintezu nukleotida (odnosno za povećanje biomase) i laktata [75](#). Dugotrajna hiperglikemija dovodi do stabilnih epigenetskih promjena poput acetilacije histona, metilacije histona/DNK i mogla bi doprinosti modulaciji onkogenih puteva u stanici i njihovoj produljenoj aktivaciji i proliferaciji tumorske stanice [98](#), te se pokazalo da inhibitori histonske deacetilaze mogu inhibirati proliferaciju nekih vrsta raka (odobreni su kao lijekovi za liječenje perifernog i kutanog T-staničnog limfoma) i u tijeku su klinička ispitivanja faze II i za rak dojke [99](#). Hiperglikemija dovodi do povećanog izražavanja GLUT receptora (što povećava unos glukoze u tumorsku stanicu), EGF i EGFR receptora (engl. *epidermal growth factor receptor*), PKC $\alpha$  (povećana ekspresija je kod agresivnijeg fenotipa Ca dojke), PPAR- $\alpha$  i PPAR- $\gamma$ , ubrzava stanični ciklus reguliranjem razine ključnih proteina poput ciklin-ovisne kinaze 2, E2F, ciklina A i ciklina E (može ubrzati proliferaciju). Također može djelovati antiapoptotski interferirajući s degradacijom HIF1 $\alpha$  (engl. *hypoxia inducible factor-1 $\alpha$* ) koji u hipoksiji potiče ekspresiju gena važnih za metabolizam glukoze, angiogenezu i antiapoptotičke procese. Smanjenjem E-kadherina, povećanjem SOD (superoksid dismutaze) i nastanka vodikovog peroksida, povećanjem oksidativnog stresa putem ROS (engl. *reactive oxygen species*), povećanjem unosa cinka u stanicu ekspresijom njegovih transportera ZIP6 i ZIP10, može poticati i invazivnost i migraciju. Hiperglikemija dovodi i do povećane aktivacije NF- $\kappa$ B i pojačane upale [100](#).

**Adipokin** leptin, koji je kod pretilih osoba 10 puta viši u odnosu na osobe normalne težine, smanjuje apoptozu i stimulira staničnu proliferaciju stanica Ca dojke. Na stanicama Ca dojke je nađena povećana ekspresija receptora za leptin (Ob-R) [76](#), a pokazalo se da transaktivira HER2/neu, također leptin bi mogao inducirati rezistenciju na fulvestrant i tamoksifen [101](#). Djeluje putem PI3K,

MAPK (engl. *mitogen-activated protein kinase*) i JAK/STAT3, aktivira ER $\alpha$  u odsutnosti estrogena (Slika 11.), ima proangiogeni učinak potičući VEGF (za što je potrebna aktivacija HIF-1 $\alpha$  and NF- $\kappa$ B), povećava ekspresiju metaloproteaza matriksa (MMP-2 i MMP-9) koje su potrebne za staničnu invaziju te povećava ekspresiju aromataze u tkivu dojke.



Slika 11. Signalni putevi leptina i adiponektina (Prema: Schaffler A, 2007. [102](#))

Adiponektin, koji je znatno snižen kod pretilosti, ima suprotne učinke; povećava apoptozu i smanjuje staničnu proliferaciju stanica Ca dojke. Djelovanje ostvaruje aktivacijom AMPK puta (engl. *AMP-activated protein kinase*) i indirektnom supresijom mTOR, putem antiinflamatornih učinaka (smanjuje stvaranje citokina IL-6, TNF $\alpha$  i dr.) i negativnom regulacijom angiogeneze [64.](#) [75.](#) Adiponektin smanjuje ekspresiju LDL receptora na tumorskim stanicama [103](#), smanjuje *de novo* sintezu masnih kiselina, te također sprječava interakciju pojedinih faktora rasta s njihovim receptorima (npr. engl. *platelet-derived growth factor-BB*, *heparin-binding epidermal growth factor*, *basic fibroblast growth factor*) [75](#). Dodatno, sugerira se da leptin povećava a adiponektin smanjuje brojnost matičnih stanica normalnog tkiva dojke i njihovo samoobnavljanje te bi i na ovaj način mogli utjecati na rizik od Ca dojke [104](#).

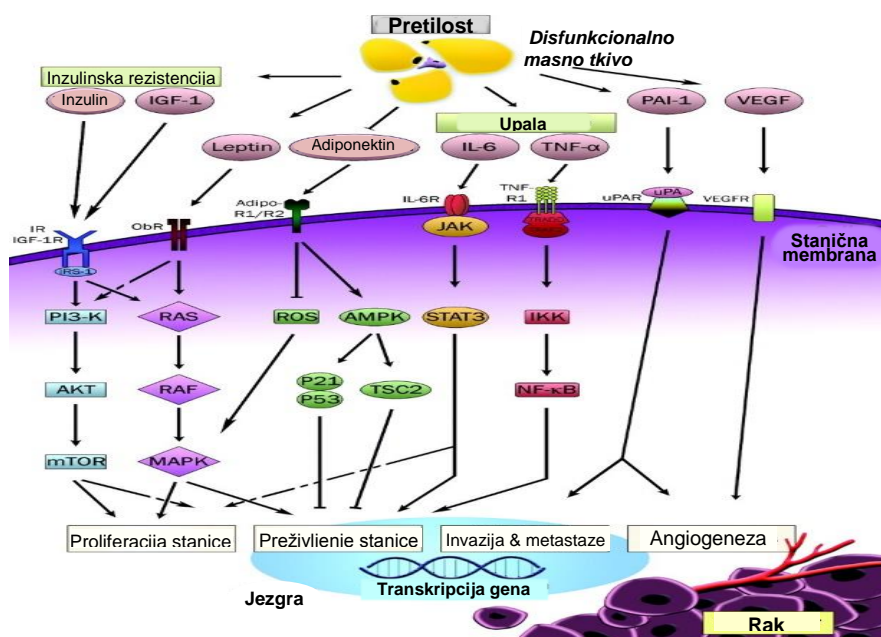
Kronična **hiperkolesterolemija** povećava rast i metastaziranje Ca dojke; prema *in vitro* i animalnim istraživanjima povećana je aktivacija PI3K/AKT puta, kolesterol je neophodan dio tumorske stanične membrane i ishodišna molekula za sintezu steroidnih hormona, a oksisteroli poput 25- i 27-hidroksikolesterola ostvaruju ER-agonističku aktivnost te stimuliraju proliferaciju ER+ stanica Ca dojke. *De novo* sintezu kolesterola u stanicama reguliraju/smanjuju tumorski supresori LATS1/p53 [105](#), a povećavaju PI3K i K-Ras [106](#). Smatra se da oksisteroli djeluju kao endogeni regulatori ekspresije gena za metabolizam lipida i kao signalne molekule u procesima razvoja, diferencijacije i upale te imaju ulogu u razvoju raka [107](#). Oksisteroli suprimiraju upalnu ulogu makrofaga posredstvom LXR, kao i proliferaciju T-stanica, dok induciraju migraciju limfocita i

ekspresiju citokina. 25-hidroksikolesterol i drugi oksisteroli induciraju stvaranje proupalnih citokina IL-8 i IL-1 $\beta$  (i drugih), a učinak je u hipoksičnim uvjetima bio pojačan [108](#). U citoplazmi stanica oksisteroli se vežu za različite *oxysterol binding protein-related protein* (ORP); pokazalo se da ORP7 i ORP3 imaju ulogu u adheziji i migraciji posredstvom R-Ras, te da je ORP3 povećano prisutan u solidnim tumorima, a IGF-1 povećava ekspresiju ORP7 [108](#). 27-hidroksikolesterol nastaje iz kolesterola većinom putem enzima CYP27A1 u jetri kao prvi korak u sintezi žučnih kiselina, ali i stanicama Ca dojke, a katabolizira ga enzim CYP7B1. Tumori dojke koji izražavaju CYP27A1 u životinjskim modelima su većeg histološkog gradusa i slabije prognoze a smanjeno izražavanje enzima CYP7B1 u tumorskim stanicama dovodi do bržeg relapsa [109](#). 27-hidroksikolesterol je u staničnoj liniji Ca dojke smanjio ekspresiju E-kadherina i  $\beta$ -katenina uz gubitak adhezije, naznačujući epitelno-mezenhimalnu pretvorbu. Pojedini oksisteroli mogu ostvarivati citotoksične i proapoptotičke učinke i inducirati ekspresiju COX-2 [110](#).

Kronično **proupalno** stanje prisutno kod MetS-a praćeno je povećanjem upalnih faktora (npr. citokini IL-6 i TNF $\alpha$ , te CRP) i aktivacije transkripcijskih faktora (NF- $\kappa$ B, HIF-1 $\alpha$  i PPAR $\gamma$ ), enzima (COX-2), te reaktivnih spojeva kisika (ROS) koji mogu direktno i indirektno doprinijeti mehanizmima koji uzrokuju rak - gubitku funkcije supresora tumora, ubrzanju staničnog ciklusa i stimulaciji ekspresije onkogeni, kao i invazivnim i migracijskim osobitostima Ca dojke. Kod pretilih žena dolazi do upale masnog tkiva dojke koje bi parakrinim djelovanjem moglo doprinijeti razvoju i progresiji raka dojke [111](#). Proupalni citokini koji se povezuju s karcinogenezom su IL-1, IL-6, IL-15, faktori stimulacije kolonija, TNF $\alpha$  i MIF (engl. *macrophage migration inhibitory factor*) [112](#). Ispitivanja provedena za IL-6 pokazala su da kod stanica Ca dojke doprinosi epitelno-mezenhimalnoj tranziciji, potiče EGFR signalni put, stimulira aromatazu, potiče angiogenezu, smanjuje ER $\alpha$  ekspresiju (i mogu voditi nastanku *basal-like* – fenotipa negativnoga za hormonske receptore), povećava broj makrofaga oko tumora, te je bio povezan s povećanim brojem metastaza u limfne čvorove. TNF $\alpha$  povećava ekspresiju aromataze, a smanjuje adiponektina, potiče angiogenezu, potiče transkripciju različitih proteina uključenih u upalu, proliferaciju, preživljenje stanice i prevenciju apoptoze aktivacijom NF- $\kappa$ B i MAPK signalnog puta (Slika 12.). NF- $\kappa$ B potiče ekspresiju gena za inhibiciju apoptoze, te proliferaciju i preživljenje stanice, a njegova je regulacija poremećena kod raka dojke [64](#).

COX-2 enzim pokazuje povećanu ekspresiju kod raka i može doprinijeti karcinogeni i invazivnosti povećanim stvaranjem prostaglandina, poticanjem angiogeneze i modulacijom upale i imunološke funkcije. Nekoliko je studija pokazalo da aspirin, uobičajene doze i niske doze (do 100 mg) [113](#), i drugi nesteroidni protuupalni lijekovi (NSAIL-i) kao inhibitori COX enzima mogu smanjiti rizik od nastanka različitih karcinoma i Ca dojke [114](#), [115](#), iako su podaci za druge NSAIL-e nekonzistentni [114](#), zbog čega se razmatraju u kemoprevenciji raka (dio 1.3.5 Vitamin D i karcinogeneza).





Slika 12. Metabolički sindrom i karcinogeneza (Prema: van Kruijsdijk RC, 2009. [116](#))

Smatra se da je kronični sistemski **oksidativni stres** i dugotrajno povećane razine ROS-a u podlozi razvoja MetS-a, njegovih komplikacija kao i raka uslijed kumulativnog oksidativnog oštećenja makromolekula što vodi staničnoj disfunkciji [117](#). Povećani markeri oksidativnog stresa prisutni su kod pretilosti; ROS može modificirati ekspresiju adiponektina, poticati razvoj inzulinske rezistencije, hipertenzije, ateroskleroze, te pozitivno korelira sa svim ovih stanjima i negativno s koncentracijom adiponektina. Kronična hiperglikemija i prehrana bogata mastima također dovode do povećanja markera oksidativnog stresa i pokazalo se da ih smanjuju regulacija glikemije i statini (povećavaju i ekspresiju antioksidansnih enzima) [117](#). ROS je perzistentno povećan kod tumorskih stanica te može poticati nove mutacije, malignu progresiju i rezistenciju na liječenje, stoga one sprječavaju prekomjerni oksidativni stres (uključujući uzrokovan kemoterapijom i zračenjem) prilagođavanjem i povećavanjem stvaranja glutaciona i NADPH [118](#).

Gama-glutamilttransferaza (GGT) je enzim čija je najvažnija uloga metaboliziranje glutaciona (kako bi se njegove prekursorske aminokiseline ponovno iskoristile za sintezu GSH u stanici), ali i npr. upalnih molekula (LTC<sub>4</sub>). Povišeni GGT se povezuje s povećanim rizikom od koronarne bolesti srca, DMT2, moždanog udara, MetS-a i raka [66, 68](#), a pozitivno korelira s CRP [66](#).

### ***Prognostički utjecaj MetS-a na ishode kod karcinoma dojke***

Nakon postavljene dijagnoze karcinoma, prisutnost pojedinih sastavnica MetS-a i MetS pokazali su prognostičku vrijednost za preživljenje kod različitih vrsta karcinoma, uključujući i karcinom dojke, te za povrat Ca dojke. Izrazito pretile žene s ranim Ca i s trostruko negativnim Ca

dojke imaju znatno lošiju prognozu preživljenja bez javljanja bolesti i ukupnog preživljenja [119-121](#), a jaka pretilost se pokazala kao prognostički faktor i za mortalitet kod svih subtipova Ca dojke i ukupni mortalitet nakon adjuvantne kemoterapije [122](#). Nakon dijagnosticiranja ranog stadija Ca dojke pokazalo se da žene s povećanim ITM-om nemaju povećani rizik od lokalnog povrata bolesti ali imaju 42% veći rizik (uz prekomjernu težinu) odnosno 46% veći rizik (pretile žene) od pojave udaljenih metastaza nakon praćenja 5-10 godina u usporedbi sa ženama s normalnom težinom [123](#).

Osim za pretilost (veći rizik) [121, 124](#), pojedinačne su studije, sustavni pregledi i metaanalize kod bolesnica s Ca dojke pokazale smanjeno preživljenje i/ili brži povrat Ca dojke promatrajući prisutnost komponenti MetS-a; dijabetesa [125](#), hiperglikemije [126](#), hiperinzulinemije [127](#), sniženog HDL-a [128](#), te MetS-a [129-131](#), dok rezultati za ukupni kolesterol i trigliceride nisu konzistentni. Za hipertenziju pojedine studije ukazuju na slabije preživljenje [132, 133](#) dok druge nalaze razliku koja nije statistički značajna nakon prilagodbe za antihipertenzive [134](#).

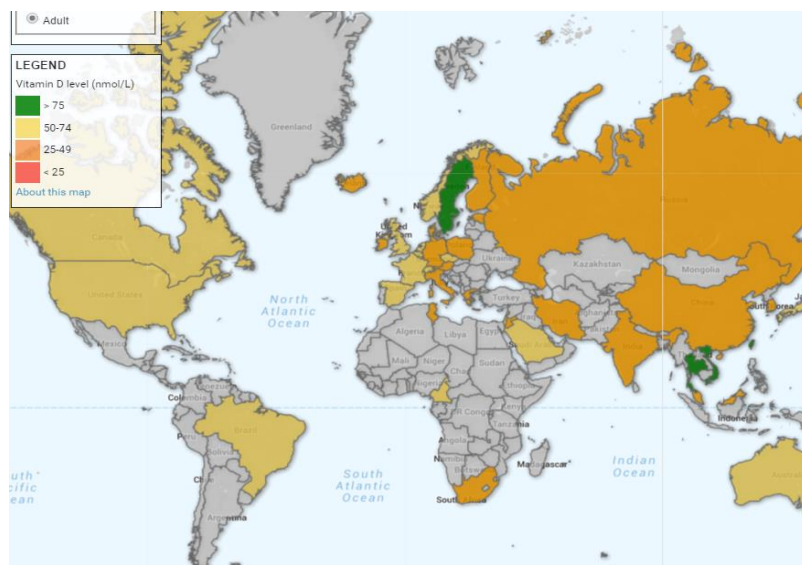
Proupalno i prokoagulantno stanje koji prate MetS, također su pokazali asocijaciju s uznapredovalošću Ca dojke i preživljenjem. Povišena koncentracija CRP-a i IL-6 prije operativnog zahvata kod pacijentica s Ca dojke korelirala je s uznapredovalijim stadijem i metastazama u limfne čvorove [135](#). Dodatno, povišena koncentracija zasebno GGT-a [136](#) odnosno CRP-a u trenutku postavljanja dijagnoze karcinoma dojke bile su povezane i sa smanjenim ukupnim preživljenjem odnosno preživljenjem bez javljanja bolesti i s povišenim rizikom od smrti [137](#), te pokazuju prognostičku vrijednost. Povišene preoperativne vrijednosti fibrinogena ukazivale su na lošije ukupno preživljenje [138](#) i preživljenje zbog Ca dojke [139](#), te su bile povezane s dobi, menopauzom, veličinom tumora, stadijem i metastazama u limfne čvorove, ali ne i histološkim gradusom, molekularnim tipom i drugim imunohistokemijskim obilježjima (ER, PR, HER2 i Ki-67) [140](#). Fibrinogen je u kombinaciji s trigliceridima i globulinom predložen kao prognostički indeks za stratifikaciju bolesnica s Ca dojke u niski, srednji i visoki rizik za lošiju prognozu jer je navedena kombinacija pokazala prognostičku vrijednost [141](#).

Kod žena s Ca dojke koje u trenutku postavljanja dijagnoze nisu imale MetS ili neku od njegovih sastavnica, liječenje Ca dojke povećava rizik od razvoja MetS-a ili pojedinih sastavnica [57, 142](#). S obzirom da MetS i stanja koja ga prate mogu negativno utjecati na preživljenje važno je provoditi mjere koje mogu povoljno djelovati na MetS, rizične faktore za razvoj MetS-a i sam Ca dojke. Preporuke organizacije *World Cancer Research Fund* za Ca dojke upućuju na potrebu redovite tjelesne aktivnosti i prehranu bogatu vlaknima radi poboljšanja preživljenja [37, 143](#).

## 1.3 Vitamin D

### 1.3.1 Epidemiologija deficijencije vitamina D

U svijetu je prema dostupnim podacima za odraslu populaciju i žene najveća prevalencija deficijencije vitamina D  $<50$  nmol/l u zemljama Azije, središnje i sjeverne Europe te Južnoj Africi i Novom Zelandu [144](#), [145](#) (Slika 13.). Prema spolu, prevalencija deficijencije je znatno češća kod žena u svim regijama svijeta [146](#), a podaci znatno variraju ovisno o području i dobi populacije na kojoj je ispitivana i općenito je češća u starijoj životnoj dobi.



Slika 13. Status vitamina D u svijetu u općoj populaciji [145](#)

U EU, prevalencija vrijednosti 25(OH)D  $<50$  nmol/l u krvi u studiji koja je uključivala 8532 postmenopauzalne žene s osteoporozom ili osteopenijom na ukupnoj populaciji studije iznosila je 32,1% dok je ispod 65 godina iznosila 45% i varira ovisno o zemlji (bile su uključene ispitanice iz Francuske, Belgije, Danske, Italije, Poljske, Mađarske, Velike Britanije, Španjolske i Njemačke), a izmjerene koncentracije 25(OH)D u krvi bile su najniže u Francuskoj i najviše u Španjolskoj [147](#). U drugoj se studiji prevalencija koncentracije 25(OH)D  $<50$  nmol/l kod postmenopauzalnih žena s osteoporozom pokazala većom u južnoj (Italija 46%) i centralnoj Europi (Slovenija 51,6%; Njemačka 48,4%) nego u skandinavskim zemljama (Danska 23,2%; Švedska 6,4%) [148](#). Navedene regionalne razlike u prevalenciji u ovoj populaciji žena odgovaraju razlikama prevalencije deficijencije u općoj populaciji žena starije životne dobi ovih zemalja koja je primjerice veća u Italiji (75%) naspram Švedskoj (26%) [146](#).

Podaci za RH iz studije koja je uključila zdrave žene s područja Zagreba, ukazuju da je prevalencija blaže deficijencije 25(OH)D ( $\geq 25$  i  $<50$  nmol/l) iznosila 32,2% dok je prevalencija teške deficijencije 25(OH)D ( $<25$  nmol/l) nađena kod 7% žena [149](#). Prema drugoj studiji kod žena iznad 44.

godine (i vjerojatno je većina iz mediteranskog dijela RH) koncentracije <50 nmol/l 25(OH)D nađene su kod 24,1% žena <sup>150</sup> i postotak se blago smanjuje s povećanjem dobi. Prema istraživanju provedenom na KBC Zagreb na populaciji postmenopauzalnih žena koje su se liječile zbog osteoporoze prevalencija deficijentne koncentracije (<50 nmol/l) 25(OH)D bila je 75% <sup>151</sup>. U drugom istraživanju provedenom u KBC Zagreb na 120 postmenopauzalnih žena ≥50 god. koje su „skrinirane“ na osteoporozi, prevalencija snižene koncentracije (<50 nmol/l) 25(OH)D je bila očekivano nešto niža 63,3%, a za <30 nmol/l je iznosila 14,2% (a 23,8% kod žena ≥65 god.) <sup>152</sup>. Izrazita deficijencija <30 nmol/l kod postmenopauzalnih žena s normalnom koštanom masom nađena je kod 9,8% žena <sup>153</sup>.

Za populaciju žena s karcinomom dojke, većina provedenih istraživanja u različitim regijama svijeta navodi veću prevalenciju deficijencije 25(OH)D u usporedbi s objavljenim podacima za opću populaciju žena za pojedine zemlje <sup>146</sup>. Prema jednoj američkoj studiji prevalencija koncentracija 25(OH)D <50 nmol/l u skupini od 103 premenopauzalne žene s dijagnozom karcinoma dojke prije početka liječenja bila je 74% (a bjelkinja 66%) <sup>154</sup>, a u drugoj u ukupnoj populaciji s rakom dojke 62% <sup>155</sup>. Znatna prevalencija nađena je primjerice i kod pacijentica u Čileu (70,5%) <sup>156</sup>, ali u nekim je studijama prevalencija deficijencije bila niža; 24,2% u Južnoj Korei <sup>157</sup>, 38,5% SAD-u <sup>155</sup>, što može biti odraz varijacija deficijencije vitamina D u općoj populaciji u različitim regijama svijeta i iste zemlje kao i sezone određivanja. Međutim, sistematski pregled pokazao je da je deficijencija 25(OH)D <50 nmol/l (20 ng/ml) u žena s rakom dojke općenito veća od uparene kontrolne populacije <sup>158</sup>.

### 1.3.2 Etiologija i patogeneza deficijencije vitamina D

Vitamin D je vitamin topiv u mastima koji u ljudskom organizmu potiče iz dva izvora – sintetizira se endogeno u koži nakon izlaganja suncu, ili je apsorbiran iz hrane, ali pri tome na koncentraciju vitamina D u krvi veći utjecaj ima sunčanje nego unos putem hrane jer iz sinteze u koži potječe >90% vitamina D <sup>159</sup>.

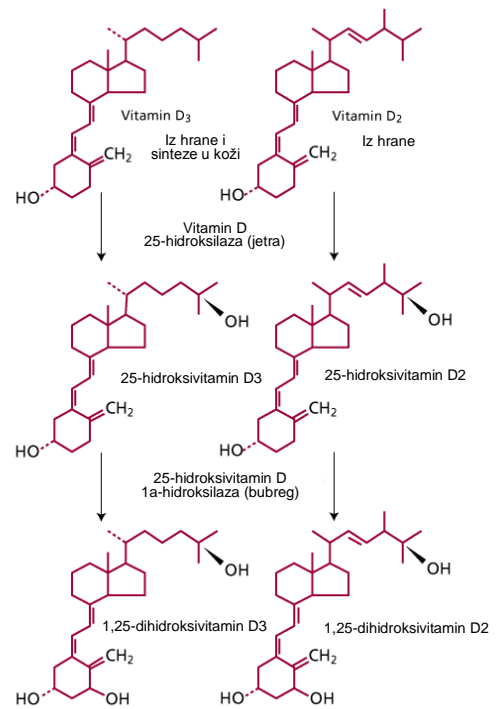
U koži nastaje iz 7-dehidrokolesterola pod utjecajem UVB zračenja pri čemu nastaje previtamin D<sub>3</sub> a zatim vitamin D<sub>3</sub> (kolekalciferol) (Slika 13.). Prekomjernim izlaganjem suncu vitamin D<sub>3</sub> prelazi u biološki neaktivne lumisterol i tahisterol, stoga njegova sinteza doseže plato na oko 10-15% sadržaja 7-dehidrokolesterola <sup>160</sup>. Ispod 37° sjeverne zemljopisne širine, UVB zračenje koje dopire do Zemlje je dostatno za sintezu vitamina D tijekom cijele godine, dok se iznad 37° vitamin D u koži ne sintetizira tijekom zimskih mjeseci <sup>159</sup>. Hrvatska se nalazi između 42°2' i 46°3' sjeverne zemljopisne širine, te se vitamin D neće moći sintetizirati u koži između kraja listopada i ožujka. U periodu od travnja do kraja listopada za stvaranje dovoljno vitamina D potrebno je izložiti kožu lica i ruku suncu tijekom 10-15 min. Koncentracija vitamina D u krvi pokazuje sezonske varijacije, s najvišom vrijednosti u ljeto i ranu jesen, a najnižom u kasnu zimu i rano proljeće <sup>161</sup>.

Promjenu (smanjenje) u izlaganju UVB-u slijedi odgovarajući pad u koncentraciji 25(OH)D nakon 6-8 tjedana [162](#).

Bez izlaganja suncu, količina vitamina D koju je potrebno unijeti putem hrane/suplemenata iznosi 800-1000 IU/dnevno (20-25 mikrograma), a u slučajevima malapsorpcije masti i pretilosti mogu biti potrebne više doze [161](#). Iz hrane se u organizam unosi u obliku vitamina D3 koji je životinjskog podrijetla, ili kao vitamin D2 (ergokalciferol) koji je prisutan u gljivama i nastaje uslijed UVB zračenja [160](#). Hrana koja je najbogatiji izvor vitamina D je masna riba, žumanjak, goveđa jetra, gljive, mliječni proizvodi obogaćeni vitaminom D, međutim njegova količina u navedenoj hrani može varirati. Rezultati jednog ispitivanja pokazuju da je količina vitamina D u lososu koji nije iz uzgajališta ~1000 IU/100 g, a u lososu iz uzgajališta ~100 IU/100 g (razlika je vjerojatno zbog načina ishrane ribe), plava riba imala je ~200 IU, bijela riba ~100 IU, pastrva i tuna ~400 IU. Pokazalo se i da se količina vitamina D u ribi smanjuje 50% prženjem ribe u biljnom ulju [163](#). Procijenjuje se da je dnevni unos vitamina D putem hrane 400 IU u zemljama u kojima se hrana ne obogaćuje vitaminom D. Hrana se u RH obično ne obogaćuje vitaminom D, osim rijetkih vrsta mlijeka i mliječnih proizvoda.

Unos 400 IU/dan vitamina D suplementima je u istraživanjima bio dovoljan samo za podizanje koncentracije u krvi za 7-12 nmol/l što je ovisilo o početnoj vrijednosti, te će samo osobe koje uzimaju 800-1000 IU/dnevno imati značajan utjecaj na koncentraciju 25(OH)D [164](#). Također, pojedina ispitivanja pokazuju jednaku učinkovitost suplemenata u obliku vitamina D2 odnosno D3 na podizanje koncentracije 25(OH)D, a pojedina pokazuju značajno veći učinak vitamina D3 [165](#), [166](#), što bi upućivalo da je za isti učinak na koncentraciju 25(OH)D potrebna veća nadomjesna doza vitamina D2. Potrebno je 2-3 mjeseca uzimanja suplemenata kako bi se održala postignuta „normalna“ koncentracija 25(OH)D. Pojedini autori su pokazali da sve osobe ne „odgovore“ na uzimanje suplemenata vitamina D, odnosno da (najbolje) odgovore osobe s >30 nmol/l, pa se može zaključiti da većina žena s nižom koncentracijom od 30 nmol/l ako i uzimaju suplemente neće time značajno utjecati na koncentraciju 25(OH)D (i da dobivena koncentracija vitamina D duže vrijeme značajno ne varira, tj. ona je niska). Jednako se pokazalo za bolesnike s različitim karcinomima koji su uzimali suplemente vitamina D; najbolje su odgovorili bolesnici koji su imali početnu koncentraciju >50 nmol/l (prije početka liječenja) i s karcinomom prostate i pluća (70% ovih bolesnika postiglo je i održalo veće koncentracije 25(OH)D od početnih, dok je kod dojke 57% žena „odgovorilo“ na dodatak vitamina D) [167](#). Odgovor na terapiju vitaminom D ovisi o uzetoj dozi, suradljivosti pacijenta i genetskim faktorima [168](#).

Vitamin D3 i vitamin D2 u ljudskom organizmu prolaze 2 procesa aktivacije hidroksilacijom – prvu hidroksilaciju u jetri (CYP enzimi; 25-hidroksilaza) kojom nastaju 25(OH)D3 (kalcidiol) ili 25(OH)D2, potom drugu hidroksilaciju u proksimalnom tubulu bubrega (CYP27B1; 1 $\alpha$ -hidroksilaza) kojom nastaje biološki aktivni oblik 1,25(OH)D3 (kalcitriol) ili 1,25(OH)D2 (Slika 14.). Stanice mnogih tkiva sadrže 1 $\alpha$ -hidroksilazu (mišići, kolon, prostata, imunološki sustav, gušterača) te mali dio 1,25(OH)D nastaje i ekstrarenalno i ostvaruje autokrino/parakrino djelovanje [160](#). Enzim CYP24A1 (24-hidroksilaza) pretvara ga u inaktivni oblik. Kao pokazatelj dostatne količine vitamina D u organizmu koristi se određivanje 25-hidroksivitamina D u krvi jer ima dugi poluvijek od oko 2-3 tjedna, za razliku od poluvijeka 1,25-hidroksivitamina D koji iznosi 4-6 sati [169](#). Dok su izmjerene koncentracije 25(OH)D u krvi izražene u nmol/l (ng/ml), koncentracije 1,25(OH)D su oko 1000 puta niže i iznose 36-144 pmol/l (15-60 pg/ml). U krvi se 25(OH)D, 24,25(OH)D i 1,25(OH)D prenose vezani za vitamin D vežući protein (engl. *vitamin D-binding protein*, VDBP) i albumin (oko 10%), a samo je 0,03% 25(OH)D i 0,4% 1,25(OH)D nevezano (slobodno) u cirkulaciji [169](#).



Slika 14. Metabolizam vitamina D  
(Prema: Tietz, 2012. [169](#))

#### Faktori rizika za deficijenciju vitamina D

Faktori rizika za sniženu koncentraciju vitamina D u krvi su [161](#):

- genetski: rasa (crna), polimorfizmi koji utječu na aktivnost enzima uključenih u metabolizam, prijenosnik u krvi (VDBP) ili jezgreni receptor (VDR);
- vanjski: starija dob, pretilost, smanjena tjelesna aktivnost na otvorenome/smanjeno izlaganje suncu (odjeća), izrazito sjeverne i južne zemljopisne širine, zimski period, nedovoljan unos putem odgovarajuće hrane, povećane potrebe organizma (trudnoća, dojenje), bolesti koje dovode do malapsorpcije masti, bolesti jetre, bolesti bubrega, pojedini lijekovi (npr. glukokortikoidi, antiepileptici) i drugo.

U starijih osoba u dobi od 70 godina se pokazalo da imaju oko 25% 7-dehidrokolesterola u koži u usporedbi s mlađom odraslom osobom i stoga 75% smanjen kapacitet za stvaranje vitamina D u koži nakon sunčanja [161](#), a također i promijenjenu aktivnost bubrežnih hidroksilaza [170](#). Kod pretilih osoba prekomjerno abdominalno masno tkivo povećava rizik od deficijencije jer se u njemu pohranjuje vitamin D koji je topiv u mastima; prema jednom istraživanju u abdominalnom se masnom tkivu kod pretilih ljudi nalazi 4-400 ng/g vitamina D<sub>2</sub> i vitamina D<sub>3</sub>. Dodatno se pokazalo da

suplementacija vitamina D kod pretilih osoba ili izlaganje solariju tijekom istog vremenskog perioda kao kod nepretilih osoba dovodi do povećanja samo do 50% koncentracija vitamina D u krvi postignutih kod nepretilih osoba [159](#).

### 1.3.3 Mehanizmi djelovanja vitamina D

#### *Stanični učinci*

Vitamin 1,25-(OH)<sub>2</sub>D djeluje poput (drugih) steroidnih hormona, vežući se za i aktivirajući svoj jezgreni transkripcijski faktor VDR, te direktno i/ili indirektno regulira veliki broj gena (0,8-5% ukupnog genoma) važnih u različitim staničnim procesima (regulaciji rasta, popravku DNK, diferencijaciji, apoptozi, membranskom transportu, metabolizmu, adheziji stanica, oksidativnom stresu) [171](#). Vitamin D receptor (VDR) je prisutan u stanicama svih tkiva u ljudi, ali je njegova ekspresija varijabilna; tkiva koja ga sadrže vrlo malo ili ne sadrže su crvene krvne stanice, zreli striatalni mišići i visokodiferencirane stanice mozga poput Purkinjeovih stanica malog mozga. Pripada u razred jezgrenih transkripcijskih faktora, a nakon vezanja liganda 1,25-(OH)<sub>2</sub>D, VDR svoju funkciju ostvaruje većinom heterodimerizacijom sa RXR (sve tri izoforme), a moguća je i homodimerizacija (s VDR). Heterodimer VDR/RXR se svojom domenom s cinkovim prstima veže s VDRE (engl. *vitamin D responsive element*) promotorske regije na ciljnom genu nakon čega dolazi do slijeda vezanja sa složenim koaktivatorskim kompleksima, a potom do pristupanja bazalnih transkripcijskih faktora i RNK polimeraze II te početka transkripcije ciljnog gena. VDR (i 1,25-(OH)<sub>2</sub>D) također smanjuje transkripciju pojedinih gena (PTH, PTHrP, CYP27B1) vežući se kao homodimer ili VDR/RXR heterodimer na takozvane VDRE negativne (nVDRE) sekvence promotorske regije, sprječavajući transkripciju direktno ili nakon vezanja 1,25-(OH)<sub>2</sub>D kada dolazi do zamjene koaktivatorskih kompleksa sa korepresorima [171](#).

Osim genomskog djelovanja, 1,25-(OH)<sub>2</sub>D može ostvarivati i brze (sekunde do minute) negenomske učinke; obično prolazne promjene u transmembranskom transportu iona (poput kalcija i klorida) ili intracelularnim signalnim putevima (poput promjena u aktivnosti cAMP, protein kinaze A i C, fosfolipaze C, fosfatidilinozitol-3 kinaze i MAPK), za što je potrebno i prisustvo VDR-a. Negenomska i genomska djelovanja mogu komplementirati jedno drugo jer (brza) aktivacija sekundarnih *messengera* (ioni ili kalmodulin-ovisna kinaza) može aktivirati (npr. fosforilirati) VDR i amplificirati njegovo genomsko djelovanje. Dodatno, VDR može imati učinke neovisne o svom ligandu pogotovo u koži i imunološkom sustavu. Aktivirani VDR se može vezati i za druge transkripcijske faktore i tako indirektno negativno regulirati transkripciju gena ili na proteine (npr. I- $\kappa$ B kinazu  $\beta$ , c-jun,  $\beta$ -katenin, cAMP *response element-binding protein*) [172](#).

### *Klasični učinci vitamina D*

Najpoznatija odnosno „klasična“ uloga vitamina D odnosno njegovog aktivnog metabolita 1,25-(OH)<sub>2</sub>D je poboljšanje stvaranja i mineralizacije kostiju koju ostvaruje poticanjem apsorpcije kalcija i fosfata iz crijeva i bubrežnih kanalića, poticanjem aktivnosti osteoblasta u kostima, te smanjenjem lučenja paratiroidnog hormona (PTH) a time i smanjenjem njegovih (suprotnih) učinaka na kost odnosno poticanja aktivnosti osteoklasta i resorpcije kosti [171](#).

### *Neklasični učinci vitamina D*

Vitamin 1,25-(OH)<sub>2</sub>D osim što ostvaruje učinke u „klasičnim“ ciljnim tkivima i stanicama (koštano, bubreg, crijeva), također ima i neklasične učinke na normalne stanice (npr. imunološkog sustava, glatkih mišića i drugih tkiva) i maligne stanice, u kojima ostvaruje npr. imunomodulatorne, diferencijacijske, antiproliferacijske, proapoptičke i druge učinke [171](#). Genomski antineoplastični učinci putem VDR-a uključuju primjerice:

- modulacija intracelularnih kinaznih puteva p38, MAPK, ERK i PI3K, povećanje ekspresije p21 i p27, smanjenje ekspresije ciklin-ovisne kinaze, ciklina, Myc i RB, smanjenje mitogenog signaliziranja IGF1 povećanjem ekspresije IGFBP3, povećanje ekspresije inhibitora rasta TGFβ (antiproliferacijski učinci);
- povećanje proapoptotskog gena BAX, smanjenje antiapoptotskog gena bcl-2, povećana osjetljivost na zračenje i kemoterapiju (indukcija apoptoze);
- diferencijaciju stanica mijeloidne leukemije u monocite, povećanje ekspresije diferencijacijskih faktora poput kazeina, adhezijskih proteina, lipida, PSA, faktora diferencijacije prostate i E-kadherina, regulacija β-katenina (stimulacija diferencijacije);
- smanjenje sinteze i djelovanja prostaglandina inhibicijom ekspresije COX2, receptora prostaglandina i povećanjem ekspresije 15-hidroksiprostaglandin dehidrogenaze, inhibicija signaliziranja NF-κB i p38 stres kinaze regulacijom MAPKP5 i smanjenje stvaranja proinflamatornih citokina (antiinflamatorni učinci);
- smanjenje ekspresije MMP9, aktivatora plazminogena, tenascina C, α6 i β4 integrina, povećanje ekspresije TIMP1 - tkivnog inhibitora metaloproteinaza 1 i E-kadherina (inhibicija invazije i metastaziranja);
- smanjenje HIF1α, IL-8, VEGF, i PGE<sub>2</sub> (inhibicija angiogeneze) [173](#).

### **1.3.4 Vitamin D i metabolički sindrom**

Brojne bolesti dovode se u vezu s deficijencijom vitamina D kao što su dijabetes tipa 1 i tipa 2, arterijska hipertenzija, multipla skleroza, autoimune bolesti, reumatoidni artritis, infektivne bolesti,



neurološke bolesti, psorijaza, astma, osteoartritis, preeklampsija, različite vrste raka i druge [161](#), [173](#). Deficijencija 25-hidroksivitamina D (25-hidroksikolekalciferola; 25(OH)D) smatra se i jednim od faktora rizika (nakon prilagodbe za ITM) za dijabetes [174-177](#) i arterijsku hipertenziju [178](#), odnosno MetS [60](#), kao i pojedine s njim povezane kardiovaskularne bolesti i ishode. Međutim, iako postoje i pojedina ispitivanja suplementacije vitamina D koja su pokazala smanjenje rizika za MetS [179](#) što bi upućivalo na uzročno-posljedičnu povezanost, podaci su nekonzistentni [180](#). Adipociti nastaju proliferacijom i diferencijacijom preadipocita a VDR receptor je u stanicama masnog tkiva izražen u ranoj adipogenezi i vitamin D ima ulogu u njenom razvoju. Također, vitamin D ostvaruje inhibitorne učinke na renin-angiotenzin-aldosteron sustav i utječe na funkciju endotelnih stanica koje osim VDR receptora izražavaju i enzim  $1\alpha$ -hidroksilazu odgovornu za stvaranje biološki aktivnog oblika vitamina D [181](#).

Koncentracija 25-hidroksikolekalciferola negativno korelira sa ITM-om kod zdravih [182](#) i osoba s rakom uključujući i dojke [183](#), koncentracijom glukoze natašte i CRP-om kod osoba s MetS-om [184](#), te pozitivno s HDL-om [185](#). Koncentracija 25(OH)D je inverzno povezana i s koncentracijom triglicerida, ukupnog kolesterola, omjerom ukupni kolesterol/HDL, inzulina i inzulinskom rezistencijom [186](#). Dodatno, jedna je studija provedena u Japanu pokazala sezonsku varijaciju (zimi veću) prevalencije MetS-a kod istih ispitanika što bi podupiralo ulogu vitamina D u MetS-u, dok druga istraživanja provedena u populacijama drugih regija svijeta ne sugeriraju sezonsku varijaciju MetS-a ili je ona bila suprotna (ljeti veća) [181](#).

Nadalje, ispitivanja kod ljudi su pokazala da 25-hidroksivitamin D može imati ulogu u antitrombotskoj homeostazi jer je inverzno povezan s koncentracijom tkivnog aktivatora plazminogena, D-dimera i fibrinogena [187](#).

### **1.3.5 Vitamin D i karcinom dojke**

Pojedinačne epidemiološke studije i metaanalize povezuju više koncentracije vitamina D u serumu (i uzimanje suplemenata) sa smanjenim rizikom razvoja karcinoma dojke premenopausalno [188](#) i postmenopausalno [189](#), te pojedinih drugih (npr. epitelnih tumora; kolona i prostate) u različitim populacijama zemalja širom svijeta [38-42](#), [161](#), [190](#). Smatra se da vitamin D djeluje protektivno i antineoplastički potičući diferencijaciju i pokazujući proapoptičke, antiangiogene i imunomodulatorne učinke [161](#), [171](#), [191-193](#). Međutim, unos vitamina D hranom nije se pokazao povezan sa smanjenjem rizika za rak dojke [194](#). U nekoliko je studija pokazana inverzna povezanost unosa vitamina D hranom kod postmenopausalnih žena i gustoće mamografskog nalaza [195](#), [196](#) koji je rizični faktor za rak dojke, ali su nalazi postojanja povezanosti u drugim studijama bili nekonzistentni [197](#), [198](#). Inverznu povezanost je pokazala i metaanaliza prospektivnih studija koja je zaključila da snižene koncentracije 25(OH)D povećavaju rizik od Ca dojke kod postmenopausalnih žena a koncentracije povezane s protektivnim učinkom su iznosile 67,5-87,5 nmol/l (27-<35 ng/ml) iznad kojih je bila

prisutna naznaka plato učinka <sup>199</sup>. Izračunato je da kod pretilih osoba deficijencija vitamina D s 40% pridonosi riziku od raka dojke <sup>200</sup>. Pojedine opservacijske studije sugeriraju da suplementacija vitamina D (većinom svakodnevno i uz kalcij) smanjuje rizik od raka dojke kod postmenopauzalnih žena koje uzimaju HNT <sup>201</sup>.

S obzirom da je za nastanak i djelovanje aktivnog oblika vitamina D u organizmu osim koncentracije vitamina D u krvi važno nekoliko drugih faktora (aktivnost enzima CYP27B1 i CYP24A1, prijenosnik u krvi, jezgreni receptori VDR i RXR), provedene su studije koje su promatrale učinak pojedinih od ovih čimbenika na rizik od Ca dojke i nalazi pojedinih studija pokazuju vezu s povećanim rizikom npr. kod polimorfizma CYP24A1 od ER negativnog Ca dojke kod afro-američkih žena <sup>202</sup> ili kod polimorfizma VDR-a <sup>203</sup>, dok druge nisu našle povezanost <sup>204</sup> ili ona nije bila značajno izražena <sup>205</sup>.

Kod žena s novodijagnosticiranim Ca dojke nekoliko je studija pokazalo da žene s deficijencijom 25(OH)D imaju lošija prognostička obilježja Ca dojke, što podupire hipotezu da vitamin D može smanjiti rizik razvoja tumora s agresivnijim karakteristikama i lošijom prognozom. U jednoj od studija premenopauzalne žene s deficijencijom 25(OH)D (38,5% svih bolesnica; 33% premenopauzalne, 41% postmenopauzalne) imale su viši stadij, ER negativne i trostruko negativne karcinome <sup>155</sup>, a u drugoj (deficijencija u 24% bolesnica) su imale kraće preživljenje do povrata bolesti kod luminalnog A i B podtipa (n=310) <sup>157</sup>. Prema podvrstama Ca dojke niže srednje vrijednosti koncentracije 25(OH)D imale su bolesnice s trostruko negativnim karcinomima <sup>206, 207, 155</sup>, te bolesnice s ER– Ca dojke <sup>207</sup>.

#### *Prognostički utjecaj na ishode kod karcinoma dojke i nadoknada vitamina D*

Metaanaliza 30 prospektivnih studija pokazala je da su visoke koncentracije vitamina D povezane s boljim preživljenjem kod raka dojke <sup>208, 209</sup>. Pregled studija upućuje da deficijencija vitamina D doprinosi mortalitetu od raka dojke kod pretilih žena za oko 16% <sup>210</sup>.

Kod bolesnica s Ca dojke i metastazama u kostima nađena je vrlo visoka prevalencija (ne navodi se %) deficijencije vitamina 25(OH)D uz srednju vrijednost u krvi oko 38 nmol/l (15,3 ng/ml) <sup>211</sup>. Ispitivanje na životinjskom mišjem modelu pokazalo je da su se kod deficijencije vitamina D osteolitičke lezije kostiju stanične linije raka dojke pojavile ranije i bile su veće <sup>212</sup>. Slično je opaženo i kod bolesnica za prehranu deficijentnu kalcijem <sup>213</sup>, a budući da je inhibicija resorpcije kosti bitan čimbenik u smanjenju rasta metastaza raka dojke u kosti <sup>214, 215</sup>, to je jedan od mogućih mehanizama djelovanja vitamina D. Pojedini autori sugeriraju čak i moguću prediktivnu vrijednost serumske koncentracije 25(OH)D vezano za (ne)postizanje patološkog kompletnog odgovora <sup>216, 217</sup>.

Nadoknada vitamina D kod žena s Ca dojke na terapiji inhibitorom aromaze može znatno smanjiti bol u zglobovima ako se postignu koncentracije  $\geq 100$  nmol/l 25(OH)D <sup>218, 219</sup>. Suplementacija vitaminom D (<10.000 IU/tjedno ili > 10.000 IU/tjedno) ukazala je na poboljšanje preživljenja bez povrata bolesti kod HER2 nemetastatskog raka dojke <sup>220</sup>.

### Vitamin D i kemoprevencija

Proveden je znatan broj ispitivanja suplementacije vitamina D u prevenciji i nakon dijagnoze raka dojke koja pokazuju pozitivne učinke njegove suplementacije, no djelotvornost, optimalno doziranje i potrebna koncentracija u krvi 25(OH)D koju je potrebno postići nisu nedvojbeno utvrđeni [221](#). Suplementacija vitamina D i kalcija kod postmenopauzalnih žena osim za rak dojke pridonosi smanjenju rizika od različitih vrsta raka [222](#). Vitamin D se razmatra u mogućoj primjeni kao kemopreventivna tvar za rak dojke, uz pojedine druge tvari poput tamoksifena, inhibitora aromataze [223](#), NSAIL-a i drugih (Tablica 5.) za koje postoje slabiji dokazi ili rezultati istraživanja nisu konzistentni. Primjerice za metformin su pojedine studije pokazale da smanjuje rizik od razvoja raka uključujući Ca dojke kod dijabetičara, zbog čega se također razmatra kao kemopreventivna tvar [224](#).

S obzirom da su se RXR i VDR jezgreni receptori (i drugi) pokazali važnima u razvoju ER-stanica dojke i transformaciji u ER- tumore [225](#), kod tumora s negativnim hormonskim receptorima i kod HER2+ istražuje se i primjena reksinoida koji se vežu za RXR (engl. *retinoid X receptors*) receptore, kao i vitamina D i njegovih analoga [226](#) koji se vežu za VDR receptore, koji su u animalnim modelima pokazali pozitivne učinke.

Međutim, od navedenih tvari jedino tamoksifen i raloksifen (selektivni modulatori estrogenskih receptora) imaju (u SAD-u) odobrenu indicaciju primjene kao lijeka u žena koje imaju visoki rizik od nastanka raka dojke radi smanjenja tog rizika [224](#).

Tablica 5. Mehanizmi supresije tumora i primjeri potencijalnih kemopreventivnih tvari za rak

Mehanizam	Kemopreventivne tvari
Hvatanje radikala kisika	Polifenoli (kurkumin, genistein), selen, tokoferol (vitamin E)
Inhibicija metabolizma arahidonske kiseline	N-acetilcistein, NSAIL-i (aspirin), polifenoli, tamoksifen
Modulacija transdukcije signala	NSAIL-i, retinoidi, tamoksifen, genistein, kurkumin
Modulacija aktivnosti hormona/faktora rasta	NSAIL-i, retinoidi, kurkumin, tamoksifen
Inhibicija aktivnosti onkogeni	Genistein, NSAIL-i, monoterpeni (D-limonen, perilil alkohol)
Inhibicija metabolizma poliamina	2-difluorometilornitin, retinoidi, tamoksifen
Indukcija terminalne diferencijacije	Kalcij, retinoidi, <b>vitamin D<sub>3</sub></b>
Indukcija apoptoze	Genistein, kurkumin, retinoidi, tamoksifen

Prema: *Oxford Handbook of oncology* [227](#)

## 1.4 Poveznice između vitamina D, metaboličkoga sindroma i karcinoma dojke

Rak dojke, deficijencija vitamina D i MetS dijele pojedine rizične faktore od kojih su neki dobro evidentirani poput starije životne dobi i povišene tjelesne mase/pretilosti, dok su drugi s nešto manjom razinom dokaza poput nedovoljne tjelesne aktivnosti, neuravnotežene prehrane i smjenskog rada noću; koji ujedno dovode do smanjene izloženosti suncu i smanjenog unosa vitamina D hranom (Tablica 6.).

Epidemiološki promatrano, rak dojke je širom svijeta najčešći rak u žena, uz porast godišnjeg broja novih slučajeva i češće javljanje u razvijenijim zemljama svijeta, te s najčešćim javljanjem u starijoj životnoj dobi. Prevalencija metaboličkog sindroma u svijetu također raste, pogotovo u razvijenijim zemljama i sa životnom dobi. Porast broja slučajeva i raka dojke i MetS-a prate trend porasta prosječne životne dobi populacije u razvijenijim zemljama svijeta, dok je deficijencija vitamina D globalno čest nalaz u starijoj životnoj dobi i češća u žena.

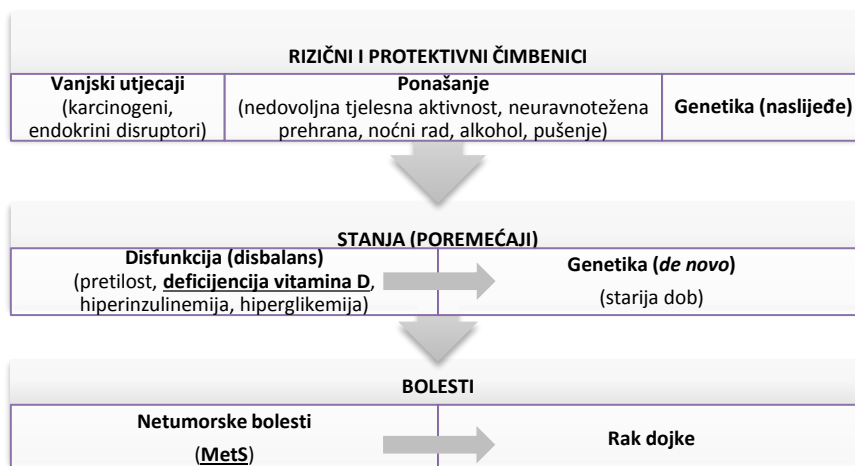
Tablica 6. Usporedba čimbenika rizika (ne uključujući genetske) za razvoj karcinoma dojke, metaboličkoga sindroma i deficijencije vitamina D

Čimbenici rizika	Karcinom dojke	Metabolički sindrom	Deficijencija vitamina D
Pojedinačni čimbenici – dostatni dokazi	- starija dob, prekomjerna tjelesna težina/pretilost <sup>69</sup> , - IARC Skupina 1: alkoholna pića, dietilstilbestrol, estrogen/progesteron kombinirani kontraceptivi, estrogen/progesteron menopauzalna terapija, rentgensko i gama zračenje, - IARC Skupina 2 <sup>34</sup> : estrogenska menopauzalna monoterapija, digoksin, etilenoksid, poliklorirani bifenili, rad u noćnim smjenama koji dovodi do prekidanja cirkadijanog ritma, pušenje duhana	- starija dob, prekomjerna tjelesna težina/pretilost, nedovoljna tjelesna aktivnost, neuravnotežena prehrana (previše soli, masti i kalorija, premalo voća i povrća) <sup>47</sup> , - psihološki faktori i socioekonomske determinante; kronični stres (također povezan s nezdravim navikama, uključujući pušenje, prekomjernu konzumaciju alkohola) <sup>228, 229</sup>	- starija dob, prekomjerna tjelesna težina/pretilost, zimski period, visoke zemljopisne širine, nedovoljna tjelesna aktivnost i noćne smjene (manjak izloženosti suncu), neodgovarajuća prehrana (nedovoljan unos vitamina D) <sup>161</sup>
Pojedinačni čimbenici – slabiji dokazi	- nedovoljna tjelesna aktivnost, neuravnotežena prehrana (previše masti i kalorija, premalo voća i povrća) <sup>36</sup> , <b>deficijencija vitamina D</b> <sup>40, 188, 189, 230</sup> , <b>MetS</b> <sup>44</sup> , kronični stres <sup>231, 232</sup> , dodatni endokrini disruptori <sup>233</sup>	- rad u noćnim smjenama (koji dovodi do prekidanja cirkadijanog ritma) <sup>234</sup> , <b>deficijencija vitamina D</b> <sup>60</sup> , metabolički disruptori (obesogeni, dijabetogeni) <sup>235, 236</sup>	- endokrini disruptori <sup>237</sup>
Zajednički čimbenici	Starija dob, prekomjerna tjelesna težina/pretilost, nedovoljna tjelesna aktivnost, neodgovarajuća prehrana, prekomjerna konzumacija alkohola, pušenje duhana, rad u noćnim smjenama, kronični stres, endokrini disruptori		
Zajednički čimbenici		Prekomjerna tjelesna težina/pretilost, starija dob, nedovoljna tjelesna aktivnost (i manji boravak na suncu), neuravnotežena prehrana (i nedovoljan unos vitamina D), rad u noćnim smjenama, endokrini disruptori	
Zajednički čimbenici	Starija dob, prekomjerna tjelesna težina/pretilost, nedovoljna tjelesna aktivnost, neuravnotežena prehrana, rad u noćnim smjenama, endokrini disruptori		

Snižene koncentracije 25(OH)D [38-42](#), [230](#) i prisustvo MetS-a [44](#), [45](#), [72](#), kao i nekih sastavnica MetS-a (dijabetesa [70](#), pretilosti [69](#), arterijske hipertenzije [77](#), sniženog HDL-a [78](#), povišenih triglicerida [43](#)), zasebno se prethodnim opservacijskim (uključujući prospektivnim) istraživanjima kao i metaanalizama dovode u vezu sa povišenim rizikom od razvoja raka dojke u različitim populacijama žena u svijetu. U nekim od navedenih istraživanja za MetS i njegove komponente, povišen je rizik za rak dojke pokazan samo za postmenopauzalne žene (za pretilost, arterijsku hipertenziju, sniženi HDL, povišene trigliceride), dok druge studije ne nalaze povezanost ili čak upućuju na sniženi rizik od raka dojke kod premenopauzalnih žena uz MetS, pretilost i povišene trigliceride [80](#). Deficijencija vitamina D povezuje se s povećanim rizikom za rak dojke u obje subpopulacije žena s obzirom na status menopauze ali uz konzistentnije podatke za postmenopauzalni rak dojke od javljanja u premenopauzi.

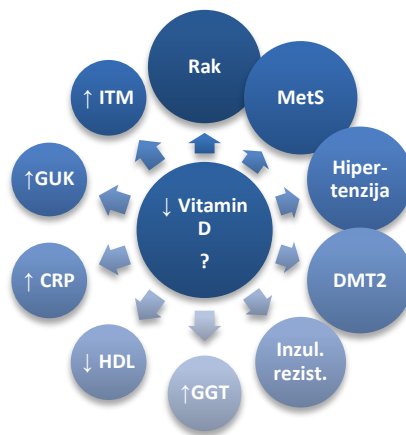
Dodatno, snižene koncentracije 25(OH)D dovode se u vezu i s povećanim rizikom za razvoj MetS-a, kao i sastavnica MetS-a (dijabetesa [174](#), [175](#), [177](#), arterijske hipertenzije [178](#)). U prethodnim je studijama pokazano da je koncentracija 25(OH)D negativno povezana sa pojedinim komponentama MetS-a; indeksom tjelesne težine u žena koje nemaju rak [182](#), kao i bolesnika s rakom, uključujući rak dojke [183](#), koncentracijom glukoze u plazmi i CRP-a kod osoba s MetS-om [184](#), ukupnim kolesterolom, omjerom ukupni kolesterol/HDL, LDL-om, inzulinom i inzulinskom rezistencijom kod žena [186](#). Iako se snižene koncentracije 25(OH)D koje su često prisutne kod centralne pretilosti objašnjavaju njegovim nakupljanjem u masnom tkivu (s obzirom da je vitamin topiv u mastima), deficijencija vitamina D često nije prisutna uz MetS [238](#). Suprotno tome, deficijencija vitamina D nije rijedak nalaz i kod osoba bez MetS-a i s normalnim ITM-om [239](#), [240](#).

Pretragom literature nije nađena studija koja je istraživala razinu rizika od razvoja raka dojke kod žena koje imaju istodobno prisustvo i deficijencije vitamina D i MetS-a ili neke od komponenti MetS-a. Međutim, nađena je jedna prospektivna studija koja je istraživala rizik za rak prostate i koja je pokazala da pojedine sastavnice MetS-a (povišen ITM, arterijska hipertenzija, sniženi HDL) povećavaju rizik za pojavu raka prostate samo ako ih je istovremeno prisutno više (klasteriranje) plus prisutva snižene koncentracije vitamina 25(OH)D [74](#).



Slika 15. Razvoj raka dojke, deficijencije vitamina D i MetS-a

Nadalje, nađeno je nekoliko studija provedenih u žena s novodijagnosticiranim Ca dojke koje su pokazale da lošije prognostičke karakteristike imaju žene s deficijencijom 25(OH)D i žene s MetS-om, promatrajući ih odvojeno. U tim studijama, u žena s prisutnim MetS-om češće su bili prisutni viši stadiji, pozitivni limfni čvorovi [87](#) i trostruko negativni tumori [88](#), dok su u žena s deficijencijom 25(OH)D opaženi veći stadij, češći ER negativni tumori, trostruko negativni tumori [155](#), [206](#), viši stadiji, pozitivni limfni čvorovi [241](#), [242](#) i veći tumori [243](#), [244](#). Prema pregledanim bazama podataka nije provedena studija koja je promatrala prognostičke karakteristike novodijagnosticiranoga raka dojke uz istodobno prisustvo i deficijencije vitamina D i MetS-a. Stoga je fokus ovog istraživanja analizirati utječu li oba stanja na prisustvo lošijih prognostičkih obilježja raka dojke, odnosno je li nalaz samostalni učinak jednog od ova dva stanja s naglaskom na deficijenciju 25(OH)D (Slike 15. i 16).



Slika 16. Rak i komponente MetS-a s kojima se povezuje deficijencija vitamina D

## 2) HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA

### 2.1 Hipoteza

U trenutku postavljanja dijagnoze karcinoma dojke, žene s deficijencijom 25-hidroksikolekalciferola (<50 nmol/l) imat će lošije kliničke nalaze Ca od žena s  $\geq 50$  nmol/l 25(OH)D, a lošija prognostička obilježja Ca imat će žene s deficijencijom 25(OH)D i MetS-om u odnosu na žene sa samo MetS-om.

### 2.2 Ciljevi

*Opći cilj:* Kod žena s novodijagnosticiranim Ca dojke identificirati koje su od promatranih obilježja Ca u asocijaciji s deficijencijom 25(OH)D, pojedinačno i u kombinaciji s MetS. Evaluirati odnos deficijencije 25(OH)D i MetS-a s obilježjima Ca dojke kod postavljanja dijagnoze, odnosno jesu li češći kod Ca s lošijim obilježjima i imaju li žene s istodobnom deficijencijom 25(OH)D i MetS lošije prognostičke čimbenike od žena sa samo jednim od navedenih stanja.

*Specifični ciljevi:* Utvrditi da li je 25-hidroksikolekalciferol (neovisan) dijagnostički biljeg koji je u asocijaciji s obilježjima Ca dojke.

Od kliničkih nalaza bit će promatrani MetS, HDL, LDL, trigliceridi, GUK natašte, ITM, opseg struka, sistolički i dijastolički krvni tlak, GGT, CRP, a od obilježja tumora ER, PR, HER2, Ki-67, vrsta tumora (Tm), stupanj diferencijacije, broj i ukupna veličina Tm, broj pozitivnih limfnih čvorova, vaskularna i perineuralna invazija.

### 2.3 Očekivani znanstveni doprinos predloženog istraživanja

Kod žena s novodijagnosticiranim Ca dojke dobit će se podaci o:

- Obilježjima Ca dojke kod žena s istodobnom deficijencijom 25(OH)D i MetS u usporedbi s obilježjima kod žena sa samo jednim od navedenog, što može ukazivati na njihov udružen učinak i nije do sada istraživano u svijetu.
- Prevalenciji deficijencije 25(OH)D i MetS, što omogućava usporedbu s općom populacijom u RH kod žena za pretilost, centralnu pretilost, arterijsku hipertenziju i dijabetes, te procjenama za MetS. Prevalencija deficijencije 25(OH)D u RH nije poznata za opću populaciju i sve regije, a u populaciji bolesnica s rakom dojke u RH nije do sada određivana i ovaj rad prvi promatra i prevalenciju deficijencije 25(OH)D u toj populaciji, što je dodatan vrijedan podatak s obzirom na dosadašnje spoznaje o mogućem pozitivnom doprinosu suplementacije 25(OH)D tijekom liječenja. Također će se dobiti podaci o razlikama u premenopauzalnoj i postmenopauzalnoj prevalenciji deficijencije 25(OH)D i MetS.

- Izvor podataka za buduća istraživanja (uključujući i populacije iz istraživanja). Podaci prikupljeni u ovom istraživanju mogu biti izvor podataka u nekom sljedećem istraživanju za naknadnu usporedbu promatranih parametara s preživljenjem pacijentica i možda mogu pokazati prognostičku vrijednost, jednog ili više njih u kombinaciji (kao kod npr. *Glasgow prognostic score*, kojeg čine CRP i albumin [245](#)).



### 3) BOLESNICE I METODE

#### 3.1 Metodologija

##### 3.1.1 Pretraga literature

Pretražene su baze podataka: PubMed, Ovid, Scopus, Hrčak, CROSB, Cochrane, Google Scholar, Google Books, stručne knjige, popis referenci u pronađenoj literaturi, tražilice hrvatskih medicinskih časopisa, registara zdravstvenih i populacijskih podataka te svjetskih organizacija (SZO, IARC, NIH/NCI, IDF i dr.) za rak dojke, sastavnice MetS-a i vitamin D; do rujna 2018.g., putem ključnih engleskih i hrvatskih riječi: *25-hydroxy-, -vitamin D, -cholecalciferol, deficiency, breast, cancer, risk, factors, metabolic syndrome, hypertension, glucose intolerance, diabetes, overweight, obesity, dyslipidemia, cholesterol, HDL, triglycerides, chronic inflammation, oxidative, stress, GGT, CRP, BMI, prevalence, incidence, women, biopsy, physical activity, alcohol, circadian rhythm, smoking, endocrine disruptor, supplementation, systematic, review, meta-analysis* i drugih.

##### 3.1.2 Ispitanice

Kriterij za uključanje u istraživanje bile su odrasle žene (18 godina i starije) s patohistološki (PHD) novodijagnosticiranim Ca dojke s primarno operabilnim tumorima, pokretne, a koje nisu bile prethodno liječene i bile su voljne sudjelovati u akademskom istraživanju. Kriteriji za isključenje bili su trudnoća, poznato oštećenje funkcije bubrega ili jetre zbog mogućeg utjecaja na neke od promatranih parametara (npr. koncentraciju CRP, GGT, 25(OH)D), te žene koje nisu bile voljne sudjelovati u istraživanju. Žene koje su prethodno ili trenutno uzimale vitamin D kao lijek ili suplement mogle su sudjelovati ali su se za njih u analizi koristile više granične vrijednosti koncentracije 25(OH)D u serumu za definiranje deficijencije (definirano pod Dizajn i metode). Kriterij za isključenje nakon početka studije bilo je povlačenje pristanaka za sudjelovanje u ispitivanju i nedostajanje nekog od promatranih laboratorijskih ili PHD nalaza.

##### ***Etičko odobrenje***

Prije početka istraživanja dobiveno je odobrenje Etičkoga povjerenstva Medicinskog fakulteta u Zagrebu (02/21-LJH) te Etičkoga povjerenstva KBC Sestre milosrdnice (EP-14280/16-22). Svakoj bolesnici detaljno je usmeno i pismeno objašnjena akademska svrha i način provođenja znanstvenog istraživanja te su prije uključivanja u istraživanje potpisale informirani pristanak.

### 3.1.3 Dizajn i metode

Dizajn istraživanja je presječan (engl. *cross-sectional*), a podaci su prikupljeni prospektivno od žena s novodijagnosticiranim Ca dojke koje su ispunjavale uključne kriterije i bile su konsektivno zaprimljene radi prvog liječenja na dva kirurška odjela Zavoda za kiruršku onkologiju Klinike za tumore Kliničkoga bolničkoga centra Sestre milosrdnice, u razdoblju od prosinca 2016.g. do kolovoza 2017.g. Nakon potpisanog informiranog pristanka a prije liječenja, pacijentice su upitane o rutinskim anamnestičkim i dodatnim podacima (menopauza, uzimanje HNL, rak dojke u obitelji i dr. poznati rizici za Ca dojke, prethodna biopsija tumora dojke, MetS komponente, osteoporoza i druge bolesti), podaci o prethodno uzimanim lijekovima i suplementima (uključujući vitamin D i kalcij) i životnim navikama (prehrana uključujući hranu koja je izvor vitamina D, fizička aktivnost uključujući na otvorenome uz izloženost Suncu, kontinuirani stres), metodom samoispunjavanja upitnika sastavljenog za ovu svrhu (Prilog III). U periodu provođenja istraživanja hrana se u RH obično nije obogaćivala vitaminom D, osim rijetkih vrsta mlijeka i mliječnih proizvoda, ali je za značajan utjecaj na koncentraciju 25(OH)D potrebno adekvatno izlaganje Suncu uslijed čega potiče >90% 25(OH)D u krvi [159](#).

#### *Pretrage i mjerenja*

Svi promatrani parametri istraživanja određeni su jednom prije početka terapije. Izmjereni su visina (u metrima; m), tjelesna težina (kilogrami; kg), opseg (centimetri; cm) struka (mjereno odmah ispod umbilikusa) i bokova (mjereno u liniji velikih trohantera femura tj. najšireg područja stražnjice [246](#)), sistolički i dijastolički krvni tlak (u mmHg), a podaci su upisani u isti upitnik. Opseg struka i bokova je mjereno koristeći istu vrstu graduirane neelastične trake u stojećem položaju na ravnoj podlozi. Tjelesna težina je mjerena u bolničkoj odjeći. Mjerenje opsega struka odmah ispod umbilikusa većinom odgovara preporukama SZO-a, budući da je pokazano kako mjerenje u razini umbilikusa blago podcjenjuje izmjereni opseg [246](#). Krvni tlak je mjereno jednom, nakon što je hospitalizirana pacijentica bila u sjedećem položaju najmanje 15 minuta, koristeći redovito kalibrirani tlakomjer.

Prikupljeni su jutarnji uzorci venske krvi natašte, radi laboratorijske analize vrijednosti 25-hidroksikolekalciferola (25(OH)D), HDL, LDL, triglicerida, glukoze natašte, kalcija, CRP i GGT. Uzorci krvi su centrifugirani ubrzo nakon prikupljanja, a uzorci seruma su pohranjeni u alikvotima na minus 80°C u Kliničkoj jedinici za medicinsku biokemiju u onkologiji Klinike za tumore do uključnja posljednje pacijentice, a analizirani su za koncentracije 25(OH)D u kolovozu 2017.g. Laboratorijska analiza 25-hidroksikolekalciferola provedena je koristeći Roche Elecsys dijagnostički test (odabran jer ima najniži detekcijski limit za 25(OH)D od 7,5 nmol/l u usporedbi s drugim razmatranim testom), na analizatoru Cobas 411 i nakon procedure kalibracije testa. Biokemijski nalazi za MetS (HDL, LDL, trigliceridi, glukoza natašte, CRP, GGT) su određeni odmah nakon prikupljanja

(iz nepohranjenih uzoraka seruma). CRP je analiziran koristeći uobičajenu laboratorijsku metodu, odnosno ne koristeći tzv. *high sensitivity* (hsCRP) metodu.

### 3.1.4 Definicije

#### Deficijencija 25-hidroksikolekalciferola

Kao pokazatelj dostatne količine vitamina D u organizmu koristilo se određivanje 25-hidroksivitamina D u krvi jer ima dugi poluvijek od oko 2-3 tjedna, za razliku od poluvijeka 1,25-hidroksivitamina D koji iznosi 4-6 sati <sup>169</sup>.

Deficijencija 25(OH)D definirana je kao serumske koncentracije 25(OH)D <50 nmol/l (20 ng/ml), s obzirom da za ovu graničnu vrijednost postoji najveći konsenzus kao (in)suficijentnih koncentracija <sup>247</sup> za ishode kod raka <sup>248</sup>. Neki autori predlažu i veće koncentracije ovisno o promatranoj bolesti/stanju <sup>161, 248</sup>, te smatraju koncentraciju 25(OH)D 50-75 nmol/l insuficijentnom.

#### Metabolički sindrom

Postoji nekoliko definicija MetS-a odnosno određenih graničnih vrijednosti pojedinih komponenti MetS-a, prema nekoliko zdravstvenih organizacija: Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (SZO), Europskoj grupi za ispitivanje inzulinske rezistencije (engl. *European Group for the Study of Insulin Resistance*; EGIR), Nacionalnom edukacijskom programu za kolesterol – III Panelu o liječenju odraslih (engl. *National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III*; NCEP ATPIII), Američkom udruženju kliničkih endokrinologa (engl. *American Association of Clinical Endocrinologists*; AACE), Međunarodnoj federaciji za dijabetes (engl. *International Diabetes Federation*; IDF) <sup>47</sup>, Američkoga udruženja za srce/Nacionalog instituta za srce, pluća i krvotvorni sustav (engl. *American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute*; AHA/NHLBI) <sup>48</sup>, a vidljiva je promjena definicija tijekom vremena te ovisno o organizaciji i promatranoj populaciji (npr. američka populacija naspram svjetske) (Tablica 7.).

Tablica 7. Razlike u dijagnostičkim kriterijima za MetS <sup>47</sup>

Parametri	Kriteriji (godina)					
	IDF (2006)	AHA/NHLBI (2005) barem 3 kriterija:	AACE (2003)	NCEP ATPIII (2002) barem 3 kriterija:	EGIR (1999)	SZO (1998)
<b>Inzulinska rezistencija</b>			IGT ili IFG (ali ne DM) <b>+ barem još 1 kriterij:</b>		Inzulin u plazmi >75-e percentile <b>+ barem još 2 kriterija:</b>	IGT, IFG, DMT2 ili ↓ osjetljivost na inzulin* <b>+ barem još 2 kriterija:</b>
↑ GUK	≥5,6 mmol/l (uključujući DM)	≥5,6 mmol/l ili uzimanje terapije		≥6,1 mmol/l (uključujući DM)	IGT ili IFG (ali ne DM)	IGT, IFG, DMT2
↑ Tjelesna težina	↑ OS (cm specifični za populaciju) <b>+ barem još druga 2 kriterija:</b>	OS m. ≥102 cm, ž. ≥88 cm	ITM ≥25 kg/m <sup>2</sup>	OS m. ≥102 cm, ž. ≥88 cm	OS m. ≥94 cm, ž. ≥80 cm	Omjer struk-bokovi m. >0,90, ž. >0,85, i/ili ITM >30 kg/m <sup>2</sup>
↑ Krvni tlak	≥130 mmHg sist. ili ≥85 mmHg dijast. ili antihipertenziv	≥130 mmHg sist. ili ≥85 mmHg dijast. ili antihipertenziv	≥130/85 mmHg	≥130/85 mmHg	≥140/90 mmHg ili antihipertenziv	≥140/90 mmHg

↑↓ Lipidi	↑ TG ≥1,7 mmol/l ili terapija za ↑TG ili	↑ TG ≥1,7 mmol/l ili terapija za ↑TG	TG ≥1,7 mmol/l i	TG ≥1,7 mmol/l i/ili	TG ≥1,7 mmol/l i/ili	TG ≥1,7 mmol/l i/ili
	↓ HDL-C m. <1,03 mmol/l, ž. <1,29 mmol/l, ili uzimanje terapije	↓ HDL-C m. <1,03 mmol/l, ž. <1,29 mmol/l, ili uzimanje terapije	HDL-C m. <1,03 mmol/l, ž. <1,29 mmol/l	HDL-C m. <1,03 mmol/l, ž. <1,29 mmol/l	HDL-C m. i ž. <1,0 mmol/l	HDL-C m. <0,9 mmol/l, ž. <1,0 mmol/l
Drugo			Obiteljska anamneza DMT2, sindrom policističnih jajnika, sjedilački način života, starija dob, etničke skupine sklone DMT2			Mikroalbuminurija: brzina urinarne ekskrecije >20 mg/min ili omjer albumin : kreatinin >30 mg/g

\*mjereno u hiperinzulinemijskim euglikemijskim uvjetima, preuzimanje glukoze ispod najniže kvartile u ispitivanoj populaciji  
IGT - *Impaired Glucose Tolerance*, IFG - *Impaired Fasting Hyperglycemia*, DMT2 - dijabetes melitus tip 2, OS - opseg struka

Prema IDF-u definirane granične vrijednosti opsega struka uzimaju u obzir regionalne odnosno populacijske razlike u konstituciji i zastupljenosti pretilosti prema spolu i regiji svijeta (Tablica 8.) <sup>47</sup>.

Tablica 8. Granične vrijednosti opsega struka prema spolu i regiji svijeta prema IDF-u <sup>47</sup>

Regija / rasa	Granične vrijednosti opsega struka		Napomena
	Žene (cm)	Muškarci (cm)	
<b>Europljani</b>	≥80	≥94	
u SAD-u	≥88	≥102	NCEP ATP III vrijednosti
Južna Azija, Kinezi, Japanci	≥80	≥90	
Južna i centralna Amerika	≥80	≥90	južnoazijske vrijednosti do specif. podataka
Subsaharska Afrika	≥80	≥94	europske vrijednosti do specif. podataka
Istočni mediteran i srednji istok	≥80	≥94	europske vrijednosti do specif. podataka

Odabir definicije MetS-a je važan jer različite definicije mogu pokazati različite rezultate prevalencije MetS-a i njenih sastavnica u populaciji u istraživanju <sup>49</sup>. Ispitivanje inzulinske rezistencije, kojeg zahtijevaju kriteriji prema ACE, EGIR i SZO, ne provodi se rutinski u praksi te se za definiranje bolesnika koje imaju MetS u ovim istraživanju neće primjenjivati ovi kriteriji, koji su ujedno i starijeg datuma s obzirom na definirane granične vrijednosti pojedinih sastavnica MetS-a (npr. krvnog tlaka, HDL, ITM kao mjere tjelesne težine). Najjednostavnije pretrage za kliničku primjenu u dijagnosticiranju MetS-a su definirane kriterijima prema IDF, AHA/NHLBI i NCEP ATP III (jednostavno mjerenje fizičkih parametara i brze laboratorijske pretrage), a kao obavezni kriterij za MetS zahtijevaju abdominalnu pretilost budući da ona snažno korelira sa inzulinskom rezistencijom te nju zato nije potrebno mjeriti. Međutim, američki kriteriji prema AHA/NHLBI i NCEP ATP III definiraju veći opseg struka za žene (i muškarce) odnosno ≥88 cm <sup>48</sup> (Tablica 8.) i zato nisu prikladni za primjenu u europskoj (hrvatskoj) populaciji. Prethodno navedeni kriteriji definiranja MetS-a prema IDF-u su i najnovijeg datuma, stoga će se u ovom radu koristiti IDF definicija kriterija za europsku populaciju, uz sljedeće granične vrijednosti za žene <sup>47</sup>;

- centralna pretilost odnosno opseg struka ≥80 cm (prisutan je uz ITM otprilike >30 kg/m<sup>2</sup>),

uz barem još 2 faktora:

1) trigliceridi ≥1,7 mmol/l (≥150 mg/dl) ili uzimanje terapije za hipertrigliceridemiju, ili

HDL <1,29 mmol/l (<50 mg/dl) ili uzimanje odgovarajuće terapije (tj. promatrani su kao 1 faktor),

2) povišen krvni tlak; sistolički  $\geq 130$  mmHg ili dijastolički  $\geq 85$  mmHg, ili uzimanje antihipertenzivne terapije, te

3) GUK (natašte)  $\geq 5,6$  mmol/l ( $\geq 100$  mg/dl) ili dijagnoza dijabetesa tipa 2 (Tablica 7.).

U deskriptivnom prikazu prevalencija individualnih komponenti MetS-a korišteni su isti kriteriji IDF-a. Na temelju mjerenja visine i težine izračunati su i ITM ( $\text{kg/m}^2$ ), omjer opseg struka-bokovi i opseg struka-visina. U različitim populacijama ali i pojedinačno mogu postojati razlike u konstituciji i tjelesnoj visini, stoga osim mjerenja samog opsega struka, postoje i prijedlozi određivanja drugih mjera centralne pretilosti kao prediktora bolesti poput MetS-a i KV bolesti. Druge mjere centralne pretilosti osim opsega struka uključuju određivanje omjera struka naspram bokova <sup>246</sup> ili omjera struka naspram visine (indeks centralne pretilosti <sup>249</sup>), te će se u radu izračunati i ovaj omjer, iako rezultati ispitivanja njihovog prediktivnog značaja nisu bila konzistentna za sve sastavnice MetS-a.

### *Patohistološki nalazi*

Nakon operacije, uzorci tkiva primarnog tumora dojke (fiksirani u formalin, uklopljeni u parafin) analizirani su na Kliničkoj jedinici za citologiju Klinike za tumore za uobičajena patohistološka obilježja raka dojke koristeći imunohistokemijske (IHC), *in situ* hibridizacijske testove (za HER2) i Ki-67 test <sup>12</sup>:

- estrogenski receptor (ER; % i kategorizirajući kao +/- za  $\geq 1\%$  odnosno  $< 1\%$  jezgreno obojanih stanica), progesteronski receptor (PR; % i kao +/- za  $\geq 20\%$ / $< 20\%$ ), status receptora 2 humanog epidermalnog faktora rasta (HER2; pozitivan za 3, negativan za 0 i 1; za 2, Inform HER2 dual SISH Ventana metoda omjer HER2/CEP17 i HER2 broj kopija su korišteni za određivanje +/-),
- proliferacijski marker Ki-67 (% ukupnih tumorskih stanica, te kategorizirajući kao  $< 20\%$  ili  $\geq 20\%$ ),
- *in situ* i intrinzični tip invazivnih tumora (invazivni luminalni A (s ER+ i PR+, HER2- i Ki-67  $< 20\%$ ), luminalni B (s ER+, HER2- i PR- ili  $< 20\%$  ili Ki-67  $\geq 20\%$ ; ili ER+, HER2+ i bilo koji PR i Ki-67), HER2 (s ER-, PR- i HER2+) ili trostruko negativni tip/*basal-like* (ER-, PR- i HER2-)) prema St. Gallen konsenzusu <sup>13</sup>,
- histološki gradus (G1, G2 ili G3; prema Nottingham sustavu gradiranja), histološki tip (prema SZO klasifikaciji), broj mitozu (po 10 'high power fields'), gradus jezgre (1, 2, 3),
- broj multifokalnih i multicentričnih tumora (odvojeno za invazivne i *in situ* lezije), limfovaskularna i perineuralna invazija (zasebno, prisutne ili ne, ako nije naznačeno tada označeno kao nije prisutno),
- veličina tumora (promjer mjeren mikroskopski, u cm), broj pozitivnih limfnih čvorova (ukupno, uz sentinel), patološka klasifikacija (kategorije pT određene mikroskopski prema invazivnoj komponenti, pN, i pM ako postoji),
- dojka prema strani tijela (lijeva, desna, obje).

Pri ocjeni histološkog gradusa ocjenjuju se tri obilježja tumora – stvaranje tubula kao izraz glandularne diferencijacije, pleomorfizam jezgara i broj mitozu (ukupni broj mitozu na 10 vidnih polja

velikog povećanja), a prema dobivenom ukupnom skorom gradus može biti G1 za dobro diferencirani, G2 za umjereno diferencirani i G3 za slabo diferencirani tumor koji je agresivniji te većeg rizika od povrata bolesti i lošije prognoze (Tablice 9. i 10.). Marker proliferacije je osim broja mitoz, koji se određuje tijekom procjene histološkog gradusa i uključen je u njega, i Ki-67 (s graničnim vrijednostima <20% naspram  $\geq 20\%$  što ukazuje na agresivnija obilježja i koristi se u definiranju luminalnih B podtipova tumora dojke).

Tablica 9. Nottinghamski sustav stupnjevanja karcinoma dojke (modifikacija Scarff-Bloom-Richardson sustava prema Elstonu i Ellisu)

Bodovi	Pleomorfizam jezgara	Formiranje tubula	Broj mitoz
1	minimalna varijacija veličine i oblika jezgara	>75% tumora	0-9/10 HPF
2	umjerena varijacija veličine i oblika jezgara	10-75% tumora	10-19/10 HPF
3	naglašena varijacija veličine i oblika jezgara	<10% tumora	$\geq 20/10$ HPF

HPF- vidno polje velikog povećanja (engl. *High Power Field*)

Tablica 10. Histološki gradus

Histološki gradus (G)	Zbroj bodova
<b>GX</b> Gradus se ne može procijeniti	-
<b>G1</b> Nizak kombinirani histološki gradus (povoljan)	3-5 bodova
<b>G2</b> Intermedijarni kombinirani histološki gradus (umjereno povoljan)	6-7 bodova
<b>G3</b> Visok kombinirani histološki gradus (nepovoljan)	8-9 bodova

Multifokalna bolest definirana je kao prisutnost multiplih sinhronih lezija u istom kvadrantu dojke, a multicentrična bolest kao prisustvo i u drugim kvadrantima dojke <sup>12</sup>. Za prisutne multifokalne ili multicentrične tumore određeni su njihovi najlošiji TNM anatomske i patološke prognostičke stadiji kao i druga najlošija obilježja: histološki i jezgri gradusi, Ki-67%, status ER/PR/HER2, limfovaskularna i perineuralna invazija, histološki tip, ukupni broj pozitivnih limfnih čvorova. Posebno za invazivne i *in situ* tumore, određeni su najveći promjer tumora kao najširi promjer najveće tumorske lezije. Pacijenti koji su imali i invazivni i *in situ* tumor ubrojani su jednom pod invazivne tumore, kao i jedna bolesnica s mikroinvazivnim tumorom. Postotak pozitivnosti za ER/PR i Ki-67 i status HER2 određen je iz tumorskog tkiva dobivenog nakon operativnog zahvata, neovisno od njihovim postotcima pozitivnosti dobivenima prethodno u uzorku iz prethodne biopsije, osim u slučajevima kada nakon operacije nisu ponovno određivani kada je pripisan nalaz prethodne biopsije.

Druga rutinska patohistološka obilježja tumora (npr. E-kadherin, androgenski receptor, nekroza, mikrokalifikacije, p63, citokeratini CK 5/6, CK14, C7, itd.) nisu predmet ovog istraživanja i analizirani su samo kod nekih bolesnica kada je bilo potrebno ovisno o tumorskim obilježjima.

### Stupnjevanje bolesti

Prema patološkim, kliničkim i radiološkim nalazima, određeni su patološki i anatomske prognostičke stadiji koristeći 8. izdanje AJCC (Tablica 11. i 12.). Ako su kod bolesnice potvrđene

udaljene metastaze Ca dojke metodama oslikavanja unutar 3 mjeseca of postavljanja dijagnoze (odnosno nakon prve hospitalizacije i uključenja u studiju), TNM stadij je smatran kao 4. stadij (posljednja pretraga elektroničkih medicinskih zapisa bolesnica provedena je u ožujku 2018.g.).

Tablica 11. Sažetak TNM klasifikacije raka dojke (Prilog II.)

Tis	Karcinom <i>in situ</i> , neinfiltrirajući intraduktalni Ca ili Pagetova bolest bradavice bez vidljivog tumora
T0	Nema dokaza primarnoga tumora
T1	Tumor <2 cm
T2	Tumor >2 cm ali <5 cm
T3	Tumor >5 cm
T4	Bilo koja veličina uz širenje na zid prsnoga koša ili kožu
T4a	Fiksacija samo na zid prsnoga koša
T4b	Edem, infiltracija ili ulceracija kože; ipsilateralni satelitni čvorovi
T4c	Prisutno oboje pod a i b
NX	Ne mogu se procijeniti regionalni limfni čvorovi
N0	Nema metastaza u regionalne limfne čvorove
N1	Ipsilateralne metastaze u aksilarne limfne čvorove koji su pomični
N2	Ipsilateralne metastaze u aksilarne limfne čvorove koji su fiksirani
N3	Ipsilateralne metastaze u limfne čvorove a. mammarie interne koji su fiksirani
M0	Nema znakova udaljenih metastaza
M1	Udaljene metastaze

Tablica 12. AJCC anatomske stadij/prognostičke

Stadij	T	N	M
<b>0</b>	Tis	N0	M0
<b>IA</b>	T1	N0	M0
<b>IB</b>	T0, T1	N1mi	M0
<b>IIA</b>	T0, T1	N1	M0
	T2	N0	M0
<b>IIB</b>	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
<b>IIIA</b>	T0, T1, T2	N2	M0
	T3	N1, N2	M0
<b>IIIB</b>	T4	N0, N1, N2	M0
<b>IIIC</b>	Bilo koji T	N3	M0
<b>IV</b>	Bilo koji T	Bilo koji N	M1

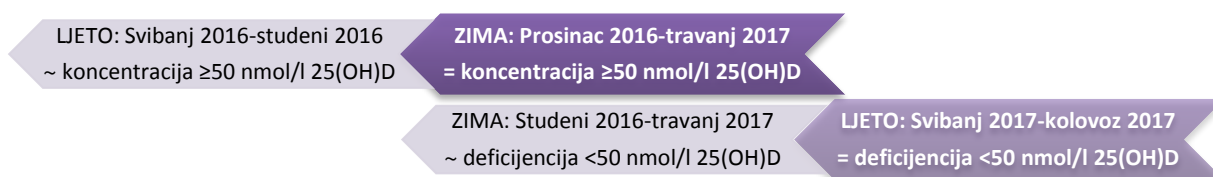
### Perimenopauza

Status perimenopauze definiran je kao navođenje bolesnice u dobi  $\leq 55$  godina da je u menopauzi manje od godinu dana, ili s neredovitim menstruacijama ili bez njih  $\geq 3$  mjeseci uz posljednju menstruaciju unutar manje od godinu dana, ili uzimanje lijekova/pripravaka za perimenopauzalne simptome (npr. naleti vrućine) unutar manje od godine dana.

### Ljetni i zimski periodi

Iz sinteze u koži potječe >90% vitamina D <sup>159</sup>. Sunčani 'ljetni' period (svibanj do listopad; odnosno kolovoz - posljednji mjesec uključivanja u ovu studiju) uzorkovanja krvi i nesunčani 'zimski' period (studen i travanj) uzorkovanja definirani su prema zemljopisnoj širini na kojoj se nalazi RH (između 42°2' i 46°3') i sunčanim 'ljetnim' mjesecima u kojima je sinteza vitamina D u koži dovoljno stimulirana sunčevim svjetlom (zbog kuta Zemlje prema Suncu) i očekivanoj sezonskoj varijaciji 25(OH)D <sup>159</sup>; koncentracija vitamina D najviša je u ljeto i ranu jesen, a najniža u kasnu zimu i rano proljeće <sup>250</sup>. Promjenu (smanjenje) u izlaganju UVB-u slijedi odgovarajući pad u koncentraciji 25(OH)D nakon 6-8 tjedana <sup>162</sup>.

Za očekivati je da su žene koje imaju deficijentnu koncentraciju 25(OH)D <50 nmol/l u 'ljetnom' periodu uzorkovanja svibanj-listopad imale i deficijentnu koncentraciju 25(OH)D tijekom prethodnog 'zimskog' perioda (tj. dužeg perioda - unazad pola godine), kada nije bila moguća sinteza vitamina D u koži. Također, i da su žene koje imaju 'normalnu' koncentraciju 25(OH)D  $\geq$ 50 nmol/l u 'zimskom' periodu uzorkovanja studeni-travanj imale i normalnu koncentraciju 25(OH)D tijekom prethodnog 'ljetnog' perioda, kada je bila moguća sinteza vitamina D u koži (Slika 17.). Stoga je napravljena i analiza podataka između žena koje su u ove dvije navedene kategorije (tj. deficijentne <50 nmol/l 25(OH)D u 'ljetnom' periodu i 'suficijentne'  $\geq$ 50 nmol/l 25(OH)D u 'zimskom' periodu) radi uvida u robusnost dobivenih rezultata za duži period deficijentnog statusa vitamina D.



Slika 17. Subanaliza prema ljetnom i zimskom periodu uzorkovanja

#### *Definicije rizičnih faktora za rak dojke korištene za prilagodbu*

Rizični faktori za Ca dojke iz anamnestičkih podataka korišteni za prilagodbu u statističkoj analizi su hormonska nadomjesna terapija i/ili kontracepcija najmanje 5 godina, rana menarha prije 12 godine, nerađanje ili prvi porod nakon 30-te godine života, dojenje manje od 12 mjeseci, prethodno ili trenutno pušenje i pojavnost karcinoma jajnika ili dojke u obiteljskoj anamnezi <sup>8</sup> (Tablica 3.).

### **3.2 Statističke metode analize podataka**

U statističku analizu uključene su 203 pacijentice (detaljniji opis pacijentica nalazi se u dijelu 4. Rezultati; Deskriptivna statistika). Najmanji broj bolesnica za uključenje u studiju određen je kao 200 u ukupnoj populaciji, očekujući više postmenopauzalnih žena zbog epidemiologije Ca dojke. Ovaj broj omogućuje otkrivanje razlika obilježja novodijagnosticiranog Ca dojke nađenih u prethodnim studijama koje su odvojeno istraživale MetS; u kojima su opaženi statistički češći viši stadiji, pozitivni limfni čvorovi (n=105; postmenopauzalno) <sup>87</sup> i trostruko negativni tumori (TNT-i) (n=176; pre- (P) i postmenopauzalno (M) <sup>88</sup>); ili deficijenciju 25(OH)D u kojima su opaženi TNT-i (n=91; P i M <sup>206</sup>), viši stadij, pozitivni limfni čvorovi (n=200; P i M <sup>241</sup>), veći tumori (n=200; P i M <sup>243</sup>). Radi uračunavanja broja (<10%) kasnijih eventualnih isključenja bolesnica iz studije ili nedostajanja promatranog podatka, broj bolesnica za uključenje u studiju je određen kao 215. Broj isključenja zbog povlačenja pristanka sudjelovanja iz ove akademske studije procijenjen je kao vrlo mali budući da je studija neintervencijska, neinvazivna, u jednoj točki promatranja i presječnog dizajna, kao i broj isključenja



zbog nedostajanja nekog od promatranih podataka na kraju studije budući da je istraživanje provedeno prema planskom algoritmu uz iste suradnike za analizu uzoraka kroz cijelu studiju. Godišnji broj bolesnica s novootkrivenim rakom dojke koje se liječe na Klinici za tumore iznosi više od 20% ukupnog broja novih slučajeva godišnje u RH, a bolesnice su iz svih krajeva RH, iako većinom iz zapadnijeg dijela RH. Izračunati broj bolesnica čini reprezentativan uzorak za Hrvatsku, prema veličini odnosno broju novih slučajeva Ca dojke (~8% od oko varijabilnih 2600 novih slučajeva godišnje) i regijama stanovanja bolesnica, za ukupnu (premenopauzalnu i postmenopauzalnu) populaciju Ca dojke u žena. Statistička značajnost definirana je kao P-vrijednost <0,05. Pri obradi podataka korišten je program MedCalc software package (Mariakerke, Belgium) verzija 18.11.

### *Deskriptivna statistika*

Deskriptivna statistika uključuje anamnestičke podatke populacije, uključujući rizične faktore u uključenoj populaciji za Ca dojke, podatke prevalencije za deficijenciju 25(OH)D, MetS i individualne komponente MetS-a, te obilježja tumora dojke, prema statusu menopauze (P i M). Prikazane su i žene (P i M) koje trenutno žive u urbanim (>10.000 stanovnika) i polu-/ruralnim naseljima (prema Državnom zavodu za statistiku [251](#) koristeći podatke Popisa stanovništva 2011. [252](#)), kao i kontinentalnim i mediteranskim regijama [253](#), prema prisustvu deficijencije 25(OH)D i MetS-a.

Status perimenopauze analiziran je kao premenopauzalni Ca dojke jer je najveći dio karcinogeneze nastao tijekom premenopauze. Žene koje su navele da trenutno ili povremeno uzimaju vitamin D u obliku lijeka ili suplementa su u analizi smatrane deficijentne za 25(OH)D ako je koncentracija 25(OH)D iznosila  $\leq 70$  nmol/l uz ITM <25 ili  $\leq 55$  nmol/l uz ITM  $\geq 25$ , neovisno o 'zimskom' ili 'ljetnom' periodu uzorkovanja i navedenoj anamnezi osteoporoze/osteopenije, jer je pokazano da je ITM obrnuto povezan s promjenom u serumskoj koncentraciji 25(OH)D tijekom suplementacije vitamina D [254](#). Budući da je krvni tlak mjeran samo jednom, u analizi je za bolesnice sa sistoličkim 130 mmHg ili dijastoličkim krvnim tlakom 85 mmHg (korištene IDF granične vrijednosti) koje nisu navele hipertenziju ili uzimanje antihipertenziva (12 bolesnica), to smatrana kao 'novootkrivena' hipertenzija samo ako je bilo praćeno opsegom struka  $\geq 100$  cm i/ili ITM  $\geq 30$  i/ili uz uzimanje lijeka s hipotenzivnim učincima za drugu dijagnozu (ukupno 4 bolesnice; 1 samo opseg struka, 1 samo ITM, 1 oboje, 1 uz verapamil za aritmiju s povišenom glukozom natašte i dob 80 g.), što je rezultiralo sa 2 pripisana slučaja MetS-a (1 u P, 1 u M populaciji).

### *Statističke metode analize podataka*

Statistička analiza je napravljena prema statusu deficijencije 25(OH)D, prisutnosti MetS-a i menopauze, uključujući i subanalizu deficijencije 25(OH)D prisutne tijekom „zimskog“ i „ljetnog“ perioda uzorkovanja. Potom se provela glavna statistička analiza koja se sastoji od multivarijatne analize provedene s ciljem određivanja je li istodobno prisustvo i deficijencije 25(OH)D i MetS-a, naspram samo jednog ili niti jednog od ova dva stanja, povezano sa lošijim prognostičkim obilježjima

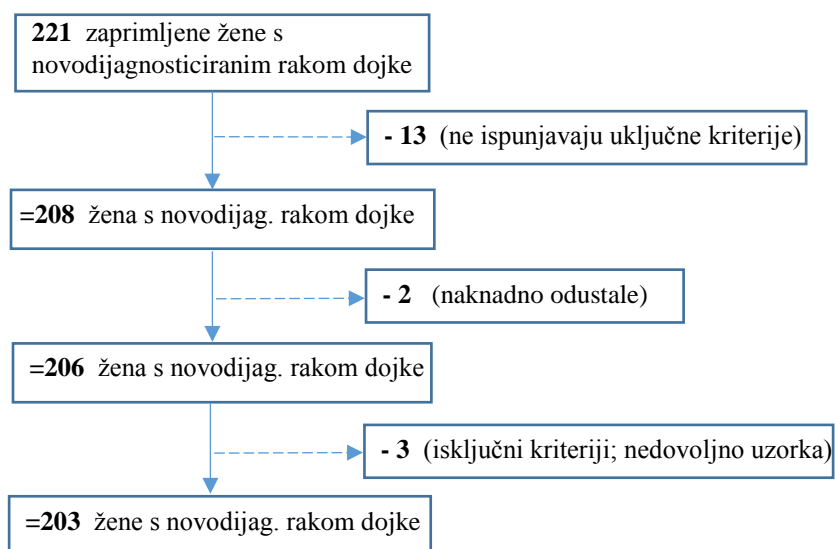
Ca dojke. Za ovu svrhu korištena je kombinirana usporedba uz sljedeće statističke testove: za medijan vrijednosti s rasponom Kruskal-Wallis test s Mann-Whitney *post hoc* testom i korekcijom, za srednje vrijednosti sa standardnom devijacijom (SD) ANOVA test s Tukey *post hoc* testom, za podatke prikazane kao n (%) hi-kvadrat test. Provedena je multinomialna logistička analiza za asocijaciju deficijencije 25(OH)D i MetS-a sa intrinzičnim tipovima tumora. U ovoj analizi, prilagodbe u analizi uključuju ITM, dob, status menopauze i poznate rizične faktore za Ca dojke [8](#), [34](#) dobivene iz anamnestičkih podataka.

Eksploratorna analiza korelacije serumske koncentracije 25(OH)D s komponentama MetS-a (HDL, LDL, trigliceridi, ITM, opseg struka, sistolički i dijastolički krvni tlak, CRP, GGT) napravljena je koristeći Spearmanov koeficijent korelacije i uz statističku značajnost  $P < 0,05$ .

## 4) REZULTATI

### 4.1 Deskriptivna statistika

Žene s novodijagnosticiranim karcinomom dojke zaprimljene su uzastopno na Zavod za kiruršku onkologiju Klinike za tumore u periodu od prosinca 2016. do kolovoza 2017.g., a ukupno je u istraživanju skriningirana 221, a u analizu su uključene 203 pacijentice. Od pacijentica uključenih u studiju, za 7 zaprimljenih žena je PHD analiza pokazala da se ne radi o Ca dojke (3 fibroadenoma, te po jedan papilarni duktalni adenom, adenoza, kronični upalni proces, 'biopsija negativna'). Dodatno, 6 pacijentica koje su skriningirane na samom početku studije je bilo prethodno liječeno (4 neoadjuvantna terapija, 2 kirurško liječenje) te stoga nisu ispunjavale uključne kriterije, 2 su naknadno odustale od sudjelovanja u istraživanju, a za 3 su nedostajali nalazi zbog nedovoljne količine izvađene krvi za pretrage, te su stoga ispunjavale isključne kriterije (Slika 18.).



Slika 18. Algoritam uključivanja bolesnica s novodijagnosticiranim rakom dojke

#### 4.1.1 Obilježja bolesnica

Od uključenih 203 bolesnica većina ih je bila u postmenopauzi, njih 66,5% (135 bolesnica), dok je 26,6% bilo u premenopauzi a 6,9% u perimenopauzi, a raspon godina iznosio je 28 do 87 godina (Tablica 14.), s medijanom od 59 godina. U ukupnoj populaciji bolesnica u istraživanju 48,3% žena imalo je prisutan MetS, dok je značajno veći udio postmenopauzalnih žena imalo MetS (65,4% naspram 15,7% premenopauzalnih). Deficijenciju 25(OH)D <50 nmol/l imalo je 55,1% svih bolesnica, od čega podjednako premenopauzalnih (58,5%) naspram (53,4%) postmenopauzalnih. Teška deficijencija 25(OH)D <25 nmol/l nađena je u 17,7% bolesnica. Istodobno prisutna deficijencija 25(OH)D i MetS nađena je kod većine postmenopauzalnih bolesnica 39,1% u usporedbi sa samo 8,6%

u premenopausalnoj skupini. Sastavnice MetS-a za pretilost, hipertenzija, dislipidemija i povišen GUK natašte bile su prisutne u oko polovice svih bolesnica (Tablica 13). Dvije bolesnice koje nisu brojane u MetS (prema postavkama ovog istraživanja) imale su obje definicije dislipidemije (sniženi HDL, povišeni TG) uz opseg struka 80 odnosno 99 cm bez ostalih komponenti MetS (LUM B, HER2–odnosno DCIS).

Od drugih bolesti u anamnezi, osteoporozu je navelo samo 13,3% bolesnica u menopauzi, a po većem udjelu u ukupnoj istraživanoj populaciji još se izdvajaju bolesti štitnjače prisutne u 17,7% žena, žučni kamenci u 18,7% i proširene vene prisutne u 15,3% bolesnica.

Tablica 13. Osnovna obilježja ispitivane populacije bolesnica

Obilježja	Ukupno	Pre-/peri-menopauza	Post-menopauza
Broj pacijentica	<b>n=203</b>	<b>n=70</b>	<b>n=133</b>
Dob (godine), medijan (raspon)	59 (28-87)	44 (28-55)	65 (47-87)
Status menopause, n (%):		70 (34,5)	133 (65,5)
Premenopauza	55 (27,1)		
Perimenopauza	15 (7,4)		
Postmenopauza	133 (65,5)		
Pretilost (struk $\geq 80$ cm), n (%):			
da	163 (80,3)	45 (64,3)	118 (88,7)
ne	40 (19,7)	25 (35,7)	15 (11,3)
Pretilost (struk $\geq 88$ cm), n (%):	120 (59,1)	24 (34,3)	96 (72,2)
Pretilost (ITM, kg/m <sup>2</sup> ), n (%):			
$\geq 30$	42 (20,7)	5 (7,1)	37 (27,8)
$\geq 25$ - $<30$	75 (36,9)	15 (21,4)	60 (45,1)
$<25$	86 (42,4)	50 (71,4)	36 (27,1)
Hipertenzija*, n (%):			
da	88 (43,3)	10 (14,3)	78 (58,6)
ne	96 (47,3)	55 (78,6)	41 (30,8)
novootkrivena**	19 (9,4)	5 (7,1)	14 (10,5)
Hipertenzija ili 'novootkrivena' uz $\geq 140/\geq 90$ ili $\geq 135/\geq 85^s$ mmHg granice	103 (50,7)	13 (18,6)	90 (67,7)
Dijabetes*, n (%):			
da	20 (9,9)	1 (1,4)	19 (14,3)
ne	106 (52,2)	57 (81,4)	49 (36,8)
u trudnoći	2 (1,0)	2 (2,9)	-
novootkriveni**	75 (36,9)	10 (14,3)	65 (48,9)
*Povišen GUK natašte	94 (46,3)	11 (15,7)	83 (62,4)
Dislipidemija*, n (%):			
da	63 (31,0)	11 (15,7)	52 (39,1)
ne	101 (49,8)	50 (71,4)	51 (38,3)
novootkrivena**	39 (19,2)	9 (12,9)	30 (22,6)
*Povišeni trigliceridi ili terapija	79 (38,9)	6 (8,6)	73 (54,9)
*Sniženi HDL	47 (23,2)	9 (12,9)	38 (28,6)
Metabolički sindrom*, n (%):			
da	98 (48,3)	11 (15,7)	87 (65,4)
ne	105 (51,7)	59 (84,3)	46 (34,6)
25(OH)D, n (%):			
$\geq 75$ nmol/l	35 (17,3)	10 (14,3)	25 (18,8)
$\geq 50$ - $<75$ nmol/l	56 (27,6)	19 (27,1)	37 (27,8)
$\geq 25$ - $<50$ nmol/l	76 (37,4)	29 (41,4)	47 (35,3)
$<25$ nmol/l	36 (17,7)	12 (17,1)	24 (18,1)
25(OH)D deficijencija# i MetS:			
oboje	58 (28,6)	6 (8,6)	52 (39,1)
niti jedno	51 (25,1)	24 (34,3)	27 (20,3)
samo 25(OH)D deficijencija	54 (26,6)	35 (50)	19 (14,3)
samo MetS	40 (19,7)	5 (7,1)	35 (26,3)
25(OH)D deficijencija# uz ITM $<25$ :			
da	48 (23,6)	29 (41,4)	19 (14,3)
ne	155 (76,4)	41 (58,6)	114 (85,7)
Period uzorkovanja:			
Zima (Pros-Trav)	131 (64,5)	46 (65,7)	85 (63,9)
Ljeto (Svib-Kolo)	72 (35,5)	24 (34,3)	48 (36,1)
Osteoporozu/osteopenija <sup>s</sup> , n (%):	18 (8,9)	-	18 (13,3)
Bolest štitnjače, n (%):	36 (17,7)	7 (10,3)	29 (21,5)
Žučni kamenci, n (%):	38 (18,7)	7 (10)	31 (23,3)
Proširene vene, n (%):	31 (15,3)	4 (5,9)	27 (20)
Depresija, n (%):	15 (7,4)	4 (5,9)	11 (8,1)
Artritis/artroza, n (%):	14 (6,9)	1 (1,5)	13 (9,6)

Aritmije, n (%):	13 (6,4)	2 (2,9)	11 (8,1)
Gastritis ili čir, n (%):	10 (4,9)	1 (1,5)	9 (6,7)

\* Prema definicijama IDF-a za granične vrijednosti za komponente MetS-a: opseg struka  $\geq 80$  cm, za hipertenziju  $\geq 130$  sist. ili  $\geq 85$  mmHg dijast. krvni tlak, GUK natašte  $\geq 5,6$  mmol/l, za dislipidemiju trigliceridi  $\geq 1,7$  mmol/l ili HDL  $< 1,29$  mmol/l

\*\* Novootkrivene vrijednosti iznad graničnih prema IDF-u

# Serumske koncentracije 25(OH)D  $< 50$  nmol/l

§ Nema 'novootkrivenih' pacijentica s ovom vrijednosti

§ uključuje 4 žene koje navode uzimanje vitamina D ali ne i osteoporozu (jedna 44 i tri  $\geq 65$  god.)

Od rizičnih faktora za rak dojke prisutnih u anamnezi izdvaja se značajno veliki udio bolesnica (32,5%) koje su imale prisutan rak dojke ili jajnika u obitelji kod majke, sestre ili drugih rođakinja i upućuje na moguće postojanje određenih nasljeđenih mutacija gena koji povećavaju rizik za razvoj Ca dojke (Tablica 14.). Navedeno je bilo nešto izraženije (40%) u premenopauzalnih žena odnosno kod ranijeg javljanja raka dojke. Također je vrlo veliki udio žena u ukupnoj populaciji (62%) naveo postojanje nekog drugog raka u rođaka, što je bilo nešto zastupljenije u premenopauz. žena (68,6%).

Polovica (51,7%) bolesnica su nekada ili trenutno pušile cigarete, a dodatno je 23,2% žena navelo zračenje prsnog koša tijekom života više od 10 puta, 15,3% rad u noćnoj smjeni, ranu menarhu  $< 12$  godina navelo je 11,4% žena, a 8,4% ih je koristilo hormonsku nadomjesnu terapiju više od 5 godina. Dvostruko veći broj premenopauzalnih žena ima završenu višu edukaciju od srednje škole (51,4% naspram 21,1%), te su rjeđe/kasnije rađale ali su duže dojile. Podaci u Tablici 14. (i manjim dijelom u Tablici 13. i 15.) temelje se na anamnestičkim podacima za koje su pacijentice željele dati odgovor, te ne predstavljaju definitivne podatke jer različiti udio pacijentica nije dao odgovor na različita anamnestička pitanja, što je ubrojeno u nepostojanje rizičnog faktora za rak dojke.

Tablica 14. Rizični čimbenici bolesnica za rak dojke

Obilježja	(# nepoznato)	Ukupno n (%)	Pre-/peri-menopauza (%)	Post-menopauza (%)
		n=203	n=70	n=133
Hormonska nadomjesna terapija $\geq 5$ god.:	da	18 (8,9)	-	18 (13,5)
	(# 10) ne	185 (91,1)		115 (86,5)
Kontracepcija $\geq 5$ god.:	da	17 (8,4)	8 (11,4)	9 (6,8)
	(# 14) ne	186 (91,6)	62 (88,6)	124 (93,2)
Rana menarha ( $< 12$ g.):	da	23 (11,4)	8 (11,4)	15 (11,3)
	(# 1) ne	180 (88,7)	62 (88,6)	118 (88,7)
Kasna menopauza ( $> 55$ g.):	da	5 (2,5)	-	5 (3,8)
	(# 0) ne	197 (97)		127 (95,5)
Nulipara ili 1. dijete nakon 30 g.:	da	49 (24,1)	<b>25 (35,7)</b>	24 (18)
	(# 0) ne	154 (75,9)	45 (64,3)	109 (82)
Dojenje $< 12$ mjeseci:	da	155 (76,4)	46 (65,7)	109 (82)
	(# 0) ne	48 (23,6)	24 (34,3)	24 (18)
Pušenje (prethodno ili trenutno):	da	105 (51,7)	42 (60)	63 (47,4)
	(# 6) ne	98 (48,3)	28 (40)	70 (52,6)
Viša edukacija ( $>$ srednje škole):	da	75 (36,9)	<b>36 (51,4)</b>	28 (21,1)
	(# 6) ne	128 (63,1)	34 (48,6)	105 (78,9)
Rad u noćnim smjenama**:	da	31 (15,3)	11 (15,7)	20 (15)
	(# 10) ne	172 (84,7)	59 (84,3)	113 (85)
Konzumacija alkohola: tjedno/svakodnevno		27 (13,3)	9 (12,9)	18 (13,5)
	(# 87) povremeno/nikada	176 (86,7)	61 (87,1)	115 (86,5)
Rak dojke ili jajnika u rođaka*:	da	66 (32,5)	28 (40)	38 (28,6)
	(# 3) ne	137 (67,5)	42 (60)	95 (71,4)

Drugi rak dojke pacijentice / benigne promjene <sup>§</sup>	1 (0,5) 12 (5,9)	0 2 (2,9)	1 (0,8) 10 (7,5)
Ginekološki rak pacijentice / benigne promjene <sup>§§</sup>	2 (1) 54 (26,6)	1 (1,4) 18 (25,7)	2 (1,5) 35 (26,3)
Drugi rak pacijentice / benigne promjene <sup>§</sup> / bolest štitnjače	5 (2,5) 13 (6,4) 48 (23,6)	1 (1,4) 2 (2,9) 9 (12,9)	4 (3) 11 (8,3) 37 (27,8)
Drugi rak u rodaka <sup>§§</sup> :			
da	<b>126 (62,1)</b>	48 (68,6)	78 (58,4)
(# 4) ne	78 (38,4)	22 (31,4)	56 (42,1)
>10 zračenja toraksa:			
da	47 (23,2)	3 (4,3)	44 (32,6)
(# 0) ne	156 (76,8)	67 (95,7)	89 (66,9)

\* Majka, sestre, bake, rođakinje

\*\* Bilo kada u životu i bilo kojeg trajanja

# Broj bolesnica bez odgovora na pitanje

§ Rak: rak dojke (nije potvrđen u medicinskom kartonu); benigne: fibroadenomi, biopsija dojke, operacija dojke, benigni tumor dojke, cista dojke, sklerozirajuća adenoza

§§ Rak: rak cerviksa, rak jajnika (nisu potvrđeni u medicinskom kartonu); benigne: konizacija, polipi uterusa, podizanje maternice, operacija maternice i/ili ovarija, uklanjanje uterusa i/ili ovarija, operacija cerviksa maternice, miom maternice, cistadenom jajnika, cista jajnika, miom jajnika, polip cerviksa, endometriozna, ginekološka operacija, operacija Barth. žlijezde, cistitis jajovoda, preeklampsija, benigni tumor vulve, kiretaža

§ Rak: bronhijalni, mokraćnog mjehura, kože čela, melanom; benigne lezije: polip kolona, papilom pijelona, glomus tumor prsta, nespecificirani polip, nazalni polipi, nespecificirani miom, operacija nespecificiranog tumora prije 50 god., lipom vrata, operacija štitnjače, cista žlijezde slinovnice, ulcerativni kolitis; bolest štitnjače (uključujući Hashimoto) ili operacija

§§ Roditelji, sestre/braća, djed/baka, drugi rođaci

Žene iz mediteranskog dijela RH su činile manji dio (samo 10,3%) ispitanica u istraživanju, a većina je dolazila iz kontinentalnog dijela RH, te ih je 65,5% bilo iz Zagreba. Samo mali broj žena je naveo povremeno ili trenutno uzimanje vitamina D (9%) ili kalcija (5,3%) od kojih gotovo sve u menopauzi. Značajan udio bolesnica (75,4%) je bilo iz urbane sredine koja je povezana i s kasnijim rađanjem i rađanjem manjeg broja djece što je rizik za Ca dojke. Promatrajući prisustvo MetS-a i deficijencije 25(OH)D prema regijama i veličini naselja, razvidno je njihovo zasebno i zajedničko češće prisustvo u kontinentalnoj regiji RH i urbanim sredinama (Tablica 15.).

Tablica 15. Anamnestički podatci bolesnica u ispitivanju

Obilježja	Ukupno n (%)	Pre-/peri-menopauza (%)	Post-menopauza (%)
	n=203	n=70	n=133
Suplementacija vitamina D:			
trenutno/povremeno	13 (6,4)	1 (1,4)	12 (9)
ne (i nije navedeno)	190 (93,6)	69 (98,6)	121 (91)
Suplementacija kalcija:			
trenutno/povremeno	7 (3,4)	0	7 (5,3)
ne (i nije navedeno)	196 (96,6)	70 (100)	126 (94,7)
Urbana naselja*:			
da	150 (73,9)	51 (72,3)	99 (74,4)
ne	53 (26,1)	19 (27,7)	34 (25,6)
Regije RH**			
Kontinentalna	182 (89,7)	60 (85,7)	122 (91,7)
Mediterska	21 (10,3)	10 (14,3)	11 (8,3)
MetS po regijama:			
Kontinentalna	92 (45,3)	10 (14,3)	82 (61,7)
Mediterska	6 (3)	1 (1,4)	5 (3,8)
25(OH)D deficijencija po regijama:			
Kontinentalna	104 (51,2)	35 (50)	69 (51,9)
Mediterska	8 (3,9)	6 (8,6)	2 (1,5)
25(OH)D deficijencija & MetS po regijama:			

Kontinentalna	56 (27,6)	6 (8,6)	50 (37,6)
Mediterranska	2 (1)	0	2 (1,5)
MetS po veličini naselja:			
Urbana	69 (34)	5 (7,1)	64 (48,1)
Poluurbana/Ruralna	29 (14,3)	6 (8,6)	23 (17,3)
25(OH)D deficiencija po veličini naselja:			
Urbana	78 (38,4)	27 (38,6)	51 (38,3)
Poluurbana/Ruralna	34 (16,7)	14 (20)	20 (15)
25(OH)D deficiencija & MetS po veličini naselja:			
Urbana	38 (18,7)	3 (4,3)	35 (26,3)
Poluurbana/Ruralna	20 (9,8)	3 (4,3)	17 (12,8)

\* Trenutno žive u naselju >10.000 stanovnika (prema DZS, Popis stanovništva 2011.)

\*\* Kontinentalna: središnja RH i Slavonija; Mediteranska: Istra i Gorski kotar, Dalmacija, Lika (prema DZS)

#### 4.1.2 Obilježja raka dojke

Od histoloških obilježja invazivnih tumora dojke, najviše je duktalnih bez određenih karakteristika (84%), te lobularnih (10,7%), uz pojedinačne slučajeve drugih vrsta; mucinozni (2,7%), te po jedan neuroendokrini, papilarni, mikropapilarni, metaplastični i apokrini tip (Tablica 16.). Bilateralni tumori bili su prisutni u 3,5% slučajeva, a najveći je broj bolesnica imao TNM stadije 1 (47,8%) i 2 (37,9%) (Slika 19.).

Sveukupno su po intrinzičnom tipu tumora najučestaliji bili luminalni tip B (49,3%) od kojih je dvostruko veći udio činio HER– (33,5%) naspram HER+ (15,8%; češći premenopausalno) statusa, te luminalni tip A (30%), dok je udio trostruko negativnih iznosio 9,4% a HER2-tipa 2,5%.

Od karcinoma *in situ*, svi su bili duktalnog tipa, a od njih su 2 slučaja dodatno imala i Pagetovu bolest. Jedna je bolesnica imala mikroinvazivni karcinom uz karcinom *in situ* (Tablica 16.).

Tablica 16. Obilježja tumora dojke

Obilježje		Ukupno n (%)	Pre-/perimenopauza (%)	Postmenopauza (%)
		n=203	n=70	n=133
TNM stadij:	0	16 (7,9)	7 (10)	9 (6,8)
	1	97 (47,8)	33 (47,1)	64 (48,1)
	2	77 (37,9)	28 (40)	49 (36,8)
	3	12 (5,9)	2 (2,9)	10 (7,5)
	4	1 (0,5)	0	1 (0,8)
pT klasifikacija	0	16 (7,9)	7 (10)	9 (6,8)
	1mi	1 (0,5)	0	1 (0,7)
	1a	3 (1,5)	2 (2,9)	1 (0,7)
	1b	24 (11,8)	5 (7,1)	19 (14,3)
	1c	96 (47,3)	35 (50)	61 (45,9)
	2	56 (27,5)	21 (30)	35 (26,3)
	3	3 (1,5)	0	3 (2,3)
	4a	1 (0,5)	0	1 (0,7)
	4b	3 (1,5)	0	3 (2,3)
pN klasifikacija	0	146 (71,9)	50 (71,5)	96 (72,2)
	1	45 (22,2)	18 (25,7)	27 (20,3)
	2	7 (3,4)	1 (1,4)	6 (4,5)
	3	5 (2,5)	1 (1,4)	4 (3)
Tip tumora*:	DCIS (ER+/-)	14 (6,9) / 2 (1)	6 (8,6) / 1 (1,4)	8 (6) / 1 (0,7)
	Luminalni A	60 (29,6)	18 (25,7)	42 (31,6)
	Luminalni B, HER2–	68 (33,5)	21 (30)	47 (35,3)
	**Luminalni B, HER2+	34 (16,7)	15 (21,4)	19 (14,3)
	HER2 tip	5 (2,5)	2 (2,9)	3 (2,3)

Trostruko negativni	19 (9,4)	6 (8,6)	13 (9,8)
***Ostali (luminalni nepoznati tip)	1 (0,5)	1 (1,4)	0
Br. bolesnica i s invazivnim i <i>in situ</i> tumorima	18 (8,9)	15 (25,7)	3 (2,3)
Histološki tip invazivnih tumora:			
bez osobitosti (NOS)	157 (84)	54 (85,7)	103 (83,1)
lobularni	20 (10,7)	8 (12,7)	12 (9,7)
mucinozni	5 (2,7)	0	5 (4)
neuroendokrini	1 (0,5)	0	1 (0,8)
papilarni	1 (0,5)	0	1 (0,8)
mikropapilarni	1 (0,5)	0	1 (0,8)
apokrini	1 (0,5)	1 (1,6)	0
metaplastični	1 (0,5)	0	1 (0,8)
Strana tijela:			
desna	99 (48,7)	33 (47,1)	66 (49,6)
lijeva	97 (47,8)	35 (50)	62 (46,6)
obostrano	7 (3,5)	2 (2,9)	5 (3,8)
Veličina <i>in situ</i> tumora (cm; raspon)	0,5-12	0,5-12	0,9-7,5
Veličina invazivnih tumora (cm; raspon)	0,1-9	0,15-6	0,1-9
Histološki gradus			
1	22 (10,8)	7 (10)	15 (11,3)
2	114 (56,2)	40 (57,1)	74 (55,6)
3	67 (33)	23 (32,9)	44 (33,1)
Gradus jezgre			
1	2 (1)	0	2 (1,5)
2	121 (59,6)	44 (62,9)	77 (57,9)
3	80 (39,4)	26 (37,1)	54 (40,6)
n s pozitivnim limfnim čvorovima po stadiju (-/+):			
1	97 (100) / 0	33 (100) / 0	64 (100) / 0
2	32 (41,6) / 45 (58,4)	10 (35,7) / 18 (64,3)	23 (46,9) / 26 (53,1)
3	1 (8,3) / 11 (91,7)	0 / 1 (100)	1 (9,1) / 10 (90,9)
4	0 / 1 (100)	0 / 0	0 / 1 (100)
Invazija:			
limfovaskularna	29 (14,3)	9 (12,9)	20 (15)
perineuralna	8 (3,9)	3 (4,3)	5 (3,6)
obje	3 (1,5)	1 (1,4)	2 (1,5)
Prethodna dijagnostička biopsija <sup>#</sup>	139 (68,5)	49 (70)	90 (67,7)

\* Nije ubrojano prisutno: 3 Pagetove bolesti (2 u DCIS-u i 1 u Lum B/HER2+ tumoru), 5 fibroadenoma, 1 cista, 4 lobularne neoplazije, 1 LCIS

\*\* Uključuje 1 mikroinvazivni

\*\*\* Luminalni nespecificiranog intrinzičnog tipa (lobularni, nedovoljno uzorka, pacijentica nastavila liječenje u drugoj ustanovi)

<sup>#</sup> 17 bolesnica nije odgovorilo (ubrojene kao bez biopsije; 13 postmenopauzalnih, 4 premenopauzalne)

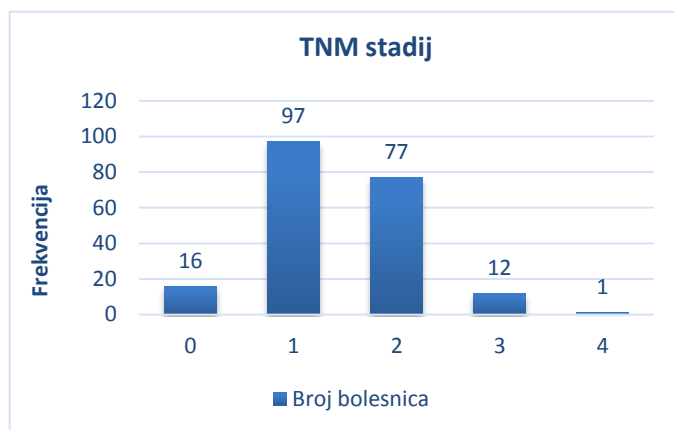
Prema intrinzičnim tipovima tumora, uz deficijenciju 25(OH)D češće su prisutni luminalni tip A i trostruko negativni tumori u svim skupinama bolesnica, što je zadržano i uz istodobno prisustvo MetS-a. Uz MetS su kod postmenopauzalnih žena češće prisutni luminalni A i luminalni B, HER2-, dok su uz MetS ovi tipovi tumora rjeđi kod premenopauzalnih žena, a dodatno i luminalni B, HER2+ (Tablica 17.).

Tablica 17. Deficijencija 25(OH)D i MetS-a prema intrinzičnim podvrstama tumora

Obilježja	Ukupno	Pre-/perimenopauza	Postmenopauza
	n (%)	(%)	(%)
	n=203	n=70	n=133
<b>25(OH)D deficijencija (da/ne):</b>			
DCIS	9 (56,2) / 7 (43,8)	5 (71,4) / 2 (28,6)	4 (44,4) / 5 (55,6)
Luminalni A	<b>39 (65) / 21 (35)</b>	<b>14 (77,8) / 4 (22,2)</b>	<b>25 (78,1) / 17 (11,9)</b>
Luminalni B, HER2-	33 (48,5) / 35 (51,5)	6 (28,6) / 15 (71,4)	27 (57,4) / 20 (32,6)
Luminalni B, HER2+	13 (38,2) / 21 (61,8)	9 (60) / 6 (40)	<b>4 (21,1) / 15 (78,9)</b>
HER2 tip	3 (60) / 2 (40)	2 (100) / 0	1 (33,3) / 2 (66,7)
Trostruko negativni	14 (73,7) / 5 (26,3)	4 (66,7) / 2 (35,3)	10 (76,9) / 3 (23,1)
Ostali (luminalni nepoznati tip)	1 (100) / 0	1 (100) / 0	0 / 0
<b>MetS (da/ne):</b>			
DCIS	8 (50) / 8 (50)	1 (14,3) / 6 (85,7)	7 (77,8) / 2 (22,2)

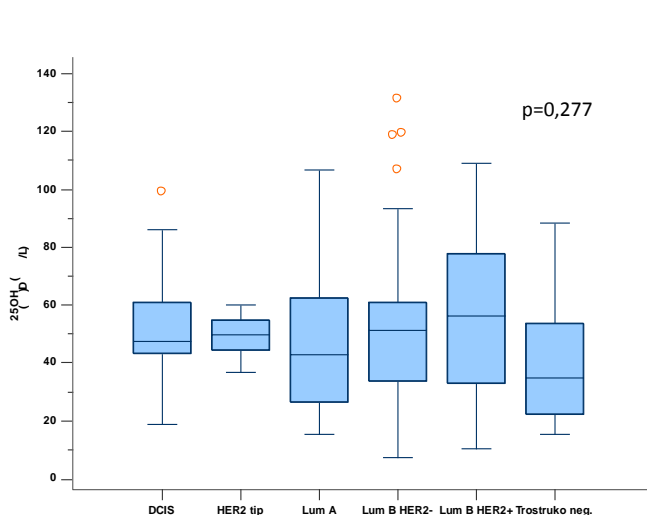


Luminalni A	31 (51,7) / 29 (48,3)	<b>3 (16,7) / 15 (83,3)</b>	<b>28 (66,7) / 14 (33,3)</b>
Luminalni B, HER2-	34 (50) / 34 (50)	0 / 21 (100)	<b>34 (72,3) / 13 (27,7)</b>
Luminalni B, HER2+	14 (41,2) / 20 (58,8)	<b>4 (26,7) / 11 (73,3)</b>	10 (52,6) / 9 (47,4)
HER2 tip	2 (40) / 3 (60)	0 / 2 (100)	2 (66,7) / 1 (33,3)
Trostruko negativni	9 (47,4) / 10 (52,6)	3 (50) / 3 (50)	6 (46,2) / 7 (53,8)
<b>25(OH)D deficiencija + MetS (da/ne): DCIS</b>	4 (57,1) / 3 (42,9)	1 (33,3) / 2 (66,7)	3 (75) / 1 (25)
Luminalni A	<b>19 (67,9) / 9 (32,1)</b>	2 (40) / 3 (60)	<b>17 (73,9) / 6 (26,1)</b>
Luminalni B, HER2-	23 (48,9) / 24 (51,1)	0 / 15 (100)	<b>23 (71,9) / 9 (28,1)</b>
Luminalni B, HER2+	<b>5 (29,4) / 12 (70,6)</b>	<b>2 (33,3) / 4 (66,7)</b>	<b>3 (27,3) / 8 (72,7)</b>
HER2 tip	1 (50) / 1 (50)	0 / 0	1 (50) / 1 (50)
Trostruko negativni	6 (75) / 2 (25)	1 (100) / 0	5 (71,4) / 2 (28,6)

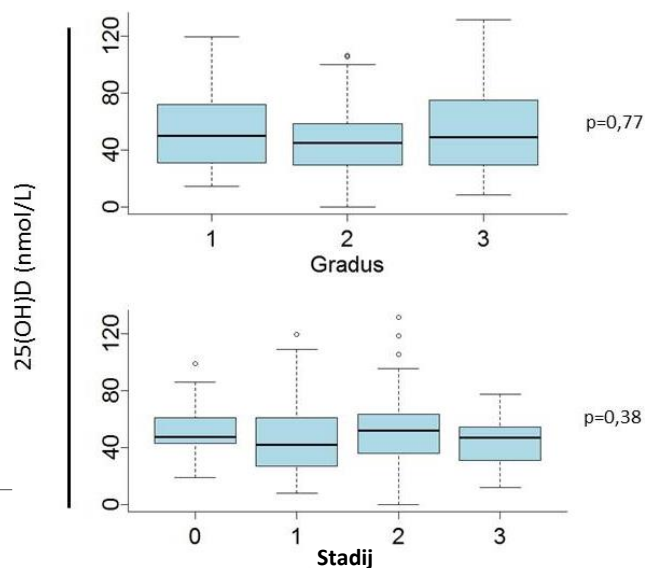


Slika 19. Broj bolesnica s karcinomom dojke po TNM stadijima

U ukupnoj populaciji u istraživanju, nije bilo razlike u koncentracijama 25(OH)D promatrano po intrinzičnom tipu tumora, histološkom gradusu ili stadiju (Slike 20. i 21.).



Slika 20. Koncentracije 25(OH)D po tipu tumora (P-vrijednost je izračunata Kruskal-Wallisovim testom)



Slika 21. Koncentracije 25(OH)D prema gradusu i stadiju (P-vrijednost je izračunata Kruskal-Wallisovim testom)

## 4.2 Statistička analiza

### 4.2.1 Obilježja karcinoma dojke spram 25(OH)D, metaboličkog sindroma i menopauze

- Analiza prema statusu menopauze

Analiza kliničkih nalaza prema statusu premenopauze i postmenopauze pokazuje da su postmenopauzalne bolesnice imale statistički značajno rjeđe više od jednog tumora za razliku od premenopauzalnih žena ( $P < 0,001$ ). Nije se pokazala razlika između obilježja karcinoma dojke, ali je HER2 negativan status neznatno češće prisutan ( $P = 0,077$ ) u bolesnica u menopauzi (Tablica 18.), koje su imale i statistički značajno češće veću tjelesnu masu, opseg struka, ITM i MetS (i osteoporozu).

Tablica 18. Usporedba bolesnica u postmenopauzi s bolesnicama u pre-/perimenopauzi

Obilježje	Postmenopauza		P-vrijednost
	NE	DA	
Broj pacijentica	70 (34,5%)	133 (65,5%)	-
<b>Dob</b> (godine), medijan (IQR)	44 (39-48)	65 (59-71)	<b>&lt;0,001</b>
<b>Visina</b> (m), SV±SD	1,68 ± 0,07	1,63 ± 0,07	<b>&lt;0,001</b>
<b>Tjelesna masa</b> (kg), SV±SD	67,9 ± 11,7	75,6 ± 14,3	<b>&lt;0,001</b>
<b>Opseg struka</b> (cm), SV±SD	83,4 ± 10,3	95,8 ± 13,6	<b>&lt;0,001</b>
<b>ITM</b> , SV±SD	23,9 ± 3,7	28,3 ± 5,2	<b>&lt;0,001</b>
<b>Metabolički sindrom</b> (ne/da), n (%)	59 (84,3%)/11 (15,7%)	47 (35,3%)/86 (64,7%)	<b>&lt;0,001</b>
<b>Osteoporoz</b> a (ne/da), n (%)	70 (100%)/0 (0%)	114 (86,4%)/18 (13,6%)	<b>0,001</b>
25(OH)D (nmol/l), medijan (IQR)	46,66 (30,9-58,4)	47,2 (29,9-63,7)	0,902
25(OH)D <50/≥50 nmol/l, n (%)	42 (60%)/28 (40%)	70 (52,6%)/63 (47,4%)	0,316
Period određivanja (zima/ljeto), n (%)	51 (72,9%)/19 (27,1%)	91 (68,4%)/42 (31,6%)	0,512
Promjer svih tumora (cm), SV±SD	2,21 ± 1,74	1,99 ± 1,28	0,304
Promjer invazivnih tumora (cm), SV±SD	2,01 ± 1,05	1,97 ± 1,22	0,842
Broj mitoza, SV±SD	12,5 ± 9,1	11,9 ± 10,4	0,71
<b>Multifokalni</b> (ne/da)	42 (60%)/28 (40%)	112 (84,2%)/21 (15,8%)	<b>&lt;0,001</b>
Limfni čvorovi (neg./poz.)	82 (74,5%)/28 (25,5%)	65 (71,4%)/26 (28,6%)	0,635
Tip tumora, n (%):			
DCIS	7 (10%)	9 (6,8%)	0,885
Luminal A	18 (25,7%)	43 (32,3%)	
Luminal B	36 (51,4%)	65 (48,9%)	
HER2 tip	2 (2,9%)	3 (2,3%)	
Trostruko negativni	6 (8,6%)	13 (9,8%)	
Ostali	1 (1,4%)	-	
Histološki gradus, n (%):			
1	7 (10%)	14 (10,5%)	0,837
2	38 (54,3%)	77 (57,9%)	
3	25 (35,7%)	42 (31,6%)	
Stadij, n (%):			
0	7 (10%)	9 (6,8%)	0,592
1	33 (47,1%)	64 (48,1%)	
2	28 (40%)	49 (36,8%)	
3	2 (2,9%)	10 (7,5%)	
4	-	1 (0,8%)	
Ki-67 (≤20%/>20%), n (%)	25 (39,78%)/38 (60,3%)	59 (48%)/64 (52%)	0,283
Her2 (-/+), n (%)	45 (70,3%)/19 (29,7%)	102 (81,6%)/23 (18,4%)	0,077
PR (-/+), n (%)	17 (24,3%)/53 (75,7%)	28 (21,1%)/105 (78,9%)	0,598
ER (-/+), n (%)	11 (15,7%)/59 (84,3%)	17 (12,8%), 116 (87,2%)	0,669

SV – srednja vrijednost, SD – standardna devijacija, IQR – interkvartilni raspon

Za podatke prikazane kao medijan s rasponom P-vrijednost je izračunata Mann-Whitneyevim testom, za podatke prikazane kao SV ± SD P-vrijednosti su izračunate Studentovim T-testom, a za podatke prikazane kao n (%)  $\chi^2$  testom. P-vrijednosti manje od 0,05 su zadebljane.

• **Analiza prema statusu 25-hidroksikolekalciferola**

Provedena je statistička analiza kliničkih nalaza podjelom bolesnica u 2 grupe; s deficijencijom 25(OH)D <50 nmol/l i s koncentracijom ≥50 nmol/l (Tablica 19.), koja je pokazala da su u ovom istraživanju kod žena s deficijencijom 25(OH)D bili statistički značajno češći tumori luminalnog tipa A i trostruko negativni, dok su značajno rjeđi bili tumori luminalnog tipa B (P=0,027), što je potvrđeno i modelom logističke regresije. Statistički značajne razlike nije bilo s obzirom na status ER, PR, HER2 i Ki-67, gradus, broj pozitivnih limfnih čvorova niti stadij. Prema tipu tumora, trostruko negativni su imali najniži medijan koncentracije 25(OH)D (34,8 nmol/l), u usporedbi s luminalnim A (42,8 nmol/l) i luminalnim B (53 nmol/l), ali ta razlika nije pokazala statističku značajnost (P=0,182) (Slika 20.). Koncentracije 25(OH)D nisu se značajno razlikovale ovisno o stadiju niti histološkom gradusu (Slika 21.). Deficijencija 25(OH)D se pokazala statistički značajno češćom kod žena s povećanom tjelesnom masom, opsegom struka i ITM.

Tablica 19. Usporedba bolesnica s deficijencijom 25(OH)D s bolesnicama bez deficijencije

Obilježje	25(OH)D		P-vrijednost
	<50 nmol/l	≥50 nmol/l	
Broj pacijentica, n (%)	112 (55,2%)	91 (44,8%)	-
Dob (godine), medijan (raspon)	60,5 (28-87)	58 (29-87)	0,344
Visina (m), SV±SD	1,65 ± 0,1	1,65 ± 0,1	0,95
<b>Tjelesna masa (kg), SV±SD</b>	74,8 ± 16,3	70,7 ± 9,9	<b>0,029</b>
<b>ITM (kg/m<sup>2</sup>), SV±SD</b>	27,4 ± 5,8	26 ± 4,2	<b>0,045</b>
<b>Opseg struka (cm)</b>	93,7 ± 15,2	88,8 ± 11,5	<b>0,012</b>
Metabolički sindrom (ne/da), n (%)	54 (48,2%)/58 (51,8%)	52 (57,1%)/39 (42,9%)	0,2
Osteoporozna (ne/da), n (%)	105 (93,8%)/7 (6,3%)	79 (87,8%)/11 (12,2%)	0,139
Menopauza, n (%):			
premenopauza	31 (27,7%)	25 (27,5%)	0,178
perimenopauza	11 (9,8%)	3 (3,3%)	
postmenopauza	70 (62,5%)	63 (69,2%)	
Period određivanja (zima/ljeto), n (%)	82 (73,2%)/30 (26,8%)	60 (65,9%)/31 (34,1%)	0,261
Promjer svih tumora (cm), SV±SD	1,94 ± 1,28	2,2 ± 1,64	0,182
Promjer invazivnih tumora (cm), SV±SD	1,97 ± 1,26	2 ± 1,04	0,807
Broj mitozna, SV±SD	12,3 ± 11	11,8 ± 8,6	0,726
Multifokalni (ne/da)	87 (77,7%)/25 (22,3%)	67 (73,6%)/24 (26,4%)	0,5
Limfni čvorovi (neg./poz.)	82 (74,5%)/28(25,5%)	65 (71,4%)/26 (28,6%)	0,635
Tip tumora, n (%)			<b>0,027</b>
<b>DCIS</b>	9 (8%)	7 (7,7%)	
<b>Luminalni A</b>	40 (35,7%)	21 (23,1%)	
<b>Luminalni B</b>	45 (40,2%)	56 (61,5%)	
<b>HER2 tip</b>	3 (2,7%)	2 (2,2%)	
<b>Trostruko negativni</b>	14 (12,5%)	5 (5,5%)	
<b>Ostali</b>	1 (0,9%)	-	
Histološki gradus, n (%)			0,89
1	11 (9,8%)	10 (11%)	
2	65 (58%)	50 (54,9%)	
3	36 (32,1%)	31 (34,1%)	
Stadij, n (%)			0,7
0	9 (8%)	7 (7,7%)	
1	57 (50,9%)	40 (44%)	
2	38 (33,9%)	39 (42,9%)	
3	7 (6,2%)	5 (5,5%)	
4	1 (0,9%)	-	
Ki-67 (≤20%/>20%), n (%)	49 (48%)/53 (52%)	35 (41,7%)/49 (58,3%)	0,365
Her2 (-/+), n (%)	84 (80,8%)/20 (19,4%)	63 (74,1%)/22 (25,9%)	0,274
PR (-/+), n (%)	27 (24,1%)/85 (75,9%)	18 (19,8%)/73 (80,2%)	0,46
ER (-/+), n (%)	19 (17%)/93 (83%)	9 (9,9%), 82 (90,1%)	0,146

SV – srednja vrijednost, SD – standardna devijacija. P-vrijednosti manje od 0,05 su zadebljane.

Za podatke prikazane kao medijan s rasponom P-vrijednost je izračunata Mann-Whitneyevim testom, za podatke prikazane kao SV ± SD P-vrijednosti su izračunate Studentovim T-testom, a za podatke prikazane kao n (%)  $\chi^2$  testom.

Napravljena je subanaliza kliničkih nalaza prema pacijenticama koje su uzorkovane u sunčanom „ljetnom“ periodu (svibanj-listopad) i imale sniženu koncentraciju 25(OH)D <50 nmol/l i stoga postoji vjerojatnost da je bila snižena u prethodnom zimskom periodu, te pacijentica koje su u nesunčanom „zimskom“ periodu (studeni-travanj) uzorkovanja imale „normalnu“ koncentraciju 25(OH)D ≥50 nmol/l i vjerojatno u prethodnom „ljetnom“ periodu. Ovakva podjela bolesnica omogućuje retrogradni uvid u deficitentne ili normalne koncentracije 25(OH)D kroz duži vremenski period (unazad pola godine), s ciljem dodatne analize utjecaja koncentracije 25(OH)D na kliničke nalaze kod Ca dojke. Uz 25(OH)D <50 nmol/l statistički značajno češće je bio prisutan manji promjer svih tumora (P=0,013), MetS (P=0,037) i veći opseg struka. Subanaliza nije pokazala statistički značajnu razliku između tipa tumora, ali je broj pacijentica u obje grupe bio dvostruko manji. Kao i u prethodno opisanim rezultatima analize svih pacijentica – neznatno su češći trostruko negativni tumori kod deficijencije a češći luminalni tip B kod ≥50 nmol/l 25(OH)D (Tablica 20.).

Tablica 20. Podanaliza usporedbe bolesnica s deficijencijom 25(OH)D s bolesnicama bez deficijencije ovisno o periodu uzorkovanja

Obilježje	25(OH)D		P-vrijednost
	‘Ljetni’ period <50 nmol/l <sup>a</sup>	‘Zimski’ period ≥50 nmol/l <sup>b</sup>	
Broj pacijentica	30 (33,3%)	60 (66,7%)	-
Dob (godine), medijan (raspon)	62,5 (38-83)	60 (35-87)	0,251
Visina (m), SV±SD	1,66 ± 0,09	1,65 ± 0,08	0,728
Tjelesna masa (kg), SV±SD	75,6 ± 13,9	71,5 ± 10	0,116
<b>Opseg struka (cm)</b>	94,5 ± 14,1	88,6 ± 11,9	<b>0,04</b>
ITM (kg/m <sup>2</sup> ), SV±SD	27,4 ± 4,4	26,3 ± 4,5	0,271
<b>Metabolički sindrom (ne/da), n (%)</b>	10 (33,3%)/20 (66,7%)	34 (56,7%)/26 (43,3%)	<b>0,037</b>
Osteoporozna (ne/da), n (%)	26 (86,7%)/4 (13,3%)	51 (86,4%)/8 (13,6%)	0,976
Menopauza, n (%):			
<b>premenopauza</b>	3 (10%)	15 (25%)	<b>0,023</b>
<b>perimenopauza</b>	4 (13,3%)	1 (1,7%)	
<b>postmenopauza</b>	23 (76,7%)	44 (73,3%)	
<b>Promjer svih tumora (cm), SV±SD</b>	1,64 ± 0,81	2,37 ± 1,912	<b>0,013</b>
Promjer invazivnih tumora (cm), SV±SD	1,7 ± 0,83	2,06 ± 1,11	0,136
Broj mitoz, SV±SD	12,3 ± 9,9	12 ± 9,1	0,891
Multifokalni (ne/da), n (%)	25 (83,3%)/5 (16,7%)	45 (75%)/15 (25%)	0,431
Limfni čvorovi (neg./poz.), n (%)	22 (73,3%)/8 (26,7%)	45 (75%)/15 (25%)	0,864
Tip tumora, n (%):			
DCIS	3 (10%)	6 (10%)	0,284
Luminal A	7 (23,3%)	15 (25%)	
Luminal B	14 (46,7%)	35 (58,3%)	
HER2 tip	2 (6,7%)	1 (1,7%)	
Trostruko negativni	4 (13,3%)	3 (5%)	
Ostali	-	-	
Histološki gradus, n (%):			
1	6 (20%)	7 (11,7%)	0,565
2	14 (46,7%)	30 (50%)	
3	10 (33,3%)	23 (38,3%)	
Stadij, n (%):			
0	3 (10%)	6 (10%)	0,948
1	14 (46,7%)	26 (43,3%)	
2	12 (40%)	24 (40%)	
3	1 (3,3%)	4 (6,7%)	
4	-	-	
Ki-67 (≤20%/>20%), n (%)	9 (33,3%)/18 (66,7%)	25 (46,3%)/29 (53,7%)	0,265
Her2 (-/+), n (%)	20 (71,4%)/8 (28,6%)	42 (76,4%)/13 (23,6%)	0,625
PR (-/+), n (%)	9 (30%)/21 (70%)	13 (21,7%)/47 (78,3%)	0,386
ER (-/+), n (%)	6 (20%)/24 (80%)	6 (10%)/54 (90%)	0,188

a, b – bolesnice čija je koncentracija 25(OH)D u 'ljetnom' periodu bila <50 nmol/l, odnosno u 'zimskom' ≥50 nmol/l

SV - srednja vrijednost, SD - standardna devijacija. P-vrijednosti manje od 0,05 su zadebljane.

Za podatke prikazane kao medijan s rasponom P-vrijednosti je izračunata Mann-Whitneyevim testom, za podatke prikazane kao SV ± SD P-vrijednosti su izračunate Studentovim T-testom, a za podatke prikazane kao n (%) χ<sup>2</sup> testom.

- Analiza prema statusu metaboličkoga sindroma**

Statistička analiza kliničkih nalaza podjelom bolesnica u one s MetS-om i bez MetS-a pokazala je da je uz prisustvo MetS-a promjer invazivnih tumora bio statistički značajno veći ( $P=0,014$ ). Prisustvo MetS-a nije se pokazalo udruženim s obzirom na status ER, PR, HER2 i Ki-67 (Tablica 21.). MetS je značajno češći u postmenopauzi, u starijoj dobi, uz veću tjelesnu masu i ITM, te veći opseg struka, bokova i omjera opsega struk/bokovi ( $P<0,001$ ).

Tablica 21. Usporedba bolesnica s metaboličkim sindromom s bolesnicama bez MetS-a

Obilježje	Metabolički sindrom		P-vrijednost	
	DA	NE		
Broj pacijentica	97 (47,8%)	106 (52,2%)	-	
Dob (godine), medijan (raspon)	67 (60-72)	49 (42-58)	< 0,001	
Visina (m), SV±SD	1,63 ± 0,1	1,67 ± 0,1	< 0,001	
Tjelesna masa (kg), SV±SD	78,9 ± 14,6	67,4 ± 10,6	< 0,001	
ITM ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ), SV±SD	29,7 ± 5,1	24,2 ± 3,6	< 0,001	
Opseg struka (cm), SV±SD	100,0 ± 12,0	83,8 ± 10,4	< 0,001	
Opseg bokova (cm), SV±SD	109,3 ± 10,6	102,1 ± 8,4	< 0,001	
Omjer opsega struka i bokova, SV±SD	0,92 ± 0,07	0,82 ± 0,07	< 0,001	
Osteoporoza (ne/da)	83 (86,5%) / 13 (13,5%)	101 (95,3%) / 5 (4,7%)	0,028	
25(OH)D (nmol/l), medijan (IQR)	43,5 (27,9 – 63,1)	49,5 (34,9 – 61,7)	0,189	
25(OH)D <50/≥50 nmol/l, n (%)	58 (59,8%)/39 (40,2%)	54 (50,9%)/52 (49,1%)	0,205	
Period određivanja (zima/ljeto), SV±SD	64 (66%)/33 (34%)	78 (73,6%)/28 (26,4%)	0,238	
Menopauza, n (%)	<b>premenopauza</b>	8 (8,2%)	48 (45,3%)	< 0,001
	<b>perimenopauza</b>	3 (3,1%)	11 (10,4%)	
	<b>postmenopauza</b>	86 (88,7%)	47 (44,3%)	
Promjer svih tumora (cm), SV±SD	2,14 ± 1,37	1,99 ± 1,53	0,500	
<b>Promjer invazivnih tumora (cm), SV±SD</b>	2,2 ± 1,4	1,79 ± 0,86	<b>0,014</b>	
Broj mitotički, SV±SD	11,8 ± 9,6	12,3 ± 10,3	0,731	
Multifokalni (ne/da), n (%)	79 (81,4%)/18 (18,6%)	75 (70,8%)/31 (29,2%)	0,075	
Limfni čvorovi (neg./poz.), n (%)	71 (74,0%)/25 (26,0%)	76 (72,4%)/29 (27,6%)	0,801	
Tip tumora	DCIS	8 (8,2%)	8 (7,5%)	0,962
	Luminalni A	32 (33%)	29 (27,4%)	
	Luminalni B	46 (47,4%)	55 (51,9%)	
	HER2 tip	2 (2,1%)	3 (2,8%)	
	Trostruko negativni	9 (9,3%)	10 (9,4%)	
	Ostali	-	1 (0,9%)	
Histološki gradus, n (%)	1	8 (8,2%)	13 (12,3%)	0,448
	2	59 (60,8%)	56 (52,8%)	
	3	30 (30,9%)	37 (34,9%)	
Stadij, n (%)	0	8 (8,2%)	8 (7,5%)	0,699
	1	43 (44,3%)	54 (50,9%)	
	2	38 (39,2%)	39 (36,8%)	
	3	7 (7,2%)	5 (4,7%)	
	4	1 (1,0%)	-	
Ki-67 (≤20%/>20%), n (%)	45 (45,9%)/53 (54,1%)	39 (44,3%)/49 (55,7%)	0,827	
Her2 (-/+), n (%)	75 (83,3%)/15 (16,7%)	72 (72,7%)/27 (27,3%)	0,08	
PR (-/+), n (%)	18 (18,6%)/79 (81,4%)	27 (25,5%)/79 (74,5%)	0,236	
ER (-/+), n (%)	13 (13,4%)/84 (86,6%)	15 (14,2%)/91 (85,8%)	0,877	

SV – srednja vrijednost, SD – standardna devijacija, IQR – interkvartilni raspon

Za podatke prikazane kao medijan s rasponom ili interkvartilnim rasponom P-vrijednost je izračunata Mann-Whitneyevim testom. Za podatke prikazane kao SV ± SD P-vrijednosti su izračunate Studentovim T-testom, a za podatke prikazane kao n (%)  $\chi^2$  testom. P-vrijednosti manje od 0,05 su zadržane.

• **Analiza prema istodobnom statusu 25-hidroksikolekalciferola i metaboličkoga sindroma**

Analizom ukupne populacije istodobno prisustvo deficijencije 25(OH)D i MetS-a nije se pokazalo udruženim s obzirom na status ER, PR, HER2 i Ki-67, intrinzični tip tumora, histološki i nuklearni gradus, TNM stadij, broj pozitivnih limfnih čvorova, prisutnost više od jednog tumora, promjer invazivnih tumora, kao niti broj mitozu. Istodobno su statistički značajno češće prisutni u postmenopauzi, starijoj dobi, uz veću tjelesnu masu, opseg struka i ITM ( $P < 0,001$ ) te nižu visinu ( $P = 0,029$ ) (Tablica 22.).

Tablica 22. Kombinirana usporedba utjecaja prisutnosti deficijencije 25(OH)D i MetS-a

Obilježje	Prisustvo deficijencije 25(OH)D ili metaboličkoga sindroma			P-vrijednost
	Niti jedno <sup>x</sup>	Jedno <sup>y</sup>	Oboje <sup>z</sup>	
Broj pacijentica	52 (25,6%)	93 (45,8%)	58 (28,6%)	-
Dob (god.) <sup>a</sup> medijan (raspon)	50 (29-85) <sup>†</sup>	56 (28-87) <sup>†</sup>	67 (44-87) <sup>**</sup>	<b>&lt;0,001</b>
Visina (m) <sup>b</sup> , SV±SD	1,67 ± 0,07 <sup>†</sup>	1,65 ± 0,08 <sup>*†</sup>	1,64 ± 0,07 <sup>*</sup>	<b>0,029</b>
Tjelesna masa (kg) <sup>b</sup> SV±SD	67,4 ± 9,1 <sup>†</sup>	70,6 ± 11,5 <sup>†</sup>	81,6 ± 16,9 <sup>**</sup>	<b>&lt;0,001</b>
ITM <sup>b</sup> , SV±SD	24,1 ± 3,4 <sup>#†</sup>	27,7 ± 5,3 <sup>*†</sup>	26,8 ± 5,2 <sup>**</sup>	<b>&lt;0,001</b>
Opseg struka (cm) SV±SD	83,3 ± 10 <sup>#†</sup>	89,3 ± 11,7 <sup>*†</sup>	102,6 ± 13,2 <sup>**</sup>	<b>&lt;0,001</b>
Osteoporozna (ne/da) <sup>c</sup>	48 (92,3%)/4 (7,7%)	84 (91,3%)/8 (8,7%)	52(89,7%)/6(10,3%)	0,884
Menopauza <sup>c</sup>				<b>&lt;0,001</b>
premenopauza	21 (40,4%)	31 (33,3%)	4 (6,9%)	
perimenopauza	3 (5,8%)	8 (8,6%)	3 (5,2%)	
postmenopauza	28 (53,8%)	54 (58,1%)	51 (87,9%)	
Promjer svih tumora (cm) <sup>b</sup>	2,3 ± 1,96	1,85 ± 1,98	2,17 ± 1,54	0,143
Promjer invazivnih tumora (cm) <sup>b</sup> , SV±SD	1,92±0,98	1,86±0,92	2,25 ± 1,57	0,141
Broj mitozu <sup>b</sup> , SV±SD	11,6 ± 9,1	12,7 ± 10,2	11,6 ± 10,6	0,772
Multifokalni (ne/da) <sup>c</sup>	35 (67,3%)/17 (32,7%)	72 (77,4%)/21 (22,6%)	47 (81%)/11 (19%)	0,218
Broj lezija, SV±SD	1,19 ± 0,6	1,22 ± 1,14	1,16 ± 0,6	0,919
Limfni čvorovi (-/+) <sup>c</sup>	35 (67,3%)/17 (32,7%)	71 (77,2%)/21 (22,8%)	41 (71,9%)/16 (28,1%)	0,426
Tip tumora <sup>c</sup>				0,116
DCIS	3 (5,8%)	9 (9,7%)	4 (6,9%)	
Luminalni A	9 (17,3%)	32 (34,4%)	20 (34,5%)	
Luminalni B	37 (71,2%)	38 (40,9%)	26 (44,8%)	
HER2 tip	1 (1,9%)	3 (3,2%)	1 (1,7%)	
Trostruko negativni	2 (3,8%)	11 (11,8%)	6 (10,3%)	
Ostali	-	-	1 (1,7%)	
Histološki gradus <sup>c</sup>				0,687
1	7 (13,5%)	9 (9,7%)	5 (8,6%)	
2	28 (53,8%)	50 (53,8%)	37 (63,8%)	
3	17 (32,7%)	34 (6,6%)	16 (27,6%)	
Nuklearni gradus <sup>c</sup>				0,707
1	1 (1,9%)	-	1 (1,7%)	
2	31 (59,6%)	53 (57%)	37 (63,8%)	
3	20 (38,5%)	40 (43%)	20 (34,5%)	
Stadij <sup>c</sup>				0,831
0	3 (5,8%)	9 (9,7%)	4 (6,9%)	
1	24 (46,2%)	46 (49,5%)	27 (46,6%)	
2	22 (42,3%)	34 (36,6%)	21 (36,2%)	
3	3 (5,8%)	4 (4,3%)	5 (8,6%)	
4	-	-	1 (1,7%)	
Ki-67 (≤20%/>20%) <sup>c</sup>	20 (40,8%)/29 (59,2%)	40 (47,6%)/44 (52,4%)	24 (45,3%)/29 (54,7%)	0,749
Ki-67 (%)	24,36 ± 15,6	26,46 ± 19,39	24,75 ± 17,22	0,765
Her2 (-/+) <sup>c</sup>	35 (71,4%)/14 (28,6%)	65 (75,6%)/21 (24,4%)	47 (87%)/7 (13%)	0,131
PR (-/+) <sup>c</sup>	11 (21,2%)/41 (78,8%)	23 (24,7%)/70 (75,3%)	11 (19%)/47 (81%)	0,694
ER (-/+) <sup>c</sup>	4 (7,7%)/48 (92,3%)	16 (17,2%)/77 (82,8%)	8 (13,8%)/50 (86,2%)	0,287

x – bolesnice bez deficijencije 25(OH)D i bez MetS-a, y – bolesnice s deficijencijom 25(OH)D ili s MetS-om, z – bolesnice s deficijencijom 25(OH)D i MetS-om.

a – vrijednosti prikazuju medijan s rasponom, statistička usporedba je napravljena Kruskal-Wallisovim testom s Mann-Whitneyevim *post hoc* testom uz korekciju, b - vrijednosti prikazuju srednju vrijednost sa standardnom devijacijom, statistička usporedba je napravljena ANOVA testom s Tukeyovim *post hoc* testom, c – statistička usporedba je napravljena  $\chi^2$  testom.

\* P<0,05 u usporedbi s bolesnicama bez deficijencije 25(OH)D i bez MetS-a.

# P<0,05 u usporedbi s bolesnicama s deficijencijom 25(OH)D ili s MetS-om.

† P<0,05 u usporedbi s bolesnicama s deficijencijom 25(OH)D i MetS-om.

Pojedinačnim analizama utvrđeno je kako su ispitanice s deficijencijom 25(OH)D <50 nmol/l imale 2,37 puta veće izgleda da imaju luminalni tip A u odnosu na luminalni tip B (OR 2,37; 1,22-4,60 95% CI). Razlika je ostala signifikantna i nakon prilagodbe za menopauzu i ITM i dob; 2,10 puta veći izgledi (1,05-4,22 95% CI), ali ne i nakon dodatne prilagodbe za druge anamnestičke faktore rizika za rak dojke (OR 1,95; 0,91-4,19 95% CI). Također, deficijencija 25(OH)D je bila povezana i s trostruko negativnim u odnosu na luminalni tip B, pri čemu su deficijentne ispitanice imale 3,58 puta veće izgleda za pojavu trostruko negativnog tipa tumora nego luminalnog B tipa (OR 3,58; 1,19-10,7 95% CI). Razlika je ostala signifikantna i nakon prilagodbe za menopauzu i ITM i dob; 3,25 puta veći izgledi, kao i nakon dodatne prilagodbe za druge anamnestičke faktore rizika za rak dojke; 3,72 puta veći izgledi (prilagođeni i dodatno prilagođeni model, Tablica 23.). Analiza za metabolički sindrom nije pokazala signifikantnu razliku izgleda između ovih tipova tumora.

Tablica 23. Multinomialna logistička analiza povezanosti deficijencije 25(OH)D i MetS-a, u osnovnom i prilagođenim modelima, s intrinzičnim tipovima tumora dojke (luminalni A, luminalni B i trostruko negativni tip)

Model i varijable	b	Wald	p	OR (95 % CI)
<b>Luminalni tip A / Luminalni tip B</b>				
Osnovni model*				
25(OH)D (nmol/l); <50 / ≥50	0,86	6,50	<b>0,01</b>	<b>2,37 (1,22-4,60)</b>
Metabolički sindrom; da/ne	0,21	0,39	0,54	1,23 (0,64-2,36)
Prilagođeni model†				
25(OH)D (nmol/l); <50 / ≥50	0,74	4,36	<b>0,037</b>	<b>2,10 (1,05-4,22)</b>
Metabolički sindrom; da/ne	-0,66	1,98	0,16	0,52 (0,21-1,30)
Dodatno prilagođeni model§				
25(OH)D (nmol/l); <50 / ≥50	0,67	2,95	0,08	1,95 (0,91-4,19)
Metabolički sindrom; da/ne	-0,66	1,64	0,20	0,52 (0,19-1,42)
<b>Trostruko negativni / Luminalni tip B</b>				
Osnovni model*				
25(OH)D (nmol/l); <50 / ≥50	1,28	5,16	<b>0,02</b>	<b>3,58 (1,19-10,7)</b>
Metabolički sindrom; da/ne	-0,04	0,01	0,95	0,97 (0,35-2,64)
Prilagođeni model†				
25(OH)D (nmol/l); <50 / ≥50	1,18	4,04	<b>0,044</b>	<b>3,25 (1,03-10,3)</b>
Metabolički sindrom; da/ne	-0,47	0,39	0,53	0,63 (0,14-2,73)
Dodatno prilagođeni model§				
25(OH)D (nmol/l); <50 / ≥50	1,32	4,30	<b>0,038</b>	<b>3,72 (1,07-12,9)</b>
Metabolički sindrom; da/ne	-0,75	0,82	0,36	0,47 (0,09-2,39)

\*  $\chi^2=10,9$ ; ss=4; P=0,027; Nagelkerke R<sup>2</sup>=,07;

†  $\chi^2=25,5$ ; ss=14; P=0,030; Nagelkerke R<sup>2</sup>=,16; model prilagođen za dob (godine), ITM i menopauzu.

§  $\chi^2=40,4$ ; ss=28; P=0,060; Nagelkerke R<sup>2</sup>=,25; model dodatno prilagođen i za hormonsku nadomjesnu terapiju i kontracepciju (najmanje 5 godina), ranu menarhu (prije 12 godine), doba prvog poroda, dojenje, pušenje i pojavnost karcinoma jajnika ili dojke u obiteljskoj anamnezi.

Usporedbom intrinzičnih tipova invazivnih karcinoma s neinvazivnim karcinomom *in situ* (DCIS), nije bilo razlike u izgledima uz prisutnost deficijencije 25(OH)D ili MetS-a za niti jedan tip invazivnog karcinoma (Tablica 24.).

Tablica 24. Multinomialna logistička analiza povezanosti deficijencije 25(OH)D i MetS-a, u osnovnom i prilagođenim modelima, s različitim tipovima tumora dojke

Model i varijable	Lum A / DCIS		Lum B / DCIS		Trostruko neg. / DCIS		P model
	P	OR (95%CI)	P	OR (95%CI)	P	OR (95%CI)	
Osnovni							
25(OH)D (nmol/l)							
<50 / ≥50	0,50	1,47 (0,48-4,53)	0,38	0,62 (0,21-1,80)	0,28	2,21 (0,53-9,20)	0,09
Metabolički sindrom ne/da	0,91	0,94 (0,31-2,83)	0,77	1,17 (0,41-3,39)	0,81	1,18 (0,31-4,52)	
Prilagođeni*							
25(OH)D (nmol/l)							
<50 / ≥50	0,42	1,62 (0,50-5,27)	0,63	0,76 (0,25-2,32)	0,23	2,48 (0,56-11,0)	0,15
Metabolički sindrom ne/da	0,47	1,78 (0,38-8,35)	0,97	0,98 (0,22-4,27)	0,64	1,57 (0,23-10,6)	
Dodatno prilagođeni†							
25(OH)D (nmol/l)							
<50 / ≥50	0,63	1,36 (0,39-4,74)	0,53	0,69 (0,21-2,22)	0,23	2,62 (0,54-12,8)	0,32
Metabolički sindrom ne/da	0,55	1,64 (0,32-8,35)	0,85	0,87 (0,19-4,03)	0,56	1,83 (0,24-13,9)	

\* model prilagođen za dob (godine), ITM i menopauzu;

† model dodatno prilagođen i za hormonsku nadomjesnu terapiju i kontracepciju (najmanje 5 godina), ranu menarhu (prije 12 godine), doba prvog poroda, dojenje, pušenje i pojavnost karcinoma jajnika ili dojke u obiteljskoj anamnezi.

Pojedinačnim analizama luminalnih B karcinoma HER2 pozitivnog i HER2 negativnog statusa, nije bilo razlike uz prisutnost deficijencije 25(OH)D ili MetS-a u izgledima između ovih luminalnih B podtipova invazivnog karcinoma (Tablica 25.).

Tablica 25. Multivarijatne analize povezanosti deficijencije 25(OH)D i MetS-a, u osnovnom i prilagođenim modelima, s pojavnnošću HER2 receptora u luminalnom tip B tumoru dojke

Model i varijable	b	Wald	p	OR (95 % CI)
Osnovni model*				
25(OH)D (nmol/l); <50 / ≥50	-0,25	0,31	0,58	0,78 (0,32-1,89)
Metabolički sindrom; da/ne	-0,59	1,64	0,20	0,56 (0,23-1,37)
Prilagođeni model†				
25(OH)D (nmol/l); <50 / ≥50	-0,29	0,37	0,54	0,75 (0,30-1,90)
Metabolički sindrom; da/ne	-0,30	0,22	0,64	0,74 (0,21-2,64)
Dodatno prilagođeni model§				
25(OH)D (nmol/l); <50 / ≥50	-0,51	0,99	0,32	0,60 (0,22-1,64)
Metabolički sindrom; da/ne	-0,06	0,01	0,93	0,94 (0,25-3,60)

\*  $\chi^2=2,49$ ; ss=2; P=0,29; Nagelkerke R<sup>2</sup>=,03;

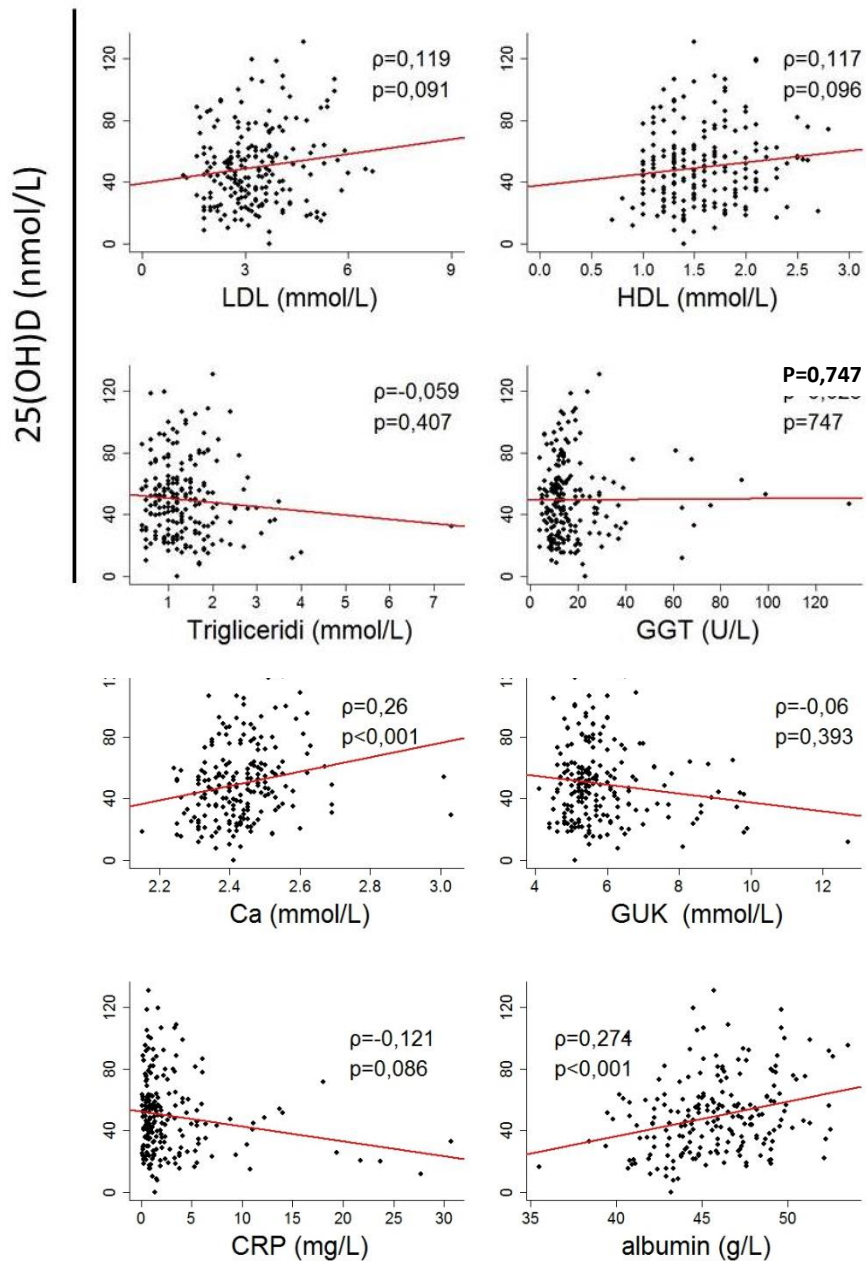
†  $\chi^2=4,73$ ; ss=7; P=0,69; Nagelkerke R<sup>2</sup>=,07; model prilagođen za dob (godine), ITM i menopauzu.

§  $\chi^2=7,48$ ; ss=13; P=0,88; Nagelkerke R<sup>2</sup>=,11; model dodatno prilagođen i za kontracepciju (najmanje 5 godina), ranu menarhu (prije 12 godine), doba prvog poroda, dojenje, pušenje i pojavnost karcinoma jajnika ili dojke u obiteljskoj anamnezi.



#### 4.2.2 Analiza korelacije 25-hidroksikolekalciferola i biokemijskih varijabli

Provedenom eksploratornom analizom korelacije serumske koncentracije 25(OH)D s biokemijskim varijablama MetS-a; HDL, LDL, trigliceridi, GUK natašte, te dodatno za CRP, GGT, kalcij i albumin, u ukupnoj populaciji statistički značajna pozitivna korelacija pokazala se samo za kalcij i albumin ( $P < 0,001$ ), dok statistički značajna pozitivna korelacija nije nađena za HDL ( $P = 0,096$ ) i LDL ( $P = 0,091$ ) kao niti negativna korelacija za CRP ( $P = 0,086$ ) (Slika 22.).



Slika 22. Korelacije koncentracije 25(OH)D s biokemijskim nalazima ( $\rho$  – Spearmanov koeficijent korelacije)

Dodatnom analizom korelacije serumskih koncentracija 25(OH)D prema statusu menopauze, pozitivna korelacija pokazana je za koncentracije HDL (P=0,017) i ukupni kolesterol (P=0,048) samo u postmenopauzalnoj skupini žena, dok su dodatno u istoj skupini opažene inverzne korelacije za opseg bokova (P=0,001), opseg struk-bokovi (P=0,001), opseg struk-visina (P=0,002) i sistolički krvni tlak (P=0,047). U premenopauzalnoj skupini bila je prisutna inverzna korelacija za dijastolički krvni tlak (P=0,023), a pozitivna za trigliceride (P=0,048). Nije nađena korelacija sa ITM niti u jednoj skupini po menopauzalnom statusu (Tablica 26.).

Tablica 26. Korelacija serumskih koncentracija 25(OH)D s komponentama MetS-a

Populacija	Ukupna	Pre/perimenopauza	Postmenopauza
MetS komponenta	$\rho$ +/- Spearmanov koeficijent korelacije (P-vrijednost)		
Opseg struka	-0.075 (0.286)	-0.04 (0.74)	-0.125 (0.151)
Opseg bokova	<b>-0.157 (0.025)</b>	-0.027 (0.826)	<b>-0.273 (0.001)</b>
ITM	-0.068 (0.333)	0.039 (0.749)	-0.147 (0.091)
Omjer struk-bokovi	<b>-0.17 (0.015)</b>	0.054 (0.657)	<b>-0.295 (0.001)</b>
Omjer struk-visina	<b>-0.139 (0.047)</b>	-0.015 (0.904)	<b>-0.263 (0.002)</b>
HDL	0.117 (0.096)	-0.059 (0.629)	<b>0.207 (0.017)</b>
Trigliceridi	-0.059 (0.407)	<b>0.237 (0.048)</b>	-0.162 (0.063)
LDL	0.119 (0.091)	0.02 (0.871)	0.161 (0.065)
Ukupni kolesterol	0.13 (0.064)	0.017 (0.89)	<b>0.172 (0.048)</b>
Sistolički KT	-0.122 (0.082)	-0.008 (0.945)	<b>-0.173 (0.047)</b>
Dijastolički KT	-0.093 (0.185)	<b>-0.271 (0.023)</b>	-0.025 (0.771)
GUK natašte	-0.06 (0.393)	0.093 (0.443)	-0.147 (0.092)
CRP	-0.121 (0.086)	-0.093 (0.443)	-0.149 (0.087)
GGT	0.023 (0.747)	0.161 (0.184)	-0.038 (0.666)

## 5) RASPRAVA

Nekoliko je studija kod žena s novodijagnosticiranim karcinomom dojke pokazalo da lošije prognostičke karakteristike imaju žene s deficijencijom 25(OH)D [155](#), [157](#) i žene s MetS-om [87](#), [88](#), promatrajući ih odvojeno, ali do sada nije uspoređivano njihovo istovremeno prisustvo s obzirom na obilježja novootkrivenog raka dojke. Pretragom literature nije nađena studija koja je istraživala razinu rizika od razvoja raka dojke kod žena koje imaju istodobno prisustvo i deficijencije vitamina D i MetS-a ili neke od komponenti MetS-a. Međutim, jedna prospektivna studija koja je promatrala rizik za Ca prostate je pokazala da pojedini faktori MetS-a (povišen ITM, arterijska hipertenzija, sniženi HDL) povećavaju rizik za Ca prostate samo ako ih je istovremeno prisutno više plus uz sniženu koncentraciju vitamina 25(OH)D [74](#).

Koncentracija 25-hidroksikolekalciferola inverzno je povezana sa povišenim ITM-om kod zdravih [182](#) i osoba s rakom uključujući i dojke [183](#), a suprotno tome snižene koncentracije 25(OH)D dovode se u vezu s nastankom dijabetesa [174-177](#), arterijske hipertenzije [178](#) i MetS-a [60](#). Deficijencija vitamina D često nije prisutna uz MetS [238](#), a nije rijedak nalaz i kod osoba bez MetS-a s normalnim ITM-om [239](#), [240](#).

Namjera ovog istraživanja bila je stoga kod žena s novodijagnosticiranim Ca dojke istražiti kliničko-patološka prognostička obilježja tumora u žena koje imaju istodobno i deficijenciju 25(OH)D i MetS, naspram žena kod kojih nisu prisutni istodobno, te analizirati utječu li oba stanja na prisustvo lošijih prognostičkih obilježja raka dojke odnosno je li nalaz samostalni učinak jednog od ova dva stanja, s naglaskom na deficijenciju 25(OH)D. U ovom istraživanju koje je promatralo 203 žene s novodijagnosticiranim primarno operabilnim karcinomom dojke (65,5% u postmenopauzi i 34,5% u premenopauzi) u rasponu od 28 do 87 godina koje nisu prethodno liječene, na reprezentativnom uzorku ove populacije bolesnica u RH (oko 8% novootkrivenih slučajeva godišnje) dobiveni rezultati ukazuju na sljedeće:

### **1.) Prevalencije deficijencije 25-hidroksikolekalciferola i metaboličkoga sindroma i korelacije;**

Prevalenciju istodobne deficijencije 25(OH)D i MetS-a opaženu u ukupnoj (28,6%), premenopauzalnoj (8,6%) i postmenopauzalnoj (39,1%) populaciji u ovoj studiji nije moguće usporediti s povijesnim kontrolama žena bez raka u RH, budući da nije nađena studija koja je ispitala istodobno prisustvo ova dva stanja. Međutim, u ovom istraživanju kod polovice žena s MetS-om on nije bio praćen deficijencijom 25(OH)D (Tablica 13.), što je konzistentno s drugim studijama u svijetu [238](#), a suprotno tome, deficijencija 25(OH)D također nije rijedak nalaz ni u pojedinaca bez MetS-a uz normalan ITM u ovoj (23,6%) i drugim studijama [239](#), [240](#).

Opažena je visoka prevalencija deficijencije 25(OH)D <50 nmol/l i teške deficijencije <25 nmol/l ukupno (55,2% i 17,7%), u usporedbi s rezultatima drugih studija za opću populaciju žena u RH bez raka (39,2% i 7% <sup>149</sup>). Iako je na ovaj rezultat mogla utjecati starija dob uključene populacije s Ca dojke i konkomitantno prisustvo prekomjerne tjelesne težine/pretilosti, ovaj je nalaz općenito konzistentan s rezultatima nekih drugih istraživanja u svijetu kod žena s Ca dojke (npr. SAD <sup>154, 155</sup>, Čile <sup>156</sup>) u usporedbi s općom populacijom <sup>146</sup>. Međutim, ne ukazuju sve studije na veću prevalenciju deficijencije 25(OH)D kod žena s Ca dojke (npr. u Belgiji <sup>244</sup>, Južnoj Koreji <sup>157</sup>) naspram opće populacije <sup>146</sup>.

MetS je bio prevalentniji u ukupnoj ispitivanoj populaciji žena s Ca dojke u usporedbi s općom populacijom žena u RH (48,3% naspram 39% <sup>52</sup>). Opažena distribucija MetS-a po (starijoj) dobi je očekivana (65,4% u postmenopauzalnoj naspram 15,7% u premenopauzalnoj), kao i za druge tjelesne/karakteristike MetS-a (Tablica 13.). Postmenopauzalne žene su činile veći udio populacije u istraživanju, a MetS se u ovoj subpopulaciji žena s Ca dojke nije razlikovao od opće starije populacije žena u RH (usporedivo je iznosio oko >60%) <sup>53</sup>.

U ovom istraživanju eksploratornom analizom nije nađena inverzna korelacija serumskih koncentracija 25(OH)D s ITM-om za razliku od drugih studija koje su ju pokazale na većem broju žena <sup>42, 255</sup>, ali je deficijencija 25(OH)D bila statistički češće prisutna uz viši ITM i u menopauzi (Tablice 18. i 19.). Negativne korelacije bile su prisutne za druge mjere centralne pretilosti kod postmenopauzalnih žena, opseg struk-bokovi (P=0,001) i opseg struk-visina (P=0,002), kao i za opseg bokova (P=0,001), uz češću prisutnost deficijencije 25(OH)D uz veći ITM (P=0,045) u ukupnoj populaciji. Opažene su pozitivne korelacije za koncentracije HDL-a (P=0,017) i ukupni kolesterol (P=0,048) samo u postmenopauzalnoj skupini, što odgovara nalazima drugih studija za starije žene <sup>185</sup>.

## **2.) Obilježja tumora uz metabolički sindrom;**

Uz prisutan MetS, u ovom se istraživanju u ukupnoj populaciji promjer invazivnih tumora pokazao statistički značajno veći; srednja vrijednost (SD) 2,2 cm (± 1,4) naspram 1,79 cm (± 0,86) (P<0,014). S obzirom da isti rezultat nije bio prisutan u analizi prema statusu menopauze (P=0,842) iako su postmenopauzalne žene značajno češće imale MetS i uz to su starije životne dobi, na ovaj rezultat većeg promjera invazivnih tumora uz MetS vjerojatno nije utjecala starija dob niti menopauza. Isti rezultat također nije bio prisutan u analizi prema statusu deficijencije 25(OH)D (P=0,807), uključujući subanalizu 25(OH)D prema ljetnom/zimskom periodu (P=0,136).

Postmenopauzalne žene su statistički značajno rjeđe imale više od jednog tumora u usporedbi s premenopauzalnim ženama, 15,8% naspram 40% (P<0,001). Navedeno može biti odraz moguće prisutnog većeg broja (naslijeđenih) mutacija gena kod premenopauzalnih žena s pojavom raka dojke u mlađoj životnoj dobi te se i manifestirao prisustvom većeg broja tumora, dok bi javljanje manjeg broja tumora u postmenopauzi mogao biti rezultat klasične hipoteze karcinogeneze nakupljanjem

somatskih mutacija gena do starije životne dobi. Dodatno, kod analize prema prisustvu MetS-a bila je vidljiva ista naznaka rjeđeg prisustva više od jednog tumora uz MetS (18,6% naspram 29,2% bez MetS-a), ali bez statističke značajnosti ( $P=0,075$ ) i razlika može biti odraz i češćeg MetS-a u postmenopauzi.

Osim statistički značajno većeg promjera invazivnih tumora, u ovom istraživanju prisutnost MetS-a za razliku od pojedinih prethodnih objavljenih studija nije pokazala značajnu povezanost s većim stadijem, pozitivnim limfnim čvorovima [87](#) (ali je studija Healy et al. promatrala samo postmenopauzalne bolesnice), niti TNT tipom tumora [88](#). Međutim, ne izviješćujući o MetS, jedna od prethodnih studija opazila je veći promjer invazivnih tumora uz deficijenciju 25(OH)D [244](#) spominjući da je koncentracija 25(OH)D bila znatno smanjena uz povećanje ITM i dobi, što može značiti da je MetS bio zbunjujući (engl. *confounding*) faktor u toj studiji, te podcrtava vrijednost ovog istodobnog istraživanja oba stanja. Uspoređujući razlike između uključenih populacija raka dojke ove i prethodnih studija, prethodne su MetS studije uključivale samo postmenopauzalne žene, veći udio pretilih žena i ER negativnih tumora [87](#), veći udio bolesnica s promjerom tumora  $>2$  cm, s pozitivnim limfnim čvorovima, većeg stadija (III) [87](#), [88](#), također ne-bijele rase, većim udjelom prekomjerene tjelesne mase ili bolesnica s TNT [88](#).

Od drugih patohistoloških obilježja Ca dojke, uz MetS je bio rjeđe opažen pozitivan status HER2 (16,7% uz MetS naspram 27,3% bez MetS-a), ali razlika nije bila statistički značajna ( $P=0,08$ ), a isto je opaženo i uz postmenopauzalni status (18,4% HER2+ naspram 29,7% u premenopauzi) i također bez statističke značajnosti ( $P=0,077$ ). Opaženo bi možda pokazalo signifikantnost uz veću veličinu uzorka. Modelom logističke regresije povezanosti prisutnosti MetS-a s intrinzičnim tipovima tumora dojke (luminalni tip A, luminalni tip B i trostruko negativni tip) nisu se pokazali veći izgledi za neki od tipova tumora uz MetS. Multivarijatnom analizom, uz prisutnost MetS-a nije bilo razlike u izgledima pojavnosti između luminalnih B karcinoma HER2 pozitivnog i HER2 negativnog statusa. Pojedina istraživanja sugeriraju utjecaj sastavnica MetS-a na češću pojavu specifičnih intrinzičnih tipova Ca dojke (luminalni B, HER2+ [56](#), ER+ [256](#)), što se objašnjava stimulacijom sastavnica MetS-a različitih signalnih puteva u stanicama dojke (Slika 6.). U ovom su istraživanju uz MetS primjećeni nešto češći luminalni A i luminalni B, HER2- tipovi Ca dojke u postmenopauzalnih i rjeđi luminalni A i luminalni B, HER2+ tipovi u premenopauzalnih žena (Tablica 17.), što općenito odgovara opaženim češće prisutnim luminalnim podtipovima u prethodnim studijama kod postmenopauzalnih bolesnica [56](#), [257](#).

Smatra se da sastavnice MetS-a mogu doprinijeti karcinogenezi različitim mehanizmima, primjerice: centralna pretilost otpuštanjem adipokina (leptina koji smanjuje apoptozu, adipocitokina s proupalnim i prokoagulantnim djelovanjem), hiperinzulinemija povećanjem koncentracije estrogena i IGF-1 u cirkulaciji, hiperkolesterolemija i hiperglikemija omogućujući dostatan materijal za izgradnju novih tumorskih stanica, te uzrokujući oksidativni stres uz brojne druge učinke na staničnoj razini [75](#), [97](#).

### 3.) Obilježja tumora uz deficijenciju 25-hidroksikolekalciferola;

Deficijencija <50 nmol/l 25-hidroksikolekalciferola u ovom se istraživanju pokazala statistički značajno češćom ( $P=0,027$ ) kod luminalnog tipa A (35,7% naspram 23,1%) i trostruko negativnih tumora (12,5% naspram 5,5%), dok je bila značajno rjeđa kod luminalnog tipa B (39,3% naspram 61,5%). Subanalizom dvostruko manjeg broja pacijentica prema deficijenciji 25(OH)D u „ljetnom“ periodu i normalnom koncentracijom u „zimskom“ periodu ova značajnost nije ostala statistički signifikantna, iako je naznaka ostala ista; kod <50 nmol/l 25(OH)D češće su bili prisutni trostruko negativni (13,3% naspram 5%) a rjeđe luminalni tip B tumora (46,7% naspram 58,3%), ali ne i kod luminalnog tipa A (23,3% naspram 25%). U istoj subanalizi ukupne populacije prema deficijenciji 25(OH)D prisutnoj u „ljetnom“ naspram  $\geq 50$  nmol/l koncentracija u „zimskom“ periodu uzorkovanja, usprkos manjem broju bolesnica pokazana je statistička značajnost ( $P=0,013$ ) za veći promjer svih (*in situ* i invazivnih) tumora uz  $\geq 50$  nmol/l; srednja vrijednost (SD) 2,37 cm ( $\pm 1,912$ ) naspram 1,64 cm ( $\pm 0,81$ ) kod <50 nmol/l). Ovaj je nalaz vjerojatno odraz većih promjera DCIS-a uz  $\geq 50$  nmol/l 25(OH)D.

Modelom logističke regresije bolesnice s deficijencijom 25(OH)D <50 nmol/l imale su 2,37 puta veće izgleda da imaju luminalni tip A u odnosu na luminalni tip B (OR 2,37; 1,22-4,60 95% CI). Razlika je ostala signifikantna i nakon prilagodbe za menopauzu i ITM i dob; 2,10 puta veći izgledi (1,05-4,22 95% CI), ali ne i nakon dodatne prilagodbe za druge anamnestičke faktore rizika za rak dojke (OR 1,95; 0,91-4,19 95% CI) (Tablice 17. i 23.). Rezultati drugih autora nisu pokazali ovu razliku u izgledima između tumora luminalnih tipova A i B <sup>155</sup>, međutim na to je moguće utjecao znatno manji udio uključenih bolesnica s tumorima luminalnog tipa B (samo 10% naspram 50% u ovom istraživanju) jer je udio uključenih bolesnica prema stadijima Ca dojke bio sličan.

Bolesnice s deficijencijom 25(OH)D imale su i 3,58 puta veće izgleda za pojavu trostruko negativnog tipa tumora nego luminalnog B tipa (OR 3,58; 1,19-10,7 95% CI). Razlika je ostala signifikantna i nakon prilagodbe za menopauzu i ITM i dob; 3,25 puta veći izgledi, kao i nakon dodatne prilagodbe za druge anamnestičke faktore rizika za rak dojke; 3,72 puta veći izgledi (1,07-12,9 95% CI). Rezultati u ovom istraživanju za veće izgleda za trostruko negativne tumore uz deficijenciju 25(OH)D odgovaraju rezultatima drugih studija koje su pokazale da su trostruko negativni karcinomi dojke češći kod niskih koncentracija 25(OH)D <sup>155, 206</sup>. U ovom su istraživanju bolesnice s trostruko negativnim tumorima također imale najniže koncentracije 25(OH)D u usporedbi s drugim tipovima tumora (TNT 41.53 nmol/l  $\pm$  22.79 SD; lum A 46.94 nmol/l  $\pm$  23.69 SD; lum B HER2+ 55.6 nmol/l  $\pm$  27.32 SD) a, iako ta razlika nije imala statističku značajnost (Slika 20.), odgovara nalazima prethodnih studija za TNT <sup>206, 207 155</sup>.

Također je kod deficijencije 25(OH)D bio neznatno češći ER– statusa (17% naspram 9,9% kod  $\geq 50$  nmol/l) bez statističke značajnosti ( $P=0,146$ ), ali bi to odgovaralo rezultatima drugih autora za češći ER– status kod bolesnica uz deficijenciju 25(OH)D <sup>155, 207</sup> kao i nekliničkim ispitivanjima s VDR

*knockout* miševima <sup>155</sup>. Multivarijatnom analizom, uz prisutnost deficijencije 25(OH)D nije bilo razlike u izgledima između luminalnih B karcinoma HER2 pozitivnog i HER2 negativnog statusa.

Smatra se da su za učinke vitamina D u tumorskim stanicama važni prisutnost VDR jer je njegova veća ekspresija povezana s boljim obilježjima tumora i preživljenjem kod Ca dojke, te aktivnost njegovog metabolizirajućeg enzima CYP24A1 u tumorskim stanicama koji se razmatra i kao kandidat za onkogen jer povećanom aktivnosti u tumorskim stanicama smanjuje djelovanje 1,25(OH)D kod Ca dojke <sup>173</sup>.

#### **4.) Obilježja tumora uz istodobnu deficijenciju 25-hidroksikolekalciferola i metabolički sindrom;**

U ovom istraživanju istodobno prisustvo deficijencije <50 nmol/l 25-hidroksikolekalciferola i MetS-a u ukupnoj populaciji nije pokazalo udruženi utjecaj s obzirom na prognostička obilježja raka dojke; status ER, PR i HER2, Ki-67, intrinzični tip tumora, histološki i nuklearni gradus, TNM stadij, broj pozitivnih limfnih čvorova, prisutnost više od jednog tumora, promjer invazivnih tumora, kao niti broj mitoz. Istodobno prisustvo ova dva stanja bilo je značajno povezano sa starijom dobi, većom tjelesnom masom, ITM-om, većim opsegom struka, postmenopauzom ( $P < 0,001$ ) i nižom visinom ( $P = 0,027$ ).

U ukupnoj je populaciji, uz oboje deficijenciju 25(OH)D i MetS, kao i sa samo jednim od njih, u usporedbi s niti jednim od ovih stanja (Tablica 22.), prisutna naznaka češćih luminalnih A (34,5% odnosno 34,4% naspram 17,3%) i trostruko negativnih tumora (10,3% odnosno 11,8% naspram 3,8%), a rjeđih luminalnih tipova B (44,8% odnosno 40,9% naspram 71,2%), ali razlika nije bila signifikantna ( $P = 0,116$ ) u ovoj veličini uzorka i vjerojatno je uzrokovana prethodno opisanim statistički značajnim ( $P = 0,027$ ) utjecajem prisustva deficijencije 25(OH)D na iste nalaze. Također je uz istodobnu deficijenciju 25(OH)D i MetS, naspram samo jednog odnosno niti jednog od ovih stanja, bio prisutan neznatno rjeđi HER2 pozitivni status (13% oboje; naspram 24,4% odnosno 28,6%), ali razlika nije bila značajna ( $P = 0,131$ ) i može biti posljedica prethodno opisane naznake rjeđeg HER2+ statusa uz prisustvo MetS-a ( $P = 0,08$ ) kao i uz menopauzu ( $P = 0,077$ ) (Tablice 17., 18. i 21.). U ukupnoj populaciji, uz oboje, naspram samo jednog odnosno niti jednog od ovih stanja, opažen je i nešto veći promjer invazivnih tumora (2,25 cm  $\pm$  1,57 SD; naspram 1,86 cm  $\pm$  0,92 SD odnosno 1,92 cm  $\pm$  0,98 SD) koji također nije bio statistički značajan ( $P = 0,141$ ).

Stoga se u ovom istraživanju nije moglo zaključiti o udruženom učinku MetS-a i deficijencije 25(OH)D na češću pojavu nekog od intrinzičnih tipova tumora te se čini da su pojedinačno češći kod različitih kliničko-patoloških prognostičkih obilježja Ca dojke.

S obzirom da u ovoj veličini uzorka prevalencija deficijencije 25(OH)D nije bila značajno češća kod bolesnica s MetS-om (59,8% naspram 50,9% bez MetS-a), kao ni prevalencija MetS-a u deficijenciji 25(OH)D (51,8% naspram 42,9% bez deficijencije 25(OH)D), te uzimajući u obzir

nađena različita obilježja tumora uz ova dva stanja samostalno (uz deficijenciju 25(OH)D češći trostruko negativni i luminalni A tumori a rjeđi luminalni B, uz MetS veći promjer invazivnih tumora), reprezentativnost uzorka istraživane populacije u RH, kao i negativne rezultate statističke analize kombinirane usporedbe utjecaja njihove prisutnosti, čini se da bi ova dva stanja mogla djelovati različito na patohistološka obilježja novodijagnosticiranoga raka dojke. Potrebno je dodatno evaluirati utjecaj istodobne prisutnosti deficijencije 25-hidroksikolekalciferola i metaboličkoga sindroma kod novootkrivenog raka dojke na većoj populaciji kako bi se razjasnila neovisnost ova dva stanja na prognostička obilježja tumora u različitim subpopulacijama žena.

Dodatno, postoje literaturni podaci iz provedenih studija koje su odvojeno promatrale prognostički utjecaj deficijencije vitamina D ili MetS-a (i pojedinih sastavnica MetS-a) na preživljenje bolesnica s rakom dojke. Metaanaliza 30 prospektivnih studija pokazala je da su visoke koncentracije vitamina D povezane s boljim preživljenjem kod raka dojke [208](#), kao i analiza slučaj-kohorta [209](#). Pojedini autori sugeriraju čak i moguću prediktivnu vrijednost serumske koncentracije 25(OH)D vezano za (ne)postizanje patološkog kompletnog odgovora [216](#), [217](#). Pojedinačne su studije, sustavni pregledi i metaanalize kod bolesnica s Ca dojke pokazale smanjeno preživljenje i/ili brži povrat Ca dojke promatrajući prisutnost MetS-a [129-131](#), [258](#). Međutim, nije pronađeno istraživanje koje bi promatralo utjecaj istodobne prisutnosti deficijencije vitamina D i MetS-a na preživljenje bolesnica s rakom dojke. Deficijencija vitamina D ne samo da je možda odraz starije životne dobi, tjelesne mase, lošijih životnih navika poput nedovoljne tjelesne aktivnosti ili lošijeg općeg zdravstvenog stanja koje je povezano s ishodom kod raka dojke, nego također i s MetS u postmenopauzalnoj dobi. Stoga tek treba potvrditi jesu li asocijacije opažene za vitamin D u opservacijskim studijama za rak dojke i ishode odraz lošijeg profila rizičnih faktora ili utjecaj deficijencije vitamina D npr. putem nepovoljnog proinflatornog profila u pretilosti i kroničnim bolestima poput MetS. Potrebno je stoga evaluirati i prognostički značaj serumske koncentracije 25-hidroksikolekalciferola niže od 50 nmol/l uz istodobno prisustvo metaboličkoga sindroma u bolesnica s novootkrivenim rakom dojke, promatrajući ukupno preživljenje, preživljenje bez povrata bolesti i razdoblje bez progresije bolesti i usporediti njihovu prognostičku vrijednost, samostalno i u kombinaciji, u ukupnoj, premenopauzalnoj i postmenopauzalnoj subpopulaciji bolesnica.

### **Prednosti istraživanja**

Najveće prednosti ovog istraživanja su prospektivno plansko prikupljanje podataka, konsekutivno uključanje, uzorkovanje u obje sezone (zimsko i ljetno) i reprezentativan uzorak za RH, po veličini odnosno broju novootkrivenih slučajeva Ca dojke (~8% od varijabilnog broja novih slučajeva godišnje [5](#)) i po različitim regijama RH iz kojih dolaze pacijentice, te uključanje ukupne (premenopauzalne i postmenopauzalne) populacije žena s novodijagnosticiranim primarno operabilnim Ca dojke. Ovo je uprosječilo zastupljenost MetS-a, deficijencije 25(OH)D i rizika za rak



dojke <sup>8, 34</sup> (npr. tip prehrane, fizička aktivnost) u istraživanju s općom populacijom jer se njihova prisutnost može znatno razlikovati po regijama (kontinentalna i mediteranska) kao i veličini naselja uslijed razlika u načinu života.

Prednost je također prikupljanje detaljnih podataka o rizičnim faktorima za Ca dojke putem upitnika što je omogućilo prilagodbu za njih u statističkoj analizi, s obzirom na veliki postotak popunjenosti upitnika (npr. odgovori na pitanja za ginekološku anamnezu, rak u obitelji, pušenje) (Tablica 14). Budući da je fokus ovog istraživanja bila ukupna populacija Ca dojke, to je omogućilo analizu udruženosti učinka deficijencije 25(OH)D i MetS-a za kliničko-patološke karakteristike novootkrivenog Ca dojke za oba statusa menopauze, jer su i deficijencija 25(OH)D i MetS učestaliji u starijoj dobi, ali se i neki intrinzični tipovi Ca dojke češće javljaju u mlađoj odnosno starijoj dobi.

Rezultati studije s obzirom na pojedina prognostička obilježja tumora (primjerice trostruko negativni tumori češći uz deficijenciju 25(OH)D) podržani su rezultatima nekoliko drugih studija koje su promatrale zasebno prisutnost deficijencije 25(OH)D i MetS-a u drugim populacijama žena u svijetu provedenih uz sličan ili čak niži, kao i znatno veći broj postmenopauzalnih i premenopauzalnih bolesnica.

Dodatno, bolesnice su uključene u jednoj ustanovi i istom tipu odjela (kirurškom) radi iste vrste liječenja (kirurško), što govori u prilog da su bile izložene sličnim razinama akutnog stresa, a može biti od interesa za mjerenje krvnog tlaka. Biokemijski nalazi analizirani su u biokemijskom laboratoriju iste ustanove; za MetS (HDL, LDL, trigliceridi, GUK natašte, CRP, GGT) odmah po uzorkovanju tj. iz nepohranjenih uzoraka. Samo je koncentracija 25(OH)D analizirana u jednoj seriji nakon uključanja svih ispitanica iz uzoraka seruma centrifugiranih ubrzo nakon uzimanja krvi i pohranjenih u alikvotima na minus 80°C.

Podaci za vitamin D i MetS (komponente) mjereni su prije početka liječenja, odnosno na njih nisu utjecali kemoterapija <sup>142</sup> ili drugo liječenje raka <sup>57</sup> kako je pokazano prethodnim studijama. Praćenje formirane hrvatske kohorte bolesnica s obzirom na vitamin D i MetS pružit će podatke o njihovoj eventualnoj udruženoj prognostičkoj vrijednosti s obzirom na ukupno preživljenje. Drugi prikupljeni podaci omogućit će daljnju evaluaciju kliničko-patoloških prognostičkih obilježja u kohorti bolesnica s Ca dojke.

### **Ograničenja istraživanja**

Glavno ograničenje ovog istraživanja je presječni dizajn, što ne omogućava zaključivanje o kauzalnoj povezanosti između 25(OH)D i/ili MetS-a s obzirom na prognostička obilježja Ca dojke. Dodatno, uzimajući u obzir višu dob populacije u studiji i vršnu incidenciju Ca dojke i drugih komorbiditeta tipičnih za ovu dobnu skupinu (osteoporoza), žene koje su navele trenutno ili povremeno uzimanje vitamina D u obliku lijekova ili suplemenata, također su mogle biti uključene u istraživanje. Ovo je bilo uzeto u obzir u analizi postavljanjem više granične vrijednosti za 25(OH)D

ovisno o njihovoj ITM, jer je pokazano da viši ITM smanjuje promjenu (povećanje) serumske koncentracije 25(OH)D tijekom suplementacije <sup>254</sup>. Stoga su ove žene smatrane u analizi kao 25(OH)D deficijentne uz koncentracije  $\leq 70$  nmol/l kod ITM  $< 25$  kg/m<sup>2</sup>, odnosno ako su imale ITM  $\geq 25$  tada su se smatrale deficijentne uz  $\leq 55$  nmol/l 25(OH)D, neovisno o periodu uzorkovanja i navedenoj osteoporozi/osteopeniji. Uzimajući u obzir mali broj žena koje su navele bilo kakvo uzimanje vitamina D (Tablica 15.), te dugi period karcinogeneze, ovo nije moglo značajno utjecati na rezultate za postmenopauzalne žene. Mali broj žena koje su navele uzimanje vitamina D dodatno je podržan malim brojem žena koje su navele osteoporozi (kada bi im bio preporučen vitamin D i drugi lijekovi), a koji je neočekivano nizak za ovu stariju (postmenopauzalnu) populaciju. Detaljniji podaci o osteoporozi mogu dati bolji uvid u duži period statusa vitamina D, međutim postmenopauzalne žene koje ju nisu navele moguće nisu imale denzitometrijsko snimanje te nisu znale imaju li osteoporozi (ili ju potvrđeno nisu imale) te stoga nisu niti uzimale vitamin D zimi. Broj uključenih/uzorkovanih pacijentica u zimskom i ljetnom period nije bio uravnotežen (64,5% uzorkovanih ‘zimi’; 12/2016 do 04/2017), ali iako je studija bazirana na mjerenju 25(OH)D u jednoj vremenskoj točki, smatrano je da konzervativno niska granična vrijednost  $\geq 50$  nmol/l za ‘suficijenciju’ vitamina D prihvatljivo uzima u obzir sezonsku varijaciju koncentracije 25(OH)D za zimske vrijednosti. Nadalje, iako je broj uključenih premenopauzalnih žena u istraživanju bio znatno niži od postmenopauzalnih, to je očekivani utjecaj epidemiologije Ca dojke.

Krvni tlak mjeren je samo jednom, ali nakon što je hospitalizirana bolesnica bila u sjedećem položaju barem 15 minuta. Osim većih graničnih vrijednosti za 25(OH)D ovisno o ITM bolesnica koje su ga uzimale, prilagodba je stoga napravljena i za izmjerene granične vrijednosti krvnog tlaka. S obzirom da su granične vrijednosti za sve komponente MetS-a u ovoj studiji definirane IDF kriterijima za MetS, odnosno iznose ‘samo’  $\geq 130/\geq 85$  mmHg za hipertenziju, ovo bi moglo predstavljati mogućnost za precjenjivanje broja slučajeva pronađene hipertenzije. Stoga je u analizi to uzeto u obzir smatranjem  $\geq 130/\geq 85$  mmHg sistoličkih ili dijastoličkih vrijednosti krvnog tlaka kao novootkrivene hipertenzije samo ako je praćeno opsegom struka  $\geq 100$  cm i/ili ITM-om  $\geq 30$  i/ili uzimanjem lijekova s hipotenzivnim učinkom za drugu dijagnozu, što je rezultiralo sa samo 4 slučaja ‘nove’ hipertenzije te 2 slučaja pripisanog MetS-a (1 u P i 1 u M populaciji), za što se ne očekuje utjecaj na rezultate studije. Kriteriji IDF-a za prikaz prevalencija individualnih komponenti MetS-a odabran je jer je fokus istraživanja bio na razvijenom MetS-u, ali su dodatno istražene i koristeći više granične vrijednosti (Tablica 13.).

Dodatno, anamnestički podaci su bili prikupljeni samoispunjavanjem od strane bolesnica koristeći upitnik razvijen za ovu svrhu. Samoispunjavanje je odabrano kako bi se ispitanicama dalo dovoljno vremena za odgovaranje (uz mogućnost postavljanja pitanja ako su imale potrebu), zbog prirode njihove dijagnoze i jer je općenito pokazano da su podaci dobiveni samoispunjavanjem manje podložni pristranosti od pružanja informacija te stoga mogu dati pouzdanije informacije od intervjua, a uzimajući u obzir i glavni nedostatak ove metode; podložnost ne odgovaranju na sva pitanja <sup>259</sup>. Iako

su podatci naknadno uspoređeni s elektroničkim medicinskim kartonom pacijentice u ustanovi istraživanja i nisu nađene znatne razlike (često je upitnik bio informativniji), nije moguće isključiti mogućnost da su imale navedene bolesti (uključujući vezane za MetS) i da su uzimale navedene lijekove i suplemente (uključujući vitamin D), jer je ustanova istraživanja usmjerena samo na liječenje raka a nije bio moguć pristup elektroničkom medicinskom kartonu u drugim ustanovama. Nasuprot tome, pri ispunjavanju upitnika bolesnice su u nekim slučajevima navele samo primjenjivani lijek (npr. antihipertenziv) ali ne i bolest (hipertenziju) ili obrnuto, a u nekim slučajevima koristile su riječ 'rak' za prethodno liječenje nemalighnih bolesti (npr. 'rak cerviksa', 'rak dojke', 'rak mjehura', nespecificirani 'tumor') koje nisu potvrđene u njihovim medicinskim kartonima ili su se za dojku odnosile na prethodnu biopsiju dojke. Budući da su bolesnice iz svih regija RH i uz preliminarnu dijagnostiku često provedenu u drugim ustanovama, za jednu pacijenticu nije bilo podataka o navedenom prethodnom 'raku' dojke. Također, neke su bolesnice nastavile liječenje u drugim klinikama, stoga se ne može sa potpunom sigurnošću isključiti mogućnost da je u kohorti bila jedna pacijentica sa prethodno (prije nekoliko godina) liječenim Ca dojke. Samo jedna žena je navela kemo- i radioterapiju radi raka bronha. Postotak nedostajućih podataka za životne navike (prehrana, fizička aktivnost, alkohol, stres) je bio visok te stoga nije uzet u obzir pri analizi. Međutim, umjesto toga opisani su podaci za deficijenciju 25(OH)D i MetS po regijama i ne/urbanim naseljima koji daju donekle uvid u ovo pitanje (Tablica 15.).

Zbog kompleksnosti uzastopnog uključivanja na nekoliko odjela različitih po načinu liječenja (kirurgija, onkologija), uključivanje pacijentica je planirano samo na dva kirurška odjela što je podrazumijevalo primarno operabilne pacijentice. Ovo je rezultiralo nižim brojem prethodno neliječenih pacijentica u TNM stadiju 4, odnosno uključenjem ranijih TNM stadija za koje je operacija izbor liječenja u algoritmu liječenja Ca dojke, stoga nisu mogle biti detaljnije istražene žene bilo kojeg tj. i kasnog stadija. Prema izvješćima Registra za rak RH, godišnje se može očekivati oko 4% novih slučajeva Ca dojke u TNM stadiju 4 (ali na ovaj postotak utječe broj prijave novih slučajeva bez navedenog stadija Ca dojke)<sup>5</sup>, a u ovom je istraživanju uključena samo jedna bolesnica u TNM stadiju 4 što čini 0,5% žena u ispitivanju. Navedeno predstavlja poteškoće za donošenje zaključaka o rezultatima istraživanog pitanja (razlikama obilježja tumora uz istodobno prisustvo deficijencije 25(OH)D i MetS-a) za sve TNM stadije jer je subpopulacija sa lošijom kliničko-patološkom prezentacijom podzastupljena. Studija je karakterizirana i određenom populacijskom homogenošću, budući da uključuje samo (hrvatske) ispitanice bijele rase, što je potrebno uzeti u obzir pri usporedbi s drugim populacijama u svijetu.

Usljed provođenja prethodno planiranih multiplih statističkih testova, potrebno je razmotriti pitanje statističkog multipliciranja za dobivene rezultate, osobito za P-vrijednosti blizu <0,05, dok je isto od manje važnosti za dobivene P-vrijednosti niže od 0,001. Usprkos nađenim razlikama u obilježjima tumora, veća veličina uzorka ukupne populacije bi omogućila detaljnije istraživanje razlika

po statusu menopauze i moguće pokazala ili odbacila postojanje razlika koje se nisu pokazale u ovom istraživanju.

Prije operativnog zahvata (i uključenja u studiju) 68,5% bolesnica je imalo dijagnostičku biopsiju što je moglo rezultirati podklasificiranjem patološke kategorije veličine tumora na temelju tumorskog tkiva dobivenog nakon zahvata <sup>12</sup> te podcijenjivanjem ili precjenjivanjem 'veličine učinka' 25(OH)D i MetS-a opaženom u rezultatima. Međutim, ništa ne upućuje na to da bi navedeno bilo neuravnoteženo prisutno u bilo kojem statusu pacijentica (tj. menopauzi, 25(OH)D, MetS). Iako je istraživanje provedeno u jednoj ustanovi patohistološki nalazi nisu očitavani od strane istog citologa već nasumično od bilo kojeg citologa Kliničke jedinice za citologiju što daje sigurnije očitavanje nalaza.

Istraživanje nije predviđalo kontrolnu skupinu za usporedbu prevalencije deficijencije 25(OH)D i MetS-a (i njegovih komponenti), međutim, usporedba njihovih prevalencija s općom populacijom nije bila svrha ovog istraživanja te je prihvatljivo staviti ih u kontekst s povijesnim podacima drugih studija dostupnim za opću populaciju RH. Isto je primjenjivo i za korelacije 25(OH)D s komponentama MetS-a, analiza kojih je provedena eksploratorno.

## 6) ZAKLJUČAK

Kod žena s novodijagnosticiranim primarno operabilnim karcinomom dojke koje nisu prethodno liječene dobiveni rezultati u ovom istraživanju ukazuju na sljedeće:

- U ukupnoj populaciji istodobno prisustvo deficijencije <50 nmol/l 25-hidroksikolekalciferola i metaboličkoga sindroma nije se pokazalo udruženim s obzirom na status ER, PR, HER2 i Ki-67, intrinzični tip tumora, histološki i nuklearni gradus, TNM stadij, broj pozitivnih limfnih čvorova, prisutnost više od jednog tumora, promjer invazivnih tumora, kao niti broj mitozna.
- U ukupnoj populaciji prevalencija istodobnog prisustva deficijencije 25(OH)D i metaboličkoga sindroma iznosila je 28,6%, a zasebno su opažene prevalencije 55,2% za deficijenciju 25(OH)D i 48,3% za MetS.
- Istodobno su deficijencija 25(OH)D i MetS statistički značajno češće prisutni u postmenopauzi, starijoj dobi, uz veću tjelesnu masu, opseg struka i ITM ( $P < 0,001$ ) te nižu visinu ( $P = 0,029$ ).
- Postmenopauzalne bolesnice su statistički značajno rjeđe imale više od jednog tumora u usporedbi s premenopauzalnim ( $P < 0,001$ ).
- U ukupnoj populaciji uz prisustvo MetS-a promjer invazivnih tumora bio je statistički značajno veći; srednja vrijednost (SD) 2,2 cm ( $\pm 1,4$ ) naspram 1,79 cm ( $\pm 0,86$ ) ( $P = 0,014$ ).
- Kod žena s deficijencijom 25(OH)D u ovom su se istraživanju pokazali statistički značajno češći tumori luminalnog tipa A i trostruko negativni, dok su značajno rjeđi bili tumori luminalnog tipa B ( $P = 0,027$ ).
- Bolesnice s deficijencijom 25(OH)D <50 nmol/l imale su 2,10 puta veće izgleda da imaju luminalni tip A u odnosu na luminalni tip B, te 3,25 puta veće izgleda za pojavu trostruko negativnog tipa tumora nego luminalnog B tipa.
- Uz koncentracije 25(OH)D  $\geq 50$  nmol/l u zimskom periodu promjer svih tumora (neinvazivnih i invazivnih) statistički je bio značajno veći; srednja vrijednost (SD) 2,06 cm ( $\pm 1,11$ ) naspram 1,7 cm ( $\pm 0,83$ ) ( $P = 0,013$ ).
- Uz prisustvo MetS-a i u postmenopauzi HER2+ status bio je nešto rjeđi, no bez statističke značajnosti ( $P = 0,077$ ) na promatranoj veličini uzorka bolesnica s karcinomom dojke. U ukupnoj populaciji uz prisutnost deficijencije 25(OH)D ili MetS-a nije bilo razlike u izgledima između luminalnih B karcinoma HER2 pozitivnog i HER2 negativnog statusa.

Potrebno je dodatno evaluirati utjecaj istodobne prisutnosti deficijencije 25-hidroksikolekalciferola i metaboličkoga sindroma kod novootkrivenoga raka dojke na većoj populaciji kako bi se potvrdila ili odbacila neovisnost ova dva stanja za prisutnost različitih obilježja novodijagnosticiranog raka dojke. Potrebno je dodatno evaluirati i prognostički značaj serumske koncentracije 25(OH)D niže od 50 nmol/l uz istodobno prisustvo metaboličkoga sindroma u bolesnica s novootkrivenim rakom dojke promatrajući ukupno preživljenje pacijentica, preživljenje bez povrata

bolesti i razdoblje bez progresije bolesti i usporediti njihovu prognostičku vrijednost, samostalno i u kombinaciji, u ukupnoj, premenopauzalnoj i postmenopauzalnoj subpopulaciji bolesnica.

---

## 7) SAŽETAK

*Uvod i cilj:* Snižena koncentracija vitamina D i metabolički sindrom (MetS), uključujući njegove sastavnice, dovode se pojedinačno u vezu s povećanim rizikom za razvoj karcinoma (Ca) dojke. Nekoliko studija provedenih u žena s novodijagnosticiranim Ca dojke pokazalo je da lošija prognostička obilježja Ca dojke imaju žene s deficijencijom 25-hidroksikolekalciferola (25(OH)D) i žene s MetS, promatrajući ih odvojeno. Deficijencija vitamina D je često prisutna uz MetS a koncentracije 25(OH)D u krvi inverzno ili pozitivno koreliraju s individualnim sastavnicama MetS. Namjera ovog presječnog istraživanja je usporediti kliničko-patološka obilježja u žena s novodijagnosticiranim Ca dojke koje imaju i deficijenciju 25(OH)D i MetS, naspram žena koje imaju jedno ili niti jedno od ovih stanja.

*Metode:* Podaci za MetS (prema IDF kriterijima) i deficijenciju 25(OH)D (serumske koncentracije <50 nmol/l) i uzorci krvi prikupljeni su prije započinjanja liječenja u 203 prospektivno uzastopno uključene žene s novodijagnosticiranim operabilnim Ca dojke. Analizirani su nalazi patohistoloških obilježja tumora dojke rutinski određivanih nakon operativnog zahvata.

*Rezultati:* U ovom istraživanju u ukupnoj populaciji istodobno prisustvo deficijencije 25(OH)D i metaboličkoga sindroma nije se pokazalo udruženim s obzirom na obilježja Ca dojke promatrajući status ER, PR i HER2, Ki-67, intrinzični tip tumora, histološki gradus, TNM stadij, broj pozitivnih limfnih čvorova, prisutnost više od jednog tumora kod iste bolesnice, promjer invazivnih tumora, kao niti broj mitozu. U ukupnoj populaciji deficijencija 25(OH)D pokazala se statistički značajno češćom kod luminalnog tipa A i trostruko negativnih tumora, dok je bila značajno rjeđa kod luminalnog tipa B (P=0,027). Uz prisustvo MetS-a promjer invazivnih tumora bio je statistički značajno veći (P=0,014). Postmenopauzalne žene su statistički značajno rjeđe (P<0,001) imale više od jednog tumora u usporedbi s premenopauzalnim ženama.

*Zaključak:* Čini se da su se deficijencija 25-hidroksikolekalciferola i MetS prezentirale s drugačijim obilježjima Ca dojke i ne uz lošije kliničko-patološke prognostičke nalaze kada su prisutni istodobno. Međutim, potrebna su daljnja istraživanja kako bi se razjasnio utjecaj njihove istodobne prisutnosti na obilježja novootkrivenoga Ca dojke i eventualnu prognostičku vrijednost.

*Ključne riječi:* karcinom dojke, vitamin D, 25-hidroksikolekalciferol, deficijencija, metabolički sindrom, prognostička obilježja

---

## 8) SUMMARY

*Background and aims:* Lower concentrations of vitamin D and metabolic syndrome (MetS), including its components, have been individually associated with increased risk for breast cancer (BC) in women. Several studies performed in women with newly diagnosed BC showed poorer prognostic characteristics in women with 25-hydroxycholecalciferol (25(OH)D) deficiency and in those with MetS, investigating them separately. Vitamin D deficiency is often present in MetS and 25(OH)D blood concentration inversely or positively correlates to individual MetS components. The aim of this cross-sectional study is to compare clinical-pathological prognostic characteristics in women with newly diagnosed BC having both 25(OH)D deficiency and MetS versus women having only one condition and none, respectfully.

*Methods:* MetS (IDF criteria) and 25(OH)D deficiency (serum concentrations <50 nmol/L) data and serum samples from 203 prospectively consecutively included women with newly diagnosed operable BC were collected before treatment initiation. Routine pathological BC tissue characteristics findings were analyzed after surgery.

*Results:* In this study, concomitant presence of 25(OH)D deficiency and MetS was not jointly associated with worse BC findings for ER, PR and HER2 status, Ki-67, intrinsic type of tumors, histological grade, TNM stage, number of positive lymph nodes, presence of more than one tumor, diameter of invasive tumors, or number of mitoses; in total, postmenopausal nor premenopausal women. In total population, 25-hydroxycholecalciferol <50 nmol/L deficiency was shown to be statistically significantly more frequent in luminal type A and triple negative types, and less frequent in luminal B tumor type (P=0.027). Diameter of invasive tumors was statistically significantly higher with metabolic syndrome present (P=0.014). Postmenopausal women had statistically significantly less frequent (P<0.001) more than one tumor comparing to premenopausal women.

*Conclusion:* It appears that 25-hydroxycholecalciferol deficiency and MetS presented with different newly BC characteristics, and with no worse clinical-pathological prognostic findings when both present. However, more researches are needed to clarify influence of their concomitant presence on newly diagnosed BC characteristics and eventual prognostic value.

*Key words:* breast cancer, vitamin D, 25-hydroxycholecalciferol, deficiency, metabolic syndrome, prognostic characteristics



## 8) LITERATURA

1. Bray F, Colombet M, Mery L, Piñeros M, Znaor A, Zanetti R, i sur. Cancer Incidence in Five Continents, Vol. XI. IARC Scientific Publication No. 166 izd. Lyon: International Agency for Research on Cancer 2017.
2. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Dyba T, Randi G, Bettio M, i sur. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries and 25 major cancers in 2018. *Eur J Cancer*. 2018;103:356-87.
3. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018;68(6):394-424.
4. Forouzanfar MH, Foreman KJ, Delossantos AM, Lozano R, Lopez AD, Murray CJ, i sur. Breast and cervical cancer in 187 countries between 1980 and 2010: a systematic analysis. *Lancet*. 2011;378(9801):1461-84.
5. Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Registar za rak Republike Hrvatske. Incidencija raka u Hrvatskoj 2015. [Internet] Bilten 40; 2018 [pristupljeno 16.09.2018.]. Dostupno na: [https://www.hzjz.hr/wp-content/uploads/2018/03/Bilten\\_2015\\_rak\\_final.pdf](https://www.hzjz.hr/wp-content/uploads/2018/03/Bilten_2015_rak_final.pdf).
6. Kelava I, Tomičić K, Kokić M, Čorušić A, Planinić P, Kirac I, i sur. Breast and gynecological cancers in Croatia, 1988-2008. *Croat Med J*. 2012;53(2):100-8.
7. European Commission. Eurostat. Statistics Explained. Population structure and ageing; 2015 [pristupljeno 16.09.2018.]. Dostupno na: [http://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Population\\_structure\\_and\\_ageing](http://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Population_structure_and_ageing).
8. Singletary SE. Rating the Risk Factors for Breast Cancer. *Ann Surg*. 2003;237(4):474-82.
9. O'Donnell ME, McCavert M, Carson J, Mullan FJ, Whiteside MW, Garstin WI. Non-epithelial malignancies and metastatic tumours of the breast. *Ulster Med J*. 2009;78(2):105-12.
10. Lakhani S, Ellis I, Schnitt SJ, Tan PH, van de Vijver MJ. WHO Classification of Tumours of the Breast. 4 izd. Lyon: IARC Press; 2012.
11. Ward EM, DeSantis CE, Lin CC, Kramer JL, Jemal A, Kohler B, i sur. Cancer statistics: Breast cancer in situ. *CA Cancer J Clin*. 2015;65(6):481-95.
12. American Joint Committee on Cancer. Breast. U: Amin MB et al., ur. AJCC Cancer Staging Manual. 8 izd. Chicago, Illinois: The American College of Surgeons; 2017. Str. 589-636.
13. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart M, Thürlimann B, i sur. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol*. 2013;24(9):2206-23.
14. Orgéas CC, Hall P, Rosenberg LU, Czene K. The influence of menstrual risk factors on tumor characteristics and survival in postmenopausal breast cancer. *Breast Cancer Research*. 2008;10(6):R107.
15. Wu Q, Li J, Zhu S, Wu J, Chen C, Liu Q, i sur. Breast cancer subtypes predict the preferential site of distant metastases: a SEER based study. *Oncotarget*. 2017;8(17):27990-6.
16. Niwińska A, Murawska M, Pogoda K. Breast cancer brain metastases: differences in survival depending on biological subtype, RPA RTOG prognostic class and systemic treatment after whole-brain radiotherapy (WBRT). *Annals of Oncology*. 2010;21(5):942-8.
17. Ross JS, Hortobagyi GN. *Molecular Oncology of Breast Cancer*. Sudbury, Massachusetts, USA: Jones and Bartlett; 2005.
18. Levanat S, Cvok ML. [Molecular basis of breast cancer related to BRCA 1 and BRCA2 genes: characteristics and targeting therapy]. *Lijec Vjesn*. 2010;132(1-2):34-7.
19. Anders CK, Johnson R, Litton J, Phillips M, Bleyer A. Breast Cancer Before Age 40 Years. *Semin Oncol*. 2009;36(3):237-49.
20. Madigan MP, Ziegler RG, Benichou J, Byrne C, Hoover RN. Proportion of breast cancer cases in the United States explained by well-established risk factors. *J Natl Cancer Inst*. 1995;87(22):1681-5.
21. Lichtenstein P, Holm NV, Verkasalo PK, Iliadou A, Kaprio J, Koskenvuo M, i sur. Environmental and heritable factors in the causation of cancer--analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. *N Engl J Med*. 2000;343(2):78-85.
22. Kluttig A, Schmidt-Pokrzywniak A. Established and Suspected Risk Factors in Breast Cancer Aetiology. *Breast Care*. 2009;4(2):82-7.
23. Dartois L, Fagherazzi G, Baglietto L, Boutron-Ruault M-C, Delaloue S, Mesrine S, i sur. Proportion of premenopausal and postmenopausal breast cancers attributable to known risk factors: Estimates from the E3N-EPIC cohort. *Int J Cancer*. 2016;138(10):2415-27.
24. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast cancer and breastfeeding: collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50302 women with breast cancer and 96973 women without the disease. *Lancet*. 2002;360(9328):187-95.
25. Melchor L, Benitez J. The complex genetic landscape of familial breast cancer. *Hum Genet*. 2013;132(8):845-63.

26. Wittersheim M, Büttner R, Markiefka B. Genotype/Phenotype Correlations in Patients with Hereditary Breast Cancer. *Breast Care (Basel)*. 2015;10(1):22-6.
27. Apostolou P, Fostira F. Hereditary Breast Cancer: The Era of New Susceptibility Genes. *Biomed Res Int*. 2013;2013:747318.
28. Varghese JS, Easton DF. Genome-wide association studies in common cancers--what have we learnt? *Curr Opin Genet Dev*. 2010;20(3):201-9.
29. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, Zhou S, Diaz LA, Kinzler KW. Cancer Genome Landscapes. *Science*. 2013;339(6127):1546-58.
30. Narayan S, Bader GD, Reimand J. Frequent mutations in acetylation and ubiquitination sites suggest novel driver mechanisms of cancer. *Genome Med*. 2016;8:55.
31. Pereira B, Chin SF, Rueda OM, Vollan HK, Provenzano E, Bardwell HA, i sur. The somatic mutation profiles of 2,433 breast cancers refines their genomic and transcriptomic landscapes. 2016;7:11479.
32. Ellis MJ, Perou CM. The Genomic Landscape of Breast Cancer as a Therapeutic Roadmap. *Cancer Discov*. 2013;3(1):27-34.
33. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. Breast cancer - Reference pathway; 2018 [pristupljeno 16.09.2018.]. Dostupno na: [http://www.genome.jp/kegg-bin/show\\_pathway?hsa05224](http://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa05224).
34. International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans - List of classifications by cancer site; 2019 [pristupljeno 16.10.2019.]. Dostupno na: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/index.php>.
35. Coglianò VJ, Baan R, Straif K, Grosse Y, Lauby-Secretan B, El Ghissassi F, i sur. Preventable Exposures Associated With Human Cancers. *J Natl Cancer Inst*. 2011;103(24):1827-39.
36. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research. Continuous Update Project Report. Diet, Nutrition, Physical Activity, and Breast Cancer Survivors; 2017 [pristupljeno 16.09.2018.]. Dostupno na: <https://wcrf.org/breast-cancer-2017>.
37. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research. Continuous Update Project Report. Diet, Nutrition, Physical Activity, and Breast Cancer Survivors; 2014 [pristupljeno 16.09.2018.]. Dostupno na: <http://www.wcrf.org/sites/default/files/Breast-Cancer-Survivors-2014-Report.pdf>.
38. Abbas S, Linseisen J, Slinger T, Kropp S, Mutschelknauss EJ, Flesch-Janys D, i sur. Serum 25-hydroxyvitamin D and risk of post-menopausal breast cancer--results of a large case-control study. *Carcinogenesis*. 2008;29(1):93-9.
39. Crew KD, Gammon MD, Steck SE, Hershman DL, Cremers S, Dworakowski E, i sur. Association between plasma 25-hydroxyvitamin D and breast cancer risk. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2009;2(6):598-604.
40. Chen P, Li M, Gu X, Liu Y, Li X, Li C, i sur. Higher blood 25(OH)D level may reduce the breast cancer risk: evidence from a Chinese population based case-control study and meta-analysis of the observational studies. *PLoS One*. 2013;8(1):e49312.
41. Bilinski K, Boyages J. Association between 25-hydroxyvitamin D concentration and breast cancer risk in an Australian population: an observational case-control study. *Breast Cancer Res Treat*. 2013;137(2):599-607.
42. Fedirko V, Torres-Mejia G, Ortega-Olvera C, Biessy C, Angeles-Llerenas A, Lazcano-Ponce E, i sur. Serum 25-hydroxyvitamin D and risk of breast cancer: results of a large population-based case-control study in Mexican women. *Cancer Causes Control*. 2012;23(7):1149-62.
43. Agnoli C, Berrino F, Abagnato CA, Muti P, Panico S, Crosignani P, i sur. Metabolic syndrome and postmenopausal breast cancer in the ORDET cohort: a nested case-control study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2010;20(1):41-8.
44. Bhandari R, Kelley GA, Hartley TA, Rockett IR. Metabolic syndrome is associated with increased breast cancer risk: a systematic review with meta-analysis. *Int J Breast Cancer*. 2014;2014:189384.
45. Agnoli C, Grioni S, Sieri S, Sacerdote C, Ricceri F, Tumino R, i sur. Metabolic Syndrome and Breast Cancer Risk: A Case-Cohort Study Nested in a Multicentre Italian Cohort. *PLoS One*. 2015;10(6).
46. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: A Global Perspective. [Internet]; 2007 [pristupljeno 16.09.2018.]. Dostupno na: [http://www.aicr.org/assets/docs/pdf/reports/Second\\_Expert\\_Report.pdf](http://www.aicr.org/assets/docs/pdf/reports/Second_Expert_Report.pdf).
47. International Diabetes Federation. The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome [Internet]; 2006 [pristupljeno 16.09.2018.]. Dostupno na: <http://www.idf.org/e-library/consensus-statements/60-idf-consensus-worldwide-definition-of-the-metabolic-syndrome.html>.
48. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, i sur. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation*. 2005;112(17):2735-52.
49. Cameron AJ, Shaw JE, Zimmet PZ. The metabolic syndrome: prevalence in worldwide populations. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2004;33(2):351-75, table of contents.
50. Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *Jama*. 2002;287(3):356-9.

51. Wu SH, Liu Z, Ho SC. Metabolic syndrome and all-cause mortality: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Eur J Epidemiol.* 2010;25(6):375-84.
52. Poljicanin T, Sekerija M, Boras J, Canecki-Varzic S, Metelko Z, Kern J, i sur. Metabolic syndrome--community nursing evaluation and intervention: the CroHort study. *Coll Antropol.* 2012;36 Suppl 1:35-40.
53. Pasalic D, Dodig S, Corovic N, Pizent A, Jurasovic J, Pavlovic M. High prevalence of metabolic syndrome in an elderly Croatian population - a multicentre study. *Public Health Nutr.* 2011;14(9):1650-7.
54. Kuzmanic M, Vrdoljak D, Rumboldt M, Petric D. Metabolicki sindrom u dijabetičara tipa 2. *Med Jad.* 2008;38(1-2):13-22.
55. Ness KK, Oakes JM, Punyko JA, Baker KS, Gurney JG. Prevalence of the metabolic syndrome in relation to self-reported cancer history. *Ann Epidemiol.* 2005;15(3):202-6.
56. Capasso I, Esposito E, de Laurentiis M, Maurea N, Cavalcanti E, Botti G, i sur. Metabolic syndrome-breast cancer link varies by intrinsic molecular subtype. *Diabetol Metab Syndr.* 2014;6(1):105.
57. Westerink NL, Nuver J, Lefrandt JD, Vrieling AH, Gietema JA, Walenkamp AM. Cancer treatment induced metabolic syndrome: Improving outcome with lifestyle. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2016;108:128-36.
58. Lee JY, Park NH, Song YS, Park SM, Lee HW, Kim KH, i sur. Prevalence of the metabolic syndrome and associated factors in Korean cancer survivors. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2013;14(3):1773-80.
59. Kvolik S, Brozovic G, Rakipović-Stojanović A, Drenjančević-Haršanji I, Kristek J, Šakić K, i sur. More hemodynamic changes in hypertensive versus non-hypertensive patients undergoing breast cancer surgery in general anesthesia - a prospective clinical study. *Med Glas.* 2009;6(1):97-103.
60. Gagnon C, Lu ZX, Magliano DJ, Dunstan DW, Shaw JE, Zimmet PZ, i sur. Low serum 25-hydroxyvitamin D is associated with increased risk of the development of the metabolic syndrome at five years: results from a national, population-based prospective study (The Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle Study: AusDiab). *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(6):1953-61.
61. Kaur J. A Comprehensive Review on Metabolic Syndrome. *Cardiol Res Pract.* 2014;2014.
62. Deng Y, Scherer PE. Adipokines as novel biomarkers and regulators of the metabolic syndrome. *Ann N Y Acad Sci.* 2010;1212:E1-e19.
63. Srikanthan K, Feyh A, Visweshwar H, Shapiro JJ, Sodhi K. Systematic Review of Metabolic Syndrome Biomarkers: A Panel for Early Detection, Management, and Risk Stratification in the West Virginian Population. *Int J Med Sci.* 2016;13(1):25-38.
64. Braun S, Bitton-Worms K, LeRoith D. The Link between the Metabolic Syndrome and Cancer. *Int J Biol Sci.* 2011;7(7):1003-15.
65. Kaptoge S, Di Angelantonio E, Lowe G, Pepys MB, Thompson SG, Collins R, i sur. C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: an individual participant meta-analysis. *Lancet.* 2010;375(9709):132-40.
66. Koenig G, Seneff S. Gamma-Glutamyltransferase: A Predictive Biomarker of Cellular Antioxidant Inadequacy and Disease Risk. *Dis Markers.* 2015;2015:818570.
67. Kunutsor SK, Apekey TA, Seddoh D. Gamma glutamyltransferase and metabolic syndrome risk: a systematic review and dose-response meta-analysis. *Int J Clin Pract.* 2015;69(1):136-44.
68. Kunutsor SK, Apekey TA, Van Hemelrijck M, Calori G, Perseghin G. Gamma glutamyltransferase, alanine aminotransferase and risk of cancer: systematic review and meta-analysis. *Int J Cancer.* 2015;136(5):1162-70.
69. Neuhouwer ML, Aragaki AK, Prentice RL, Manson JE, Chlebowski R, Carty CL, i sur. Overweight, Obesity, and Postmenopausal Invasive Breast Cancer Risk: A Secondary Analysis of the Women's Health Initiative Randomized Clinical Trials. *JAMA Oncol.* 2015;1(5):611-21.
70. Hardefeldt PJ, Edirimanne S, Eslick GD. Diabetes increases the risk of breast cancer: a meta-analysis. *Endocr Relat Cancer.* 2012;19(6):793-803.
71. Crawley DJ, Holmberg L, Melvin JC, Loda M, Chowdhury S, Rudman SM, i sur. Serum glucose and risk of cancer: a meta-analysis. *BMC Cancer.* 2014;14(1):985.
72. Esposito K, Chiodini P, Colao A, Lenzi A, Giugliano D. Metabolic syndrome and risk of cancer: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care.* 2012;35(11):2402-11.
73. Xu S, Zhang GM, Guan FJ, Dong DH, Luo L, Li B, i sur. The association between metabolic syndrome and the risk of urothelial carcinoma of the bladder: a case-control study in China. *World J Surg Oncol.* 2015;13:236.
74. Tuohimaa P, Tenkanen L, Syvala H, Lumme S, Hakulinen T, Dillner J, i sur. Interaction of factors related to the metabolic syndrome and vitamin D on risk of prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007;16(2):302-7.
75. Gallagher EJ, LeRoith D. Epidemiology and molecular mechanisms tying obesity, diabetes, and the metabolic syndrome with cancer. *Diabetes Care.* 2013;36 Suppl 2:S233-9.
76. Doyle SL, Donohoe CL, Lysaght J, Reynolds JV. Visceral obesity, metabolic syndrome, insulin resistance and cancer. *Proc Nutr Soc.* 2012;71(1):181-9.

77. Han H, Guo W, Shi W, Yu Y, Zhang Y, Ye X, i sur. Hypertension and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep.* 2017;7:44877.
78. Furberg AS, Veierod MB, Wilsgaard T, Bernstein L, Thune I. Serum high-density lipoprotein cholesterol, metabolic profile, and breast cancer risk. *J Natl Cancer Inst.* 2004;96(15):1152-60.
79. Kabat GC, Kim M, Chlebowski RT, Khandekar J, Ko MG, McTiernan A, i sur. A longitudinal study of the metabolic syndrome and risk of postmenopausal breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009;18(7):2046-53.
80. Bjorge T, Lukanova A, Jonsson H, Tretli S, Ulmer H, Manjer J, i sur. Metabolic syndrome and breast cancer in the me-can (metabolic syndrome and cancer) project. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2010;19(7):1737-45.
81. Vigneri P, Frasca F, Sciacca L, Pandini G, Vigneri R. Diabetes and cancer. *Endocr Relat Cancer.* 2009;16(4):1103-23.
82. Renehan AG, Tyson M, Egger M, Heller RF, Zwahlen M. Body-mass index and incidence of cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective observational studies. *Lancet.* 2008;371(9612):569-78.
83. Ni H, Liu H, Gao R. Serum Lipids and Breast Cancer Risk: A Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. *PLoS One.* 2015;10(11).
84. Allott EH, Hursting SD. Obesity and cancer: mechanistic insights from transdisciplinary studies. *Endocr Relat Cancer.* 2015;22(6):R365-86.
85. Millikan RC, Newman B, Tse CK, Moorman PG, Conway K, Dressler LG, i sur. Epidemiology of basal-like breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2008;109(1):123-39.
86. Qin Y, Sundaram S, Essaid L, Chen X, Miller SM, Yan F, i sur. Weight loss reduces basal-like breast cancer through kinome reprogramming. *Cancer Cell Int.* 2016;16:26.
87. Healy LA, Ryan AM, Carroll P, Ennis D, Crowley V, Boyle T, i sur. Metabolic syndrome, central obesity and insulin resistance are associated with adverse pathological features in postmenopausal breast cancer. *Clin Oncol (R Coll Radiol).* 2010;22(4):281-8.
88. Maiti B, Kundranda MN, Spiro TP, Daw HA. The association of metabolic syndrome with triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2010;121(2):479-83.
89. Colotta F, Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A. Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability. *Carcinogenesis.* 2009;30(7):1073-81.
90. Erlinger TP, Platz EA, Rifai N, Helzlsouer KJ. C-reactive protein and the risk of incident colorectal cancer. *Jama.* 2004;291(5):585-90.
91. Guo L, Liu S, Zhang S, Chen Q, Zhang M, Quan P, i sur. C-reactive protein and risk of breast cancer: A systematic review and meta-analysis. 2015;5:10508.
92. Van Hemelrijck M, Jassem W, Walldius G, Fentiman IS, Hammar N, Lambe M, i sur. Gamma-glutamyltransferase and risk of cancer in a cohort of 545,460 persons - the Swedish AMORIS study. *Eur J Cancer.* 2011;47(13):2033-41.
93. Strasak AM, Pfeiffer RM, Klenk J, Hilbe W, Oberaigner W, Gregory M, i sur. Prospective study of the association of gamma-glutamyltransferase with cancer incidence in women. *Int J Cancer.* 2008;123(8):1902-6.
94. Fentiman IS, Allen DS. gamma-Glutamyl transferase and breast cancer risk. *Br J Cancer.* 2010;103(1):90-3.
95. Preyer O, Johansen D, Holly J, Stocks T, Pompella A, Nagel G, i sur.  $\gamma$ -Glutamyltransferase and Breast Cancer Risk Beyond Alcohol Consumption and Other Life Style Factors – A Pooled Cohort Analysis. *PLoS One.* 2016;11(2).
96. Celis JE, Moreira JM, Cabezon T, Gromov P, Friis E, Rank F, i sur. Identification of extracellular and intracellular signaling components of the mammary adipose tissue and its interstitial fluid in high risk breast cancer patients: toward dissecting the molecular circuitry of epithelial-adipocyte stromal cell interactions. *Mol Cell Proteomics.* 2005;4(4):492-522.
97. Donohoe CL, Doyle SL, Reynolds JV. Visceral adiposity, insulin resistance and cancer risk. *Diabetol Metab Syndr.* 2011;3:12.
98. Cencioni C, Spallotta F, Greco S, Martelli F, Zeiher AM, Gaetano C. Epigenetic mechanisms of hyperglycemic memory. *Int J Biochem Cell Biol.* 2014;51:155-8.
99. Ceccacci E, Minucci S. Inhibition of histone deacetylases in cancer therapy: lessons from leukaemia. *Br J Cancer.* 2016;114(6):605-11.
100. Ryu TY, Park J, Scherer PE. Hyperglycemia as a Risk Factor for Cancer Progression. *Diabetes Metab J.* 2014;38(5):330-6.
101. Candelaria PV, Rampoldi A, Harbuzariu A, Gonzalez-Perez RR. Leptin signaling and cancer chemoresistance: Perspectives. *World J Clin Oncol.* 2017;8(2):106-19.
102. Schaffler A, Scholmerich J, Buechler C. Mechanisms of Disease: adipokines and breast cancer - endocrine and paracrine mechanisms that connect adiposity and breast cancer. *Nat Clin Pract End Met.* 2007;3(4):345-54.

103. Liu J, Xu A, Lam KS, Wong NS, Chen J, Shepherd PR, i sur. Cholesterol-induced mammary tumorigenesis is enhanced by adiponectin deficiency: role of LDL receptor upregulation. *Oncotarget*. 2013;4(10):1804-18.
104. Esper RM, Dame M, McClintock S, Holt PR, Dannenberg AJ, Wicha MS, i sur. Leptin and Adiponectin Modulate the Self-renewal of Normal Human Breast Epithelial Stem Cells. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2015;8(12):1174-83.
105. Aylon Y, Oren M. The Hippo pathway, p53 and cholesterol. *Cell Cycle*. 2016;15(17):2248-55.
106. Ricoult SJH, Yecies JL, Ben-Sahra I, Manning BD. Oncogenic PI3K and K-Ras stimulate de novo lipid synthesis through mTORC1 and SREBP. *Oncogene*. 2016;35(10):1250-60.
107. Kloudova A, Guengerich FP, Soucek P. The Role of Oxysterols in Human Cancer. *Trends Endocrinol Metab*. 2017;28(7):485-96.
108. Jusakul A, Yongvanit P, Loilome W, Namwat N, Kuver R. Mechanisms of oxysterol-induced carcinogenesis. *Lipids Health Dis*. 2011;10:44.
109. Nelson ER, Chang C, McDonnell DP. Cholesterol and Breast Cancer Pathophysiology. *Trends Endocrinol Metab*. 2014;25(12):649-55.
110. Olkkonen VM, Béaslas O, Nissilä E. Oxysterols and Their Cellular Effectors. *Biomolecules*. 2012;2(1):76.
111. Vaysse C, Lomo J, Garred O, Fjeldheim F, Lofteroed T, Schlichting E, i sur. Inflammation of mammary adipose tissue occurs in overweight and obese patients exhibiting early-stage breast cancer. *NPJ Breast Cancer*. 2017;3:19.
112. Pothiwala P, Jain SK, Yaturu S. Metabolic Syndrome and Cancer. *Metab Syndr Relat Disord*. 2009;7(4):279-87.
113. Clarke CA, Canchola AJ, Moy LM, Neuhausen SL, Chung NT, Lacey JV, i sur. Regular and low-dose aspirin, other non-steroidal anti-inflammatory medications and prospective risk of HER2-defined breast cancer: the California Teachers Study. *Breast Cancer Res*. 2017;19:52.
114. Johnson TW, Anderson KE, Lazovich D, Folsom AR. Association of aspirin and nonsteroidal anti-inflammatory drug use with breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2002;11(12):1586-91.
115. Gonzalez-Perez A, Garcia Rodriguez LA, Lopez-Ridaura R. Effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on cancer sites other than the colon and rectum: a meta-analysis. *BMC Cancer*. 2003;3:28.
116. van Kruijsdijk RC, van der Wall E, Visseren FL. Obesity and cancer: the role of dysfunctional adipose tissue. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009;18(10):2569-78.
117. Bonomini F, Rodella LF, Rezzani R. Metabolic Syndrome, Aging and Involvement of Oxidative Stress. *Aging Dis*. 2015;6(2):109-20.
118. Panieri E, Santoro MM. ROS homeostasis and metabolism: a dangerous liason in cancer cells. *Cell Death Dis*. 2016;7(6):e2253.
119. Widschwendter P, Friedl TW, Schwentner L, DeGregorio N, Jaeger B, Schramm A, i sur. The influence of obesity on survival in early, high-risk breast cancer: results from the randomized SUCCESS A trial. *Breast Cancer Res*. 2015;17:129.
120. Chan DSM, Vieira AR, Aune D, Bandera EV, Greenwood DC, McTiernan A, i sur. Body mass index and survival in women with breast cancer—systematic literature review and meta-analysis of 82 follow-up studies. *Ann Oncol*. 2014;25(10):1901-14.
121. Protani M, Coory M, Martin JH. Effect of obesity on survival of women with breast cancer: systematic review and meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat*. 2010;123(3):627-35.
122. Pajares B, Pollan M, Martin M, Mackey JR, Lluch A, Gavila J, i sur. Obesity and survival in operable breast cancer patients treated with adjuvant anthracyclines and taxanes according to pathological subtypes: a pooled analysis. *Breast Cancer Res*. 2013;15(6):R105.
123. Ewertz M, Jensen MB, Gunnarsdottir KA, Hojris I, Jakobsen EH, Nielsen D, i sur. Effect of obesity on prognosis after early-stage breast cancer. *J Clin Oncol*. 2011;29(1):25-31.
124. Jiralerspong S, Goodwin PJ. Obesity and Breast Cancer Prognosis: Evidence, Challenges, and Opportunities. *J Clin Oncol*. 2016;34(35):4203-16.
125. Zhao XB, Ren GS. Diabetes mellitus and prognosis in women with breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(49).
126. Villarreal-Garza C, Shaw-Dulin R, Lara-Medina F, Bacon L, Rivera D, Urzua L, i sur. Impact of Diabetes and Hyperglycemia on Survival in Advanced Breast Cancer Patients. *Exp Diabetes Res*. 2012;2012:732027.
127. Ferroni P, Riondino S, Laudisi A, Portarena I, Formica V, Alessandrini J, i sur. Pretreatment Insulin Levels as a Prognostic Factor for Breast Cancer Progression. *Oncologist*. 2016;21(9):1041-9.
128. Li X, Tang H, Wang J, Xie X, Liu P, Kong Y, i sur. The effect of preoperative serum triglycerides and high-density lipoprotein-cholesterol levels on the prognosis of breast cancer. *The Breast*. 2013;23:1-6.
129. Pasanisi P, Berrino F, De Petris M, Venturelli E, Mastroianni A, Panico S. Metabolic syndrome as a prognostic factor for breast cancer recurrences. *Int J Cancer*. 2006;119(1):236-8.

130. Berrino F, Villarini A, Traina A, Bonanni B, Panico S, Mano MP, i sur. Metabolic syndrome and breast cancer prognosis. *Breast Cancer Res Treat.* 2014;147(1):159-65.
131. Calip GS, Malone KE, Gralow JR, Stergachis A, Hubbard RA, Boudreau DM. Metabolic syndrome and outcomes following early-stage breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2014;148(2):363-77.
132. Emaus A, Veierod MB, Tretli S, Finstad SE, Selmer R, Furberg AS, i sur. Metabolic profile, physical activity, and mortality in breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat.* 2010;121(3):651-60.
133. Braithwaite D, Tammemagi CM, Moore DH, Ozanne EM, Hiatt RA, Belkora J, i sur. Hypertension is an independent predictor of survival disparity between African-American and white breast cancer patients. *Int J Cancer.* 2009;124(5):1213-9.
134. Braithwaite D, Moore DH, Satariano WA, Kwan ML, Hiatt RA, Kroenke C, i sur. Prognostic impact of comorbidity among long-term breast cancer survivors: results from the LACE study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2012;21(7):1115-25.
135. Ravishankaran P, Karunanithi R. Clinical significance of preoperative serum interleukin-6 and C-reactive protein level in breast cancer patients. *World J Surg Oncol.* 2011;9:18.
136. Staudigl C, Concin N, Grimm C, Pfeiler G, Nehoda R, Singer CF, i sur. Prognostic Relevance of Pretherapeutic Gamma-Glutamyltransferase in Patients with Primary Metastatic Breast Cancer. *PLoS One.* 2015;10(4).
137. Allin KH, Nordestgaard BG, Flyger H, Bojesen SE. Elevated pre-treatment levels of plasma C-reactive protein are associated with poor prognosis after breast cancer: a cohort study. *Breast Cancer Res.* 2011;13(3):R55.
138. Wen J, Yang Y, Ye F, Huang X, Li S, Wang Q, i sur. The preoperative plasma fibrinogen level is an independent prognostic factor for overall survival of breast cancer patients who underwent surgical treatment. *Breast.* 2015;24(6):745-50.
139. Krenn-Pilko S, Langsenlehner U, Stojakovic T, Pichler M, Gerger A, Kapp KS, i sur. An elevated preoperative plasma fibrinogen level is associated with poor disease-specific and overall survival in breast cancer patients. *Breast.* 2015;24(5):667-72.
140. Mei Y, Zhao S, Lu X, Liu H, Li X, Ma R. Clinical and Prognostic Significance of Preoperative Plasma Fibrinogen Levels in Patients with Operable Breast Cancer. *PLoS One.* 2016;11(1):e0146233.
141. Wen J, Ye F, Li S, Huang X, Yang L, Xiao X, i sur. The Practicability of a Novel Prognostic Index (PI) Model and Comparison with Nottingham Prognostic Index (NPI) in Stage I–III Breast Cancer Patients Undergoing Surgical Treatment. *PLoS One.* 2015;10(11).
142. Dieli-Conwright CM, Wong L, Waliyan S, Bernstein L, Salehian B, Mortimer JE. An observational study to examine changes in metabolic syndrome components in patients with breast cancer receiving neoadjuvant or adjuvant chemotherapy. *Cancer.* 2016;122(17):2646-53.
143. World Cancer Research Fund International. Cancer Prevention & Survival. Summary of global evidence on diet, weight, physical activity & what increases or decreases your risk of cancer; 2016 [pristupljeno 16.09.2018.]. Dostupno na: <http://www.wcrf.org/sites/default/files/CUP-Summary-Report.pdf>.
144. Wahl DA, Cooper C, Ebeling PR, Eggersdorfer M, Hilger J, Hoffmann K, i sur. A global representation of vitamin D status in healthy populations. *Arch Osteoporos.* 2012;7:155-72.
145. International Osteoporosis Foundation. Vitamin D Status Around The World; [pristupljeno 16.09.2018.]. Dostupno na: <http://www.iofbonehealth.org/facts-and-statistics/vitamin-d-studies-map>.
146. Palacios C, Gonzalez L. Is vitamin D deficiency a major global public health problem? *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2014;144pa:138-45.
147. Bruyere O, Malaise O, Neuprez A, Collette J, Reginster JY. Prevalence of vitamin D inadequacy in European postmenopausal women. *Curr Med Res Opin.* 2007;23(8):1939-44.
148. Lips P, Duong T, Oleksik A, Black D, Cummings S, Cox D, i sur. A global study of vitamin D status and parathyroid function in postmenopausal women with osteoporosis: baseline data from the multiple outcomes of raloxifene evaluation clinical trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(3):1212-21.
149. Keser I, Cvijetic S, Bituh M, Rumora Samarin I, Ilich JZ, Colic Baric I, i sur. Vitamin D and parathyroid hormone in relation to bone health in Croatian women. *Arch Osteoporos.* 2018;13(1):69.
150. Bobinac D, Starčević Klasan G, Cvijanović O, Fužinac A, Arbanas J, Zoričić S. Serum vitamin D level and bone mineral density in premenopausal and postmenopausal women in Croatia. *Bone* 2009;44:S65-S6.
151. Kraljevic I, Kastelan D, Gorsic I, Solak M, Giljevic Z, Kasovic M, i sur. [Vitamin D deficiency in postmenopausal women receiving osteoporosis therapy]. *Lijec Vjesn.* 2007;129(8-9):304.
152. Laktasic-Zerjavic N, Korsic M, Crncevic-Orlic Z, Kovac Z, Polasek O, Soldo-Juresa D. Vitamin D status, dependence on age, and seasonal variations in the concentration of vitamin D in Croatian postmenopausal women initially screened for osteoporosis. *Clin Rheumatol.* 2010;29(8):861-7.
153. Laktasic-Zerjavic N, Rukavina K, Babic-Naglic D, Curkovic B, Anic B, Soldo-Juresa D. [Relationship between vitamin D status and bone mineral density in Croatian postmenopausal women]. *Reumatizam.* 2013;60(1):8-13.
154. Crew KD, Shane E, Cremers S, McMahon DJ, Irani D, Hershman DL. High prevalence of vitamin D

- deficiency despite supplementation in premenopausal women with breast cancer undergoing adjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol*. 2009;27(13):2151-6.
155. Yao S, Sucheston LE, Millen AE, Johnson CS, Trump DL, Nesline MK, i sur. Pretreatment serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D and breast cancer prognostic characteristics: a case-control and a case-series study. *PLoS One*. 2011;6(2):e17251.
  156. Acevedo F, Pérez V, Pérez-Sepúlveda A, Florenzano P, Artigas R, Medina L, i sur. High prevalence of vitamin D deficiency in women with breast cancer: The first Chilean study. *The Breast*. 2016;29:39-43.
  157. Kim HJ, Lee YM, Ko BS, Lee JW, Yu JH, Son BH, i sur. Vitamin D deficiency is correlated with poor outcomes in patients with luminal-type breast cancer. *Ann Surg Oncol*. 2011;18(7):1830-6.
  158. Shekarriz-Foumani R, Khodaie F. The Correlation of Plasma 25-Hydroxyvitamin D Deficiency With Risk of Breast Neoplasms: A Systematic Review. *Iran J Cancer Prev*. 2016;9(3):e4469.
  159. Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*. 2004;80(6 Suppl):1678s-88s.
  160. Battault S, Whiting SJ, Peltier SL, Sadrin S, Gerber G, Maixent JM. Vitamin D metabolism, functions and needs: from science to health claims. *Eur J Nutr*. 2013;52(2):429-41.
  161. Holick MF, Chen TC. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *Am J Clin Nutr*. 2008;87(4):1080s-6s.
  162. Lucas JA, Bolland MJ, Grey AB, Ames RW, Mason BH, Horne AM, i sur. Determinants of vitamin D status in older women living in a subtropical climate. *Osteoporos Int*. 2005;16(12):1641-8.
  163. Lu Z, Chen TC, Zhang A, Persons KS, Kohn N, Berkowitz R, i sur. An evaluation of the vitamin D3 content in fish: Is the vitamin D content adequate to satisfy the dietary requirement for vitamin D? *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2007;103(3-5):642-4.
  164. Vieth R, Bischoff-Ferrari H, Boucher BJ, Dawson-Hughes B, Garland CF, Heaney RP, i sur. The urgent need to recommend an intake of vitamin D that is effective. *Am J Clin Nutr*. 2007;85(3):649-50.
  165. Holick MF, Biancuzzo RM, Chen TC, Klein EK, Young A, Bibuld D, i sur. Vitamin D2 is as effective as vitamin D3 in maintaining circulating concentrations of 25-hydroxyvitamin D. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(3):677-81.
  166. Heaney RP, Recker RR, Grote J, Horst RL, Armas LA. Vitamin D(3) is more potent than vitamin D(2) in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(3):E447-52.
  167. Vashi PG, Trukova K, Lammersfeld CA, Braun DP, Gupta D. Impact of oral vitamin D supplementation on serum 25-hydroxyvitamin D levels in oncology. *Nutr J*. 2010;9:60.
  168. Elnenaie MO, Chandra R, Mangion T, Moniz C. Genomic and metabolomic patterns segregate with responses to calcium and vitamin D supplementation. *Br J Nutr*. 2011;105(1):71-9.
  169. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 5 izd. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders; 2012.
  170. Christakos S, Dhawan P, Verstuyf A, Verlinden L, Carmeliet G. Vitamin D: Metabolism, Molecular Mechanism of Action, and Pleiotropic Effects. *Physiol Rev*. 2016;96(1):365-408.
  171. Bouillon R, Carmeliet G, Verlinden L, van Etten E, Verstuyf A, Luderer HF, i sur. Vitamin D and human health: lessons from vitamin D receptor null mice. *Endocr Rev*. 2008;29(6):726-76.
  172. Hii CS, Ferrante A. The Non-Genomic Actions of Vitamin D. *Nutrients*. 2016;8(3).
  173. Feldman D, Krishnan AV, Swami S, Giovannucci E, Feldman BJ. The role of vitamin D in reducing cancer risk and progression. *Nat Rev Cancer*. 2014;14(5):342-57.
  174. Gagnon C, Lu ZX, Magliano DJ, Dunstan DW, Shaw JE, Zimmet PZ, i sur. Serum 25-hydroxyvitamin D, calcium intake, and risk of type 2 diabetes after 5 years: results from a national, population-based prospective study (the Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle study). *Diabetes Care*. 2011;34(5):1133-8.
  175. Mitri J, Muraru M, Pittas A. Vitamin D and type 2 diabetes: a systematic review. *Eur J Clin Nutr*. 2011;65(9):1005-15.
  176. Pittas AG, Dawson-Hughes B, Li T, Van Dam RM, Willett WC, Manson JE, i sur. Vitamin D and calcium intake in relation to type 2 diabetes in women. *Diabetes Care*. 2006;29(3):650-6.
  177. Afzal S, Bojesen SE, Nordestgaard BG. Low 25-hydroxyvitamin D and risk of type 2 diabetes: a prospective cohort study and metaanalysis. *Clin Chem*. 2013;59(2):381-91.
  178. Kunutsor SK, Apekey TA, Steur M. Vitamin D and risk of future hypertension: meta-analysis of 283,537 participants. *Eur J Epidemiol*. 2013;28(3):205-21.
  179. Pham TM, Ekwaru JP, Setayeshgar S, Veugelers PJ. The Effect of Changing Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentrations on Metabolic Syndrome: A Longitudinal Analysis of Participants of a Preventive Health Program. *Nutrients*. 2015;7(9):7271-84.
  180. Pittas AG, Chung M, Trikalinos T, Mitri J, Brendel M, Patel K, i sur. Systematic review: Vitamin D and cardiometabolic outcomes. *Ann Intern Med*. 2010;152(5):307-14.
  181. Strange RC, Shipman KE, Ramachandran S. Metabolic syndrome: A review of the role of vitamin D in mediating susceptibility and outcome. *World J Diabetes*. 2015;6(7):896-911.

182. McCullough ML, Weinstein SJ, Freedman DM, Helzlsouer K, Flanders WD, Koenig K, i sur. Correlates of circulating 25-hydroxyvitamin D: Cohort Consortium Vitamin D Pooling Project of Rarer Cancers. *Am J Epidemiol.* 2010;172(1):21-35.
183. Vashi PG, Lammersfeld CA, Braun DP, Gupta D. Serum 25-hydroxyvitamin D is inversely associated with body mass index in cancer. *Nutr J.* 2011;10:51.
184. Salekzamani S, Neyestani TR, Alavi-Majd H, Houshiarrad A, Kalayi A, Shariatzadeh N, i sur. Is vitamin D status a determining factor for metabolic syndrome? A case-control study. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2011;4:205-12.
185. Jungert A, Roth HJ, Neuhauser-Berthold M. Associations of serum 25-hydroxycholecalciferol and parathyroid hormone with serum lipids differ by sex and vitamin D status. *Public Health Nutr.* 2015;18(9):1684-91.
186. Garcia-Bailo B, Da Costa LA, Arora P, Karmali M, El-Sohemy A, Badawi A. Plasma vitamin D and biomarkers of cardiometabolic disease risk in adult Canadians, 2007-2009. *Prev Chronic Dis.* 2013;10:E91.
187. Hypponen E, Berry D, Cortina-Borja M, Power C. 25-Hydroxyvitamin D and pre-clinical alterations in inflammatory and hemostatic markers: a cross sectional analysis in the 1958 British Birth Cohort. *PLoS One.* 2010;5(5):e10801.
188. Estébanez N, Gómez-Acebo I, Palazuelos C, Llorca J, Dierssen-Sotos T. Vitamin D exposure and Risk of Breast Cancer: a meta-analysis. *Sci Rep.* 2018;8(1):9039.
189. Hossain S, Beydoun MA, Beydoun HA, Chen X, Zonderman AB, Wood RJ. Vitamin D and breast cancer: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Clin Nutr ESPEN.* 2019;30:170-84.
190. Bertone-Johnson ER, Chen WY, Holick MF, Hollis BW, Colditz GA, Willett WC, i sur. Plasma 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005;14(8):1991-7.
191. Bouillon R, Eelen G, Verlinden L, Mathieu C, Carmeliet G, Verstuyf A. Vitamin D and cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2006;102(1-5):156-62.
192. Bikle D. Nonclassic actions of vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(1):26-34.
193. Vanoirbeek E, Krishnan A, Eelen G, Verlinden L, Bouillon R, Feldman D, i sur. The anti-cancer and anti-inflammatory actions of 1,25(OH)(2)D(3). *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2011;25(4):593-604.
194. Abbas S, Linseisen J, Rohrmann S, Chang-Claude J, Peeters PH, Engel P, i sur. Dietary intake of vitamin D and calcium and breast cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Nutr Cancer.* 2013;65(2):178-87.
195. Ellingjord-Dale M, dos-Santos-Silva I, Grotmol T, Sakhi AK, Hofvind S, Qureshi S, i sur. Vitamin D intake, month the mammogram was taken and mammographic density in Norwegian women aged 50-69. *PLoS One.* 2015;10(5):e0123754.
196. Berube S, Diorio C, Verhoek-Oftedahl W, Brisson J. Vitamin D, calcium, and mammographic breast densities. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2004;13(9):1466-72.
197. Bertone-Johnson ER, Chlebowski RT, Manson JE, Wactawski-Wende J, Aragaki AK, Tamimi RM, i sur. Dietary vitamin D and calcium intake and mammographic density in postmenopausal women. *Menopause.* 2010;17(6):1152-60.
198. Fair AM, Lewis TJ, Sanderson M, Dupont WD, Fletcher S, Egan KM, i sur. Increased vitamin D and calcium intake associated with reduced mammographic breast density among premenopausal women. *Nutr Res.* 2015;35(10):851-7.
199. Bauer SR, Hankinson SE, Bertone-Johnson ER, Ding EL. Plasma vitamin D levels, menopause, and risk of breast cancer: dose-response meta-analysis of prospective studies. *Medicine (Baltimore).* 2013;92(3):123-31.
200. Lagunova Z, Porojnicu AC, Grant WB, Bruland O, Moan JE. Obesity and increased risk of cancer: does decrease of serum 25-hydroxyvitamin D level with increasing body mass index explain some of the association? *Mol Nutr Food Res.* 2010;54(8):1127-33.
201. Cadeau C, Fournier A, Mesrine S, Clavel-Chapelon F, Fagherazzi G, Boutron-Ruault MC. Interaction between current vitamin D supplementation and menopausal hormone therapy use on breast cancer risk: evidence from the E3N cohort. *Am J Clin Nutr.* 2015;102(4):966-73.
202. Yao S, Zirpoli G, Bovbjerg DH, Jandorf L, Hong CC, Zhao H, i sur. Variants in the vitamin D pathway, serum levels of vitamin D, and estrogen receptor negative breast cancer among African-American women: a case-control study. *Breast Cancer Res.* 2012;14(2):R58.
203. Raimondi S, Johansson H, Maisonneuve P, Gandini S. Review and meta-analysis on vitamin D receptor polymorphisms and cancer risk. *Carcinogenesis.* 2009;30(7):1170-80.
204. Clendenen TV, Ge W, Koenig KL, Axelsson T, Liu M, Afanasyeva Y, i sur. Genetic Polymorphisms in Vitamin D Metabolism and Signaling Genes and Risk of Breast Cancer: A Nested Case-Control Study. *PLoS One.* 2015;10(10):e0140478.
205. Tagliabue E, Raimondi S, Gandini S. Meta-analysis of vitamin D-binding protein and cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2015;24(11):1758-65.



206. Rainville C, Khan Y, Tisman G. Triple negative breast cancer patients presenting with low serum vitamin D levels: a case series. *Cases J.* 2009;2:8390.
207. Peppone LJ, Rickles AS, Janelsins MC, Insalaco MR, Skinner KA. The association between breast cancer prognostic indicators and serum 25-OH vitamin D levels. *Ann Surg Oncol.* 2012;19(8):2590-9.
208. Kim Y, Je Y. Vitamin D intake, blood 25(OH)D levels, and breast cancer risk or mortality: a meta-analysis. *Br J Cancer.* 2014;110(11):2772-84.
209. Yao S, Kwan ML, Ergas IJ, Roh JM, Cheng TD, Hong CC, i sur. Association of Serum Level of Vitamin D at Diagnosis With Breast Cancer Survival: A Case-Cohort Analysis in the Pathways Study. *JAMA Oncol.* 2017;3(3):351-7.
210. Morton ML, Thompson CL. Decreasing 25-hydroxy-vitamin D levels account for portion of the effect of increasing body mass index on breast cancer mortality. *Mol Nutr Food Res.* 2013;57(2):260-6.
211. Maier GS, Horas K, Kurth AA, Lazovic D, Seeger JB, Maus U. Prevalence of Vitamin D Deficiency in Patients with Bone Metastases and Multiple Myeloma. *Anticancer Res.* 2015;35(11):6281-5.
212. Ooi LL, Zhou H, Kalak R, Zheng Y, Conigrave AD, Seibel MJ, i sur. Vitamin D deficiency promotes human breast cancer growth in a murine model of bone metastasis. *Cancer Res.* 2010;70(5):1835-44.
213. Zheng Y, Zhou H, Modzelewski JR, Kalak R, Blair JM, Seibel MJ, i sur. Accelerated bone resorption, due to dietary calcium deficiency, promotes breast cancer tumor growth in bone. *Cancer Res.* 2007;67(19):9542-8.
214. Zheng Y, Zhou H, Brennan K, Blair JM, Modzelewski JR, Seibel MJ, i sur. Inhibition of bone resorption, rather than direct cytotoxicity, mediates the anti-tumour actions of ibandronate and osteoprotegerin in a murine model of breast cancer bone metastasis. *Bone.* 2007;40(2):471-8.
215. Buijs JT, Que I, Lowik CW, Papapoulos SE, van der Pluijm G. Inhibition of bone resorption and growth of breast cancer in the bone microenvironment. *Bone.* 2009;44(2):380-6.
216. Viala M, Chiba A, Thezenas S, Delmond L, Lamy PJ, Mott SL, i sur. Impact of vitamin D on pathological complete response and survival following neoadjuvant chemotherapy for breast cancer: a retrospective study. *BMC Cancer.* 2018;18(1):770.
217. Chiba A, Raman R, Thomas A, Lamy PJ, Viala M, Poudroux S, i sur. Serum Vitamin D Levels Affect Pathologic Complete Response in Patients Undergoing Neoadjuvant Systemic Therapy for Operable Breast Cancer. *Clin Breast Cancer.* 2018;18(2):144-9.
218. Servitja S, Martos T, Rodriguez Sanz M, Garcia-Giralt N, Prieto-Alhambra D, Garrigos L, i sur. Skeletal adverse effects with aromatase inhibitors in early breast cancer: evidence to date and clinical guidance. *Ther Adv Med Oncol.* 2015;7(5):291-6.
219. Khan QJ, Reddy PS, Kimler BF, Sharma P, Baxa SE, O'Dea AP, i sur. Effect of vitamin D supplementation on serum 25-hydroxy vitamin D levels, joint pain, and fatigue in women starting adjuvant letrozole treatment for breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2010;119(1):111-8.
220. Zeichner SB, Koru-Sengul T, Shah N, Liu Q, Markward NJ, Montero AJ, i sur. Improved clinical outcomes associated with vitamin D supplementation during adjuvant chemotherapy in patients with HER2+ nonmetastatic breast cancer. *Clin Breast Cancer.* 2015;15(1):e1-11.
221. Crew KD. Vitamin d: are we ready to supplement for breast cancer prevention and treatment? *ISRN Oncol.* 2013;2013:483687.
222. Lappe JM, Travers-Gustafson D, Davies KM, Recker RR, Heaney RP. Vitamin D and calcium supplementation reduces cancer risk: results of a randomized trial. *Am J Clin Nutr.* 2007;85(6):1586-91.
223. Mocellin S, Pilati P, Briarava M, Nitti D. Breast Cancer Chemoprevention: A Network Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *J Natl Cancer Inst.* 2016;108(2).
224. Cuzick J, DeCensi A, Arun B, Brown PH, Castiglione M, Dunn B, i sur. Preventive therapy for breast cancer: a consensus statement. *Lancet Oncol.* 2011;12(5):496-503.
225. Uray IP, Brown PH. Chemoprevention of hormone receptor-negative breast cancer: new approaches needed. *Recent Results Cancer Res.* 2011;188:147-62.
226. Wahler J, Suh N. Targeting HER2 Positive Breast Cancer with Chemopreventive Agents. *Curr Pharmacol Rep.* 2015;1(5):324-35.
227. Cassidy J, Bissett D, Spence RAJ, Payne M, Morris-Stif G. Cancer prevention. U: *Oxford Handbook of Oncology.* 4 izd. New York, USA: Oxford University Press; 2015. Str. 212-3.
228. Pedersen JM, Lund R, Andersen I, Clark AJ, Prescott E, Rod NH. Psychosocial risk factors for the metabolic syndrome: A prospective cohort study. *Int J Cardiol.* 2016;215:41-6.
229. Bergmann N, Gyntelberg F, Faber J. The appraisal of chronic stress and the development of the metabolic syndrome: a systematic review of prospective cohort studies. *Endocr Connect.* 2014;3(2):R55-80.
230. Mohr SB, Gorham ED, Alcaraz JE, Kane CJ, Macera CA, Parsons JK, i sur. Serum 25-hydroxyvitamin D and prevention of breast cancer: pooled analysis. *Anticancer Res.* 2011;31(9):2939-48.
231. Lin Y, Wang C, Zhong Y, Huang X, Peng L, Shan G, i sur. Striking life events associated with primary breast cancer susceptibility in women: a meta-analysis study. *J Exp Clin Cancer Res.* 2013;32(1):53.
232. Antonova L, Aronson K, Mueller CR. Stress and breast cancer: from epidemiology to molecular biology.

Breast Cancer Res. 2011;13(2):208.

233. Diamanti-Kandarakis E, Bourguignon JP, Giudice LC, Hauser R, Prins GS, Soto AM, i sur. Endocrine-Disrupting Chemicals: An Endocrine Society Scientific Statement. *Endocr Rev.* 2009;30(4):293-342.
234. Brum MCB, Filho FFD, Schnorr CC, Bottega GB, Rodrigues TC. Shift work and its association with metabolic disorders. *Diabetol Metab Syndr.* 2015;7:45.
235. Casals-Casas C, Desvergne B. Endocrine disruptors: from endocrine to metabolic disruption. *Annu Rev Physiol.* 2011;73:135-62.
236. United Nations Environment Programme and the World Health Organization. State of the science of endocrine disrupting chemicals 2012. . [Internet]; 2013 [pristupljeno 16.09.2019.]. Dostupno na: [http://www.who.int/ipcs/publications/new\\_issues/endocrine\\_disruptors/en/](http://www.who.int/ipcs/publications/new_issues/endocrine_disruptors/en/).
237. Yang JH, Lee YM, Bae SG, Jacobs DR, Lee DH. Associations between Organochlorine Pesticides and Vitamin D Deficiency in the U.S. Population. *PLoS One.* 2012;7(1).
238. Ford ES, Ajani UA, McGuire LC, Liu S. Concentrations of serum vitamin D and the metabolic syndrome among U.S. adults. *Diabetes Care.* 2005;28(5):1228-30.
239. Daniel D, Hardigan P, Bray N, Penzell D, Savu C. The incidence of vitamin D deficiency in the obese: a retrospective chart review. *J Community Hosp Intern Med Perspect.* 2015;5(1):26069.
240. Karatas S, Hekimsoy Z, Dinc G, Onur E, Ozmen B. Vitamin D Levels in Overweight/Obese Adults With and Without Metabolic Syndrome. *J Endocrinol Metab.* 2013;3(3):47-56.
241. Janbabai G, Shekarriz R, Hassanzadeh H, Aarabi M, Borhani SS. A survey on the relationship between serum 25-hydroxy vitamin D level and tumor characteristics in patients with breast cancer. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res.* 2016;10(1):30-6.
242. Buono G, Giuliano M, De Angelis C, Lauria R, Forestieri V, Pensabene M, i sur. Pretreatment Serum Concentration of Vitamin D and Breast Cancer Characteristics: A Prospective Observational Mediterranean Study. *Clin Breast Cancer.* 2017;17(7):559-63.
243. Thanasitthichai S, Chaiwerawattana A, Prasitthipayong A. Association of Vitamin D Level with Clinicopathological Features in Breast Cancer. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2015;16(12):4881-3.
244. Hatse S, Lambrechts D, Verstuyf A, Smeets A, Brouwers B, Vandorpe T, i sur. Vitamin D status at breast cancer diagnosis: correlation with tumor characteristics, disease outcome, and genetic determinants of vitamin D insufficiency. *Carcinogenesis.* 2012;33(7):1319-26.
245. Brown DJ, Milroy R, Preston T, McMillan DC. The relationship between an inflammation-based prognostic score (Glasgow Prognostic Score) and changes in serum biochemical variables in patients with advanced lung and gastrointestinal cancer. *J Clin Pathol.* 2007;60(6):705-8.
246. World Health Organization. Waist Circumference and Waist-Hip Ratio: Report of a WHO Expert Consultation, Geneva, 8–11 December 2008. Geneva, Switzerland; 2011.
247. Henry HL, Bouillon R, Norman AW, Gallagher JC, Lips P, Heaney RP, i sur. 14th Vitamin D Workshop consensus on vitamin D nutritional guidelines. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2010;121(1-2):4-6.
248. Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr.* 2006;84(1):18-28.
249. Parikh R, Mohan V, Joshi S. Should waist circumference be replaced by index of central obesity (ICO) in definition of metabolic syndrome? *Diabetes Metab Res Rev.* 2012;28(1):3-5.
250. Bolland MJ, Grey AB, Ames RW, Mason BH, Horne AM, Gamble GD, i sur. The effects of seasonal variation of 25-hydroxyvitamin D and fat mass on a diagnosis of vitamin D sufficiency. *Am J Clin Nutr.* 2007;86(4):959-64.
251. Croatian Bureau of Statistics. The Model for the Differentiation of Urban, Rural and Semi-Urban Settlements in the Republic of Croatia. Methodological Guidelines 67 [Internet]; 2011 [pristupljeno 16.09.2018.]. Dostupno na: [https://www.dzs.hr/eng/Publication/metodologije/metod\\_67.pdf](https://www.dzs.hr/eng/Publication/metodologije/metod_67.pdf).
252. Croatian Bureau of Statistics. Census of Population, Households and Dwellings 2011, First Results by Settlements. Statistical Reports [Internet] 1441; 2011 [pristupljeno 16.09.2018.]. Dostupno na: [https://www.dzs.hr/Hrv\\_Eng/publication/2011/SI-1441.pdf](https://www.dzs.hr/Hrv_Eng/publication/2011/SI-1441.pdf).
253. Croatian Bureau of Statistics. National Classification of Spatial Units for Statistics 2012 (NKPS 2012). [Internet] NN 96/2012; 2012 [pristupljeno 16.09.2018.]. Dostupno na: [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2012\\_08\\_96\\_2161.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2012_08_96_2161.html).
254. Blum M, Dallal GE, Dawson-Hughes B. Body size and serum 25 hydroxy vitamin D response to oral supplements in healthy older adults. *J Am Coll Nutr.* 2008;27(2):274-9.
255. Amir E, Cecchini RS, Ganz PA, Costantino JP, Beddows S, Hood N, i sur. 25-Hydroxy vitamin-D, obesity, and associated variables as predictors of breast cancer risk and tamoxifen benefit in NSABP-P1. *Breast Cancer Res Treat.* 2012;133(3):1077-88.
256. Dibaba D, Braithwaite D, Akinyemiju T. Metabolic Syndrome and the Risk of Breast Cancer and Subtypes by Race, Menopause and BMI. *Cancers.* 2018;10(9):299.
257. Agestri R, Meneghini E, Baili P, Minicozzi P, Turco A, Cavallo I, i sur. Association of adiposity,

dysmetabolisms, and inflammation with aggressive breast cancer subtypes: a cross-sectional study. *Breast Cancer Res Treat.* 2016.

258. Gathirua-Mwangi WG, Song Y, Monahan PO, Champion VL, Zollinger TW. Associations of metabolic syndrome and C-reactive protein with mortality from total cancer, obesity-linked cancers and breast cancer among women in NHANES III. *Int J Cancer.* 2018;143(3):535-42.

259. Edwards P. Questionnaires in clinical trials: guidelines for optimal design and administration. *Trials.* 2010;11:2.

### III. PRILOZI

#### i.) SZO histološka klasifikacija primarnog raka dojke u žena

##### Epitelni tumori

###### Mikroinvazivni karcinom

###### Invazivni karcinom dojke

- Invazivni karcinom bez određenog tipa /3
  - Pleomorfni karcinom /3
  - Karcinom s osteoklastičnim giantskim stanicama /3
  - Karcinom s osobinama koriokarcinoma
  - Karcinom s melanotičnim osobinama
- Invazivni lobularni karcinom /3
  - Klasični lobularni karcinom
  - Solidni lobularni karcinom
  - Alveolarni lobularni karcinom
  - Pleomorfni lobularni karcinom
  - Tubulolobularni lobularni karcinom
  - Miješani lobularni karcinom
- Tubularni karcinom /3
- Kribriformni karcinom /3
- Mucinozni karcinom /3
- Karcinom s medularnim osobinama /3
  - Medularni karcinom /3
  - Atipični medularni karcinom /3
  - Invazivni karcinom NST s medularnim osobinama /3
- Karcinom s apokrinom diferencijacijom
- Karcinom sa stanicama poput prstena pečatnjaka /3
- Invazivni mikropapilarni karcinom /3
- Metaplastični karcinom bez određenog tipa /3
  - Adenoskvamozni karcinom niskog gradusa /3
  - Metaplastični karcinom nalik fibromatozi /3
  - Karcinom skvamoznih stanica /3
  - Karcinom vretenastih stanica /3
- Metaplastični karcinom s mezenhimskom diferencijacijom
  - Hondroidna diferencijacija /3
  - Koštana diferencijacija /3
  - Drugi tipovi mezenhimske diferencijacije /3
- Miješani metaplastični karcinom /3
- Mioepitelni karcinom /3

###### Rijetki tipovi

- Karcinom s neuroendokrinim osobitostima
- Neuroendokrini tumor, dobro diferencirani /3
- Neuroendokrini karcinom, slabo diferencirani (karcinom malih stanica) /3
- Karcinom s neuroendokrinom diferencijacijom /3

###### Sekretorni karcinom /3

- Invazivni papilarni karcinom /3
- Karcinom acinarnih stanica /3
- Mukoepidermoidni karcinom /3
- Polimorfni karcinom
- Onkocitni karcinom /3
- Karcinom stanica bogatih lipidima /3
- Karcinom svijetlih stanica bogatih glikogenom /3
- Sebaceozni karcinom /3

###### Tumori tipa žlijezda slinovnica/adneksa kože

- Cilindrom /0
- Hidradenom svijetlih stanica /0

##### Epitelno-mioepitelne lezije

- Pleomorfni adenom /0
- Adenomioepiteliom /0
  - Adenomioepiteliom s karcinomom /3
- Adenoidni cistični karcinom /3

##### Prekursorske lezije

- Duktalni karcinom in situ /2
- Lobularna neoplazija
  - Lobularni karcinom in situ
    - Klasični lobularni karcinom in situ /2
    - Pleomorfni lobularni karcinom in situ /2
  - Atipična lobularna hiperplazija

##### Intraduktalne proliferacijske lezije

- Uobičajena duktalna hiperplazija
- Lezije kolumnarnih stanica uključujući ravnu epitelnu atipiju
- Atipična duktalna hiperplazija

##### Papilarne lezije

- Intraduktalni papilom /0
  - Intraduktalni papilom s atipičnom hiperplazijom /0
  - Intraduktalni papilom s duktalnim karcinomom in situ /2
  - Intraduktalni papilom s lobularnim karcinomom in situ /2
- Intraduktalni papilarni karcinom /2
- Inkapsulirani papilarni karcinom /2
  - Inkapsulirani papilarni karcinom s invazijom /3
- Solidni papilarni karcinom
  - In situ /2
  - Invazivni /3

##### Benigne epitelne proliferacije

- Sklerozirajuća adenoza
- Apokrina adenoza
- Radijarni ožiljak/kompleksna sklerozirajuća lezija
- Adenomi
  - Tubularni adenom /0
  - Laktacijski adenom /0
  - Apokrini adenom /0
  - Duktalni adenom /0

##### Mezenhimalni tumori

- Nodularni fasciitis /0
- Miofibroblastom /0
- Fibromatoza dezmoidnog tipa /1
- Inflamatorni miofibroblastični tumor /1
- Benigne vaskularne lezije
  - Hemangiom /0
  - Angiomatoza
  - Atipične vaskularne lezije
- Pseudoangiomatozna stromalna hiperplazija
- Tumor zrnatih stanica /0
- Benigni tumori ovojnice perifernih živaca
  - Neurofibrom /0
  - Schwannom /0

##### Lipom /0

###### Angiolipom /0

- Liposarkom /3
- Angiosarkom /3
- Rabdomiosarkom /3
- Osteosarkom /3
- Leiomiom
- Leiomiosarkom /3

##### Fibroepitelni tumori

- Fibroadenom /0
- Phyllodes tumor /1
  - Benigni /0
  - Granični /1
  - Maligni /3
- Periduktalni stromalni sarkom, niskog gradusa /3

##### Hamartom

##### Tumori bradavice

- Adenom bradavice /0
- Siringomatozni adenom /0
- Pagetova bolest bradavice /3

##### Maligni limfom

- Difuzni B-velikostanični limfom /3
- Burkittov limfom /3
- T stanični limfom
  - Anaplastični limfom velikih stanica, ALK negativni
- Ekstranodalni B-stanični limfom marginalne zone MALT tipa /3
- Folikularni limfom /3

##### Klinički uzorci

- Inflamatorni karcinom /3
- Bilateralni karcinom

##### Oznake biološkog ponašanja raka dojke:

- /3 Maligne promjene dojke
- /2 Karcinomi in situ ili intraepitelna neoplazija gradusa 3
- /1 Promjene koje su granične ili nesigurnog ponašanja
- /0 Benigni tumori

ii.) TNM Klasifikacija raka dojke (AJCC) <sup>12</sup>

T kategorija	T kriterij – Primarni tumor – klinički i patološki
TX	Primarni tumor ne može se procijeniti
T0	Nema znakova primarnog tumora
Tis	Karcinom <i>in situ</i>
Tis (DCIS)	Duktalni karcinom <i>in situ</i>
Tis (Paget)	Pagetova bolest bradavice NE povezana s invazivnim karcinomom i/ili karcinomom <i>in situ</i> (DCIS) u podležućem parenhimu dojke. Karcinomi u parenhimu dojke povezani s Pagetovom bolešću su kategorizirani na temelju veličine i karakteristika parenhimske bolesti, iako se prisutnost Pagetove bolesti i dalje treba navesti
T1	Tumor ≤ 20 mm najvećeg promjera
T1mi	Tumor ≤ 1 mm najvećeg promjera
T1a	Tumor > 1 mm ali ≤ 5 mm najvećeg promjera (zaokružiti svako mjerenje >1,0-1,9 mm na 2 mm)
T1b	Tumor > 5 mm ali ≤ 10 mm najvećeg promjera
T1c	Tumor > 10 mm ali ≤ 20 mm najvećeg promjera
T2	Tumor > 20 mm ali ≤ 50 mm najvećeg promjera
T3	Tumor > 50 mm najvećeg promjera
T4	Tumor bilo koje veličine s direktnim širenjem u stijenku prsnog koša i/ili kožu (ulceracija ili makroskopski čvorići); sama invazija dermisa ne kvalificira u T4
T4a	Širenje u stijenku prsnog koša; invazija ili adherencija u pektoralni mišić u odsutnosti invazije struktura prsnog koša ne kvalificira za T4
T4b	Ulceracija i/ili ipsilateralni makroskopski satelitski čvorići i/ili edem (uključujući <i>peau d'orange</i> ) kože, koji ne ispunjavaju kriterije za inflamatorni karcinom
T4c	I T4a i T4b prisutni
T4d	Inflamatorni karcinom
cN kategorija	cN kriterij - Regionalni limfni čvorovi - klinički
cNX	Regionalni limfni čvorovi se ne mogu procijeniti (npr. prethodno su uklonjeni)
cN0	Nema metastaza u regionalne limfne čvorove (radiološki ili kliničkim pregledom)
cN1	Metastaze u pomičnu ipsilateralnu razinu I, II aksilarnog limfnog čvora(čvorova)
cN1mi	Mikrometastaze (oko 200 stanica, većih od 0,2 mm, ali nijedna veća od 2, mm)
cN2	Metastaze u ipsilateralnu razinu I, II aksilarnih limfnih čvorova koji su klinički fiksirani ili u konglomeratu; <i>ili</i> u ipsilateralne čvorove a. mammarie interne u odsutnosti metastaza u aksilarni limfni čvor
cN2a	Metastaze u ipsilateralnu razinu I, II aksilarnih limfnih čvorova fiksiranih jedne za druge (konglomerat) ili za druge strukture
cN2b	Metastaze samo u ipsilateralne čvorove a. mammarie interne i u odsutnosti metastaza u aksilarni limfni čvor
cN3	Metastaze u ipsilateralni infraklavikularni (razina III aksilarnih) limfni čvor(čvorove), s ili bez uključivanja razine I, II aksilarnog čvora, <i>ili</i> u ipsilateralni limfni čvor(čvorove) a. mammarie interne i u prisutnosti metastaza razine I, II aksilarnog limfnog čvora; <i>ili</i> metastaze u ipsilateralni supraklavikularni limfni čvor(čvorove), s ili bez uključivanja aksilarnih ili limfnog čvora a. mammarie interne
cN3a	Metastaze u ipsilateralni infraklavikularni limfni čvor(čvorove)
cN3b	Metastaze u ipsilateralni limfni čvor(čvorove) a. mammarie interne i aksilarni limfni čvor(čvorove)
cN3c	Metastaze u ipsilateralni supraklavikularni limfni čvor(čvorove)

cN kategorija	cN kriterij - Regionalni limfni čvorovi - patološki
pNX	Regionalni limfni čvorovi ne mogu se procijeniti (npr., nisu uklonjeni za patohistološki pregled ili su prethodno uklonjeni)
pN0	Nema metastaza u regionalni limfni čvor ili samo INT-i
pN0(i+)	Samo INT-i (nakupine malignih stanica u regionalni limfni čvor(čvorove) ≤ 0.2 mm)
pN0(mol+)	Pozitivni molekularni nalazi lančanom reakcijom reverzne transkriptaze polimeraze (RT-PCR); nema otkrivenih INT
pN1	Mikrometastaze; ili metastaze u 1-3 aksilarna limfna čvora; <i>i/ili</i> u klinički negativne čvorove a. mammarie interne, s mikrometastazama ili makrometastazama otkrivenim biopsijom sentinel limfnog čvora
pN1mi	Mikrometastaze (oko 200 stanica, > 0,2 mm ali nijedna >2,0 mm)
pN1a	Metastaze u 1-3 aksilarna limfna čvora, najmanje 1 metastaza >2,0 mm)
pN1b	Metastaze u ipsilateralne sentinel čvorove a. mammarie interne, isključujući INT
pN1c	pN1a i pN1b zajedno
pN2	Metastaze u 4-9 aksilarnih limfnih čvorova; ili otkrivene oslikavanjem u ipsilateralne limfne čvorove a. mammarie interne u odsutnosti metastaza u aksilarni limfni čvor
pN2a	Metastaze u 4-9 aksilarnih limfnih čvorova (najmanje 1 tumorski depozit > 2.0 mm)
pN2b	Metastaze u klinički otkrivene limfne čvorove a. mammarie interne s ili bez mikroskopske potvrde, u odsutnosti metastaza u aksilarni limfni čvor
pN3	Metastaze u ≥ 10 aksilarnih limfnih čvorova; <i>ili</i> u infraklavikularnim (razina III aksilarnih) limfnim čvorovima; <i>ili</i> oslikavanjem u ipsilateralne limfne čvorove a. mammarie interne u prisutnosti ≥ 1 pozitivne razine I, II aksilarnih limfnih čvorova; <i>ili</i> u > 3 aksilarna limfna čvora i mikrometastaze ili makrometastaze otkrivene biopsijom sentinel limfnog čvora u klinički negativnim ipsilateralnim limfnim čvorovima a. mammarie interne; <i>ili</i> u ipsilateralnim supraklavikularnim limfnim čvorovima
pN3a	Metastaze u ≥ 10 aksilarnih limfnih čvorova (najmanje 1 tumorski depozit > 2.0 mm); <i>ili</i> metastaze u infraklavikularne (razina III aksilarnih limfnih) čvorove
pN3b	pN1a ili pN2a u prisutnosti cN2b (pozitivnih limfnih čvorova a. mammarie interne oslikavanjem); <i>ili</i> u > 3 aksilarna limfna čvora i u limfne čvorove a. mammarie interne, s mikrometastazama ili makrometastazama otkrivenima biopsijom sentinel limfnog čvora ali ne otkrivene klinički†
pN3c	Metastaze u ipsilateralne supraklavikularne limfne čvorove
<i>Napomena:</i> (sn) i (f) sufiksi se trebaju dodati N kategoriji radi razlikovanja potvrđenih metastaza biopsijom sentinel limfnog čvora ili na temelju biopsije AFL/core iglom, BEZ daljnje resekcije čvorova	
Udaljene metastaze (M)	
M0	Nema kliničkih ili radiografskih dokaza udaljenih metastaza
cM0(i+)	Nema kliničkih ili radiografskih dokaza udaljenih metastaza, ali uz depozite molekularno ili mikroskopski otkrivenih tumorskih stanica u cirkulirajućoj krvi, koštanoj srži, ili drugom neregionalnom tkivu čvorova koji nisu veći od 0.2 mm u pacijenta bez simptoma ili znakova metastaza
cM1	Udaljene detektabilne metastaze određene klasičnim i radiografskim metodama
pM1	Histološki dokazane metastaze u udaljene organe; ili u neregionalne limfne čvorove, metastaze > 0.2 mm

**ANAMNESTIČKI UPITNIK ZA PROCJENU  
RIZIČNIH FAKTORA ZA BOLEST DOJKE**

Ime i prezime: \_\_\_\_\_

Datum rođenja: \_\_\_\_\_ Datum ispunjavanja: \_\_\_\_\_

**1. Molimo navedite svoju:**

Visinu: \_\_\_\_\_ cm    Težinu: \_\_\_\_\_ kg  
 Opseg struka: \_\_\_\_\_ cm  
 Opseg bokova: \_\_\_\_\_ cm  
 Krvni tlak: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ mmHg

**2. Jeste li u menopauzi?**  Ne  Da  
 Nisam sigurna (neredovite su)  
 S koliko godina ste imali posljednju menstruaciju? \_\_\_\_\_

**Jeste li u menopauzi koristili hormonsku nadomjesnu terapiju (tablete, flastere i sl.)?**

Ne  Da, koristim  Da, prestala sam  
 Molimo navedite naziv lijeka: \_\_\_\_\_

**Koliko godina** ukupno ste koristili hormonsku terapiju? \_\_\_\_\_  
 S koliko godina ste ju prestali uzimati? \_\_\_\_\_

**Jeste li u menopauzi koristili biljne ili druge pripravke koji sadrže hormone (npr. od soje)?**

Ne  Da: Koje? \_\_\_\_\_

**3. Jeste li koristili lijekove kontraceptive?**

Ne  Da, koristim  Da, prestala sam  
 Molimo navedite naziv lijeka: \_\_\_\_\_

**Koliko godina** ste ih koristili? \_\_\_\_\_  
 S koliko godina ste ih prestali uzimati? \_\_\_\_\_

**4. Jeste li imali ginekološku operaciju?**

Ne  Da:  
 Da li Vam je uklonjen:  jedan jajnik  
 oba jajnika  maternica  
 operacijom nisu uklonjeni jajnici  
 Koliko godina ste imali? \_\_\_\_\_

**5. Jeste li rodili?**  Ne  Da

S koliko godina ste prvi put rodili? \_\_\_\_\_  
 Koliko puta ste rodili? \_\_\_\_\_  
 Jeste li dojili?  Ne  Da  
 Koliko ste mjeseci ukupno dojili? \_\_\_\_\_

**6. S koliko ste godina imali prvu menstruaciju:** \_\_\_\_\_ g.**7. Je li netko od Vaših rođaka imao dijagnozu raka jajnika?**

Ne  Nisam sigurna  
 Da:  majka  jedna sestra  
 dvije sestre  drugi rođaci

**Je li netko od Vaših rođaka imao dijagnozu raka dojke?**

Ne  Nisam sigurna  
 Da:  majka  jedna sestra  
 dvije sestre  drugi rođaci

**Ukoliko jeste**, da li im je dijagnoza postavljena prije njihove 50. godine?

Ne  Da  Nisam sigurna

**Je li netko od Vaših rođaka imao dijagnozu bilo kojeg raka?**  Ne  Nisam sigurna

Da: (molimo navedite tko i dijagnozu)

majka: \_\_\_\_\_

otac: \_\_\_\_\_

sestra: \_\_\_\_\_

brat: \_\_\_\_\_

baka: \_\_\_\_\_

djed: \_\_\_\_\_

drugi rođaci: \_\_\_\_\_

**8. Je li netko od Vaših rođaka imao****sljedeća stanja:**

	mama	tata	baka, djed
povišeni krvni tlak	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
šećernu bolest	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
pretilost	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
povišene masnoće u krvi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
infarkt srca	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
moždani udar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
osteoporoza	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
depresiju	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Jesu li imali neku **drugu bolest**:

\_\_\_\_\_

**9. Imate li Vi i da li ste imali neku od****navedenih bolesti?:**

	unazad koliko godina?
<input type="checkbox"/> povišeni krvni tlak	
<input type="checkbox"/> šećernu bolest	
<input type="checkbox"/> povišene masnoće u krvi	
<input type="checkbox"/> infarkt srca	
<input type="checkbox"/> moždani udar	
<input type="checkbox"/> osteoporoza	

Koje lijekove koristite za liječenje?

tlaka: \_\_\_\_\_

šećera: \_\_\_\_\_

masnoća: \_\_\_\_\_

osteoporoze: \_\_\_\_\_

drugi: \_\_\_\_\_

biljni lijekovi: \_\_\_\_\_

Molimo navedite ispod **druge bolesti** ako su

Vam dijagnosticirane:	unazad koliko godina?
<input type="checkbox"/> Bolest štitnjače	
<input type="checkbox"/> Čir	
<input type="checkbox"/> Astma	
<input type="checkbox"/> Žutica ili hepatitis	
<input type="checkbox"/> Žučni kamenci	
<input type="checkbox"/> Srčane aritmije	
<input type="checkbox"/> Proširene vene	
<input type="checkbox"/> Krvni ugrušci	
<input type="checkbox"/> Artritis	
<input type="checkbox"/> Depresija	

Koje lijekove za njih koristite? \_\_\_\_\_

Jeste li imali neku **drugu bolest**:

\_\_\_\_\_

**10. Koliko puta ste u životu snimali prsni koš rendgenom (uključujući mamografiju)?**

1-2  3-5  6-9  10 i više

**11. Imate li trenutno neku akutnu ili kroničnu upalu (npr. zubnog mesa, mjehura)?**  Ne

Da: Koju? \_\_\_\_\_

**12. Je li Vam rađena biopsija dojke?**

Ne  Da:

Molimo navedite datum: \_\_\_\_\_

**13. Jeste li tijekom života nešto operirali?**

Ne  Da:

Što ste operirali i kada? \_\_\_\_\_

**Jeste li nekada imali prijelom kosti?**

Ne  Da: S koliko godina? \_\_\_\_\_

Koje kosti? \_\_\_\_\_

**Jeste li nekada bili u bolnici?**

Ne  Da: Kada i zašto? \_\_\_\_\_

**14. Jeste li alergični na nešto (i što)?**

Ne  Da:  na pelud

na lijekove: \_\_\_\_\_

na hranu: \_\_\_\_\_

drugo: \_\_\_\_\_

**15. Uzimate li Aspirin ili Andol?**  Ne

Povremeno  Često

**Koliko godina** ga koristite? \_\_\_\_\_

**Jeste li uzimali lijekove za smanjenje rada imunološkog sustava?**  Ne  Da:

Koje i koliko dugo? \_\_\_\_\_

**16. Jeste li ikada pušili cigarete?**

- Ne  Da, još uvijek pušim  
 Da, ali više ne pušim

Prije koliko godina ste prestali? \_\_\_\_\_

Koliko ste ukupno godina pušili? \_\_\_\_\_

Koliko cigareta dnevno? \_\_\_\_\_

**17. Koliko čaša (koliko često) popijete:**

	dnevno	tjedno	mjesečno
Čaja			
Biljnog čaja			
Kave			
Soka od cijeđenog voća			
Dijetnih gaziranih pića			
Gaziranih pića			
Vode			
Piva			
Crnog vina			
Bijelog vina			
Jačih alkoholnih pića			

**18. Jeste li na nekoj dijeti?**

- Ne  Da:

Zašto? \_\_\_\_\_

Jeste li:  vegetarijanac  vegan ?

Ako jeste, s koliko godina ste prestali jesti:

meso	ribu	jaja	mlijeko

**U zadnjih godinu dana, jeste li izgubili ili dobili na težini?**  Ne

da, izgubila sam (kilograma: \_\_\_\_\_)

da, dobila sam (kilograma: \_\_\_\_\_)

**19. Uzimate li tablete vitamina, minerala i sl.?**

- Ne  Da:

Koliko pakiranja potrošite?	1 godišnje	2-3 godišnje	1 na mjesec
<input type="checkbox"/> multivitamine			
<input type="checkbox"/> minerale			
<input type="checkbox"/> vitamin A			
<input type="checkbox"/> vitamine B			
<input type="checkbox"/> vitamin C			
<input type="checkbox"/> vitamin D			
<input type="checkbox"/> vitamin E			
<input type="checkbox"/> kalcij			
<input type="checkbox"/> željezo			
<input type="checkbox"/> magnezij			
<input type="checkbox"/> cink			
<input type="checkbox"/> omega-3			

Koliko dugo ih uzimate: \_\_\_\_\_ godina

Uzimate li i **nešto drugo** (npr. biljne pripravke) i što: \_\_\_\_\_

**Uzimate li probiotike i koliko često?**

- Ne  Povremeno  Često

**20. Koje mlijeko najčešće konzumirate:**

- punomasno  polumasno  
 bezmasno  s dodatkom

kalcija

- s dodatkom vitamina D

- sojino  ne pijem mlijeko

**Koliko dnevno konzumirate mlijeka, uključujući s kavom i uz žitne pahuljice?**

- manje od 1,5 dcl (manja čaša)

- više od 1,5 dcl (veća čaša)

- 3 dcl (čaša i pol)

- pola litre (2 veće čaše)

- više od pola litre (3 veće čaše)

- do litre

**21. Koliko šnita kruha pojedete dnevno?**

	Šnita dnevno
Bijelog kruha	
Crnog kruha	
Kruh s cijelim zrnima žitarica	
Tosta	
Slatkog biskvita	

**22. Koju vrstu pahuljica žitarica najčešće jedete za doručak?**  zobenu kašu

- žitne pahuljice  Muesli

- kukuruzne (kornfleks)  Ne jedem ih

**Koliko zdjela žitnih pahuljica pojedete tjedno?** \_\_\_\_\_ zdjela tjedno

**23. Molimo označite (✓ ili x) koliko često konzumirate određenu vrstu hrane:**

	nikada	rijetko	jednom tjedno	2-4 puta tjedno	5-6 puta tjedno	1 ili više puta dnevno
Sir						
Svježi sir						
Jogurt, mliječni proizvodi						
Svježe voće						
Sušeno voće						
Kompot						
Tjestenina						
Riža						
Pizza						
Pomfri						
Drugi krumpir						
Grašak						
Grah						
Leća						
Rajčica						
Mrkva						
Zeleno povrće						
Drugo kuhano povrće						
Salata/sirovo povrće						
Tofu, meso od soje						
Drugi proizvodi od soje						
Hamburgeri od povrća						
Sladoled, šlag						
Kolači, puding						
Čokolada						
Drugi slatkiši						
Čips, grickalice						
Kikiriki, slane sjemenke						
Bademi, orasi, lješnjaci i sl.						
Marmelada, džem						
Masna riba (npr. sardine, losos, skuša, pastrva, tuna)						
Druga riba (npr. bakalar, konzervirana tuna)						
Meso						
Jaja						
Gljive						

**24. Molimo označite (✓ ili x) koliko često koristite određene masti u pripremanju hrane:**

	nikada	rijetko	1. tjedno	2-4 x tjedno	5-6 x tjedno	1 ili više x dnevno
Maslac						
Margarin						
Biljna mast						
Životinjska mast						
Maslinovo ulje						
Bučino ulje						
Laneno ulje						
Suncokretovo ulje						
Drugo biljno ulje						

Ne koristim masti ni ulja

**Koji namaz najčešće mažete na kruh?**

- ništa  maslac  obični margarin  
 mliječni namaz  
 margarin sa nezasićenim mastima  
 nešto drugo (što: \_\_\_\_\_)

**Koliko stavite namaza na kruh?**

- dosta  srednje  malo

**Dodajete li povrće na namaz?**  Ne  Da

**25. Koliko solite hranu?**

- jako  srednje  malo

**Koliko žličica šećera dnevno sveukupno dodajete hrani i pićima?** \_\_\_\_\_ žličica

**UPITNIK O STRESU**

**26. Molimo zaokružite (od 0 do 4) koliko često ste se unazad mjesec dana osjećali na određeni način, prema sljedećem značenju:**

**0 = nikada 1 = gotovo nikada 2 = ponekad 3 = prilično često 4 = vrlo često**

Koliko često ste se osjećali <b>nervozno i pod stresom?</b> .....	0	1	2	3	4
Koliko često ste se <b>uzrujali</b> zbog nečega što se dogodilo <b>neočekivano?</b> .....	0	1	2	3	4
Koliko često ste osjećali kao da <b>niste u mogućnosti kontrolirati važne stvari</b> u životu? .....	0	1	2	3	4
Koliko često ste se osjećali <b>sigurno u svoje sposobnosti</b> za rješavanje osobnih problema? .....	0	1	2	3	4
Koliko često ste osjećali da stvari idu <b>kako ste planirali?</b> .....	0	1	2	3	4
Koliko često ste osjećali da se <b>ne možete nositi</b> sa svim stvarima koje morate napraviti? .....	0	1	2	3	4
Koliko često ste uspijevali <b>kontrolirati stvari koje Vas iritiraju</b> u životu? .....	0	1	2	3	4
Koliko često ste osjećali da ste <b>svladali probleme?</b> .....	0	1	2	3	4
Koliko često ste bili <b>ljuti</b> zbog stvari koje niste mogli kontrolirati? .....	0	1	2	3	4
Koliko često ste osjećali da su se <b>poteškoće toliko nakupile</b> da ih ne možete svladati? .....	0	1	2	3	4

**27. Molimo navedite broj velikih stresnih događaja tijekom života:**

- Manje od 5  5-10  10-15  
 Više od 15 velikih stresnih događaja

**Molimo navedite jeste li unazad godinu dana imali većih stresnih događaja koji se ne odnose na zdravlje?**  Ne  Da

**Mislite li da ste unazad godinu dana izloženi dugotrajnom stresu koji se ne odnosi na zdravlje?**  Ne  Da:

**Kako biste ocijenili razinu tog stresa:**

- manji stres  
 srednje veliki stres  
 izrazito veliki stres

**Koliko dugo** ste izloženi toj razini stresa? \_\_\_\_\_ godina ili \_\_\_\_\_ mjeseci

**28. Jeste li završili:**  osnovnu školu  
 srednju školu  višu školu  
 fakultet  magisterij, doktorat

**Molimo navedite jeste li:**  samac  
 udovica  razvedeni  udani

**UPITNIK O FIZIČKOJ AKTIVNOSTI**

**29. Unazad godinu dana, koliko sati dnevno spavate?** \_\_\_\_\_ sati

**Unazad godinu dana, patite li od nesanice?**

- Ne  Da, povremeno  Da, često

**Jeste li trenutno zaposleni?**  Ne  u mirovini sam

- Da, puno radno vrijeme  Da, pola radnog vremena

**Molimo navedite što ste po zanimanju?**

**Jeste li radili posao koji je obuhvaćao i rad u noćnim smjenama?**

- Ne  Da: Koliko godina ste radili u noćnim smjenama? \_\_\_\_\_

**30. Molimo navedite vrstu i količinu fizičke aktivnosti na poslu odnosno kako provedete većinu vremena:**

- sjedeći (npr. u uredu)  
 stojeći ali bez izrazite fizičke aktivnosti (npr. frizer, trgovac)  
 umjerena fizička aktivnost (npr. povremeno dizanje težih predmeta)  
 izrazita fizička aktivnost (npr. rad uz dizanje teških predmeta)

**Unazad godinu dana, koliko sati tjedno ste obično proveli**

**u sljedećim aktivnostima?**

	Ljeti	Zimi
<b>Šetnja</b> , uključujući na posao, kupovinu i tijekom slobodnog vremena:		
<b>Bicikliranje</b> , uključujući na posao i u slobodnom vremenu:		
<b>Rad u vrtu:</b>		
<b>Samostalnim popravcima i izradi predmeta:</b>		
<b>Vježbanje</b> , npr. fitness, trčanje, plivanje, tenis i slično:		
<b>Rad u kući</b> , npr. čišćenje, pranje, kuhanje, briga o djeci:		

**Unazad godinu dana, jeste li obično u tjednu obavljali zahtjevnu fizičku aktivnost uslijed koje ste se oznojili ili imali ubrzane otkucaje srca?**  Ne  Da

**Ukoliko jeste**, koliko sati tjedno ste obavljali takvu zahtjevnu fizičku aktivnost? \_\_\_\_\_ sati tjedno

ZAHVALJUJEMO NA ISPUNJAVANJU UPITNIKA

Na temelju odgovora će se dodatno procjeniti rizični faktori za bolest dojke



## IV. KRATKI ŽIVOTOPIS

European  
curriculum vitae format



Osobni podaci

Ime i prezime

Katarina Vučić, dr. med., univ. mag. med.

Godina i mjesto rođenja

1978., Vinkovci

Zaposlenje

Agencija za lijekove i medicinske proizvode, Zagreb  
Europska agencija za lijekove, Ujedinjeno Kraljevstvo

Obrazovanje i iskustvo

2010. - 2020. Poslijediplomski doktorski studij, Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu  
2010. - 2015. Poslijediplomski specijalistički studij Klinička farmakologija s  
toksikologijom, Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu  
2017. Statistics for clinical trials, Sveučilište Oxford, Ujedinjeno Kraljevstvo  
2015. Randomized controlled trials, Sveučilište Oxford, Ujedinjeno Kraljevstvo  
2014. Introduction to Study Design & Research Methods, Sveučilište Oxford, UK  
2006. Certifikat engleskog jezika TOEFL (C2)  
2005. Državni ispit  
2004. - 2005. Liječnički pripravnički staž, KBC Zagreb  
2003. Klinički bolnički centar Ljubljana, Slovenija; studentska razmjena  
2002. "Maria sairaala" Bolnica za gastroenterološku kirurgiju, urologiju i kirurgiju dojki,  
Helsinki, Finska; studentska razmjena  
1996. - 2003. Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Studij medicine u Osijeku  
Demonstrator iz histopatologije (3 akademske godine)

Izdvojene publikacije

- Strampelli A, Cerreta F, Vučić K. Medication use among older people in Europe: implications for regulatory assessment and co-prescription of new medicines. *Br J Clin Pharmacol.* 2020. (prihvaćeno)  
- Vučić K, Mayer Lj, Štefančić Lj, Tomić S, Kirac I, Šekerija M. Prevalence of 25-hydroxycholecalciferol deficiency and metabolic syndrome in Croatian women with newly diagnosed breast cancer. *Acta Clin Croat.* 2019. (prihvaćeno)  
- Markotic A, Langer S, Kelava T, Vucic K, Turcic P, Tokic T, Stefancic L, Radetic E, Farrington S, Timofeeva M, Rudan I, Campbell H, Dunlop M, Kirac I, Zgaga L. Higher post-operative serum vitamin D level is associated with better survival outcome in colorectal cancer patients. *Nutr Cancer.* 2019;71(7):1078-1085.  
- Vučić K, Orešić T, Habljak K, Kahlina M, Kirac I, Šekerija M. Regional differences of breast cancer risk factors in newly diagnosed female patients in Croatia. *Libri onc.* 2018.;46(2-3):47-54.  
- He Y, Timofeeva M, Farrington SM, Vaughan-Shaw P, Svinti V, Walker M, Zgaga L, Meng X, Li X, Spiliopoulou A, Jiang X, Hyppönen E, Kraft P, Kiel DP; SUNLIGHT consortium, Hayward C, Campbell A, Porteous D, Vucic K, Kirac I, Filipovic M, Harris SE, Deary IJ, Houlston R, Tomlinson IP, Campbell H, Theodoratou E, Dunlop MG. Exploring causality in the association between circulating 25-hydroxyvitamin D and colorectal cancer risk: a large Mendelian randomisation study. *BMC Med.* 2018;16(1):142.  
- Dosenovic S, Jelicic Kadic A, Jeric M, Boric M, Markovic D, Vucic K, Puljak L. Efficacy and safety outcome domains and outcome measures in systematic reviews of neuropathic pain conditions. *Clin J Pain.* 2018;34(7):674-684.  
- Bilić E, Rajić Lj, Femenić R, Konja J, Vučić K, Novak M, Cvitković M, Galić S, Krmek N. Recombinant activated factor VII controls chemotherapy-related hemorrhage in patients with solid intra-abdominal tumors: a report of three pediatric cases. *Acta Clin Croat* 2009;48(2):161-6.