

Jan Žmuc¹

Rak dojk pri bolnicah s sladkorno boleznijo tipa 2: primerjava patohistoloških značilnosti in stadija glede na vrsto zdravljenja sladkorne bolezn²

Breast Cancer in Female Type 2 Diabetes Mellitus Patients: A Comparison of Pathohistological Characteristics and Stage in Regard to the Type of Treatment for Diabetes Mellitus

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: sladkorna bolezen tipa 2, rak dojk, patohistološke značilnosti, stadij, inzulin, inzulinski analogi

IZHODIŠČA. Sladkorna bolezen (SB) tipa 2 in rak dojk sta v razvitem svetu pogosti bolezni z nekaterimi skupnimi dejavniki tveganja. V literaturi je za pojasnitev povečanega tveganja za nastanek raka dojk pri bolnicah s SB tipa 2 predlaganih več patofizioloških mehanizmov, med njimi tudi zvišana koncentracija inzulina v krvi. Ker nekatere vrste zdravljenja SB tipa 2 zvišujejo koncentracijo inzulina v krvi, bi lahko način zdravljenja SB tipa 2 vplival na nastanek in lastnosti raka dojk. Namen naše raziskave je bil ugotoviti, ali se patohistološke značilnosti tumorjev in stadij bolezni pri bolnicah z rakom dojk razlikujejo glede na vrsto zdravljenja za SB tipa 2, ki so ga te bolnice prejemale. Predvidevali smo, da je uporaba zdravil za SB tipa 2, ki zvišujejo raven koncentracije inzulina v krvi, povezana s prognostično manj ugodnimi patohistološkimi značilnostmi tumorjev in višjim stadijem bolezni pri bolnicah z rakom dojk. **METODE.** V retrospektivno opazovalno raziskavo smo vključili 135 bolnic (povprečna starost ob vključitvi v raziskavo 66,6 let, povprečni indeks telesne mase 30,4 kg/m²) s SB tipa 2, ki so bile med letoma 2005 in 2011 zaradi raka dojk kirurško zdravljene na Oddelku za kirurško onkologijo Onkološkega inštituta Ljubljana. Iz njihovih popisov bolezni smo zbrali podatke o vrsti zdravljenja SB tipa 2, patohistoloških značilnostih tumorjev in stadiju bolezni. Bolnice smo razvrstili v skupine glede na vrsto zdravljenja za SB tipa 2. Za testiranje primerljivosti skupin bolnic po starosti in indeksu telesne mase smo uporabili enofaktorsko analizo varianca, za primerjavo patohistoloških značilnosti tumorjev in stadija bolezni med skupinami bolnic z različnim zdravljenjem SB tipa 2 pa Fisherjev test. **REZULTATI.** Bolnice, ki so bile zdravljene s humanim inzulinom in inzulinskimi analogi, so imele višji patološki stadij področnih bezgavk ($p = 0,037$) in mejno statistično pomemben višji patološki stadij tumorja ($p = 0,089$) kot bolnice, ki so bile zdravljene samo z dieto ali s peroralnimi zdravili za SB tipa 2. Pri primerjavi bolnic, ki so bile zdravljene z zdravili, ki zvišujejo koncentracijo inzulina v krvi z bolnicami, ki so bile zdravljene samo z dieto ali metforminom,

¹ Jan Žmuc, dr. med., Splošna bolnišnica Novo mesto, Šmihelska cesta 1, 8000 Novo mesto; jan.zmuc@gmail.com

² Objavljeno delo je bilo nagrajeno s fakultetno Prešernovo nagrado študentom za leto 2012.

nismo ugotovili razlik v patohistoloških značilnostih tumorjev in stadiju bolezni. ZAKLJUČKI. Zdravljenje SB tipa 2 s humanim inzulinom in inzulinskimi analogi je povezano z višjim stadijem področnih bezgavk in tumorja pri bolnicah z rakom dojk.

ABSTRACT

KEY WORDS: type 2 diabetes mellitus, breast cancer, pathohistological characteristics, stage, insulin, insulin analogues

BACKGROUND. Type 2 diabetes mellitus (DM) and breast cancer are common diseases in the developed world which share certain risk factors. There are several possible pathophysiological mechanisms which could explain increased incidence of breast cancer in patients with type 2 DM, including increased circulating insulin level. Because certain types of treatment for type 2 DM are associated with increased circulating insulin levels, the choice of treatment for type 2 DM could have an effect on the development and characteristics of breast cancer. The aim of our study was to establish whether pathohistological tumor characteristics and cancer stage in breast cancer patients with type 2 DM differ with respect to the different types of treatment received for type 2 DM. We hypothesised that the use of circulating insulin raising anti-diabetic drugs is associated with prognostically unfavorable pathohistological tumor characteristics and higher cancer stage in breast cancer patients. METHODS. 135 female breast cancer patients with type 2 DM were included in our study. The average age of patients was 66.6 years and their average body mass index was 30.4 kg/m². All of the patients were surgically treated between the years 2005 and 2011 at the Department of Surgical Oncology at the Institute of Oncology Ljubljana. The data was collected on the type of treatment for type 2 DM, pathohistological tumor characteristics and cancer stage from the patients' medical records. We assigned the patients to different groups depending on the type of treatment for type 2 DM. We compared the mean patient age and body mass index between groups using one-way analysis of variance. Pathohistological tumor characteristics and cancer stage were compared using Fisher's exact test. RESULTS. Breast cancer patients with type 2 DM treated with human insulin and insulin analogues had higher regional lymph nodes stage ($p = 0.037$) and borderline statistically significant higher tumor stage ($p = 0.089$) than patients treated only with diet or oral anti-diabetic drugs. There was no difference in pathohistological tumor characteristics or cancer stage between patients treated with circulating insulin raising anti-diabetic drugs and patients treated with diet or metformin only. CONCLUSIONS. Use of human insulin and insulin analogues is associated with higher regional lymph node and tumor stage in breast cancer patients with type 2 DM.

UVOD

Z imenom sladkorna bolezen (SB) označujemo skupino boleznih presnove, katerih skupna lastnost je povišana koncentracija glukoze v krvi oz. hiperglikemija zaradi nepravilnosti v izločanju inzulina, delovanju inzulina ali kombinacije obeh (1). Pri bolnikih s SB tipa 2 je občutljivost tkiv za inzulin zmanjšana (t. i. inzulinska rezistenca), kar ob kompenzatorno nezadostnem povečanju izločanja inzulina iz celic β trebušne slinavke povzroči njegovo relativno pomanjkanje (1, 2). Kljub relativnemu pomanjkanju inzulina je njegova absolutna koncentracija v začetni fazi SB tipa 2 približno dvakrat višja kot pri zdravih ljudeh (2, 3).

SB tipa 2 poveča tveganje za smrt zaradi boleznih srca in ožilja, možgansko kap, kronično ledvično bolezen in je vodilni razlog za izgubo vida pri odraslih ter amputacije spodnjih okončin v razvitem svetu (4). Zdravimo jo s spremembo načina življenja in različnimi zdravili, med katerimi se v Sloveniji najpogosteje uporabljajo metformin, sulfonilsečnine in humani inzulin ter njegovi analogi (2, 4, 5). Poleg že naštetih zapletov so nedavne epidemiološke študije pokazale še povezavo med SB tipa 2 in povečanim tveganjem za nastanek raka debelega črevesa, trebušne slinavke, jeter in dojk (6, 7).

Rak dojk je v svetovnem merilu najpogostejši vzrok smrti žensk zaradi rakavega obolenja (8, 9). Po podatkih iz Registra raka je bilo v Sloveniji med letoma 2006 in 2010 v povprečju vsako leto zabeleženih 1.170 novih primerov raka dojk, kar pomeni, da je bil rak dojk v tem časovnem obdobju po pogostosti malignih obolenj pri ženskah na prvem mestu (20,6 % vseh rakov). Tveganje za nastanek raka dojk pred 75. letom starosti je pri ženskah v Sloveniji 7,1 %. Povprečna umrljivost za rakom dojk v Sloveniji med letoma 2006 in 2010 je bila 419 smrti v enem letu (10). Znani so številni dejavniki tveganja za nastanek raka dojk, kot so npr. višja starost bolnice, zgodnja menarha, pozna menopavza, družinska anamne-

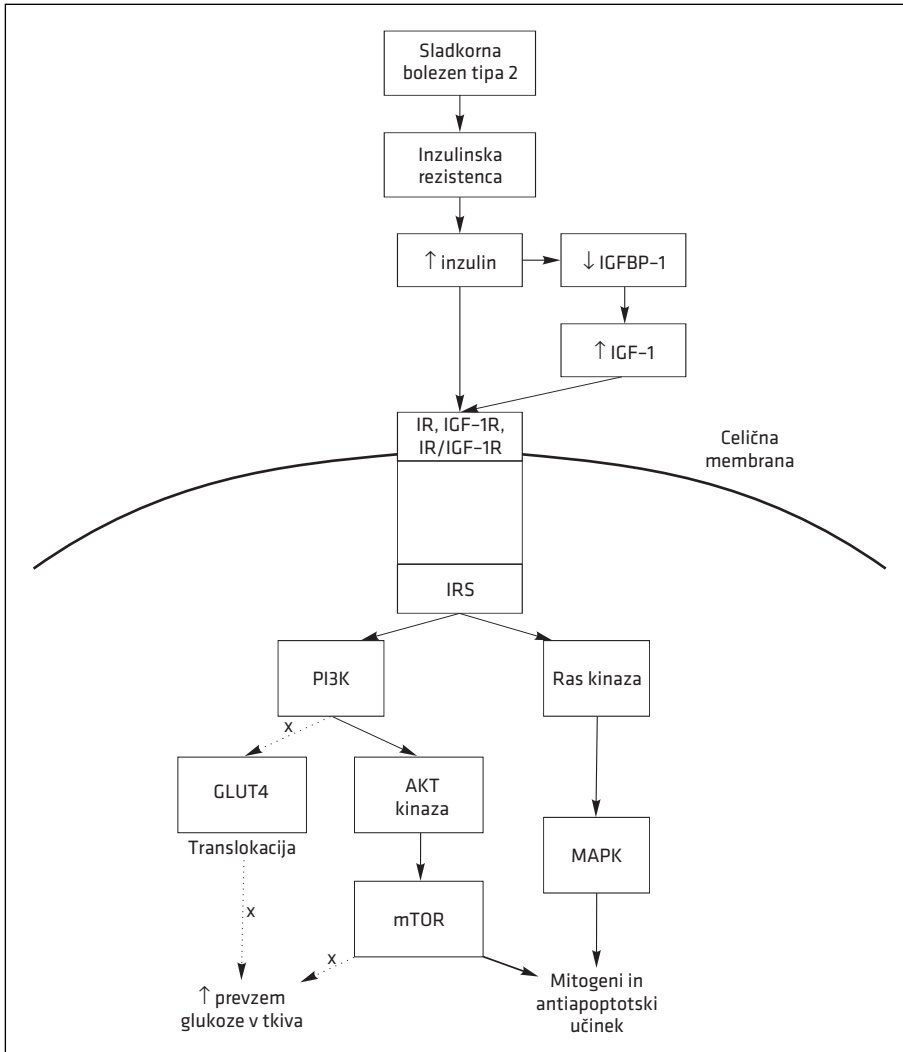
za raka dojk, atipična duktalna ali lobularna hiperplazija, rak druge dojke in visok indeks telesne mase (ITM). Nosečnost in dojenje pa tveganje za raka dojk zmanjšata (11).

V zadnjih letih je več raziskav ugotavljalo povezavo med SB tipa 2 in povečanim tveganjem za nastanek raka dojk. Ker imata boleznih nekatere skupne dejavnike tveganja, kot sta starost in visok ITM, vloga SB tipa 2 kot neodvisnega dejavnika tveganja za nastanek raka dojk še ni popolnoma jasna. Podatki epidemioloških študij, standardiziranih za vpliv starosti in ITM, kažejo, da SB tipa 2 poveča relativno tveganje za raka dojk za 10–20 % (12–15). Manj jasna je povezava med SB tipa 2 in smrtnostjo zaradi raka dojk (15). Rezultati metaanalize, ki so jo v preglednem članku objavili Peairs in sodelavci, niso potrdili ali ovrgli hipoteze, da SB poveča smrtnost zaradi raka dojk (angl. *cancer-specific mortality*) zaradi višjega stadija boleznih ob diagnozi, prognostično in prediktivno bolj neugodnih patohistoloških značilnosti tumorjev ali manj agresivnega zdravljenja zaradi spremljajočih boleznih pri bolnicah (16). Wolf in sodelavci so primerjali 79 bolnic, ki so imele raka dojk in SB tipa 2, s 158 bolnicami z rakom dojk, ki SB tipa 2 niso imele. Ugotovili so, da so imele bolnice s SB tipa 2 ob postavitvi diagnoze raka dojk večje tumorje in bolj napredovalo bolezen (17).

V literaturi je za pojasnitev možne biološke povezave med SB tipa 2 in rakom dojk predlaganih več patofizioloških mehanizmov. Inzulin in inzulinu podobni rastni faktor (angl. *insulin-like growth factor-1*, IGF-1) ob vezavi na receptorje za inzulin, IGF-1 in hibridni inzulinski/IGF-1 receptor aktivirata znotrajcelične signalne poti, kot sta npr. z mitogenom aktivirana protein kinaza (angl. *mitogen-activated protein kinase*, MAPK) in fosfatidilinozitol-3-kinaza (angl. *phosphatidylinositol-3-kinase*, PI3K) pot, ki imajo mitogeni in antiapoptotski učinek na celice (slika 1) (7, 15, 18). Inzulin zmanjša tvorbo vezalne beljakovine za IGF-1 in tako poveča količino

prostega, biološko aktivnega IGF-1, ki ima močnejši mitogeni in antiapoptotski učinek kot inzulin (12, 19). Poleg že opisanih mehanizmov vpliva na proliferacijo raka celic in njihovo odpornost na apoptozo, hiperinzulinemija in povišan ITM pri

bolnicah s SB tipa 2 povečata tvorbo estradiola in androgenov ter zmanjšata tvorbo vezalne beljakovine za spolne hormone, kar prav tako poveča tveganje za raka dojk pri postmenopavzalnih ženskah (15, 20, 21). Na karcinogenezo bi lahko vplivali tudi



Slika 1. Povzetek patofizioloških povezav med sladkorno boleznijo tipa 2, hiperinzulinemijo in rakom dojk (7, 12, 25). IGF-1 – inzulinu podobni rastni dejavnik 1 (angl. *insulin-like growth factor 1*), IGFBP-1 – vezalna beljakovina za IGF 1 (angl. *insulin-like growth factor-binding protein 1*), IR – inzulinski receptor, IGF-1R – receptor za IGF-1 (angl. *insulin-like growth factor 1 receptor*), IR/IGF-1R – hibridni IR/IGF-1 receptor, IRS – substrat receptorja za insulin (angl. *insulin receptor substrate*), PI3K – fosfatidilinozitol-3-kinaza (angl. *phosphatidylinositol-3-kinase*, PI3K), GLUT4 – glukočni transporter tipa 4, MAPK – z mitogenom aktivirana protein kinaza (angl. *mitogen-activated protein kinase*), mTOR – vezavna beljakovina za rapamicin (angl. *mammalian target of rapamycin*).

citokini, ki se izločajo iz maščobnega tkiva, manj verjetno pa tudi neposredno sama hiperglikemija, saj rakave celice zaradi odvisnosti od manj učinkovite glikolize porabijo več glukoze (22–24).

Čprav inzulinska rezistenca in posledična hiperinzulinemija predstavljata verjetno povezavo med SB tipa 2 in rakom dojke, obstaja zelo malo podatkov o vplivu zdravljenja SB tipa 2 na rakave bolezni. Nekatere vrste zdravil za SB tipa 2 (npr. sulfonilsečnine, humani inzulin in njegovi analogi) zvišujejo koncentracijo inzulina v krvi, nekatera (npr. metformin) pa znižujejo inzulinsko rezistenco in zavirajo glukoneogenezo. Tako bi način zdravljenja SB tipa 2 in z njim povezana koncentracija inzulina v krvi lahko pomembno vplivala na nastanek in lastnosti raka dojke. Rezultati kohortne raziskave na več kot 10.000 bolnikih, ki so jo objavili Bowker in sodelavci, kažejo, da imajo bolniki s SB tipa 2, ki so bili zdravljeni s sulfonilsečninami ali eksogenim inzulinom značilno povečano tveganje smrti zaradi rakavega obolenja v primerjavi z bolniki, ki so bili zdravljeni z metforminom (26). Rezultati več epidemioloških raziskav so pokazali, da bi uporaba metformina v primerjavi z drugimi zdravili za hiperglikemijo lahko pomenila manjše tveganje za nastanek in smrt zaradi raka dojke ter izboljšala učinek zdravljenja bolnic z neoadjuvantno kemoterapijo (27, 28).

Namen naše raziskave je bil ugotoviti, ali se patohistološke značilnosti tumorjev in patološki stadij (pTNM) pri bolnicah s SB tipa 2 in rakom dojke razlikujejo glede na vrsto zdravljenja za SB tipa 2, ki so ga te bolnice prejemale. Naša hipoteza je, da imajo bolnice, zdravljene z zdravili za SB tipa 2, ki zvišujejo koncentracijo inzulina v krvi (sulfonilsečnine, humani inzulin in vse vrste njegovih analogov), prognoistično bolj neugodne patohistološke značilnosti tumorjev in višji pTNM-stadij kot bolnice, ki so zdravljene samo z dieto ali metforminom.

METODE

Retrospektivna opazovalna raziskava je potekala na Oddelku za kirurško onkologijo Onkološkega inštituta v Ljubljani (OI). Raziskava je bila izvedena v skladu z etičnimi načeli Helsinške deklaracije o biomedicinskih raziskavah na človeku. Nastala je na osnovi podatkov, pridobljenih za obsežnejšo klinično študijo z naslovom Retrospektivna primerjava patohistoloških značilnosti raka dojke pri skupini bolnic s sladkorno boleznijo in tistih brez sladkorne bolezni, ki na OI poteka od leta 2011. Izvedbo klinične študije je odobrila Komisija za oceno kliničnih protokolov OI na 7. seji v letu 2010 (datum odobritve 23. december 2010, številka dokumenta 03-Z/KSOPKR-49). Rezultati in ugotovitve, objavljeni v tem prispevku, so bili v daljši obliki prvič objavljeni avgusta leta 2012 v Prešernovi raziskovalni nalogi z naslovom Primerjava patohistoloških značilnosti raka dojke pri bolnicah s sladkorno boleznijo glede na vrsto zdravljenja sladkorne bolezni.

Za izvedbo raziskave smo iz dokumentacije OI zbrali podatke o vseh bolnikih s sladkorno boleznijo, ki so bili zaradi raka dojke kirurško zdravljeni na Oddelku za kirurško onkologijo OI med letoma 2005 in 2011. Teh bolnikov je bilo skupaj 260. Kriterije za vključitev v raziskavo so izpolnjevale ženske s SB tipa 2, ki so bile kirurško zdravljene zaradi invazivnega duktalnega karcinoma (IDK) ali invazivnega lobularnega karcinoma (ILK) dojke. Kriteriji za izključitev bolnikov iz raziskave so bili:

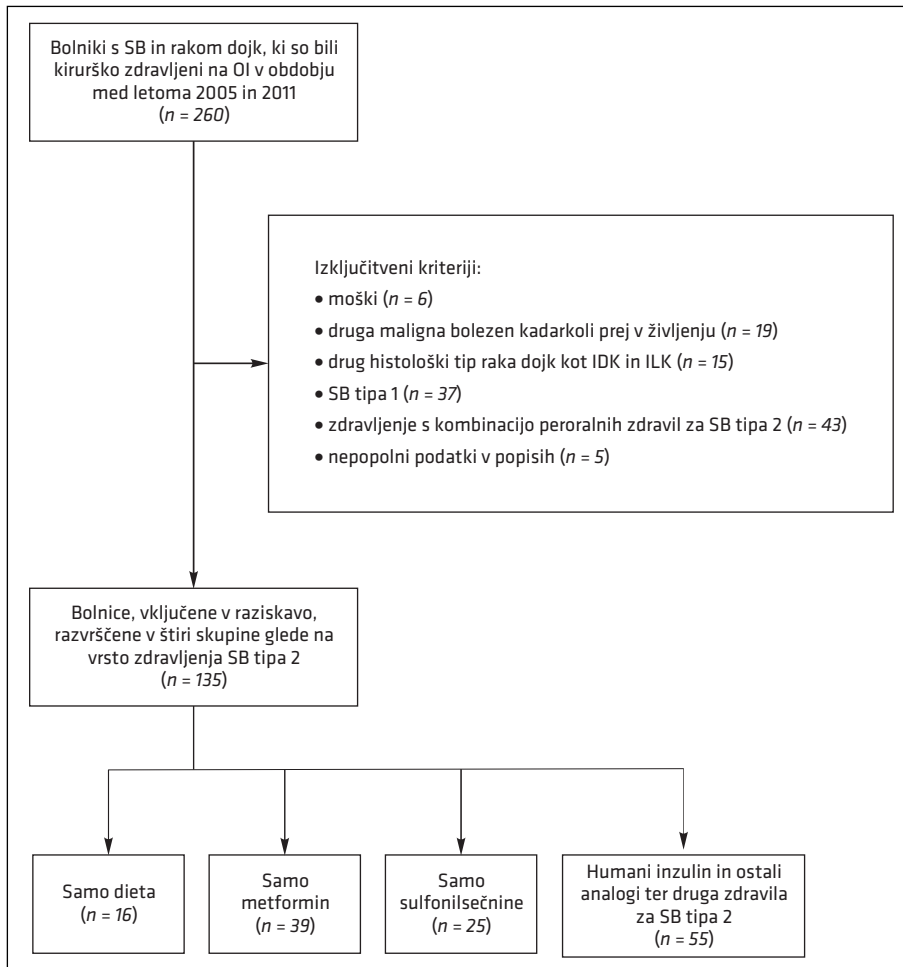
- moški spol,
- druga maligna bolezen kadarkoli prej v življenju,
- drug histološki tip raka dojke kot IDK in ILK,
- SB tipa 1 in
- zdravljenje s kombinacijo peroralnih zdravil za SB tipa 2.

Naknadno smo iz raziskave izločili še tiste bolnice, katerih popisi niso vsebovali vseh

potrebnih podatkov. V raziskavo smo vključili 135 bolnic s SB tipa 2 in rakom dojk. Iz popisov bolezni smo zbrali podatke o njihovi starosti, telesni višini in telesni teži, iz katerih smo izračunali ITM. Iz popisov bolezni smo pridobili tudi podatke o vrsti zdravljenja za SB tipa 2, ki so ga bolnice prejemale, in jih na osnovi teh podatkov razvrstili v štiri skupine. V raziskavo smo vključili samo tiste bolnice, ki so jemale samo eno vrsto peroralnih zdravil (samo sulfonilsečnino ali samo metformin) oz. so bile zdrav-

ljene samo z dieto. V četrto skupino smo razvrstili bolnice, ki so bile zdravljene s humanim inzulinom in z njegovimi analogi ter s katerikoli drugimi zdravili za SB tipa 2, saj je večina bolnic, zdravljenih z inzulinom ali analogi, hkrati prejela več različnih zdravil za SB tipa 2 (slika 2).

Iz dokončnih patoloških izvidov smo zbrali podatke o patohistoloških značilnostih tumorjev (histološkem tipu raka dojk, stopnji malignostni tumorja, izražanju estrogenskih receptorjev (ER) in progeste-



Slika 2. Kriteriji za vključitev bolnikov v raziskavo in razdelitev po skupinah glede na vrsto zdravljenja SB tipa 2. SB – sladkorna bolezen, OI – Onkološki inštitut Ljubljana, IDK – invazivni duktalni karcinom, ILK – invazivni lobularni karcinom, n – število bolnikov.

ronskih receptorjev (PR) ter prekomernem izražanju ali pomnožitvi gena za receptor za humani epidermalni faktor 2 (angl. *human epidermal growth factor receptor 2*, HER2) in pTNM-stadiju pri bolnicah z rakom dojk. Dokončni patološki izvidi so bili napisani po rutinskem makroskopskem in histološkem pregledu kirurško odstranjenih vzorcev tkiva. Vzorce tkiva je pregledovalo šest različnih specialistov patologije, izkušenih na področju patologije dojk. Za določanje histološkega tipa raka dojk je bila uporabljena klasifikacija Svetovne zdravstvene organizacije iz leta 2003 (29). V raziskavo smo vključili samo bolnike z IDK in ILK, ki sta najpogostejša histološka tipa invazivnega raka dojk, saj je naš izbor preiskovancev zajel zelo malo bolnikov z drugimi histološkimi tipa invazivnega ali z neinvazivnim rakom dojk, prav tako pri nekaterih redkejših histoloških tipih raka dojk ne moremo določiti stopnje malignosti (30). Histološki tip raka dojk je bil IDK pri 118 bolnicah (87,4 % vseh vključenih bolnic) in ILK pri 17 bolnicah (12,6 % vseh vključenih bolnic).

Za določitev malignostne stopnje tumorjev je bila uporabljena trisopenjska Nottinghamska modifikacija Scarff-Richardson-Bloomovega sistema. Za določanje statusa hormonskih receptorjev so bile na parafinskih histoloških rezinah uporabljene imunohistokemijske tehnike. Glede na priporočila iz literature smo za potrebe te raziskave tumor vrednotili kot ER- oz. PR-pozitiven, če je bil delež celic v histoloških rezinah, ki so izražale ER oz. PR, imunohistokemijsko določen na 10 % ali več (31). Stopnja izražanja HER2 na celični membrani je bila določena imunohistokemijsko. Glede na odstotek celic, ki izražajo HER2, določimo štiri stopnje izražanja (0 = negativno, 1+ = negativno, 2+ = mejno pozitivno in 3+ = močno pozitivno). Pri tumorjih s stopnjami izražanja HER2 2+ in 3+ je bila z metodo fluorescentne hibridizacije *in situ* določena tudi pomnožitev gena za HER2 (30). Tumor smo vrednotili kot HER2-pozitiven,

če je bila stopnja izražanja HER2 3+ in če je bila ugotovljena pomnožitev gena za HER2.

Za določitev stadija pTNM, ki ga določi patolog po makroskopskem in histološkem pregledu kirurško odstranjenega vzorca tkiva, je bila uporabljena TNM-klasifikacija, ki jo je razvila Mednarodna unija za boj proti raku (angl. *International Union Against Cancer*). TNM-klasifikacija določi stadij bolezni glede na velikost tumorja in njegovo vrašcanje v sosednje strukture, prisotnost zasevkov v področnih bezgavkah in prisotnost oddaljenih zasevkov, katerih prisotnost smo predoperativno ugotavljali s preiskavami, kot so rentgensko slikanje prsnega koša, krvne in biokemične preiskave, ultrazvočna preiskava trebuha, scintigrafija skeleta itd. (30, 32).

Podatke smo vnašali v tabelo, narejeno s programom Microsoft Excel 2010. Statistična analiza je bila napravljena s programom IBM® SPSS® Statistics 20 (International Business Machines Corp., Armonk, NY) za programsko okolje Windows. Za testiranje primerljivosti skupin bolnic po starosti in ITM smo uporabili enofaktorsko analizo variance (ANOVA). Za primerjavo patohistoloških značilnosti tumorjev (stopnja malignosti tumorja, status ER, PR in HER2) in pTNM-stadijem med skupinami bolnic z različnim zdravljenjem SB tipa 2 smo uporabili Fisherjev test (angl. *Fisher's exact test*). Pri vseh testih je bil rezultat statistično pomemben, če je bila *p*-vrednost manjša od 0,05, in mejno statistično pomemben, če je bila *p*-vrednost med 0,05 in 0,1.

REZULTATI

Povprečna starost bolnic ob vključitvi v raziskavo je bila 66,6 let (standardni odklon (angl. *standard deviation*, SD) = 9,1 let; največja vrednost = 87 let; najmanjša vrednost = 37 let). Povprečni ITM bolnic je znašal 30,4 kg/m² (SD = 5,2 kg/m²; največja vrednost = 41,7 kg/m²; najmanjša vrednost = 20,4 kg/m²). Bolnice so bile razdeljene v štiri skupine glede na vrsto zdravljenja za

Tabela 1. Opisna statistika za povprečno starost in ITM skupin bolnic, SD in p-vrednost. ITM – indeks telesne mase, SD – standardni odklon, n – število bolnic v skupini, p – statistična značilnost, izračunana z enofaktorsko analizo variance (ANOVA).

	Samo dieta (n = 16)	Samo metformin (n = 39)	Samo sulfonilsečnine (n = 25)	Humani inzulin in ostali analogi ter druga zdravila (n = 55)	p-vrednost
Delež bolnic med vsemi vključenimi	11,9 %	28,9 %	18,5 %	40,7 %	
Povprečna starost v letih ± SD	66,8 ± 10,8	65,6 ± 8,2	67 ± 9,4	67 ± 9,2	0,900
Povprečni ITM v kg/m ² ± SD	30 ± 5,5	31,4 ± 5	29,6 ± 4,7	30 ± 5,4	0,461

Tabela 2. Primerjava patohistoloških značilnosti tumorjev bolnic, razdeljenih v skupini glede na to, ali so prejemale zdravila, ki zvišujejo koncentracijo inzulina v krvi. n – število bolnic, ER – estrogenski receptorji, PR – progesteronski receptorji, HER2 – receptor za humani epidermalni faktor 2 (angl. *human epidermal growth factor receptor 2*), p – statistična značilnost, izračunana s Fisherjevim testom.

		Samo dieta ali samo metformin (n = 55)	Samo sulfonilsečnine ali humani inzulin in vse vrste analogov ter druga zdravila (n = 80)	p-vrednost
Stopnja malignosti				
1	n	4	4	0,780
	delež	7,3 %	5 %	
2	n	30	42	
	delež	54,5 %	52,5 %	
3	n	21	34	
	delež	38,2 %	42,5 %	
Status ER				
negativen	n	6	7	0,770
	delež	10,9 %	8,8 %	
pozitiven	n	49	73	
	delež	89,1 %	91,2 %	
Status PR				
negativen	n	14	23	0,700
	delež	25,5 %	28,7 %	
pozitiven	n	41	57	
	delež	74,5 %	71,2 %	
Status HER2				
negativen	n	46	71	0,445
	delež	83,6 %	88,8 %	
pozitiven	n	9	9	
	delež	16,4 %	11,2 %	

Tabela 3. Primerjava pTNM bolnic, razdeljenih v skupini glede na to, ali so prejemale zdravila, ki zvišujejo koncentracijo inzulina v krvi. pTNM – patološki stadij bolezni, n – število bolnic, ER – estrogenski receptorji, PR – progesteronski receptorji, HER2 – receptor za humani epidermalni faktor 2 (angl. *human epidermal growth factor receptor 2*), pT – patološki stadij tumorja, pN – patološki stadij področnih bezgavk, M – prisotnost oddaljenih zasevkov, p – statistična značilnost, izračunana s Fisherjevim testom.

		Samo dieta ali samo metformin (n = 55)	Samo sulfonilsečnine ali humani inzulin in vse vrste analogov ter druga zdravila (n = 80)	p-vrednost
pT				
1	n	32	38	0,191
	delež	58,2 %	47,5 %	
2	n	14	21	
	delež	25,5 %	26,2 %	
3	n	5	5	0,599
	delež	9,1 %	6,2 %	
4	n	4	16	
	delež	7,3 %	20 %	
pN				
0	n	28	36	0,599
	delež	50,9 %	45 %	
1 ali 2	n	27	44	0,648
	delež	49,1 %	55 %	
M				
ne	n	54	76	0,648
	delež	98,2 %	95 %	
da	n	1	4	0,648
	delež	1,8 %	5 %	

SB tipa 2, ki so ga prejemale. Ker bi statistično pomembne razlike med skupinami bolnic v povprečni starosti in ITM lahko vplivale na patohistološke značilnosti tumorjev in pTNM-stadij, smo za testiranje primerljivosti skupin bolnic po starosti in ITM uporabili test ANOVA. Ker med skupinami bolnic ni bilo nobene statistično pomembne razlike v povprečni starosti ali ITM, predikcijskega modela ni bilo treba prilagajati za vpliv starosti in ITM (tabela 1).

Da bi potrdili ali ovrgli našo hipotezo, da so zdravila za zdravljenje SB tipa 2, ki zvišujejo koncentracijo inzulina v krvi, povezana s prognostično in prediktivno manj ugodnimi patohistološkimi značilnostmi tumorjev in višjim pTNM-stadijem, smo bolnice razdelili v dve skupini. V prvi skupini so bile zbrane bolnice, ki so bile zdrav-

ljene samo z dieto oz. samo z metforminom, v drugi skupini so bile bolnice, zdravljene z zdravili, ki povišajo koncentracijo inzulina v krvi (sulfonilsečnine, humani inzulin in vse vrste inzulinskih analogov). Obe skupini smo med seboj primerjali z uporabo Fisherjevega testa. Ugotovili smo, da med skupinama ni nobene statistično pomembne razlike v patohistoloških značilnostih tumorjev ali pTNM (tabela 2, tabela 3).

Če smo bolnice v skupine razdelili tako, da smo v eno skupino zajeli bolnice, ki so bile zaradi SB tipa 2 zdravljene samo z dieto ali samo s peroralnimi zdravili (metformin in sulfonilsečnine), in v drugo bolnice, ki so bile zdravljene tudi s humanim inzulinom in z inzulinskimi analogi, smo z uporabo Fisherjevega testa dokazali statistično pomembno povezavo med uporabo

humanega inzulina in njegovih analogov in višjim patološkim stadijem področnih bezgavk, ter mejno statistično pomembno povezavo z višjim patološkim stadijem tumorja (tabela 4). Statistično pomembnih razlik v patohistoloških značilnostih tumorja z uporabo Fisherjevega testa pri teh dveh skupinah nismo dokazali (tabela 5).

RAZPRAVA

Da bi ugotovili, ali se patohistološke značilnosti tumorjev in pTNM-stadij pri bolnicah s SB tipa 2 in rakom dojk razlikujejo glede na vrsto zdravljenja za SB tipa 2, ki so ga te bolnice prejemale, smo med seboj najprej primerjali dve skupini bolnic. V prvi so bile bolnice, ki so bile zdravljene z zdravi- li, ki zvišujejo koncentracijo inzulina v krvi (sulfonilsečnine, humani inzulin in vse vrste

inzulinskih analogov), v drugi pa bolnice, ki so bile zdravljene samo z dieto ali metforminom. Čeprav smo med skupinama lahko opazili razlike v pTNM, ki so bile v skladu z našimi predvidevanji, da je uporaba zdravil, ki povišajo koncentracijo inzulina v krvi povezana z višjim stadijem bolezni, te razlike niso bile statistično pomembne. Možno je, da se statistično pomembne razlike niso pokazale zaradi relativno majhnega števila bolnic, vključenih v našo raziskavo. Prav tako nismo ugotovili statistično pomembnih razlik v patohistoloških značilnostih tumorjev med obema skupinama. Našo osnovno hipotezo, da imajo bolnice, zdravljene z zdravi li za SB tipa 2, ki zvišujejo koncentracijo inzulina v krvi, prognozično bolj neugodne patohistološke značilnosti tumorjev in višji pTNM-stadij, smo tako zavrnili.

Tabela 4. Primerjava pTNM bolnic, ki so bile razdeljene v skupini glede na to, ali so bile zdravljene s humanim inzulinom in njegovimi analogi ali ne. n – število bolnic, ER – estrogenski receptorji, PR – progesteronski receptorji, HER2 – receptor za humani epidermalni faktor 2 (angl. *human epidermal growth factor receptor 2*), pT – patološki stadij tumorja, pN – patološki stadij področnih bezgavk, M – prisotnost oddaljenih zasevkov, p – statistična značilnost, izračunana s Fisherjevim testom.

		Samo dieta ali samo metformin ali samo sulfonilsečnine (n = 80)	Humani inzulin in vse vrste analogov (n = 55)	p-vrednost
pT	n	45	25	0,089
	delež	56,2 %	45,5 %	
2	n	23	12	21,8 %
	delež	28,7 %	21,8 %	
3	n	5	5	9,1 %
	delež	6,2 %	9,1 %	
4	n	7	13	23,6 %
	delež	8,8 %	23,6 %	
pN	n	44	20	0,037
	delež	55 %	36,4 %	
1 ali 2	n	36	35	63,6 %
	delež	45 %	63,6 %	
M	n	79	51	0,158
	delež	98,8 %	92,7 %	
da	n	1	4	7,3 %
	delež	1,2 %	7,3 %	

Ugotovili pa smo statistično pomembne razlike v stadiju področnih bezgavk in mejno statistično pomembne razlike v stadiju tumorja med skupinama bolnic, ki so bile zdravljene s humanim inzulinom in z inzulinskimi analogi oz. samo z dieto ali s peroralnimi antidiabetiki (metformin in sulfonilsečnine). Tako smo kljub zavrnitvi naše osnovne hipoteze ugotovili, da obstajajo razlike v ugotovljenem pTNM-stadiju pri bolnicah z rakom dojke, ki so bile zaradi SB tipa 2 zdravljene na različne načine. Višji stadij področnih bezgavk pomeni večjo prisotnost zasevkov v teh bezgavkah, kar je najpomembnejši dejavnik, povezan z neugodnim potekom in izidom bolezni pri bolnicah z rakom dojke. To se ujema z ugotovitvami razli-

skave, ki so jo objavili Bowker in sodelavci (26). Čeprav so v tej raziskavi ugotovili večjo smrtnost zaradi rakavih obolenj tako pri bolnikih, ki so bili zdravljeni z eksogenim inzulinom, kot pri tistih, ki so bili zdravljeni s sulfonilsečninami, je bilo razmerje ogroženosti (angl. *hazard ratio*, HR) za smrt zaradi raka pri bolnikih, zdravljenih z eksogenim inzulinom, večje (HR = 1,9) kot pri tistih, zdravljenih s sulfonilsečninami (HR = 1,3). Vendar pa se je treba zavedati, da je smrtnost zaradi rakavih obolenj poleg histološkega tipa in drugih patohistoloških značilnosti tumorjev odvisna tudi od uspešnosti zdravljenja rakavih obolenj. Različne vrste zdravljenja SB tipa 2 bi tako, poleg vpliva na patohistološke značilnosti tumorjev

Tabela 5. Primerjava patohistoloških značilnosti tumorjev bolnic, ki so bile razdeljene v skupini glede na to, ali so bile zdravljene s humanim inzulinom in z njegovimi analogi ali ne. n – število bolnic, ER – estrogenski receptorji, PR – progesteronski receptorji, HER2 – receptor za human epidermalni faktor 2 (angl. *human epidermal growth factor receptor 2*), p – statistična značilnost, izračunana s Fisherjevim testom.

		Samo dieta ali samo metformin ali samo sulfonilsečnine (n = 80)	Humani inzulin in vse vrste analogov (n = 55)	p-vrednost
Stopnja malignosti				
1	n	5	3	0,452
	delež	6,2 %	5,5 %	
2	n	46	26	
	delež	57,5 %	47,3 %	
3	n	29	26	
	delež	36,2 %	47,3 %	
Status ER				
negativen	n	8	5	1,000
	delež	10 %	9,1 %	
pozitiven	n	72	50	
	delež	90 %	90,9 %	
Status PR				
negativen	n	20	17	0,556
	delež	25 %	30,9 %	
pozitiven	n	60	38	
	delež	75 %	69,1 %	
Status HER2				
negativen	n	66	51	0,122
	delež	82,5 %	92,7 %	
pozitiven	n	14	4	
	delež	17,5 %	7,3 %	

in pTNM, lahko vplivale tudi na pogostost ponovitve bolezni pri istem bolniku ali na učinkovitost in odzivnost na različne vrste zdravljenja rakavih obolenj (26).

Opažanje, da smo v naši raziskavi dokazali statistično pomembno razliko v stadiju področnih bezgavk samo pri primerjavi bolnic, zdravljenih s humanim inzulinom in analogi (eksogenim inzulinom), z bolnicami, ki niso bile zdravljene z eksogenim inzulinom, bi lahko pojasnili z možnostjo, da sulfonilsečnine, ki samo povečujejo sproščanje inzulina iz nezadostno delujočih celic β , po dolgotrajnejšem zdravljenju koncentracije inzulina v krvi ne zvišajo več tako močno kot zdravljenje z eksogenim inzulinom. Koncentracija inzulina, izločenega iz celic β , se zaradi njihovega postopnega odpovedovanja namreč sčasoma zmanjšuje, zato približno polovica bolnikov, zdravljenih z drugimi zdravili za SB tipa 2, sčasoma potrebuje tudi zdravljenje z eksogenim inzulinom ali analogi (15). Če je hiperinzulinemija resnično patofiziološki dejavnik, ki povezuje SB tipa 2 z rakom dojk, bi to lahko pojasnilo tudi višjo smrtnost zaradi raka pri bolnikih, zdravljenih z eksogenim inzulinom, od smrtnosti bolnikov zdravljenih s sulfonilsečninami in z metforminom, opaženo v raziskavi Bowkerja in sodelavcev. V literaturi nismo našli nobenih podatkov o povprečni koncentraciji inzulina v krvi bolnikov, ki so bili dalj časa zdravljeni z različnimi zdravili za SB tipa 2, zato težko sklepamo, kakšno stopnjo hiperinzulinemije povzroča zdravljenje s sulfonilsečninami oz. eksogenim inzulinom. Izključena ni niti možnost, da za ta opažanja ni kriva hiperinzulinemija, temveč neposreden vpliv zdravil na rakave in predrakave celice prek do zdaj še neodkritih mehanizmov (15).

Zaradi sočasnega vpliva skupnih dejavnikov tveganja, razlik v odkrivanju bolezni in spremljajočih bolezni bolnic, ki vplivajo na izbiro načina zdravljenja in vpliva različnih načinov zdravljenja je dokazovanje neposredne patofiziološke povezanosti

SB tipa 2 z rakom dojk na osnovi epidemioloških podatkov težavno. Kljub temu da gre za pogosti bolezni, obstaja v objavljeni literaturi zelo malo raziskav, ki so preučevale vpliv SB tipa 2 na patohistološke značilnosti tumorjev in obseg bolezni pri bolnikih z rakom. Podatki in ugotovitve iz teh raziskav so si tudi velikokrat nasprotujoči. Raziskava, katere rezultate so v članku objavili Wolf in sodelavci, je primerjala 79 bolnic, ki so imele raka dojk in SB tipa 2, s 158 enako starimi bolnicami z rakom dojk in brez SB tipa 2. Ugotovili so, da so imele bolnice s SB tipa 2 ob postavitvi diagnoze raka dojk večji tumor in bolj napredovalo bolezen. Ko so analizo podatkov prilagodili za vpliv ITM, so ugotovili, da so tumorji bolnic s SB tipa 2 redkeje izražali ER in PR (17). Nasprotno v raziskavi, ki so jo objavili Guastamacchia in sodelavci, primerjava 77 pomenopavzalnih bolnic s SB tipa 2 in rakom dojk s 578 pomenopavzalnimi bolnicami z rakom dojk in brez SB tipa 2 ni ugotovila nobenih razlik v izražanju ER in PR med bolnicami, ugotovila pa je manjšo proliferacijsko aktivnost tumorjev pri bolnicah s SB tipa 2 (33). Vendar pa ti raziskavi nista upoštevali vpliva različnih načinov zdravljenja SB tipa 2 (vse bolnice s SB tipa 2 in rakom dojk so bile združene v eno skupino, ne glede na vrsto zdravljenja). Nasprotujoči si rezultati bi morda lahko bili posledica tega, da na patohistološke značilnosti tumorjev in p-TNM vrsta zdravljenja vpliva močneje kot sama prisotnost SB tipa 2.

Naša raziskava in njene ugotovitve imajo seveda številne omejitve in pomanjkljivosti. Raziskava je retrospektivna, samo opazovalna in ni randomizirana. Zaradi majhnega števila bolnikov je njena statistična moč moč majhna (okoli 40 %). Da bi dosegli zadovoljivo statistično moč raziskave (80 %), bi morali vanjo vključiti okoli 200 bolnic. Zaradi majhnega števila bolnic in slabe dostopnosti podatkov tudi nismo mogli upoštevati vpliva dnevnega odmerka eksogenega inzulina in ostalih zdravil

ter časa zdravljenja z njimi. Ob tem smo se zavedali dejstva, da podatki iz raziskave o povezavi med rakavimi obolenji in višino odmerka inzulinskega analoga glargina, ki so jo objavili Mannucci in sodelavci, kažejo, da bi višino odmerka inzulina morali upoštevati vedno, ko raziskujemo povezavo med rakavimi obolenji in zdravljenjem s humanim inzulinom ali njegovimi analogi (34). Bolnice, vključene v raziskavo, ki so bile zdravljene z eksogenim inzulinom, so v večini primerov bile zdravljene tudi s kombinacijo različnih pripravkov humanega inzulina in inzulinskih analogov. Prav tako smo se v raziskavi omejili le na vpliv najpogostejše predpisovanih zdravil za SB tipa 2 (metformin, sulfonilsečnine, humani inzulin in inzulinski analogi) na raka dojke, medtem ko vpliva drugih vrst zdravil za SB tipa 2, kot so tiazolidinedioni, zaviralci glukozeidaze α , glinidi, inhibitorji dipeptidil peptidaze 4 in analogi inkretinov, nismo upoštevali. Podatke o prisotnosti SB tipa 2 smo pridobili iz že obstoječe medicinske dokumentacije, v kateri ni bilo podatka o tem, kdaj je bila diagnoza postavljena. Prav tako smo se zaradi premajhnega števila bolnic v naši raziskavi omejili samo na tiste, pri katerih je bil histološki tip raka dojke IDK ali ILK. Tako z našo raziskavo nismo mogli ugotoviti, ali so določene vrste zdravljenja SB tipa 2 morda povezane z večjo verjetnostjo nastanka določenega histološkega tipa raka dojke. Ker je histološki tip raka dojke

prognostično pomemben dejavnik, bi tudi tako lahko pojasnili razliko v smrtnosti glede na vrsto zdravljenja, opaženo v raziskavi Bowkerja in sodelavcev (26).

Kljub naštetim omejitvam in pomanjkljivostim bi ugotovitve naše raziskave, da je zdravljenje SB tipa 2 z eksogenim humanim inzulinom in njegovimi analogi povezano z višjim stadijem bolezni pri bolnicah z rakom dojke, lahko bile osnova za nadaljnje hipoteze in raziskave na tem področju. Omejitve, ki jih prinaša majhno število bolnic v Sloveniji, ki jih lahko vključimo v tovrstne raziskave, bi lahko premostili z izvedbo multicentrične študije v povezavi s kakšnim od podobnih centrov za obravnavo raka dojke v tujini. Vendar pa v tem primeru študija ne bi bila več reprezentativna za slovensko populacijo bolnic s SB tipa 2 in rakom dojke. Dokončen odgovor na vprašanje, ali obstaja pomembna povezava med hiperinzulinemijo, SB tipa 2, različnimi načini njenega zdravljenja in rakom dojke bi verjetno dala večletna prospektivna študija, pri kateri bi spremljali bolnike s SB tipa 2 in jim, poleg ostalih parametrov, pomembnih za glikemčno kontrolo, redno merili tudi koncentracijo inzulina v krvi. Tako bi sčasoma pridobili podatke o incidenci in smrtnosti zaradi rakavih obolenj bolnikov s SB tipa 2, ki bi jih primerjali s podatki zdravih bolnikov ter tako potrdili ali ovrgli pomembnost *in vitro* dokazanih patofizioloških povezav med hiperinzulinemijo in rakom.

LITERATURA

1. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2012; 35 Suppl 1: S64–71.
2. Stumvoll M, Goldstein BJ, van Haeften TW. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *Lancet*. 2005; 365 (9467): 1333–46.
3. Saltiel AR. New perspectives into the molecular pathogenesis and treatment of type 2 diabetes. *Cell*. 2001; 104 (4): 517–29.
4. Nolan CJ, Damm P, Prentki M. Type 2 diabetes across generations: from pathophysiology to prevention and management. *Lancet*. 2011; 378 (9786): 169–81.
5. Mejač J. Ambulantno predpisovanje zdravil za zdravljenje sladkorne bolezni v Sloveniji v obdobju 2002–2008 [diplomska naloga]. Ljubljana: Univerza v Ljubljani; 2011.
6. Pandey A, Forte V, Abdallah M, et al. Diabetes mellitus and the risk of cancer. *Minerva Endocrinol*. 2011; 36 (3): 187–209.
7. Sun G, Kashyap SR. Cancer risk in type 2 diabetes mellitus: metabolic links and therapeutic considerations. *J Nutr Metab*. 2011; 2011: 708183.
8. Murray CJ, Lopez AD. Mortality by cause for eight regions of the world: Global Burden of Disease Study. *Lancet*. 1997; 349 (9061): 1269–76.
9. Key TJ, Verkasalo PK, Banks E. Epidemiology of breast cancer. *Lancet Oncol*. 2001; 2 (3): 133–40.
10. Register raka Republike Slovenije. Osnovni epidemiološki podatki o raku DOJKA (C50) [internet]. Ljubljana: Onkološki inštitut Ljubljana; 2013 [citirano 2014 Nov 26]. Dosegljivo na: http://www.slora.si/c/document_library/get_file?uuid=4e2f0c00-dfd0-4400-b2cd-f261c9b181c9&groupId=11561
11. Veronesi U, Boyle P, Goldhirsch A, et al. Breast cancer. *Lancet*. 2005; 365 (9472): 1727–41.
12. Wolf I, Sadetzki S, Catane R, et al. Diabetes mellitus and breast cancer. *Lancet Oncol*. 2005; 6 (2): 103–11.
13. Michels KB, Solomon CG, Hu FB, et al. Type 2 diabetes and subsequent incidence of breast cancer in the Nurses' Health Study. *Diabetes Care*. 2003; 26 (6): 1752–8.
14. Liao S, Li J, Wei W, et al. Association between diabetes mellitus and breast cancer risk: a meta-analysis of the literature. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2011; 12 (4): 1061–5.
15. Giovannucci E, Harlan DM, Archer MC, et al. Diabetes and cancer: a consensus report. *Diabetes Care*. 2010; 33 (7): 1674–85.
16. Pears KS, Barone BB, Snyder CF, et al. Diabetes mellitus and breast cancer outcomes: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Oncol*. 2011; 29 (1): 40–6.
17. Wolf I, Sadetzki S, Gluck I, et al. Association between diabetes mellitus and adverse characteristics of breast cancer at presentation. *Eur J Cancer*. 2006; 42 (8): 1077–82.
18. Fresno Vara JA, Casado E, de Castro J, et al. PI3K/Akt signalling pathway and cancer. *Cancer Treat Rev*. 2004; 30 (2): 193–204.
19. Weinstein D, Simon M, Yehezkel E, et al. Insulin analogues display IGF-I-like mitogenic and anti-apoptotic activities in cultured cancer cells. *Diabetes Metab Res Rev*. 2009; 25 (1): 41–9.
20. Key T, Appleby P, Barnes I, et al. Endogenous sex hormones and breast cancer in postmenopausal women: reanalysis of nine prospective studies. *J Natl Cancer Inst*. 2002; 94 (8): 606–16.
21. Nyholm H, Djursing H, Hagen C, et al. Androgens and estrogens in postmenopausal insulin-treated diabetic women. *J Clin Endocrinol Metab*. 1989; 69 (5): 946–9.
22. Iliopoulos D, Hirsch HA, Struhl K. An epigenetic switch involving NF- κ B, Lin28, Let-7 MicroRNA, and IL6 links inflammation to cell transformation. *Cell*. 2009; 139 (4): 693–706.
23. Yu H, Pardoll D, Jove R. STATs in cancer inflammation and immunity: a leading role for STAT3. *Nat Rev Cancer*. 2009; 9 (11): 798–809.
24. Johnson JA, Bowker SL. Intensive glycaemic control and cancer risk in type 2 diabetes: a meta-analysis of major trials. *Diabetologia*. 2011; 54 (1): 25–31.
25. Krebs M, Brunmair B, Brehm A, et al. The Mammalian target of rapamycin pathway regulates nutrient-sensitive glucose uptake in man. *Diabetes*. 2007; 56 (6): 1600–7.
26. Bowker SL, Majumdar SR, Veugelers P, et al. Increased cancer-related mortality for patients with type 2 diabetes who use sulfonylureas or insulin. *Diabetes Care*. 2006; 29 (2): 254–8.
27. Dowling RJ, Goodwin PJ, Stambolic V. Understanding the benefit of metformin use in cancer treatment. *BMC Med*. 2011; 9: 33.

28. Jiralerspong S, Palla SL, Giordano SH, et al. Metformin and pathologic complete responses to neoadjuvant chemotherapy in diabetic patients with breast cancer. *J Clin Oncol*. 2009; 27 (20): 3297–302.
29. Tavassoli FA, Devilee P, eds. *Pathology and Genetics of Tumors of the Breast and Female Genital Organs*. 3rd ed. Lyon: IARC press; 2003.
30. Pogačnik A, Gazić B, Vidregar B, et al. Smernice diagnostike in zdravljenja raka dojk [internet]. Ljubljana: Onkološki inštitut Ljubljana; 2011 [citirano 2012 Aug 8]. Dosegljivo na: http://www.onko-i.si/uploads/media/Smernice_zdravljenja_raka_dojk_2011.pdf
31. Diaz LK, Sneige N. Estrogen receptor analysis for breast cancer: current issues and keys to increasing testing accuracy. *Adv Anat Pathol*. 2005; 12 (1): 10–9.
32. Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind C, eds. *TNM Classification of Malignant Tumours*. 7th ed. Oxford: Wiley-Blackwell; 2009.
33. Guastamacchia E, Resta F, Mangia A, et al. Breast cancer: biological characteristics in postmenopausal type 2 diabetic women. Identification of therapeutic targets. *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord*. 2003; 3 (3): 205–9.
34. Mannucci E, Monami M, Balzi D, et al. Doses of insulin and its analogues and cancer occurrence in insulin-treated type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 2010; 33 (9): 1997–2003.

Prispelo 20. 8. 2014