

Originalni naučni rad

## Imunohistohemijski markeri: karcinoembrionalni antigen, p53, Ki 67 i proliferišući nuklearni antigen kao prognostički faktori karcinoma kolona i rektuma

**Siniša Maksimović<sup>1,2</sup>,  
Branislava Jakovljević<sup>2,3</sup>,  
Zdenka Gojković<sup>2,4</sup>,  
Zlatko Maksimović<sup>5,6</sup>**

<sup>1</sup>Javna zdravstvena ustanova bolnica „Sveti Vračevi“, Bijeljina, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina

<sup>2</sup>Univerzitet u Banjoj Luci, Medicinski fakultet, Banja Luka, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina

<sup>3</sup>Zdravstvena ustanova S-Tetik, Banja Luka, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina

<sup>4</sup>Univerzitetski klinički centar u Banjoj Luci, Klinika za onkologiju, Banja Luka, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina

<sup>5</sup>Univerzitet u Istočnom Sarajevu, Medicinski fakultet, Foča, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina

<sup>6</sup>Fond zdravstva Republike Srpske, Banja Luka, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina

*Adresa autora:*

*Prof. dr Siniša Maksimović  
JZU Bolnica "Sveti Vračevi"  
76300 Bijeljina  
makss@telrad.net*

Primljen – Received: 07/03/2018  
Prijet – Accepted: 10/05/2018

Copyright: ©2018 Maksimović S, et al. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) license.

### Kratak sadržaj

**Uvod.** Učestalost karcinoma kolona i rektuma je u postupnom porastu posljednjih dvadeset godina. Da bi procjena ljekara o trajanju života pacijenata i/ili liječenju bila što preciznija, u onkologiji se koriste faktori prognoze i predikcije. Oni se mogu klasifikovati na: kliničko-hirurške, patološko-histološke i imunohistohemijske. Cilj rada je bio utvrditi značaj imunohistohemijskih markera – karcinoembrionalnog antigena (CEA), p53, Ki-67 i proliferišućeg nuklearnog antigena (PCNA) u predikciji preživljavanja pacijenata sa karcinomom kolona i rektuma.

**Metode.** Od 1. januara 2010. godine do 1. decembra 2017. godine u Javnoj zdravstvenoj ustanovi bolnici "Sveti Vračevi" u Bijeljini liječeno je 484 pacijenata sa karcinomima kolona i rektuma kojima je u tkivu karcinoma imunohistohemijskom analizom ispitana ekspresija CEA, p53, Ki-67 i PCNA.

**Rezultati.** Imunohistohemijska analiza tkiva primarnog kolorektalnog adenokarcinoma ispitivanih pacijenata pokazala je jako pozitivnu ekspresiju CEA kod 301 (62%) pacijenta, p53 kod 329 (68%), PCNA kod 314 i Ki-67 kod 275 (56,8%) pacijenata. Pacijenti sa jako pozitivnom ekspresijom CEA, p53 i PCNA su imali statistički značajno lošije preživljavanje u odnosu na pacijente sa slabom ekspresijom ovih imunohistohemijskih markera. Nema statistički značajne razlike u preživljavanju pacijenata sa jako pozitivnim imunohistohemijskim skorom Ki-67 u odnosu na pacijente sa slabom pozitivnim vrijednostima skora.

**Zaključak.** Imunohistohemijska analiza se ne koristi u rutinskoj analizi karcinoma kolona i rektuma, iako imunohistohemijski markeri predstavljaju korisne prediktore preživljavanja pacijenata.

**Ključne riječi:** imunohistohemijski markeri, CEA, p53, Ki-67, PCNA, kolorektalni karcinom, preživljavanje

## Uvod

Imunohistohemijski markeri se mogu podijeliti na dijagnostičke, prognostičke i prediktivne, pri čemu se uloga pojedinih markera prepliće i jedan isti marker može imati i prognostičku i prediktivnu ulogu. Iako kliničko-patološki parametri još uvijek predstavljaju najznačajnije faktore pri određivanju terapije i praćenja bolesnika sa kolorektalnim karcinomom, oni ipak, nisu dovoljno pouzdani ni u prognostičkom smislu niti u predikciji odgovora na terapiju. Zbog toga postoji urgentna potreba za razvojem imunohistohemijskih markera koji bi bili specifičniji i senzitivniji u procjeni rizika i izboru terapije [1].

Razumijevanje molekularne osnove kolorektalnog karcinoma preduslov je za identifikaciju brojnih potencijalnih prognostičkih i prediktivnih imunohistohemijskih markera. Detaljnija analiza molekularne baze kolorektalnog karcinoma pokazala je da je kolorektalni karcinom heterogeno oboljenje koje može da nastane kroz nekoliko različitih genetskih puteva [2].

U našoj kliničkoj studiji smo analizirali ekspresiju sljedećih imunohistohemijskih markera: karcinoembrionalni antigen (CEA), p53, Ki-67 i proliferišući nuklearni antigen (PCNA).

*Karcinoembrionalni antigen* je glikoprotein koji je izolovan u debelom crijevu fetusa i u adenokarcinomu debelog crijeva, dok ga u debelom crijevu zdravih odraslih osoba praktički nema. Upravo zato što se nalazi u tkivu karcinoma i u embrionalnom tkivu dobio je naziv karcinoembrionalni antigen. Kao i kod većine ostalih tumorskih markera njegova ekspresija raste s povećanjem mase tumora. Tako je u najranijoj fazi karcinoma debelog crijeva (Dukes A) ekspresija CEA povišena kod oko 28% bolesnika, a rastom tumora se povećava procenat ovih bolesnika do 85% [3, 4].

*Gen p53* je lociran na kratkom kraku hromozoma 17, i 90% humanih karcinoma pokazuje tačkaste mutacije sa substitucijom jednog nukleotida, a rjeđe su delecije ili gubitak heterozigotnosti. Gen 53 kodira protein od 53 kDa poznat kao p53. Mutacije p53 gena stimulišu rast ćelija i učestvuju u razvoju i progresiji tumora zbog gubitka supresorne aktivnosti

p53 divljeg tipa gena i zbog kooperacije sa aktiviranim onkogenima. Ovaj protein ima vrlo kratak poluživot i zbog toga se nagomilava u ćelijama pa se ne može dijagnostikovati imunohistohemijskim tehnikama [5]. Nasuprot ovome, mutacije p53 rezultiraju u odgovarajućim izmjenama i nefunkcionalnom nuklearnom proteinu koji je stabilan. Ovaj protein se nagomilava u tumorskim ćelijama i može se dokazati imunohistohemijskim metodama. Kod bolesnika sa pozitivnim p53 preživljavanje je bilo statistički značajno lošije nego kod bolesnika sa negativnim p53 (52,5 % vs. 94,1%) [6-9].

*Antigen Ki-67*. Antitijelo IgG1 klase je napravljeno protiv Ki-67 nuklearnog antigena proliferišućih ćelija. Antigen Ki-67, koji se otkriva ovim antitijelom, je prisutan u G1, S, G2 i M fazi a jedino se ne vizualizuje u G0 fazi [10]. Određivanje Ki-67 kod bolesnika sa kolorektalnim karcinomom upotrebom monoklonskog antitijela je značajnije za prognozu bolesti u poređenju sa kliničkim i patološkim pokazateljima [10-13]. U radu Guzinske i saradnika [10] pokazano je da prisustva Ki-67 ukazuje na postojanje metastatske bolesti.

*Proliferišući nuklearni antigen (PCNA)* je ne-histaminski nuklearni protein, ima molekularnu masu od 36 kDa i specifičan je marker dijeljenja ćelija. Njegova akcija je povezana sa DNK polimerazom, sintetizacijom neposredno prije S-faze ćelijskog ciklusa [14]. Utvrđeno je da PCNA izraz korelira sa stepenom maligniteta, vaskularnom infiltracijom, udaljenim metastazama i preživljavanjem [14, 15]. Danas se može dobiti antitijelo na nuklearni protein koji se naziva proliferišući nuklearni antigen (PCNA) ili ciklin koji se javlja u jedru pri kraju S faze. Ovaj molekul je pomoćni protein DNA polimeraze enzima i identifikuje se imunohistohemijski [14].

## Metode rada

Od 1. januara 2010. do 1. decembra 2017. godine u Javnoj zdravstvenoj ustanovi bolnica "Sveti Vračevi" u Bijeljini liječeno je 484 pacijenata sa karcinomima kolona i rektuma kojima je urađena imunohistohemijska analiza

biomarkera CEA, p53, Ki 67 i PCNA. U istraživanje su uključeni pacijenti operisani zbog karcinoma kolona i rektuma, stadijuma B i C. Iz grupe su isključeni pacijenti sa stadijumom D po Dukes-u, kao i pacijenti koji su umrli u ranom postoperativnom toku.

Tkiva primarnog kolorektalnog adenokarcinoma obrađena su u histopatološkoj laboratoriji JZU bolnice "Sveti Vračevi" u Bijeljini. Hematoksilin i eozin obojeni dijelovi su retrospektivno pregledani od strane dva patologa za detekciju, kvantifikaciju i lokalizaciju uzorka kolorektalnog adenokarcinoma. Preparati su imunohistohemijski obrađeni korišćenjem sljedećih antitijela: anti CEA monoklonalna antitijela CEA 102, anti-p53 klon DO-7, anti Ki-67 klon MIB-1, anti PCNA klon PC-25, i analizirani od strane dva iskusna patologa bez prethodnog poznavanje slučaja.

Standardizovana procjena za sve marke bazirana je na "Quick score":  $Q = P \times I$ , gdje je P procenat difuznih i ravnomjerno pozitivnih epitelnih ćelija, a I je intenzitet boje; stoga je analiza bila izvršena tako da je množenjem vrijednosti P i I dobijen rezultat. Ekspresija je smatrana slabo pozitivnom (1) u slučajevima sa ocjenom od 0-5, i jako pozitivnim (2) sa ocjenom od 6 ili više.

Statistička analiza koja upoređuje ekspresiju markera u odnosu na varijable starost, pol, stepen diferencijacije, venska invazija, perineuralna invazija, TNM i mortalitet izvedeni su korišćenjem testa chi-kvadrat ili, po potrebi Fisher-ovim test. Analiza ukupnog preživljavanja pacijenata u zavisnosti od pojedinog markera ili panela izvršena je korišćenjem Cox-ove regresione analize.

## Rezultati

U našoj kliničkoj studiji je bilo 484 pacijenata, od toga 266 (55%) muškaraca i 218 žena (45%) i njihove

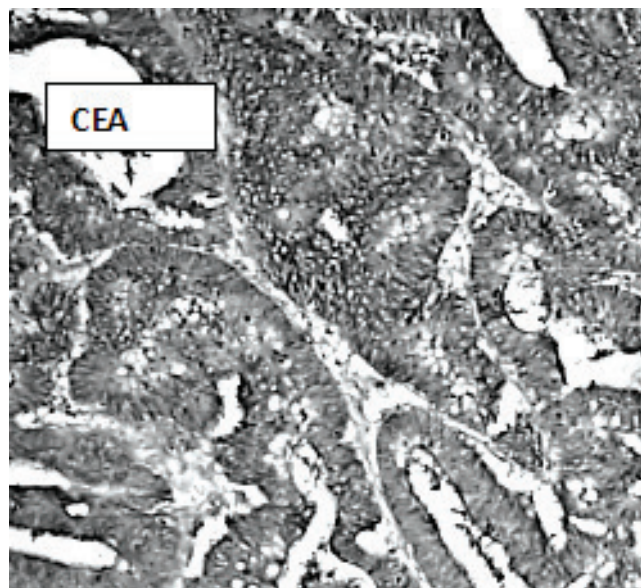
kliničko-patološke karakteristike su prikazane u tabeli 1. Sto osamdeset devet pacijenata (39%) je imalo tumore lokalizovane u predjelu cekuma i lijenalne fleksure a 295 (61%) je imalo tumore od lijenalne fleksure do anokutane linije. Dvjesto četrdeset sedam pacijenata (51%) je imalo histološki gradus tumora I, 145 pacijenata (30%) je imalo histološki gradus tumora II i 92 pacijenata (19%) je imalo histološki gradus tumora III. Invazija tumora u zid crijeva analizirana je kod svih pacijenata u ovoj studiji: pT1 invazija je zabilježena kod 27 pacijenata (5,6%), pT2 kod 68 pacijenata (14%), pT3 kod 229 pacijenata (47,3%) i pT4 kod 160 pacijenata (33,1%). Zahvaćenost limfnih čvorova pN je analizirana i utvrdili smo sljedeće rezultate. Stodvadeset dva pacijenta (25,2%) je imalo zahvaćene limfne čvorove jedan do tri limfna čvora pN1 i 101 pacijent (20,8%) je imao zahvaćene više od četiri limfna čvora

**Tabela 1.** Kliničko patološke karakteristike bolesnika sa kolorektalnim karcinomom

Varijable	Broj bolesnika n = 484	P
Pol		
Muškarci	266 (55%)	0,6289
Žene	218 (45%)	
Lokalizacija tumora		
Od cekuma do lijenalne fleksure	189 (39%)	0,563
Od lijenalne fleksure do anokutane linije	295 (61%)	
Histološki gradus		
HG1	247 (51%)	0,0019
HG2	145 (30%)	
HG3	92 (19%)	
Proširenost invazije (pT)		
pT1	27 (5,6%)	0,0005
pT2	68 (14%)	
pT3	229 (47,3%)	
pT4	160 (33,1%)	
Zahvaćenost limfnih čvorova (pN)		
N0	261 (54%)	0,00089
N1	122 (25,2%)	
N2	101 (20,8%)	
Metastaze (pM)		
Prisutne	44 (9%)	0,00346
Odsutne	440 (91%)	
Perineuralna invazija		
Prisutna	218 (45%)	6,33x 10 <sup>-6</sup>
Odsutna	266 (55%)	
Venska invazija		
Prisutna	113 (23%)	1,37x10 <sup>-5</sup>
Odsutna	371 (77%)	

**Tabela 2.** Raspodjela bolesnika prema ekspresiji imunohistihemijskih markera

Varijable	Broj bolesnika	p
CEA		
Jako pozitivan QS $\geq 6$	301 (62%)	0,002
Slabo pozitivan QS $< 6$	183 (38%)	
p 53		
Jako pozitivan QS $\geq 6$	329 (68%)	0,0045
Slabo pozitivan QS $< 6$	155 (32%)	
Ki 67		
Jako pozitivan QS $\geq 6$	275 (56,8%)	0,429
Slabo pozitivan QS $< 6$	209 (43,2%)	
PCNA		
Jako pozitivan QS $\geq 6$	314 (64,8%)	0,003
Slabo pozitivan QS $< 5$	170 (35,2%)	

**Slika 1.** Ekspresija karcinoembrionalnog antigena (CEA) u tkivu kolorektalnog karcinoma

pN2. Dvjesto šezdeset jedan pacijent (54%) nije imao zahvaćene limfne čvorove. Udaljene metastaze u jetri i peritoneumu su bile prisutne kod 44 pacijenta (9%). Perinuaralna invazija je bila prisutna kod 218 pacijenata (45%) i odsutna kod 266 pacijenata (55%). Zahvaćenost vena tumorskim tkivom je zabilježeno kod 113 pacijenata (23%) i odustvo zahvaćenosti vena kod 371 pacijenata (77%) (Tabela 1).

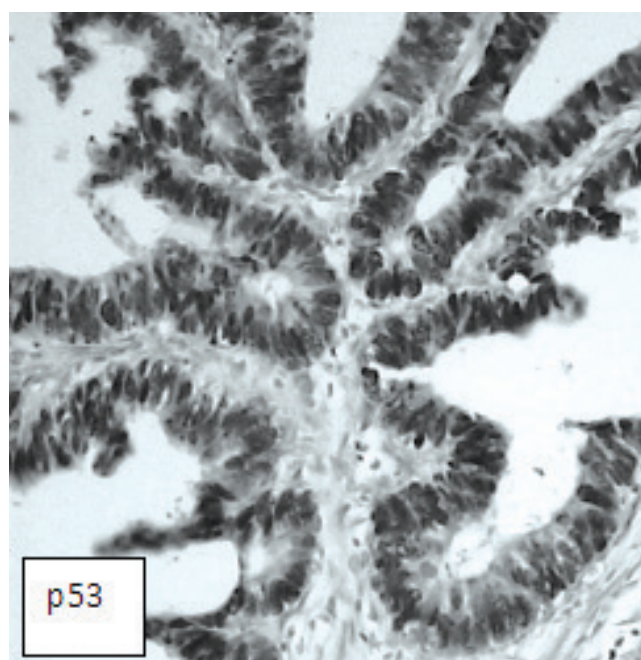
Imunohistochemijska analiza je rađena kod 484 pacijenata. Raspodjela bolesnika prema ekspresiji imunohistochemijskih markera prikazana je u tabeli 2.

Ekspresija CEA u ovoj kliničkoj analizi je bila jako pozitivna, Quick score 6 i veći od 6 ( $Q \geq 6$ ) kod 301 (62%) pacijenta, slabo pozitivan, Quick score ( $Q < 6$ ) kod 183 (38%) pacijenta. Ekspresija CEA prikazana je na slici 1.

Ekspresija p53 u ovoj kliničkoj studiji je otkrivena kao jako pozitivna, Quick score 6 i veći od 6 ( $Q \geq 6$ ) kod 329 (68%) pacijenata, slabo pozitivan Quick score (0-5) je otkriven kod 155 (32%) pacijenata. Ekspresija p53 prikazana je na slici 2.

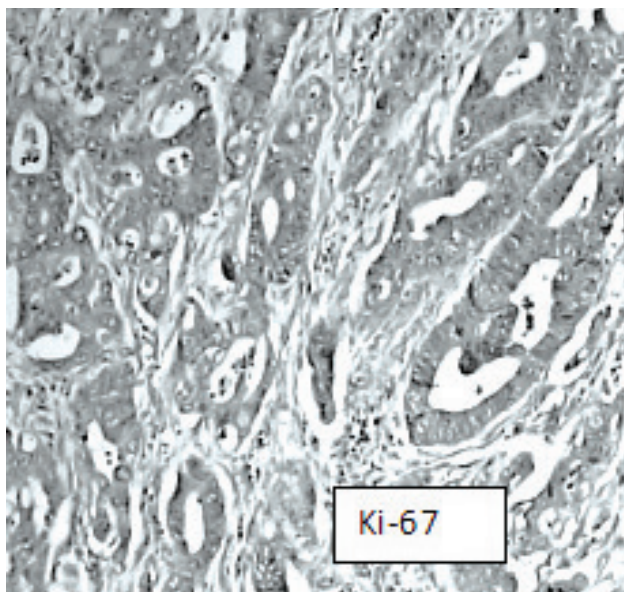
Proliferativna aktivnost Ki-67 označena kao jako pozitivno, Quick score 6 i veći od 6 ( $Q \geq 6$ ), je otkriven kod 275 (56,8%) pacijenata, slabo pozitivno, Quick score ( $Q < 6$ ) je otkriven kod 209 (43,2%) pacijenata. Ekspresija Ki/67 prikazana je na slici 3.

PCNA u ovoj kliničkoj analizi je otkriven

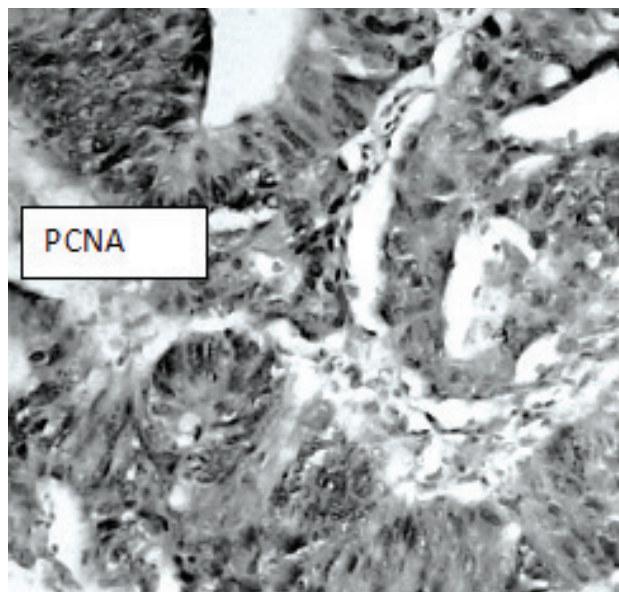
**Slika 2.** Ekspresija p53 u kolorektalnom karcinomu

kao jako pozitivan, Quick score 6 i veći od 6 ( $Q \geq 6$ ) kod 314 (64,8%) pacijenata, a slabo pozitivan Quick score ( $Q < 6$ ) je otkriven kod 170 (35,2%) pacijenata. Ekspresija PCNA prikazana je na slici 4.

Analizirajući preživljavanje pacijenata u odnosu na rezultate dobijene imunohistochemijskom analizom, utvrdili smo da pacijenti sa jako pozitivnim imunohistochemijskim vrijednostima CEA imaju statistički značajno lo-



Slika 3. Ekspresija Ki/67 u umjerenom diferentovanom kolorektalnom karcinomu



Slika 4. Ekspresija proliferišućeg nuklearnog antigena (PCNA)

šije preživljavanje u odnosu na pacijente koji su imali slabo pozitivne vrijednosti CEA (Test Log Rank,  $p < 0,05$ ).

Analizom preživljavanja pacijenata sa jako pozitivnim imunohistohemijskim vrijednostima p53 utvrđeno je da imaju statistički značajno lošije preživljavanje u odnosu na pacijente koji su imali slabo pozitivne vrijednosti p53 (Test Log Rank,  $p < 0,05$ ).

Pacijenti sa jako pozitivnim imunohistohemijskim vrijednostima PCNA su imali statistički značajno lošije preživljavanje u odnosu na pacijente sa slabo pozitivnim vrijednostima PCNA (Test Log Rank,  $p < 0,05$ ).

Nema statistički značajne razlike u preživljavanju pacijenata sa jako pozitivnim imunohistohemijskim vrijednostima Ki-67 u odnosu na pacijente sa slabo pozitivnim vrijednostima Ki-67 (Test Log Rank,  $p = 0,2449$ ).

## Diskusija

Naša retrospektivna studija značaja imunohistohemijskih biomarkera za prognozu preživljavanja pacijenata sa karcinomima kolona i rektuma sprovedena je na osnovu imunohistohemijske ekspresije proteina koja odgovaraju napredovanju i diseminaciji tumora. U izboru i strukturisanju imunohistohemijskih

markera posmatrali smo, ne samo njihov značaj, nego i njihovo ponašanje u kolorektalnoj karcinogenezi, kao i troškove praktične primjene u kliničkoj praksi. Dakle, fokus ovog istraživanja je hipoteza o dobijanju panela imunohistohemijskih markera koji se mogu koristiti u rutinskoj praksi.

Kliničko-patološki parametri još uvijek predstavljaju najznačajnije faktore pri određivanju terapije i praćenja pacijenata sa kolorektalnim karcinomom. Oni, ipak, nisu dovoljno pouzdani ni u prognostičkom smislu niti u predikciji odgovora na terapiji. Zbog toga danas postoji urgentna potreba za razvojem molekularnih markera koji bi bili specifičniji i precizniji u procesu rizika i izbora terapije.

Analizirajući prisustvo antitijela na CEA potvrđena je naša hipoteza, koju su dokazali i drugi autori, da odnos između ekspresije ili sadržaja CEA u tkivu karcinoma kolona i rektuma ima značaja za preživljavanje bolesnika. U radu Bilušića i saradnika [1] je prikazana serija pacijenata i dvogodišnje preživljavanje od 81% bolesnika koji su imali slabo pozitivnu ekspresiju CEA u tumoru, dok je dvogodišnje preživljavanje pacijenata koji su imali jako pozitivnu ekspresiju ovog biomarkera bili 21,4%. U radu Li-a i saradnika [2] je takođe prikazano dvogodišnje preživljavanje pacijenata bez ekspresije tkivnog CEA od 65,9% u odnosu

na pacijente sa visokom ekspresijom tkivnog CEA i dvogodišnjim preživljavanjem od 27%. Visoka ekspresija tkivnog CEA udružena je sa visokim stepenom diferencijacije tkiva kao i sa invazijom limfatika i vena u zidu crijeva. Studija Nakagoe i saradnika [3] analizirala je prognostički značaj ekspresije CEA u tumorskom tkivu i utvrdila da je visok nivo ekspresije CEA nezavisan prediktor prognoze karcinoma kolona i rektuma.

Nekoliko studija ispituje korelaciju između ekspresije proteina p53 i apoptoze kod kolorektalnih neoplazmi [5, 6]. U našoj studiji analiza preživljavanja pacijenata u periodu od 7 godina pokazala je statistički značajnu razliku u preživljavanju pacijenata sa jako pozitivnim vrijednostima p53 i slabo pozitivnim vrijednostima p53 ( $p < 0,001$ ). Naši podaci potvrđuju da je ekspresija proteina p53 nezavisan prediktor kraćeg preživljavanja. Iako je nekoliko kliničkih studija pokazalo rezultate koji su u skladu sa našom studijom, postojali su i drugačiji zaključci. Sillars-Hardebol i saradnici [8] pokazali su da nema značajne razlike u preživljavanju pacijenata u seriji 482/740 pacijenata (65%), ali je ekspresija p53 povezana sa distalnom lokacijom ( $p < 0,001$ ) i stadijumom III bolesti ( $p < 0,001$ ), što je slično rezultatima naše studije.

U radovima Jesusa i saradnika [9] se ističe da je kod pacijenata sa jako pozitivnim vrijednostima p53 preživljavanje bilo statistički značajno lošije nego kod pacijenata sa slabo pozitivnim vrijednostima p53 (52,5 % vs. 94,1%). Mutacija u p53 genu je rani događaj u karcinogenezi, jer se mutirani p53 otkriva i u premalignim promjenama. Mutacije p53 i prateća akumulacija p53 proteina potencijalno predstavlja vrlo koristan marker za grupu pacijenata koji zahtijevaju intenzivno liječenje. p53 je nezavisan od tumorske aneuploidije ali je u vezi sa DNA indeksom koji je veći od 1,3 i velikom S fazom. Analizom preživljavanja pacijenata sa jako pozitivnim imunohistohemijskim vrijednostima p53 utvrđeno je da oni imaju statistički značajno lošije preživljavanje u odnosu na pacijente koji su imali slabno pozitivne vrijednosti p53 što je predsvlajeno i u radovima drugih autora.

Jedan od prvih koraka u višestrukoj karci-

nogenezi kolona je povećana proliferacija ćelija, što se otkriva ekspresijom PCNA. Određivanje PCNA indeksa može igrati važnu ulogu u razumijevanju stanja nastajanja ćelije. Što je veća PCNA ekspresija veći je i trend maligniteta ćelije [14, 15]. PCNA igra veoma važnu ulogu u replikaciji DNK [14]. Zbog ove direktne veze sa ćelijskom proliferacijom, PCNA se smatra važnim faktorom u prognozi. Zapravo, opisan je kao značajan faktor u prognozi kolorektalnog karcinoma u nekoliko studija [14, 15]. Naši rezultati su u korelaciji sa radovima drugih autora, pošto su pacijenti sa jako pozitivnim imunohistohemijskim vrijednostima PCNA imali statistički značajno lošije preživljavanje u odnosu na pacijente sa slabo pozitivnim vrijednostima PCNA.

Jedna ranija studija Salminenena i saradnika [16], koja je analizirala pacijente koji su imali kolorektalni karcinom, je pokazala da je visoko proliferativna aktivnost mjerena Ki-67 povezana sa poboljšanjem preživljavanja u poređenju sa pacijentima sa niskim Ki-67. U radu Zhao i saradnika [11] prikazano je da je nizak indeks Ki67 na invazivnoj margini tumora povezan sa lošom prognozom kod pacijenata u Dukes-ovoj fazi B kolorektalnog karcinoma. Određivanje proliferativne aktivnosti kod pacijenata sa kolorektalnim karcinomom upotrebom monoklonskog antitijela Ki-67 je pokazalo da je ona značajnija u prognozi bolesti u poređenju sa kliničkim i patološkim pokazateljima. Ki-67 ekspresija u karcinomima kolona i rektuma odražava frakciju rasta tumora i korelira sa p53 pozitivnošću u tumoru. Opisano je da postoji korelacija između prisustva Ki-67 i razvoja metastaza [12,13]. Analizirajući preživljavanje pacijenata u našoj kliničkoj studiji nismo utvrdili statistički značajne razlike u preživljavanju pacijenata sa jako pozitivnim imunohistohemijskim vrijednostima Ki-67 u odnosu na pacijente sa slabo pozitivnim vrijednostima Ki-67.

## Zaključak

Broj pacijenata oboljelih od karcinoma kolona i rektuma je u porastu, a osobe ženskog i muškog pola oboljevaju podjednako. Imuno-

histohemijska analiza tkiva primarnog kolorektalnog adenokarcinoma 484 bolesnika pokazala je jako pozitivnu ekspresiju CEA kod 301 (62%) pacijenta, p53 kod 329 (68%) pacijenata, PCNA kod 314 i Ki-67 kod 275 (56,8%) pacijenata. Pacijenti sa jako pozitivnim imunohistohemijskim vrijednostima CEA, p53 i PCNA su imali statistički značajno lošije preživljavanje u odnosu na one sa slabo pozitivnim vrijedno-

stima ovih markera, dok za Ki-67 nije utvrđeno da je značajan prediktor preživljavanja pacijenata sa kolorektalnim adenokarcinomom. Imunohistohemijski parametri se mogu koristiti kao značajni faktori prognoze karcinoma kolona i rektuma.

Autori izjavljuju da nemaju sukob interesa.  
The authors declare no conflicts of interest.

## Literatura

1. Bilusic M, Heery CR, Arlen PM, Rauckhorst M, Apelian D, Tsang KY, et al. Phase I trial of a recombinant yeast-CEA vaccine (GI-6207) in adults with metastatic CEA-expressing carcinoma. *Cancer Immunol Immunother* 2014;63(3):225–34.
2. Li M, Li JY, Zhao AL, He JS, Zhou LX, Li YA, Gu J. Comparison of carcinoembryonic antigen prognostic value in serum and tumour tissue of patients with colorectal cancer. *Colorectal Dis* 2014;11(3):276–81.
3. Nakagoe T, Sawai T, Ayabe H, Nakazaki T, Ishikawa H, Hatano K, et al. Prognostic value of carcinoembryonic antigen (CEA) in tumor tissue of patients with colorectal cancer. *Anticancer Res* 2013;21:3031–6.
4. Nazato DM, Matos LL, Waisberg DR, Souza JRM, Martins LC, Waisberg J. Prognostic value of carcinoembryonic antigen distribution in tumor tissue of colorectal carcinoma. *Arq Gastroenterol* 2009;46:26–31.
5. Zeestraten ECM, Bernard A, Reimers MS, Schouten PC, Liefers GJ, van de Velde CJH, et al. The prognostic Value of the Apoptosis pathway in colorectal Cancer: A Review of the Literature on Biomarkers Identified by Immunohistochemistry. *Biomark Cancer* 2013;5:13–29.
6. Suzuki K, Matsubara H. Recent advances in p53 research and cancer treatment. *J Biomed Biotechnol* 2011;2011:978312.
7. Ghiță C, Vilcea ID, Dumitrescu M, Vilcea AM, Mirea CS, Așchie M, et al. The prognostic value of the immunohistochemical aspects of tumor suppressor genes p53, bcl-2, PTEN and nuclear proliferative antigen Ki-67 in resected colorectal carcinoma. *Rom J Morphol Embryol* 2012;53:549–56.
8. Sillars-Hardebol AH, Carvalho B, Beliën JA, de Wit M, Delis-van Diemen PM, Tijssen M, et al. BCL2L1 has a functional role in colorectal cancer and its protein expression is associated with chromosome 20q gain. *J Pathol* 2012;226:442–50.
9. Jesus EC, Matos D, Artigiani R, Waitzberg AF, Goldenberg A, Saad SS. Assessment of staging, prognosis and mortality of colorectal cancer by tumor markers: p53, receptor erbB-2 and cadherins. *Acta Cir Bras* 2015;20:422–7.
10. Guzińska-Ustymowicz K, Pryczynicz A, Kemon A, Czyzewska J. Correlation between Proliferation Markers: PCNA, Ki-67, MCM-2 and Antiapoptotic Protein Bcl-2 in Colorectal Cancer. *Anticancer Res* 2009;29:3049–52.
11. Duchrow M, Ziemann T, Windhövel U, Bruch HP, Broll R. Colorectal carcinomas with high MIB-1 labelling indices but low p Ki 67 mRNA levels correlate with better prognostic outcome. *Histopathology* 2013;42:566–74.
12. Zhao WY, Xu J, Wang M, Zhang ZZ, Tu L, Wang CJ, et al. Prognostic value of Ki67 index in gastrointestinal stromal tumors. *Int J Clin Exp Pathol* 2014;7:2298–304.
13. Yamaguchi T, Fujimori T, Tomita S, Ichikawa K, Mitomi H, Ohno K, et al. Clinical validation of the gastrointestinal NET grading system: Ki67 index criteria of the WHO 2010 classification is appropriate to predict metastasis or recurrence. *Diagn Pathol* 2013;8:65.
14. Kanazawa Y, Onda M, Tanaka N, Seya T. Proliferating cell nuclear antigen and p53 protein expression in submucosal invasive colorectal carcinoma. *J Nippon Med Sch* 2000;67(4):242–9.
15. Onodera H, Maetani S, Kawamoto K, Kan S, Kondo S, Imamura M. Pathologic significance of tumor progression in locally recurrent rectal cancer: different nature from primary cancer. *Dis Colon Rectum* 2015;43(6):775–81.
16. Salminen E, Palmu S, Vahlberg T, Roberts PJ, Söderström KO. Increased proliferation activity measured by immunoreactive Ki67 is associated with survival improvement in rectal/recto sigmoid cancer. *World J Gastroenterol* 2005;11(21):3245–9.

## Immunohistochemical markers: carcinoembryonic antigen, p53, Ki-67, and proliferating cell nuclear antigen as prognostic factors for colorectal cancer

Siniša Maksimović<sup>1,2</sup>, Branislava Jakovljević<sup>2,3</sup>, Zdenka Gojković<sup>2,4</sup>, Zlatko Maksimović<sup>5,6</sup>

<sup>1</sup>Public Hospital "St Vračevi", Bijeljina

<sup>2</sup>University of Banja Luka, The Faculty of Medicine, Banja Luka, The Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

<sup>3</sup>Healthcare Institution "S-Tetik", Banja Luka, The Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

<sup>4</sup>University Clinical Center Banja Luka, Oncology Clinic, Banja Luka, The Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

<sup>5</sup>University of East Sarajevo, The Faculty of Medicine, Foča, The Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

<sup>6</sup>Health Insurance Fund of the Republic of Srpska, Banja Luka, The Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

**Introduction.** There has been a progressive increase in the frequency of colorectal carcinoma for the last twenty years. In order for a doctor to estimate the life expectancy and/or the treatment of these patients, oncology makes use of prognostic and predictive factors. They are divided into: clinicosurgical, pathohistological and immunohistochemical markers. The aim of this study is to determine the significance of immunohistochemical markers such as carcinoembryonic antigen (CEA), p53, Ki-67 as well as proliferating cell nuclear antigen (PCNA) for predicting survival in patients with colorectal carcinoma.

**Methods.** From 1st January 2010 to 1st December 2017, 484 patients with colorectal carcinoma who underwent analysis of immunohistochemical markers in carcinoma tissue (CEA, p53, Ki-67 and PCNA) were treated in Public Hospital "St Vračevi" in Bijeljina.

**Results.** Immunohistochemical analysis of primary colorectal adenocarcinoma tissue showed a considerably high positive expression level of CEA in 301 (62%) patients, p53 in 329 (68%), PCNA in 314 and Ki-67 in 275 (56.8%) patients. Patients with a high positive expression of CEA, PCNA, and p53 had a statistically lower survival rate, compared to the patients with low CEA, PCNA and p53 expression score. There was no statistically significant difference in the survival of patients with a considerably high immunohistochemical Ki-67 expression score, compared to the ones with low score.

**Conclusion.** Although immunohistochemical markers are useful predictors of survival in these patients, immunohistochemical analysis is not used for the routine examination of colorectal carcinoma.

**Keywords:** immunohistochemical markers, CEA, p53, Ki-67, PCNA, colorectal carcinoma, survival