

## Hubungan Kadar Vitamin D Plasma dengan Indeks Mitosis pada Pasien Kanker Payudara

Astrid Siska Pratiwi<sup>1\*</sup>, Yahwardiah Siregar<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara, Indonesia

<sup>2</sup>Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara, Indonesia

<sup>3</sup>Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara, Indonesia

Email: astridsiska92@gmail.com

### Abstrak

Kanker payudara merupakan penyakit kanker yang paling banyak diderita oleh wanita dan menjadi salah satu penyebab kematian terbesar bagi wanita di seluruh dunia. Belakangan, nutrisi menjadi salah satu faktor risiko yang banyak mendapatkan perhatian salah satunya vitamin D. Kalsitriol yang merupakan bentuk aktif vitamin D berperan sebagai anti proliferasi, dan menghambat pertumbuhan tumor. Proliferasi yang tidak terkontrol merupakan salah satu karakteristik sel-sel kanker. Laju pertumbuhan tumor merupakan marker prognostik yang dapat dievaluasi dengan mengkorelasikan pada level selular seperti mitosis. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis hubungan kadar vitamin D dengan indeks mitosis pada pasien kanker payudara. Penelitian dengan desain *cross sectional* menghimpun sebanyak 50 pasien kanker payudara yang baru didiagnosis dan belum pernah menerima kemoterapi. Penelitian dilakukan dari Januari 2017 - Agustus 2018 di Departemen Bedah Onkologi RSUPH. Adam Malik Medan. Pemeriksaan kadar vitamin D plasma dilakukan dengan teknik ELISA di Lab. Terpadu FK USU. Data indeks mitosis diperoleh dari rekam medik subjek penelitian yang di review kembali oleh spesialis patologi anatomi di Lab. Patologi Anatomi FK USU. Uji statistik menggunakan *Fisher Exact*. Hasil penelitian 48% subjek memiliki vitamin D sufisiensi, 38%i insufisiensi serta 14% mengalami defisiensi. Rerata kadar vitamin D pada seluruh subjek penelitian ini insufisiensi (27,93ng/ml). Pada penelitian ini tidak ditemukan hubungan yang signifikan antara kadar vitamin D plasma dengan indeks mitosis pada pasien kanker payudara  $p= 0,062$ . Hubungan yang tidak signifikan antara kadar vitamin D dengan indeks mitosis pada penelitian ini menunjukkan bahwa vitamin D bukanlah faktor tunggal yang mempengaruhi indeks mitosis pada pasien kanker payudara.

**Kata kunci:** kanker payudara, vitamin D, indeks mitosis

### Abstract

Breast cancer is the most common cancer suffered by women and one of the biggest causes of death for women worldwide. Later, nutrition became one of the risk factors in breast cancer outcome, one of them is vitamin D. Calcitriol is the active form of vitamin D as an anti-proliferation, and inhibits tumor growth. Uncontrolled proliferation is one of the characteristics of cancer cells. Tumor growth rates become prognostic markers that can be evaluated by correlating at cellular levels such as mitosis. The aimed of this study was to analyze the relationship between vitamin D levels and mitosis index in breast cancer patients. Research with cross sectional design gathered 50 breast cancer patients who were newly diagnosed and had never received chemotherapy. The study was conducted from January 2017 - August 2018 at the Department of Surgical Oncology, RSUPH. Adam Malik Medan. Examination of plasma vitamin D levels is done by ELISA technique at the Lab. Faculty of Medicine Universitas Sumatera Utara. The mitosis index data was obtained from the medical record of the research subjects reviewed by anatomical pathology specialists at the Lab. Anatomical Pathology of Faculty of Medicine Universitas Sumatera Utara. Statistical test uses Fisher Exact. The results of the study 48% of subjects had vitamin D sufficiency, 38% insufficiency and 14% had deficiency. The mean vitamin D levels in all of the study subjects were insufficiency (27.93ng / ml). In this study there was no significant relationship between plasma vitamin D levels and mitosis index in breast cancer patients  $p = 0.062$ . The insignificant relationship between vitamin D levels and mitotic index in this study shows that vitamin D not a single factor to influence the mitosis index in breast cancer patients.

**Keywords:** breast cancer, vitamin D, mitotic index



## 1. Pendahuluan

Kanker payudara merupakan penyakit kanker yang paling banyak diderita oleh wanita dan menjadi salah satu penyebab kematian terbesar pada wanita di seluruh dunia.<sup>1</sup> Beberapa tahun terakhir kanker payudara menjadi penyakit ganas yang paling sering ditemukan pada wanita di negara-negara Asia, baik yang sedang dan sudah berkembang.<sup>2</sup> Peningkatan secara tajam terjadi di beberapa negara kawasan Asia Pasifik seperti China dan India.<sup>3</sup> Kanker payudara menempati urutan pertama penyakit kanker yang ditangani oleh Instalasi Deteksi Dini dan Promosi kesehatan RS Kanker Dharmais dengan jumlah kasus baru dan kematian yang terus meningkat dari tahun ke tahun.<sup>4</sup>

Saat ini telah diketahui berbagai faktor risiko yang menyebabkan terjadinya kanker payudara beberapa diantaranya adalah usia, riwayat keluarga, faktor genetik (mutasi gen *BRCA*), *menarche* dan menopause, kegemukan, etnik/ras, aktivitas fisik yang tidak seimbang, penggunaan estrogen dan progesteron, konsumsi alkohol dan merokok.<sup>5-6</sup> Beberapa tahun terakhir, nutrisi menjadi salah satu faktor risiko yang banyak mendapatkan perhatian salah satunya adalah vitamin D. Banyak bukti yang menunjukkan mekanisme perlindungan vitamin D terhadap kanker payudara dengan cara autokrin dan parakrin. Kalsitriol yang merupakan bentuk aktif vitamin D sebagai hormon memberikan banyak peran seperti anti-proliferasi, pro-apoptosis dan pro-diferensiasi pada berbagai sel ganas dan menghambat pertumbuhan tumor pada model hewan kanker.<sup>7</sup> Studi laboratorium telah menunjukkan bahwa vitamin D dan analognya mampu menghambat proliferasi sel dan memicu apoptosis pada kultur sel kanker.<sup>8</sup> Penemuan ini didukung dengan penemuan klinis yang menyatakan bahwa kadar vitamin D yang

rendah terkait dengan peningkatan risiko kanker payudara.<sup>9</sup> Berbagai penelitian menyatakan bahwa defisiensi vitamin D ditemukan pada 95.6% pasien kanker payudara.<sup>10</sup>

Proliferasi yang tidak terkontrol merupakan salah satu karakteristik sel-sel kanker. Laju pertumbuhan tumor merupakan marker prognostik yang dapat dievaluasi dengan mengkorelasikan pada level selular seperti mitosis. Sehingga jumlah sel yang bermitosis digunakan dalam memperhitungkan laju proliferasi pada neoplasma, biasanya neoplasma dengan proliferasi tinggi memiliki prognosis yang buruk. Mitosis dihitung oleh ahli patologi dengan menghitung pada pembesaran tinggi. Dan biasanya diukur pada 10 lapangan pandang.<sup>11</sup> Penentuan indeks mitosis diketahui lebih mudah, praktis dan murah untuk dilakukan dan penting dalam penentuan *grading* pada kanker payudara.<sup>12</sup>

Berdasarkan uraian di atas penulis tertarik untuk menganalisis hubungan kadar vitamin D dengan indeks mitosis pada pasien kanker payudara.

## 2. Metode

Penelitian dengan desain *cross sectional* ini menghimpun sebanyak 50 pasien kanker payudara yang baru didiagnosis dan belum pernah menerima kemoterapi serta telah menandatangani formulir *informed consent*. Penelitian dilakukan dari Januari 2017 - Agustus 2018 di Departemen Bedah Onkologi RSUPH. Adam Malik Medan. Pemeriksaan kadar vitamin D plasma dilakukan di Lab. Terpadu FK USU. Data indeks mitosis diperoleh dari rekam medik subjek penelitian yang ditinjau kembali oleh spesialis patologi anatomi di Lab. Patologi Anatomi FK USU.

Sebanyak 3cc darah vena pasien baru kanker payudara digunakan sebagai sampel. Sampel darah kemudian disentrifugasi

selama 10 menit dengan kecepatan 3500rpm. Plasma yang telah terpisah kemudian dimasukkan ke dalam *microcentrifuge tube* 1,5mL dan digunakan dalam pemeriksaan kadar vitamin D plasma sesuai dengan protokol kit ELISA (*Human 25-Hydroxyvitamin D (25(OH)D)*) (DBC, USA). Hasil pemeriksaan dalam satuan ng/mL. Defisiensi vitamin D dinyatakan bila kadar 25(OH)D serum  $\leq$  20ng/mL; Insufisiensi vitamin D 20-29 ng/mL; vitamin D optimal  $\geq$ 30ng/mL.<sup>13</sup> Indeks mitosis dinyatakan dengan menilai jumlah sel yang bermitosis yang terhitung pada 10 lapangan pandang (dengan field diameter 0,55mm) menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400X. Berdasarkan Elston & Ellis (1991) kategori indeks mitosis dikelompokkan menjadi: +1 ( $\leq$ 8 mitosis sel dalam 10 lapangan pandang); +2 (9-17 mitosis sel dalam 10 lapangan pandang); +3 ( $\geq$ 18 mitosis sel dalam 10 lapangan pandang).<sup>14</sup>

Analisis data dilakukan menggunakan SPSS 18.0. Analisis bivariat digunakan untuk menguji hubungan kadar Vitamin D plasma dengan indeks mitosis sel kanker pada kanker payudara. Uji tersebut dilakukan dengan menggunakan uji *Fisher Exact*. Batas kemaknaan yang ditetapkan adalah sebesar 5% sehingga adanya hubungan kadar vitamin D plasma dengan ekspresi *Ki-67* dinyatakan bermakna jika nilai  $p < 0.05$ .

### 3. Hasil

#### 3.1. Karakteristik Subjek Penelitian

Pada penelitian ini ditemukan 44% subjek penelitian memiliki usia  $>40$  tahun saat terdiagnosis dan hanya 16% memiliki usia di bawah 40 tahun. Terdapat 48% subjek penelitian yang sudah mengalami menopause dan 92% mereka mengalami menopause pada usia  $\geq 45$  tahun. Pada penelitian ini diperoleh bahwa sebanyak 82% subjek penelitian tidak memiliki riwayat atau

sejarah penyakit kanker payudara pada keluarganya. Selain itu terdapat 52% subjek penelitian tidak menggunakan kontrasepsi hormonal. Berdasarkan hasil penelitian sebanyak 44% subjek penelitian memiliki indeks masa tubuh normal yaitu antara 18,5 - 25 kg/m<sup>2</sup> dan 36% subjek penelitian memiliki indeks masa tubuh  $>27,0$  kg/m<sup>2</sup>. Karakteristik subjek penelitian dipaparkan pada Tabel 1.

**Tabel 1. Karakteristik subjek penelitian berdasarkan faktor risiko pada kanker payudara (N=50)**

Karakteristik Subjek Penelitian	(n)	(%)
Usia Terdiagnosa		
≤ 40 tahun	8	16%
>40, <50 tahun	20	40%
≥ 50 tahun	22	44%
Status menopause		
Belum menopause	26	52%
Menopause	24	48%
Usia menopause		
< 45 tahun	4	8%
≥45 tahun	20	92%
Penggunaan kontrasepsi hormonal		
Ya	24	48%
Tidak	26	52%
Riwayat kanker payudara keluarga		
Ada	9	18%
Tidak ada	41	82%
IMT (kg/m <sup>2</sup> )		
< 17,0 (Severe thinness)	1	2%
17,0- 18,4 (Underweight)	1	2%
18,5- 25 (Normal)	22	44%
25,1- 27 (Pre-obese)	8	16%
>27,0 (Obese)	18	36%

#### 3.2. Distribusi Frekuensi dan Rerata Kadar 25(OH)D pada Kanker Payudara

Kadar vitamin D dikategorikan menjadi beberapa kelompok. Rerata kadar 25(OH)D pada seluruh subjek dalam penelitian ini masuk ke dalam kategori insufisiensi (27,93ng/ml).

Dari seluruh subjek penelitian hanya 14% yang memiliki defisiensi kadar 25(OH)D. Umumnya subjek penelitian memiliki insufisiensi kadar 25(OH)D (38%) dan sufisiensi kadar 25(OH)D (48%). Distribusi

frekuensi kadar vitamin D disajikan pada Tabel 2.

**Tabel 2. Distribusi frekuensi kadar 25(OH)D pada kanker payudara (N =50)**

Kadar 25(OH)D	(n)	(%)
≤20ng/ml (Defisiensi)	7	14
21-29ng/ml (Insufisiensi)	19	38
≥30ng/ml (Sufisiensi)	24	48
Total	50	100

### 3.3. Distribusi Frekuensi Indeks Mitosis sel pada kanker payudara

**Tabel 3. Distribusi frekuensi indeks mitosis pada kanker payudara (N=50)**

Indeks Mitosis	(n)	(%)
+1 (≤8)	36	72%
+2 (9-17)	7	14%
+3 (≥18)	7	14%
total	50	100%

Berdasarkan Tabel 3 lebih dari 50% subjek penelitian memiliki indeks mitosis pada kategori +1 (≤8) dan masing-masing 14% untuk kategori +2 (9-17) dan +3 (≥18).

### 3.4. Hubungan kadar vitamin D (25(OH)D) dengan indeks mitosis sel pada kanker payudara

Berdasarkan analisis statistik dengan menggunakan uji *Fisher Exact* didapatkan nilai  $p= 0,062$  yang berarti tidak terdapat hubungan yang signifikan antara kadar vitamin D 25(OH)D dengan indeks mitosis pada kanker payudara. Hubungan kadar 25(OH)D dengan indeks mitosis pada kanker payudara tersaji pada Tabel 4.

**Tabel 4. Hubungan kadar vitamin D (25(OH)D) dengan indeks mitosis sel pada kanker payudara**

		Indeks Mitosis			Total	p
		≤8	9-17	≥18		
Kadar 25(OH)D	≤20ng/ml ( Defisiensi )	(n) (%)	2 4%	3 6%	2 4%	0,062
	21-29ng/ml ( Insufisiensi)	(n) (%)	16 32%	1 2%	2 4%	
	≥30ng/ml ( Sufisiensi)	(n) (%)	18 36%	3 6%	3 6%	
	Total	(n) (%)	36 72%	7 14%	7 14%	
					50 100%	

\**Fisher Exact Test*

## 4. Pembahasan

Pada penelitian ini didapatkan (48%) subjek penelitian memiliki kadar vitamin D sufisiensi, 38% masuk dalam kategori insufisiensi dan yang paling sedikit (14%) masuk ke dalam kategori defisiensi. Rata-rata kadar vitamin D pada seluruh subjek penelitian ini masuk dalam kategori insufisiensi (27,93ng/ml). Berbeda dengan penelitian lain yang menyatakan bahwa subjek penelitian yang paling banyak memiliki

status kadar vitamin D defisiensi ditemukan pada kelompok kasus (92%) dibandingkan pada kelompok kontrol (63%).<sup>15</sup> Prevalensi insufisiensi vitamin D pada berbagai populasi kanker payudara yang berbeda telah banyak dilaporkan pada penelitian sebelumnya. Vitamin D insufisiensi terlihat sebanyak 95,6% penderita kanker payudara di India.<sup>10</sup>

Dari 50 subjek penelitian yang dihimpun di dalam penelitian ini terdapat 24 orang subjek penelitian memiliki kadar 25(OH)D

sufisiensi (26,90-52,90 ng/mL) dan hanya 7 orang subjek penelitian yang memiliki kadar 25(OH)D defisiensi (9,05-19,20 ng/mL). Ketidakseimbangan proporsi ini mempengaruhi keseluruhan rata-rata kadar vitamin D, sehingga kadar vitamin D cenderung menjadi sufisiensi. Sehingga perlu ditelusuri lebih lanjut mengenai hubungan kadar vitamin D terhadap faktor lain seperti (aktivitas fisik diluar ruangan, paparan sinar matahari, asupan nutrisi yang mengandung vitamin D, warna kulit serta pemakaian *sunscreen*) juga berpengaruh terhadap produksi vitamin D dari kulit.<sup>16</sup>

Selain itu perubahan yang terjadi dalam metabolisme vitamin D juga dapat mempengaruhi kadar vitamin D, salah satunya peran dari sitokrom P450. Tiga tahapan utama dalam metabolisme vitamin D, *25-hidroksilasi*, *1 $\alpha$ -hidroksilasi* dan *24-hidroksilasi* yang keseluruhannya dimediasi oleh aktivitas enzim sitokrom P450.

*CYP27A1* terlibat dalam *25-hidroksilasi*, namun percobaan pada binatang menunjukkan gangguan pada *CYP27A1* mengurangi pembentukan asam empedu namun tidak mempengaruhi kadar 25(OH)D<sub>3</sub> dalam plasma. *CYP2R1* adalah sitokrom yang terlibat dalam *25-hidroksilasi* pada vitamin D<sub>3</sub> dan vitamin D<sub>2</sub>, perubahan pada basa nukleotida ini tidak mengubah ekspresi *mRNA*, namun menyebabkan penurunan aktivitas enzim *25-hydroxylase* sehingga menyebabkan jumlah 25(OH)D<sub>3</sub> yang terbentuk menjadi berkurang. Padahal 25(OH)D<sub>3</sub> adalah substrat untuk pembentukan vitamin D yang aktif. Hal ini menjelaskan kenapa terjadi penurunan kadar vitamin D plasma pada polimorfisme gen *CYP2R1*.<sup>17</sup> *CYP27B1* berperan dalam hidroksilasi 25(OH)D menjadi bentuk aktif vitamin D 1,25(OH)D. Peningkatan aktivitas enzim ini meningkatkan kadar bentuk aktif vitamin D pada spesifik jaringan lokal. Adanya *SNPs* pada enzim ini menyebabkan penurunan

aktivitas *CYP27B1*.<sup>18</sup> *CYP24A1* merupakan enzim kunci yang berperan dalam mengatur sirkulasi dan konsentrasi selular dari bentuk aktif vitamin D. Lemahnya aktivitas *CYP24A1* menyebabkan peningkatan konsentrasi 1,25(OH)D pada jaringan. *CYP24A1* juga menghidroksilasi 25(OH)D untuk dikatabolisme sehingga dapat membatasi pembentukan vitamin D dalam bentuk aktif.<sup>18</sup>

Laju proliferasi sel merupakan karakteristik kanker. Salah satu metode yang mudah untuk digunakan dalam menganalisis laju proliferasi sel kanker adalah dengan menentukan indeks mitosis kanker tersebut. Parameter ini selalu digunakan dalam penentuan *grading* dan dihubungkan dengan agresifitas serta progresifitas tumor. Tingginya laju proliferasi sel tumor berhubungan dengan prognosis yang buruk.<sup>19-20</sup>

Vitamin D bersama reseptornya berperan sebagai faktor transkripsi dan diketahui mampu menghambat laju proliferasi berbagai sel kanker termasuk kanker payudara. Vitamin D terbukti mampu bertindak sebagai anti-proliferasi dan prodiferensiasi baik dalam keadaan sel normal maupun ganas. Anti-proliferasi vitamin D dimediasi oleh beberapa mekanisme termasuk pengaturan faktor pertumbuhan, siklus sel. Vitamin D meningkatkan ekspresi protein *insulin-like growth factor (IGF)-binding protein 3* dan *cyclin-dependent kinase (CDK) inhibitor, p21 dan p27*, serta menghambat ekspresi CDK2, menyebabkan penghambatan sel IGF-1- dan IGF-2- yang berperan menstimulasi proliferasi dan perkembangan siklus sel.<sup>21</sup>

Meskipun hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tidak terdapat hubungan yang signifikan antara kadar vitamin D dengan indeks mitosis ( $p=0,062$ ) namun, berdasarkan data, subjek penelitian yang memiliki kadar vitamin D insufisiensi dan sufisiensi cenderung memiliki indeks mitosis yang rendah ( $\leq 8$ ).

## 5. Kesimpulan

Tidak terdapat hubungan yang signifikan antara kadar vitamin D plasma dengan indeks mitosis sel pada kanker payudara ( $p=0,062$ ).

## Daftar Pustaka

1. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global Cancer Statistic. *CA Cancer J Clin.* 2011. 61(2): 69-90
2. Agarwal G, Pradeep PV, Anggarwal V, Yip CH, Cheung PSY. Spectrum of Breast Cancer in Asian Women. *World J Surg.* 2007. 31: 1031-1040
3. Green M, Raina V. Epidemiology, screening and diagnosis of breast cancer in the Asia-pacific region: current perspectives and important consideration. Review. *Asia-Pacific Journal Of Clinical Oncology.* 2008. 4(3): S53-S1
4. Kemenkes RI. 2016. Kanker payudara. [Disitasi 5 Feb 2017]. Available: <http://kanker.kemkes.go.id/guidelines/PPKPayudara>
5. Das s, Sen S, Mukherjee A, Chakraborty D, Mondal PK. Risk factors of breast cancer among women in eastern india: a tertiary hospital based case control study. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention.* 2012. 13(10): 4797-4981
6. Majeed W, Aslam B, Javed I, Khaliq T, Muhammad F, Ali A, Raza A. Breast cancer: Major risk factors and recent developments in treatment. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention.* 2014. 15(8): 3353-3358
7. Deeb KK, Trump DL, Johnson CS. Vitamin D Signalling Pathways In Cancer: Potential For Anticancer Therapeutics. *Nat Rev Cancer.* 2007. 7:684-700.
8. Merchan BB, Morcillo S, Martin- Nunez G, Tinahones FJ, Macias-Gonzales M. The Role Of Vitamin D And VDR In Carcinogenesis: Through Epidemiology And Basic Sciences. Review. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology.* 2017.167:203-218
9. Atoum M. and Alzoughool F. Vitamin D and breast cancer: Latest Evidence and Future steps. *Breast Cancer (Auckl).* 2017. 11
10. Imtiaz S, Neelam S, Muhammad A. Vitamin D Deficiency In Newly Diagnosed Breast Cancer Patient. *Indian Journal Endocrinology And Metabolism.* 2012. 16(3): 409-413
11. Bonert M, Tate AJ. Mitotic counts in breast cancer should be standardized with a uniform sampel area. *Biomed Eng Online.* 2017. 16:28
12. Buhmeida A, Al-Maghrabi J, Merdad A, Al-Thubaity F, Chaudhary A, Gari M. et al. prognostic value of mitotic counts in breast cancer of Saudi Arabian Patients. *Anticancer Research.* 2011. 31: 97-104
13. Holick MF, Neil CB, Heike AB, Catherine MG, David AH, Robert PH, et al. Evaluation, Treatment And Prevention Of Vitamin D Deficiency: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2011. 96 (7). 1911-1930
14. Elston CW, Ellis IO. 1991. Pathological prognostic factor in breast cancer, the value of histopatological grade in breast cancer: Experience from a large study with long term follow up. *Histopatology.* 19 : 403-401
15. Basharat I, Zia N, Murad F, Malik AZ, Mahmood N. Vitamin D deficiency as a risk factor of breast cancer. *Journal of Rawalpindi Medical College (JRMCC).* 2014. 18(2):199-201
16. Alco G, Igdem S, Dincer M, Ozmen V, Saglams, Selamoglu D, et al. Vitamin D Level In Patients With Breast Cancer : Importance Of Dressing Style. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014. 15(3): 1357-1362.

17. Lafi ZM, Irshaid YM, El-Khateeb M, Aljouni KM, Hyassat D. Association of rs7041 and rs4588 polymorphisms of vitamin D binding protein and the rs10741657 polymorphism of CYP2R1 with Vitamin D status among Jordanian patients. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2015. 19(11): 629-36
18. Jacobs ET, Pelt CV, Forster RE, Zaidi W, Hibler EA, Galligan MA. et al. CYP24A1 and CYP27B1 polymorphisms modulate vitamin D metabolism in colon cancer cells. *Cancer Res*. 2013. 73(8): 2563-2573
19. Haroon S, Hasmi AA, Khurshid A, Kanpurwala MA, Mutjuba S, Malik B, Faridi N. Ki-67 Index in Breast Cancer: Correlation with Other Prognostic Markers and Potential in Pakistani Patients. *As Pac J Cancer Prev*. 2013. 14: 4353-8.
20. Bartos V, Adamicova K, Kullova M, Pec M Immunohistochemical Evaluation of Proliferative Activity (Ki-67 Index) in Different Histological Types of Cutaneous Basal Cell Carcinoma. *Section Cellular and Molecular Biology*. 2012. 67: 610-15
21. Jeon SM and Shin EA. Exploring vitamin D metabolism and function in cancer. *Experimental & molecular medicine*. 2018.50: 20