

Parametri kompletne krvne slike i računski hematološki upalni pokazatelji u kolorektalnom karcinomu

Žanić, Tena

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:382923>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-06**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Tena Žanić

**Parametri kompletne krvne slike i računski
hematološki upalni pokazatelji u kolorektalnom
karcinomu**

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2024 .

Ovaj diplomski rad prijavljen je na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu i izrađen na Zavodu za medicinsku biokemiju i hematologiju pod stručnim vodstvom izv.prof.dr.sc. Marije Grdić Rajković.

Rad je financiran sredstvima projekta IP-2019-04-4624 Hrvatske zaklade za znanost.



Od srca zahvaljujem svojoj mentorici, izv.prof.dr.sc. Mariji Grdić Rajković, na prilici za sudjelovanjem u projektu, vodstvu, strpljenju i pomoći tijekom izrade i pisanja ovoga rada. Veliko hvala i mojim roditeljima, bratu i sestri koji su me pratili i bodrili, ne samo tijekom ovih 5 godina, već kroz cijelo moje školovanje. Posebno hvala mojoj majci koja nije propustila nijedan moj upis, od vrtića pa do fakulteta, poticala me u teškim trenutcima i podsjećala na vrijednost znanja, koje se ne može mjeriti ocjenom. Iz svega srca, jedno veliko hvala i mojem zaručniku Ivanu. Hvala na svojoj podršci, ljubavi, strpljenju i razumijevanju, bez tebe ove godine studiranja ne bi bile toliko radosne.

Konačno, veliko hvala Tebi Bože! Hvala na svim milostima koje su me dovele do kraja studija i oblikovale me u osobu kakva jesam danas.

Sadržaj

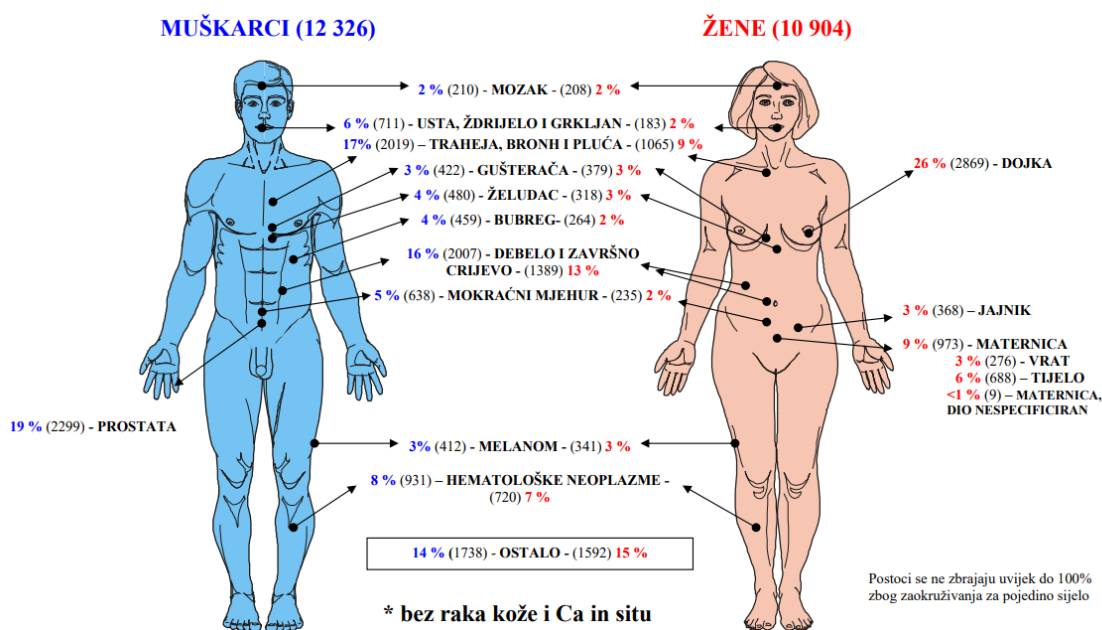
| | |
|--|----|
| 1. UVOD | 1 |
| 1.1 EPIDEMIOLOGIJA | 1 |
| 1.2 ETIOLOGIJA I PATOGENEZA | 2 |
| 1.2.1 PREDISPONIRAJUĆI ČIMBENICI RIZIKA | 2 |
| 1.2.2 NASLJEDNI SINDROMI | 4 |
| 1.2.3 GENETIČKE PROMJENE | 5 |
| 1.2.4 PREKURSORSKE LEZIJE | 7 |
| 1.3 KLASIFIKACIJA I PATOHISTOLOGIJA | 10 |
| 1.4 KLINIČKA SLIKA | 11 |
| 1.5 PROBIR I DIJAGNOZA | 13 |
| 1.5.1 STADIJ BOLESTI | 14 |
| 1.6 ULOGA KOMPLETNE KRVNE SLIKE | 17 |
| 1.7 OMJERI IZVEDENI IZ KKS-a | 19 |
| 1.9 LIJEČENJE | 22 |
| 2. OBRAZLOŽENJE TEME | 24 |
| 3. MATERIJALI I METODE | 25 |
| 3.1 DIZAJN ISTRAŽIVANJA | 25 |
| 3.2 ISPITANICI I UZORCI | 25 |
| 3.3 METODE | 26 |
| 3.3.1 NAČELO RADA HEMATOLOŠKOG ANALIZATORA | 26 |
| 3.3.2 NAČELO ODREĐIVANJA CRP-a | 29 |
| 3.3.3 STATISTIČKA ANALIZA | 29 |
| 4. REZULTATI | 30 |
| 5. RASPRAVA | 37 |
| 6. ZAKLJUČAK | 46 |
| 7. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA | 47 |
| 8. LITERATURA | 49 |
| 9. SAŽETAK / SUMMARY | 58 |
| 9.1 SAŽETAK | 58 |
| 9.2 SUMMARY | 59 |

1. UVOD

1.1 EPIDEMIOLOGIJA

Kolorektalni karcinom (engl. *Colorectal Cancer*; CRC) jedan je od vodećih uzroka smrti povezanih s rakom i kao takav predstavlja globalni javnozdravstveni problem. Navedeno potvrđuje i činjenica da je 2020. godine zabilježeno oko 1,9 milijuna novodijagnosticiranih slučajeva i više od 930 000 smrtnih slučajeva. Najviše stope incidencije zabilježene su u Europi, Australiji i Novome Zelandu, dok su stope mortaliteta najviše u istočnoj Europi. (<https://www.who.int/>)

Na temelju podataka Hrvatskoga zavoda za javno zdravstvo iz 2020. godine, CRC je najčešći novodijagnosticirani rak u Hrvatskoj. Zabilježeno je 3 396 novih slučajeva, 2007 muškaraca i 1389 žena, što čini 16% od svih karcinoma u muškaraca i 13% u žena. Za muški spol najviša je incidencija (oko 500/100 000) zabilježena u dobnoj skupini 80 – 84 godina, dok je skoro upola manja (oko 240/ 100 000), najviša incidencija za ženski spol uočena u dobnoj skupini starijoj od 85 godina. Ukupni broj smrtnih slučajeva iznosio je 2069, 1227 muškaraca i 842 žene. (HZJZ-Bilten 45, 2022)



Slika 1. Postotak novooboljelih od raka prema sijelima u 2020. godini (preuzeto iz Registra za rak Republike Hrvatske, 2022)

Ubrzani razvoj i industrijalizaciju prati i stalni trend porasta broja novodijagnosticiranih slučajeva, a prema procjenama Svjetske zdravstvene organizacije, broj oboljelih će se do 2040. godine povećati na 3,2 milijuna godišnje, od čega će 1,6 završiti smrtnim ishodom. Pad stopa učestalosti CRC-a zabilježene su jedino u zemljama visokoga dohotka, i to uglavnom kao rezultat učinkovitih probirnih programa. Međutim, zabrinjavajuća činjenica jest porast broja novooboljelih mlađih od 50 godina, i to uglavnom od rektalnog karcinoma i lijevostranog CRC-a. (Dekker i sur., 2019)

Prognoza ovisi o stadiju u kojemu je postavljena dijagnoza, samim time pravovremena dijagnoza, odgovarajuće liječenje i redovita kontrola važni su za poboljšanje stope preživljavanja i kvalitete života oboljelih. (Ballinger i Anggiansah, 2007)

1.2 ETIOLOGIJA I PATOGENEZA

Rak debelog crijeva, izrazito je heterogena, multifaktorijalna bolest na čiji nastanak utječu genetički i okolišni čimbenici. Sam način života predstavlja vrlo važnu i nezanemarlivu komponentu u njegovu razvoju. (Dulal i Keku, 2014)

1.2.1 PREDISPONIRAJUĆI ČIMBENICI RIZIKA

Dugogodišnjim istraživanjima pronađena je veza između brojnih čimbenika rizika i CRC-a, a mogu se ugrubo podijeliti u dvije velike skupine. Nepromjenjive čimbenike rizika čine dob, spol, etnička pripadnost, nasljedne mutacije, upalne bolesti crijeva, kolecistektomija i uretrosigmoidostomija. Promjenjivi čimbenici poglavito se odnose na životne navike te uključuju prehranu, konzumaciju alkohola, pušenje, fizičku neaktivnost, povećanu tjelesnu težinu, razvoj dijabetesa tipa 2 i inzulinsku rezistenciju. Dodatno, kao bitni faktori pokazali su se sastav crijevne mikrobiote i socioekonomski status. (Lewandowska i sur., 2022)

Starija dob smatra se jednim od najznačajnijih rizičnih čimbenika za razvoj CRC-a što proizlazi iz činjenice da se oko 90% svih novih slučajeva javlja kod osoba starijih od 50 godina. Povezanost razvoja CRC-a sa starenjem najviše dolazi do izražaja u razvijenim zemljama gdje

je stopa obolijevanja najveća, a veže se uz duži očekivani životni vijek, to jest povećanje broja starijih ljudi u populaciji. (Hamilton i sur., 2009)

Prema podacima Američkog društva za rak, osobe muškoga spola imaju 30% veći rizik za obolijevanje od CRC-a u odnosu na žene. Dodatno, po dijagnozi muškarci imaju lošiju prognozu i oko 40% veću smrtnost u usporedbi sa ženama. Navedene nejednakosti među spolovima nisu trenutno razjašnjene. Kao mogući uzroci smatraju se različito izlaganje čimbenicima rizika, poglavito pušenju i konzumaciji alkohola, različite prehrambene navike te različit utjecaj spolnih hormona. (Sawicki i sur., 2021)

Rizik od razvoja je do 20 puta veći kod osoba s poviješću ulceroznoga kolitisa i do 3 puta veći ukoliko je riječ o povijesti Chronove bolesti. Trajanje bolesti, vrijeme postavljanja dijagnoze, osobito ako je riječ o mlađoj dobi, te neprimjereno kontroliran upalni proces dodatno povećavaju rizik obolijevanja. Istraživanjima je utvrđeno da kronična upala, u pozadini upalnih bolesti crijeva, vodi do razvoja CRC-a drugačijim putem od klasičnog adenom-karcinom slijeda. (Ljubičić i sur., 2021; Itzkowitz i Yio, 2004)

Povezanost kirurškog odstranjivanja žučnog mjehura iz tijela i pojave CRC-a još uvijek nije čvrsto dokazana, ali nije ni opovrgnuta. Kao mogući uzrok smatra se promijenjeni dotok i sastav žučnih kiselina. U nedostatku žučnoga mjehura protok žuči kroz crijevo je kontinuiran te je povećana transformacija u sekundarne žučne kiseline koje imaju potencijal generiranja reaktivnih kisikovih i dušikovih spojeva. Nadalje, mogu inducirati oštećenje DNA i apoptozu stanica debeloga crijeva što sve povećava rizik od nastanka CRC-a. Epidemiološkim podacima utvrđeno je djelovanje dijabetesa kao neovisnoga čimbenika kolorektalne karcinogeneze. Osobe s dijabetesom tipa 2 pokazuju 2 do 3 puta veći rizik od obolijevanja u odnosu na populaciju bez dijabetesa, što se dovodi u vezu s hiperinzulinemijom i postojećim upalnim stanjem. Povišena koncentracija inzulina može djelovati dvojako. Izravno, poticanjem proliferacije stanica debeloga crijeva i neizravno, povećanjem razine mitogenog faktora IGF-1 koji također pospješuje rast stanica. Muškarci i žene s prekomjernom tjelesnom težinom, imaju oko 50%, odnosno 20% veći rizik od razvoja CRC-a u odnosu na osobe normalne tjelesne težine. Navedeno se povezuje uz promjenu lučenja hormona masnoga tkiva i upalnih citokina za koje je poznato da pokazuju mitogeni učinak na epitel, inhibiraju apoptozu stanica, potiskuju

imunološki odgovor i potiču oksidativni stres. Duhanski dim utječe na razvoj velikog broja karcinoma, uključujući kolorektalnog. U sastavu dima više je od 60 dokazanih karcinogena za koje je poznato da oštećuju DNA, a prema rezultatima studija pušači imaju 2-3 puta veći rizik za razvoj CRC-a od nepušača. (Kupiers i sur., 2015; Shen i sur., 2010; Roth i Roth, 2001)

Konsumacija alkohola jedan je od vodećih čimbenika razvoja CRC-a, a pokazuje više mehanizama djelovanja. Oni uključuju proizvodnju mutagenog acetaldehida, inaktivaciju tumor supresorskih gena, smanjenje koncentracije folata, oštećenje metabolizma retinoične kiseline, proizvodnju reaktivnih dušikovih i kisikovih spojeva i smanjenje razine S-adenozilmetionina. (Sawicki i sur., 2021)

Dokazana je korelacija između konzumacije povećane količine mesa, osobito crvenog, kao i samog načina pripreme mesa. Tako je uočena povećana pojava karcinoma u osoba koje konzumiraju meso prženo na visokim temperaturama, što se dovodi u vezu sa stvaranjem heterocikličkih amina. Nadalje, žučne kiseline iz crijevnoga sadržaja koje sudjeluju u procesu razgradnje masti iz hrane, jedan su od uzročnika hiperproliferacije sluznice crijeva, a time i rizični čimbenik obolijevanja. Dugotrajna prehrana bogata mastima povezuje se s neravnotežom domaćinove crijevne mikrobiote, oštećenjem unutarnje stijenke crijeva, inhibicijom antitumorskog imunološkog odgovora i proizvodnjom metabolita koji potiču rast tumora. (Shen i sur., 2010)

Epidemiološkim studijama utvrđen je protektivan utjecaj hrane bogate vlaknima. Primijećena je smanjena koncentracija fekalnih mutagena (fakapenteni, 3-ketosteroidi, heterociklički amini) u stolici, ako osoba dnevno uzima veće količine voća, povrća i hrane bogate cjelovitim žitaricama. Navedeno se povezuje s ubrzanim pražnjenjem crijeva i smanjenim kontaktom mutagena i sluznice debeloga crijeva. (Roth i Roth, 2001)

1.2.2 NASLJEDNI SINDROMI

Većina je karcinoma sporadična (75-80%) i nastaje kao rezultat nakupljanja stečenih mutacija. Oko trećinu slučajeva (20-25%) čine obiteljski karcinomi koji se pojavljuju u pojedinim obiteljima, međutim, bez identificirane nasljedne mutacije. Pri tome, uz hereditarnu

komponentu, na razvoj bolesti također imaju utjecaj način života te okolišni čimbenici. Samo 5% čine nasljedni karcinomi koji nastaju uslijed mutacija u zametnim stanicama koje se prenose s roditelja na potomke. Lynch sindrom, primjer je najčešćeg nasljednog sindroma CRC-a. Nastaje kao posljedica nasljednih mutacija u genima za popravak DNA. Njemu se kao sinonim često koristio pojam nasljedni nepolipozni kolorektalni karcinom (engl. *Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer*; HNPCC) zbog sličnih kliničkih karakteristika, međutim, danas je poznato da se radi o spektru obiteljskih karcinoma bez nositeljstva nasljednih mutacija MMR gena (engl. *DNA Mismatch Repair*; MMR). (N. Ljubičić i sur., 2021; Kapitanović, 2017)

Obiteljska adenomatozna polipoza, drugi je najčešći nasljedni sindrom CRC-a. Uzrokovan je mutacijama u APC genu (engl. *Adenomatous Polyposis Coli*; APC), a za oboljele je karakterističan razvoj velikog broja kolorektalnih adenoma te konačno CRC-a u mlađoj životnoj dobi. (Kuipers i sur., 2015)

1.2.3 GENETIČKE PROMJENE

Genomska nestabilnost temeljni je proces odgovoran za kolorektalnu karcinogenezu. Unatoč genetičkoj heterogenosti, utvrđena su tri glavna puta odgovorna za razvoj CRC-a, a ujedno nisu međusobno isključiva. Riječ je o kromosomskoj nestabilnosti (engl. *Chromosomal instability*; CIN), mikrosatelitnoj nestabilnosti (engl. *Microsatellite instability*; MSI) i fenotipu metilacije CpG otoka (engl. *CpG island methylator phenotype*; CIMP). (Nguyen i sur., 2020; Arends, 2013)

CIN je ujedno i najčešći tip genomske nestabilnosti te se javlja u približno 70% sporadičnih slučajeva CRC-a. Dolazi do nakupljanja numeričkih i strukturnih kromosomskih aberacija u specifičnim onkogenima i tumorsupresorskim genima kao što su APC, KRAS (engl. *Kirsten rat sarcoma virus*; KRAS), PIK3CA (engl. *Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphate 3-Kinase*; PIK3CA), BRAF (engl. *V-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1*; BRAF), SMAD4 (engl. *mothers against decapentaplegic homolog 4*; SMAD4) i TP53 (engl. *Tumor protein 53*; TP53), što posljedično vodi do aktivacije putova ključnih za karcinogenezu. Prema teorijama mnogih istraživača, mutacija u APC genu služi kao početna točka nakon koje slijedi nakupljanje višestrukih mutacija. Gubitak aktivnosti APC gena rezultira aktivacijom Wnt signalnoga puta

(engl. *Wingless related integration site*; Wnt), važnog regulatora epitelne proliferacije. Rezultat je toga procesa konstitutivna ekspresija gena vezanih uz karcinogenezu, MYC (engl. *Myelocytomatosis oncogene*; MYC), CCND1 (engl. *Cyclin D1*; CCND1) i VEGF (engl. *Vascular endothelial growth factor*; VEGF). Aktivacija ovog puta signalizacije prisutna je gotovo u svim CIN tumorima, premda je APC mutacija uočena u 80% njih. Često se uz APC nalazi i mutiran KRAS gen. Njegovom aktivacijom mijenja se Raf-MEK-ERK put signalizacije čija je aktivnost regulirana vezanjem EGF (engl. *Epidermal growth factor*; EGF) na EGFR (engl. *Epidermal growth factor receptor*; EGFR). U slučaju ove ili mutacije u BRAF genu primjena inhibitora EGFR neće se pokazati kao korisna terapija. (Li i sur., 2021; Nguyen i sur, 2020, Sillars-Hardebol, 2012)

Drugi važan mehanizam, uočen u oko 15% sporadičnih slučajeva CRC-a, jest razvoj MSI, kao posljedice utišavanja ekspresije MMR gena; MLH1 (engl. *MutL homolog 1*; MLH1), MSH2 (engl. *MutS homolog 2*; MSH2), MSH6 (engl. *MutS homolog 6*; MSH6), PMS2 (engl. *Postmeiotic segregation increased 2*; PMS2), ali i mutacije EPCAM gena (engl. *Epithelial cellular adhesion molecule*; EPCAM) koji kodira za protein važan u regulaciji MSH2. Mikrosatelitne regije sastoje se od kratkih tandemskih ponavljanja nukleotida i podložne su nakupljanju grešaka tijekom replikacije koje se u slučaju utišane ekspresije MMR gena ne detektiraju pravilno. Na taj način omogućeno je nakupljanje sve većega broja mutacija zbog čega se često govori o hipermutiranom fenotipu. Općenito, MSI tumori se klasificiraju ovisno o broju produljenih kratkih tandemskih ponavljanja na MSI visok (engl. *MSI-high*; MSI-H), MSI nizak (engl. *MSI-low*; MSI-L) i mikrosatelitno stabilne karcinome (engl. *Microsatellite stable*; MSS). Iako su većinom niske diferenciranosti, pacijenti s MSI-H tumorom imaju bolju prognoza nego pacijenti s MSS tumorom. Kao moguće objašnjenje ove činjenice predlaže se povezanost MSI-H fenotipa s imunosnim odgovorom koji uključuje pojačanu infiltraciju limfocita na mjestu tumora. Do sada, najčešći zabilježeni uzrok MSI fenotipa jest epigenetičko utišavanje MLH1 gena hipermetilacijom promotora. CRC-i MSI fenotip ujedno često pokazuju CIMP fenotip zbog metilacije regulatornih regija genoma koje uključuju i CpG otoke. Kao i tumori koji se razvijaju CIN putem, dijele visoku učestalost mutacija u BRAF genu, međutim, mutacije TP53 i APC gena vrlo su rijetke. Jednom nakon što se razvije, MSI tumor progredira većom brzinom negoli tumor CIN putem, što prema podacima istraživača iznosi 1-3 godine u odnosu na period 10-15 godina. (Nguyen i sur, 2020; Brenner i sur., 2014)

Za treći put, CIMP, karakteristična je široko rasprostranjena metilacija CpG otoka. Trenutačno nisu još razjašnjeni svi molekularni mehanizmi u pozadini, iako je pokazana značajna veza između transkripcijskog represora MAFG (engl. *V-maf avian musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog G*; MAFG) i konačne hipermetilacije promotora specifičnih gena. Klasičnim panelom, CIMP pozitivni tumori dijele se na CIMP-visoki (≥ 3) (engl. *CIMP-high*; CIMP-H) i CIMP-niski (< 2) (engl. *CIMP-low*; CIMP-L) ovisno o broju pozitivnih metilacijskih markera na lokacijama 5 različitih gena; MINT 1, 2 i 31 (engl. *methylated in tumors 1, 2, 31*; MINT 1, 2, 31), CDKN2A (engl. *Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A*; CDKN2A) i MLH1. Dodatno, CIMP-H tumor povezuje se s mutacijama BRAF gena i metilacijom MLH1, a CIMP-L tumor s mutacijama KRAS i MSS. CIMP negativni tumori su MSS i često s mutacijom TP53. Sama klasifikacija CIMP tumora mijenjala se kroz godine ovisno o metilacijskim markerima određenih gena, te ne postoji definirani konsenzus. Unatoč tome, visok status CIMP-a uočen je u oko 20% CRC-a i premda se javlja u većini sporadičnih MSI-H tumora, nije isključivo karakterističan za njih. (Nguyen i sur., 2020; Dekker i sur., 2019; Yamagishi i sur., 2016; Kuipers i sur., 2015; Arends, 2013)

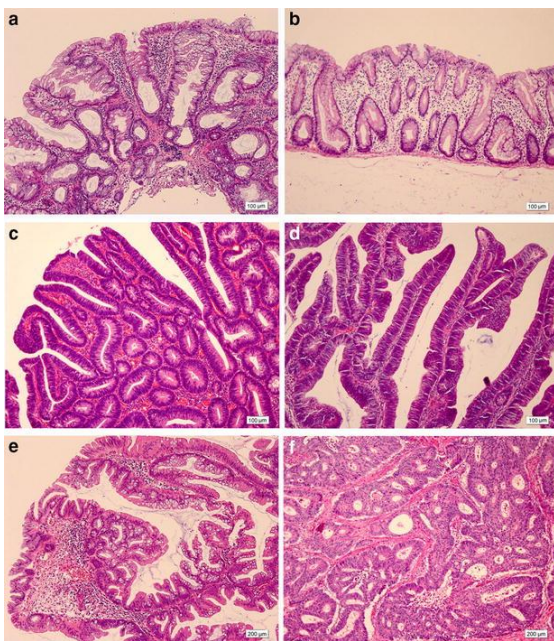
1.2.4 PREKURSORSKE LEZIJE

Većina CRC-a nastaje iz adenoma kao posljedica aberantne proliferacije epitela kolona. Prevalencija adenoma u zapadnim populacijama starosti od 50 do 75 godina iznosi oko 40%, a njihov maligni potencijal razlikuje se među različitim podtipovima. Procijenjeno je da oko 5% svih adenoma progredira do stadija CRC-a. Najčešće nastaju iz sluznice, a histološki se dijele na adenomatozne (tubularni $> 80\%$, vilozni 5-15% i tubulovilozni 5-15%), nazubljene (sesilni, tradicionalni i hiperplastični) i ne-neoplastične (hamartomi, juvenilni, upalni, itd.). Hiperplastični polipi vrlo su česti te se primarno nalaze u distalnom kolonu. Prije su bili smatrani ne-neoplastičnima, ali zbog sumnje da su preteče CRC-a preimenovani su u nazubljene polipe koje Svjetska zdravstvena organizacija sada klasificira u tri kategorije u odnosu na prethodnu podjelu koja je uključivala sesilne i tradicionalno nazubljene polipe. Sesilni nazubljeni polipi su česti, najviše ih se nalazi u proksimalnom kolonu i niskog su malignog potencijala ukoliko nisu displastični. Prema epidemiološkim podacima čini se da su prekursori oko 30% CRC-a. Tradicionalni nazubljeni polipi su rijetki, značajnijeg malignog potencijala i češće se nalaze u distalnom kolonu. Ne-neoplastični polipi uključuju juvenilne

polipe, upalne pseudopolipe i hamartome. Juvenilni polipi su česti u dječjoj dobi, najviše su lokalizirani u rektosigmoidu te su benigne tvorbe. (Aceto i sur., 2020; Sillars-Hardebol i sur., Leslie i sur., 2002)

Poznato je da većina CRC-a nastaje iz adenoma, odnosno razvija se tzv. adenomsko-karcinomskim slijedom. Adenomatozni polipi su karakteristični za distalni kolon. Histopatološki, dodatno se razlikuju vilozni, tubularni i tubulovilozni adenomi. Vilozni adenomi sadrže >75% vilozne komponente. Tubularni adenomi sadrže jednostavne displastične žlijezde i <25% vilozne komponente, dok tubulovilozni adenomi predstavljaju intermedijarne lezije s 25-75% vilozne komponente. Ukoliko je adenom velik (>1 cm), pretežno vilozan ili sadrži displaziju visokog stupnja, smatra se uznapredovalim adenomom koji zahtjeva agresivniji endoskopski nadzor. (Fleming i sur., 2012.; Leslie i sur., 2002)

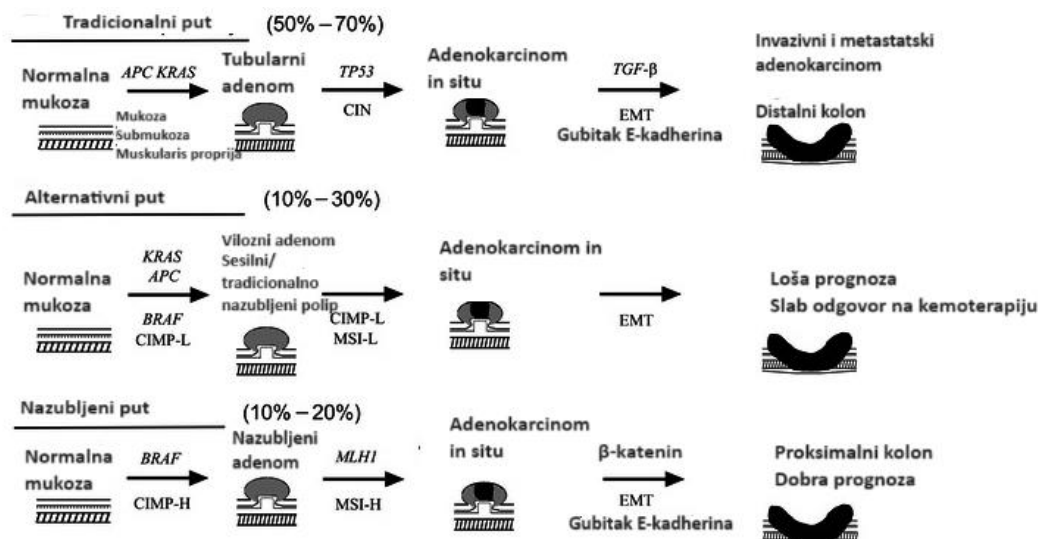
Na Slici 2. prikazana je histologija polipa, adenoma i karcinoma debeloga crijeva i rektuma.



Slika 2. Histologija polipa, adenoma i karcinoma debeloga crijeva i rektuma; a) hiperplastični polip, b) sesilni nazubljeni adenom/polip, c) tubularni adenom, d) vilozni adenom, e) tradicionalno nazubljeni adenom, f) adenokarcinom. (preuzeto iz Yamagishi i sur., 2016)

Postoje najmanje tri različita evolucijska puta do sporadičnih CRC-a. Tradicionalni put (klasični adenomsko-karcinomski slijed), karakterizira nastanak tubularnih adenoma iz normalne sluznice i rezultira CRC-om prosječnog ishoda u distalnom debelom crijevu. Pretpostavka je da takav razvoj traje 5-15 godina. Osim APC mutacije kao početne, prisutne su

mutacije KRAS i TP53. Također, CIMP fenotip je negativan, a prisutna je CIN. Nazubljeni put počinje nastankom nazubljenih adenoma u proksimalnom dijelu debelog crijeva. Karakteristična početna mutacija je aktivacija onkogenog BRAF i CIMP-H fenotip. Gubitak ekspresije MLH1 te MSI-H vode do nastanka adenokarcinoma dobre prognoze. Alternativni put vodi do razvoja CRC-a loše prognoze. Može se razviti iz viloznih adenoma, odnosno iz sesilnih te tradicionalno nazubljenih polipa. Detektirane su mutacije u KRAS, BRAF i APC genu. Za ovaj put su karakteristični MSI-L i CIMP-L, ali nije prisutna CIN. Procijenjene prevalencije iznose redom za tradicionalni put 50-70%, za nazubljeni put 10-20% te 10-30% za alternativni put. Na Slici 3. ukratko su prikazana sva tri puta razvoja sporadičnog CRC-a (Yamagishi i sur., 2016; Brenner i sur., 2014)



Slika 3. Evolucijski putevi razvoja sporadičnog CRC-a, njihove procijenjene prevalencije i karakteristične mutacije (preuzeto i prilagođeno iz Yamagishi i sur., 2016)

1.3 KLASIFIKACIJA I PATOHISTOLOGIJA

Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji epitelni maligni tumori debelog crijeva i rektuma klasificiraju se kao adenokarcinomi NOS (engl. *Not Otherwise Specified*; NOS), neuroendokrini tumori NOS, neuroendokrini karcinomi NOS i mješovite neuroendokrino-neuroendokrine neoplazme. Adenokarcinomi čine >90% svih slučajeva, a karakterizira ih žljezdana komponenta koja je i osnova njihovog histološkog stupnjevanja. Od strane SZO-a postoji 9 histološki priznatih podtipova koji uključuju: adenokarcinom sličan adenomu, mikropapilarni adenokarcinom, mucinozni adenokarcinom, adenoskvamozni karcinom, karcinom sa sarkomatoidnom komponentom, medularni adenokarcinom, nazubljeni karcinom, karcinom pečatnih prstenastih stanica i nediferencirani karcinom, a isto je prikazano u Tablici 1. (<https://www.pathologyoutlines.com/>)

Tablica 1. WHO klasifikacija malignih tumora debeloga crijeva i rektuma iz 2019. godine

| |
|--|
| Adenokarcinom, NOS |
| Adenokarcinom sličan adenomu |
| Mikropapilarni adenokarcinom |
| Mucinozni adenokarcinom |
| Adenoskvamozni karcinom |
| Karcinom sa sarkomatoidnom komponentom |
| Medularni adenokarcinom |
| Nazubljeni karcinom |
| Karcinom pečatnih prstenastih stanica |
| Nediferencirani karcinom |
| Neuroendokrini tumor, NOS |
| Neuroendokrini karcinomi NOS |
| Mješovite neuroendokrino-neuroendokrine neoplazme |

Dobro diferencirani adenokarcinom (gradus 1) sadrži >95% žljezdanog dijela, umjereno diferencirani (gradus 2) sadrži 50-95% formiranih žlijezda, a slabo diferencirani adenokarcinom (gradus 3) pokazuje <50% žlijezda i uglavnom je čvrst. U odnosu na ovakav način svrstavanja, brojnim je istraživanjima uočeno da bi dvostupanjski sustav rangiranja doprinio reproducibilnijem ocjenjivanju i uvelike poboljšao prognostičku vrijednost istog. U tu svrhu, dobro i umjereno diferencirani tumori svrstavaju se pod nizak gradus, a slabo diferencirani tumori kao visok gradus. Gradus tumora općenito se smatra prognostičkom varijablom koja je neovisna o stadiju, pri čemu se gradus visokog stupnja, odnosno slaba diferencijacija, povezuje s lošijom prognozom bolesnika. Međutim, neki od histoloških podtipova mogu pokazivati gradus visokog stupnja, a ponašati se kao tumori niskog gradusa zbog MSI statusa. Iz tog se razloga smatra da bi histološko stupnjevanje trebalo biti primijenjeno u slučaju konvencionalnog adenokarcinoma. Primjerice, karcinom pečatnih prstenastih stanica predstavlja slabo diferencirani tumor koji je lošije prognoze, ali neki od tih tumora su MSI-H tumori i ponašaju se kao tumori niskog gradusa. (Fleming i sur., 2012)

1.4 KLINIČKA SLIKA

Za rast i razvoj CRC-a potrebno je određeno vrijeme. Sukladno tome, nakon određenog razdoblja pojavit će se i simptomi koji upućuju na postojanje bolesnoga stanja. Često su ti simptomi nespecifični i slabo osjetljivi za CRC, vezani uz donji dio abdomena i nerijetko su razlog javljanja u ordinaciju obiteljskoga liječnika. Također, većinom je riječ o simptomima benignih bolesti koje pacijenti ponekad i ne tumače kao ozbiljne, već ih pripisuju normalnim varijacijama, procesu starenja, načinu života ili kao odraz drugih komorbiditeta. (Walter i sur., 2016, Hamilton i sur. 2009.)

Uobičajeni simptomi uključuju:

- promjene u navikama pražnjenja crijeva (proljevi, zatvor)
- rektalno krvarenje i krv u stolici, promjena boje stolice
- grčevi u trbuhu, bol, nadutost koja ne nestaje
- nagli, neobjašnjivi, nenamjerni gubitak težine, gubitak apetita
- kontinuirani osjećaj umora i nedostatka energije
- anemija zbog nedostatka željeza uslijed kroničnog krvarenja, bljedilo. (Ballinger; 2007)

Simptomi uvelike ovise o veličini i anatomskej lokalizaciji tumora. Desni početni dio (cekoascendens) širi je od ostalih dijelova, sadržaj je u njemu vodenast i simptomi nastaju kasnije, a čak ni veliki tumori ne moraju uzrokovati opstruktivne smetnje. Za tumore u ascendentnom kolonu karakteristično je ulceriranje zbog čega se kronično gubi krv i razvija anemija. Kada je tumorska masa velika, katkad se može i palpirati preko trbušne stijenke. Vrlo rijetko je prisutna diskoloracija stolice (boja trule višnje). Takvi pacijenti pokazuju simptome anemije kao što su slabost i palpitacije, a u laboratorijskim nalazima može se uočiti mikrocitna sideropenična anemija. Gubitak krvi iz tumora je povremen što može biti uzrok negativnom testu na okultno krvarenje. U poprečnom kolonu stolica postaje kompaktnija uslijed resorpcije vode, a lumen crijeva je uži. Zbog prstenastog zahvaćanje stijenke crijeva, vodeći simptomi su opstruktivne prirode. Uključuju meteorizam, izmjenu zatvora i proljeva te grčevitu bol nakon jela. Kao teške komplikacije razvijaju se ileus i perforacija crijeva. Stolica može biti pomiješana s krvlju. (Brkić i Grgić, 2006)

Karcinom smješten u rektosigmoidnom kolonu veže se uz suženi promjer stolice, pojavu krvi u stolici (hematohezija) i lažne i/ili bolne porive za pražnjenjem crijeva, a često se javlja i osjećaj nepotpunog pražnjenja crijeva. Simptomi anemije u ovome slučaju nisu uobičajeni jer se obično pacijenti javljaju liječniku čim primijete krv u stolici. Što je tumor bliže anusu to će i boja stolice biti svjetlija. Poseban se naglasak stavlja na krvarenje povezano s hemeroidima koje predstavlja češću sumnju negoli CRC. Stoga je važno izvršiti pregled završnog dijela debelog crijeva kako bi liječnik bio siguran da se ne radi o karcinomu. (Nawa i sur., 2008; Brkić i Grgić, 2006)

Širenje karcinoma prema mokraćnom mjehuru može izazvati upalu istoga, a zahvaćanje potrbušnice dovodi do pojave ascitesa. Najčešće mjesto metastaziranja je jetra, a slijede pluća, kosti, bubrezi i nadbubrežna žlijezda te mozak. Simptomi koji se javljaju odraz su zahvaćenosti tih organa (hepatomegalija, žutica, bol pod desnim rebrenim lukom, kašalj, zaduha, simptomi nalik gripi). (Sawicki i sur., 2021; Brkić i Grgić, 2006)

1.5 PROBIR I DIJAGNOZA

Sekundarna prevencija obuhvaća sve postupke kojima se omogućava otkrivanje premalignih lezija, odnosno bolesti u ranome stadiju dok je još izlječiva. S obzirom na trend porasta broja oboljelih, ali i smrtnosti krajem 20. i početkom 21. stoljeća, probir opće populacije pokazao se nužnim i opravdanim. Dostupno je nekoliko probirnih testova, a oni uključuju gvajakov i imunokemijski test fekalnog okultnog krvarenja, sigmoidoskopiju, kolonoskopiju, CT kolonografiju, DNA stolice i endoskopiju videokapsulom. Prema preporukama Vijeća Europske Unije donesenih 2. prosinca 2003. godine, Vlada Republike Hrvatske je 4. listopada 2007. godine usvojila Nacionalni program ranog otkrivanja raka debelog crijeva. (Štimac, 2008; Brkić i Grgić, 2006)

Program je usmjeren prvenstveno na zdrave osobe oba spola, dobi 50-74 godine koje su ujedno i nositelji prosječnog rizika za razvoj CRC-a. Trenutačna EU politika probira preporuča jedino test fekalnog okultnog krvarenja za populacijske probirne programe. Osobe se pozivaju na testiranje svake druge godine, dok su u dobi obuhvaćenoj probirom, a o nalazu testa obavještavaju se samo osobe s pozitivnim rezultatom koje se potom upućuju na kolonoskopiju. Preporuke koje se odnose na praćenje i otkrivanje visokorizičnih skupina nisu jasno definirane. Prema mišljenju stručnjaka probir bi za visokorizične trebao započeti u ranijoj životnoj dobi uz kraće vremenske periode između pojedinačnih pregleda. (Ljubičić i sur., 2021)

Pri sumnji na karcinom debelog crijeva liječnik obiteljske medicine treba uz kompletni klinički pregled napraviti i digitorektalni pregled kojim se može ustvrditi postojanje hemeroida i/ili karcinoma koji je nisko postavljen (60%). Kod pacijenata s pozitivnim testom na okultno krvarenje, nejasnom anemijom, promjenama u pražnjenju crijeva i izgleda stolice potrebno je isključiti CRC. (Bergman Marković, 2015)

Osnovna dijagnostička obrada sastoji se od obiteljske i osobne anamneze, kliničkog pregleda, laboratorijskih nalaza [kompletna krvna slika (KKS), biokemijske pretrage, tumorski biljezi], endoskopskog pregleda s uzimanjem materijala za patohistološku dijagnozu (PHD), rendgena srca i pluća, MSCT-a abdomena i male zdjelice i ultrazvuka abdomena. Dodatno, kod pacijenata

s operabilnim karcinomom rektuma potrebno je načiniti i transrektalni ultrazvuk. (Vrdoljak i sur., 2018)

Dijagnoza se postavlja temeljem nalaza PHD-a na osnovi biopsije ili kirurškog zahvata, a u svakodnevnoj praksi kao zlatni standard u dijagnostici služi kolonoskopija. Osim pregleda cijelog debelog crijeva i uzimanja bioptičkih uzoraka, pruža mogućnost endoskopskog uklanjanja mogućih adenoma prisutnih u gotovo 50% slučajeva CRC-a. Ukoliko kolonoskopija nije izvediva zbog bilo kojeg razloga ili nije dovoljno jasna, može se izvesti virtualna kolonoskopija, odnosno irigografija. (Vrdoljak i sur., 2018; Brkić i Grgić 2006)

Vrijednosti tumorskih biljega, kao što je karcinoembrionalni antigen (engl. *Carcinoembryonic antigen*; CEA), povezane su s karcinomom debelog crijeva. S obzirom da se povišene vrijednosti nalaze i u nizu dobroćudnih stanja, dijagnostička vrijednost za otkrivanje primarnog karcinoma mu je niska. Međutim, pokazao se kao koristan biljeg nakon dijagnoze, u svrhu praćenja terapije i prognoze bolesti. Primjerice, preoperativne vrijednosti CEA > 5 ng/mL ukazuju na lošu prognozu, a visoke vrijednosti koje se postoperativno ne normaliziraju upućuju na ostatnu bolest i potrebu za dodatnim dijagnostičkim postupcima. (Ren i sur., 2023; Bergman Marković, 2015.)

1.5.1 STADIJ BOLESTI

Definiranje stadija bolesti na temelju patohistološke analize provodi se prema TNM-klasifikaciji za stupanj proširenosti bolesti, što je detaljnije prikazano Tablicama 2. i 3.

Tumor, T, odnosi se na opseg dubine prodora tumora kroz različite slojeve stijenke crijeva.

Node, N, definira broj zahvaćenih limfnih čvorova.

Metastasis, M, odnosi se na prisutnost udaljenih metastaza, opisuje širenje karcinoma limfom i krvlju u druge dijelove tijela.

Tablica 2. TNM klasifikacija CRC-a

| TNM klasifikacija tumora debelog crijeva | |
|--|---|
| Primarni tumor (T) | |
| Tx | Primarni se tumor ne može procijeniti |
| T0 | Nema dokaza primarnog tumora |
| Tis | Karcinom <i>in situ</i> : intraepitelni ili intramukozni karcinom (zahvaćenost lamine proprije bez širenja u mišićni sloj sluznice) |
| T1 | Tumor prodire u submukozu (kroz mišićni sloj sluznice, ali ne u mišićni dio stijenke) |
| T2 | Tumor prodire u mišićni dio stijenke |
| T3 | Tumor prodire kroz mišićni dio stijenke u perikolorektalno tkivo |
| T4 | Tumor zahvaća visceralni peritonej ili zahvaća okolne organe ili strukture ili prijanja na njih |
| T4a | Tumor prodire kroz visceralni peritonej (uključujući veliku perforaciju crijeva na mjestu tumora i prodor kroz područje upale do površine visceralnog peritoneja) |
| T4b | Tumor izravno zahvaća ostale organe ili strukture ili prijanja na njih |
| Regionalni limfni čvorovi (N) | |
| NX | Regionalni limfni čvorovi ne mogu se opisati / |
| N0 | Bez rasadnica u regionalnim limfnim čvorovima |
| N1 | Rasadnice u 1 – 3 regionalna limfna čvora (tumor u limfnim čvorovima mjeri $\geq 0,2$ mm) ili postojanje tumorskih depozita bez zahvaćenosti limfnih čvorova |
| N1a | Rasadnice u 1 regionalnom limfnom čvoru |
| N1b | Rasadnice u 2 – 3 regionalna limfna čvora |
| N1c | Tumorski depoziti u supserozi, mezenteriju ili neperitonealiziranom, perikoličnom ili perirektalnom/mezorektalnom tkivu bez zahvaćenosti limfnih čvorova |
| N2 | Rasadnice u 4 ili više limfnih čvorova |
| N2a | Rasadnice u 4 – 6 regionalnih limfnih čvorova |
| N2b | Rasadnice u 7 ili više regionalnih limfnih čvorova |
| Udaljene metastaze (M) | |
| M0 | Bez radiološkog ili drugog dokaza udaljenih rasadnica, bez dokaza tumora na udaljenim sjelima ili organima |

| | |
|-----|--|
| M1 | Rasadnice u jednom ili više udaljenih sijela ili organa ili rasadnice po peritoneju |
| M1a | Rasadnice ograničene na 1 organ ili sijelo (jetra, pluća, jajnik, neregionalni limfni čvorovi) bez rasadnica po peritoneju |
| M1b | Rasadnice u 2 ili više sijela ili organa bez rasadnica po peritoneju |
| M1c | Rasadnice po površini peritoneja s rasadnicama ili bez njih u drugim sijelima ili organima |

Tablica 3. Stadij bolesti određeni prema TNM klasifikaciji

| Stadij bolesti | T kategorija | N kategorija | M kategorija |
|----------------|--------------|--------------|--------------|
| 0 | Tis | N0 | M0 |
| I | T1, T2 | N0 | M0 |
| IIa | T3 | N0 | M0 |
| IIb | T4a | N0 | M0 |
| IIc | T4b | N0 | M0 |
| IIIa | T1-T2 | N1/N1c | M0 |
| | T1 | N2a | M0 |
| IIIb | T3-T4a | N1/N1c | M0 |
| | T2-T3 | N2a | M0 |
| | T1-T2 | N2b | M0 |
| IIIc | T4a | N2a | M0 |
| | T3-T4a | N2b | M0 |
| | T4b | N1-N2 | M0 |
| IVa | Bilo koji T | Bilo koji N | M1a |
| IVb | Bilo koji T | Bilo koji N | M1b |
| IVc | Bilo koji T | Bilo koji N | M1c |

1.6 ULOGA KOMPLETNE KRVNE SLIKE

KKS, jednostavna je, dostupna i jeftina pretraga, a promjene u njenim rezultatima mogu se razviti u relativno ranoj fazi karcinoma. Do sada, u većem je broju studija istraživan odnos između raznih specifičnih komponenata KKS-a i dijagnoze CRC-a. Međutim, trenutačno u kliničkoj praksi nije poznato kako najbolje iskoristiti te rezultate u svrhu identifikacije i praćenja novih slučajeva CRC-a. Često se u pacijenata kao prvi znak može opaziti anemija, odnosno snižene vrijednosti eritrocita, hemoglobina, ali i hematokrita kao i prosječne koncentracije hemoglobina u eritrocitu (engl. *Mean Cell Hemoglobin*, MCH), prosječne koncentracije hemoglobina u krvi (engl. *Mean Cell Hemoglobin Concentration*, MCHC), srednjeg volumena eritrocita (engl. *Mean Corpuscular Volume*, MCV), te povišena vrijednost raspodjele eritrocita prema veličini (engl. *Red Cell Distribution Width*, RDW). Temeljem studija provedenih u svrhu ispitivanja dijagnostičke vrijednosti ovih parametara, uočeni su određeni trendovi. Virdee i sur. uočili su povezanost sniženog broja eritrocita, vrijednosti hemoglobina, MCV-a te povišenog RDW-a i dijagnoze CRC-a (Virdee i sur., 2020). Nadalje, Cheng i sur. svojim su istraživanjem povezali povišene vrijednosti RDW-a, kao biljega varijacije u veličini eritrocita, s lošijom prognozom nakon operativnoga zahvata u ranijim stadijima bolesti (Cheng i sur., 2022). Dodatno, u drugome je istraživanju ispitana i razlika u vrijednostima eritrocita i pripadajućih konstanti s obzirom na anatomsku lokalizaciju tumora. Pokazalo se da su vrijednosti eritrocita, hemoglobina i hematokrita bile više u pacijenata s lijevostranim CRC-om, te su se u istoj skupini više vrijednosti MCHC-a i hemoglobina povezale s dužim razdobljem bez bolesti. (Alhasan i sur., 2022)

Brojnim istraživanjima dokazana je uloga kronične upale u razvoju, progresiji i procesu metastaziranja većeg broja karcinoma. Bijele krvne stanice, leukociti, predstavljaju imunosnu obranu organizma i glavne posrednike upalne reakcije. U samome procesu karcinogeneze i progresije bolesti, primijećen je porast broja cirkulirajućih neutrofila i smanjenje broja cirkulirajućih limfocita. Posljedično, porast broja neutrofila uz povećanu produkciju upalnih citokina podržava rast i progresiju bolesti, dok smanjena razina limfocita, glavnih stanica u obrani organizma od tumora, slabi imunološku funkciju tijela i dodatno doprinosi razvoju bolesti. Iz tog razloga, povećanje broja leukocita i njihove subpopulacije, neutrofila, kao i smanjenje broja limfocita, smatra se lošim prognostičkim čimbenikom. (Feng i sur., 2023)

Monociti su još jedna subpopulacija imunskih stanica zaduženih za obranu organizma od tumora. Diferenciraju u makrofage povezane s tumorom te mogu doprinijeti infiltraciji karcinoma i njegovu metastaziranju. Dodatno, sudjeluju u parakrinoj signalizaciji, proizvode upalne citokine i pokazuju utjecaj na broj CD8+ i imunosupresivnih regulatornih T-stanica regrutiranih na mjesto rasta karcinoma. Porast njihova broja u perifernoj krvi, odraz je povećane aktivnosti s tumorom povezanih makrofaga i pokazao se kao biljeg loše prognoze u oboljelih od karcinoma želuca i hepatocelularnog karcinoma. Štoviše, temeljem većeg broja istraživanja, znanstvenici su ustanovili vezu između monocitoze i kraćeg ukupnog preživljenja pacijenata s metastatskim CRC-om nakon resekcije jetre. Studijom iz 2020. opaženo je dulje razdoblje bez bolesti u onih pacijenta s nižim predoperativnim brojem monocita. Štoviše, rezultati su ukazali i na povezanost nižeg postoperativnog broja monocita s duljim ukupnim preživljenjem. (Jakubowska i sur., 2020.)

Uz navedeno, istraživanja pokazuju da je eozinofilija u perifernoj krvi povezana s lošom prognozom, a isto su Alsaman i sur. u svome istraživanju povezali s kraćim periodom bez bolesti. (Alsaman., 2022) Nadalje, CRC, kao i svaki karcinom općenito, dovodi do povećane proizvodnje i potrošnje trombocita. Stoga je za očekivati i trombotozu i trombocitopeniju kao nalaze indikativne za postojanje tumora. (Seretis i sur., 2015)

Na osnovi nekolicine studija, predložen je model recipročnog međudjelovanja karcinoma i trombocita. Prvotno, tumorske stanice stimuliraju proizvodnju i aktivaciju trombocita otpuštanjem faktora rasta koji potiču diferencijaciju megakariocita, ali i aktivaciju postojećih trombocita. Također, potrošnja trombocita na periferiji uslijed formiranja malih tromba predstavlja još jedan poticajni čimbenik koji dodatno povećava proizvodnju. Nadalje, stvoreno hiperkoagulabilno stanje doprinosi daljnjem rastu i razvoju tumora, angiogenezi i metastaziranju tumora. Mogući mehanizmi kao objašnjenje jesu: oblaganje tumorskih stanica trombocitima što ih čini nedostupnima za prepoznavanje od imunskog sustava i oslobađanje faktora rasta koji potiču tvorbu novih krvnih žila te rast tumora, ali i ometaju signalne putove važne u popravku DNA. (Wu i sur., 2019; Seretis i sur., 2015)

Long i sur., svojim su istraživanjem ukazali na povezanost trombotoze i kraćeg ukupnog preživljenja te razdoblja bez bolesti. Također, povišen broj trombocita pokazao se kao

konstantan nalaz neovisno o stadiju bolesti i lokaciji tumora (Long i sur., 2016). Drugom je meta-analizom, ukazana korist trombocitoze kao negativnog prediktora preživljenja u pacijenata s primarnim CRC-om kao i u osoba s jetrenim metastazama. (Rao i sur., 2018)

Trombocitna konstanta, srednji volumen trombocita (engl. *Mean Platelet Volume*, MPV), povezana je s proizvodnjom i aktivacijom trombocita kao pokazatelj njihove veličine. Povećan raspad velikih trombocita, podložnijih djelovanju raznih poticajnih čimbenika, mogući je uzrok smanjenja MPV-a uočenog kod većeg broja karcinoma. Nedavno je ustanovljena korelacija nižih vrijednosti MPV-a i viših stadija tumora te lošije prognoze u oboljelih od CRC-a. (Qian i sur., 2019; Wu i sur., 2019, Zhu i sur., 2018)

Wu i sur., u svojem istraživanju ustanovili značajno niže vrijednosti MPV-a u oboljelih od CRC-a naspram onih s adenomatoznim polipom i kontrolnom skupinom zdravih pojedinaca. (Wu i sur., 2019) Također, studijom iz 2022. uočena je povezanost nižih vrijednosti MPV-a i kraćeg razdoblja bez bolesti, neovisno o lokalizaciji tumora. Dodatno, pacijenti u ranijim stadijima bolesti pokazivali su više vrijednosti naspram pacijenata s kasnijim stadijima bolesti. (Alsaman i sur., 2022)

1.7 OMJERI IZVEDENI IZ KKS-a

Sve se veći naglasak stavlja na primjenu biomarkera kao pokazatelja prognoze i u svrhu predviđanja odgovora na terapiju. Potencijalni kandidati, poput TNM stadija, limfovaskularne i perineuralne invazije, broja uklonjenih limfnih čvorova, molekularnih markera te CEA, ograničene su upotrebe u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Zbog visokih troškova, manjka standardizacije i slabe reproducibilnosti ukazala se potreba za novim prikladnim i neinvazivnim biljezima. (Chen i sur., 2017)

Kronična sistemska upala u podlozi razvoja karcinoma, već dulje vrijeme nalazi se pod povećalima istraživača. Nekolicina biomarkera istraživana je u svrhu određivanja stupnja upale, među njima su i NLR (engl. *neutrophil to lymphocyte ratio*, NLR), PLR (engl. *platelet to lymphocyte ratio*, PLR), MLR (engl. *monocyte to lymphocyte ratio*, MLR), LMR (engl. *lymphocyte to monocyte ratio*, LMR), LWR (engl. *lymphocyte to leukocyte ratio*, LWR), LCR (engl. *lymphocyte to CRP ratio*, LCR), NMR (engl. *neutrophil to monocyte ratio*, NMR) i

MPV/PC (engl. *MPV to platelet ratio* , MPV/PC), jednostavni omjeri dobiveni na osnovu podataka KKS-a. Povezanost vrijednosti navedenih i prognoze pacijenata s CRC-om predmet je velikoga broja rasprava. Nekolicina studija provedena je u svrhu ispitivanja prognostičke vrijednosti ovih markera kao i povezanosti dinamike njihovih vrijednosti s razvojem, metastaziranjem i daljnjom invazijom tumora. (Yamamoto i sur., 2021; Jia i sur., 2021, Ying i sur., 2014)

Korelacija NLR-a i PLR-a s razvojem tumora i kliničkim ishodom pacijenata utvrđena je većim brojem istraživanja. Na temelju meta-analiza uočene su statistički značajno više vrijednosti u pacijenata s CRC-om u odnosu na zdravu kontrolnu skupinu. Nadalje, te su se vrijednosti ujedno i značajno razlikovale ovisno o stadiju bolesti, pri čemu su više vrijednosti nađene u stadijima III i IV. Povišene vrijednosti NLR-a i PLR-a ukazuju i na lošu prognozu i/ili kraće ukupno preživljenje kod oboljelih od različitih karcinoma. Također, više vrijednosti su se pokazale i kao prediktor povratka bolesti nakon resekcije jetre. (Yamamoto i sur., 2021; Stojković Lalošević i sur., 2019)

Jia i sur., pokazali su da visoke vrijednosti NLR-a, PLR-a, ali i niske vrijednosti LWR-a mogu utjecati i ukazati na slabiji odgovor pacijenata na terapiju, te time poslužiti kao prognostički čimbenici. Međutim, u tome istraživanju samo se visoki PLR pokazao povezan s kraćim ukupnim preživljenjem i razdobljem bez bolesti. (Jia i sur., 2021) Literaturni podatci ukazuju i na korist MLR-a kao neovisnog prognostičkog biljega u različitim neoplastičnim bolestima. Huang i sur., uočili su lošiju prognozu i ishod bolesti kod pacijenata s visokim MLR-om. (Huang i sur., 2018) Dodatno, Jakubowska i sur. ustanovili su vezu nižih vrijednosti MLR-a, izračunatih na osnovu postoperativnih rezultata KKS-a periferne krvi, s petogodišnjim razdobljem bez bolesti. (Jakubowska i sur., 2020) Nadalje, recipročna vrijednost, to jest vrijednost LMR-a isto je procijenjena radi slične primjene. Istraživanjem iz 2018. ispitivan je odnos prije- i postoperativnih vrijednosti LMR-a, te njihov utjecaj na preživljenje pacijenata nakon operativne resekcije. Ustanovljeno je dulje ukupno preživljenje kod pacijenata s višim vrijednostima LMR-a, koje su se također bile i povezane s nižim gradusom tumora. (Chen i sur., 2018)

Vrijednosti CRP-a, reaktanta akutne faze, jedne su od najboljih markera upale, kako prije- tako i postoperativno. U kombinaciji s vrijednošću limfocita došlo se do još jednog biljega, LCR-a, čija se korist u praćenju sistemske upale pokazala predmetom interesa znanstvenih krugova. Pri tome, više vrijednosti jesu indikativne za bolju prognozu i odgovor pacijenata na određeni tretman. Suzuki i sur. ispitivali su korisnost 9 različitih upalnih biljega, među njima i LCR-a, koji se ujedno i jedini pokazao kao neovisni prognostički pokazatelj ukupnog preživljenja i razdoblja bez bolesti. (Suzuki i sur., 2020) Nadalje, Nishi i sur. uočili su više vrijednosti LCR-a kod pacijenata koji su bili podvrgnuti operaciji, negoli u onih koji su primili palijativnu kemoradioterapiju. Time su potvrdili pouzdanost LCR-a kao prognostičkog biljega i biljega ukupnog preživljenja. (Nishi i sur., 2021) Međutim, bitno je istaknuti potrebu za daljnjim ispitivanjima kako bi se ustanovilo najbolje vrijeme za određivanje ovoga omjera, odnosno, korištenja vrijednosti prije ili nakon nekoga postupka, bilo operacije, bilo kemo i/ili radioterapije, kako bi rezultati bili ujednačeniji. (Yamamoto i sur., 2021)

Umjesto korištenja pojedinačnih vrijednosti MPV-a i broja trombocita, predložena je uporaba njihova omjera. Ustanovljena je negativna korelacija MPV/PC-a i vrijednosti NLR-a te PLR-a, što upućuje na moguće korištenje MPV/PC-a kao još jednog od markera za praćenje upalnoga procesa u pozadini CRC-a. Navedeno se pokazalo i korisnim u razlikovanju maligne od benigne tvorbe, kao i ranih od uznapredovanih stadija karcinoma. Wu i sur. uočili su statistički značajne razlike u vrijednostima MPV/PC-a kod pacijenata sa stadijima I/II i III/IV. Dodatno, značajna je razlika uočena i kod pacijenata sa i bez metastaza u limfnim čvorovima. Korištenje omjera predstavlja korisnu buduću dijagnostičku alatku. (Wu i sur. 2019) Unatoč velikom broju provedenih studija i rastućem interesu glede njihove prognostičke primjene, postoje određene kontroverze. Jedna od važnijih jest i sama razlika u optimalnim cut-off vrijednostima koje još trebaju biti ustanovljene (Li i sur., 2021)

1.9 LIJEČENJE

Plan liječenja oboljelih od CRC-a donosi multidisciplinarni tim koji se sastoji od gastroenterologa, abdominalnog kirurga, radiologa, patologa i onkologa. Samo u hitnim stanjima proces liječenja može započeti bez njihova sastanka. (Vrdoljak i sur., 2018)

Određen broj rano otkrivenih karcinoma podložno je lokalnom liječenju. Nekolicina je studija pokazala korist od endoskopskog uklanjanja, kao često zanemarene opcije, za tretiranje velikih polipa i T1 tumora. Iako postoje dokazi o sigurnosti i manjem trošku u odnosu na operativne zahvate, i dalje se veliki broj pacijenta radije usmjerava kirurškome odstranjivanju. (Dekker i sur., 2019)

Kirurško liječenje dan danas predstavlja metodu izbora u terapiji lokaliziranog CRC-a. Pri tome, sam je zahvat uvjetovan lokalnim širenjem tumora i položajem krvnih žila debelog crijeva. Stoga je uz zahvaćeni segment, s pripadajućim krvnim žilama, potrebno odstraniti i regionalne limfne čvorove. (Brkić i Grgić, 2006)

Preporučena metoda liječenja lokaliziranog resektabilnog raka kolona jest kolektomija sa širokim (en bloc) uklanjanjem regionalnih limfnih čvorova. Za bolesnike s karcinomom T1-2, N0, M0 potrebno je redovito kliničko praćenje, dok se za bolesnike T1-4, N1-2 preporuča i primjena adjuvantne kemoterapije. Preporučene mogućnosti su: primjena 5-fluorouracila s leukovorinom kroz 6 mjeseci, šestomjesečna primjena kapecitabina ili liječenje protokolima FOLFOX, odnosno CAPEOX (III. stadij niskog rizika, protokol CAPEOX kroz 3 mjeseca, III. stadij visokog rizika, FOLFOX ili CAPEOX kroz 6 mjeseci). (Vrdoljak i sur., 2018; Bergman Marković, 2015; Brkić i Grgić 2006)

Kirurško liječenje karcinoma rektuma složenije je zbog ograničenog položaja rektuma u zdjeličnome prostoru, ali i zbog blizine okolnih organa i struktura. Za pacijente s karcinomima T1-2 može se izvesti transanalna eksizicija uz zadovoljene određene uvjete glede tumorske mase. Dodatno, kod pacijenata s tumorom T1 i negativnim osobnostima (pozitivan rub, slaba diferenciranost, limfovaskularna invazija, invazija najdublje trećine mukoze) ili T2 tumorima, potrebno je učiniti i transabdominalnu resekciju ili pacijente podvrgnuti adjuvantnoj kemoterapiji. Daljnje liječenje ovisit će o nalazu patohistološke analize, odnosno ishodu

kemoterapije. Za bolesnike s tumorima T3-T4, N1-2 preporučena je neoadjuvantna kemoradioterapija. Nakon 6-8 mjeseci od završetka iste slijedi radikalni kirurški zahvat koji uključuje potpunu mezorektalnu resekciju, a potom se primjenjuje adjuvantna kemoterapija. Razvojem laproskopske resekcije, otvorena operacija nije više jedini dostupni način izvođenja kirurškog zahvata. Postoje dokazi koji pokazuju isti dugoročni učinak primjenom laproskopije. Također, uočen je i manji broj slučajeva koji zahtijevaju transfuziju krvi, kraće je trajanje hospitalizacije i brži je povratak funkcije crijeva. Ukoliko je riječ o neresektabilnom karcinomu rektuma ili se radi o lokalnim recidivima, kod bolesnika koji prethodno nisu primili radioterapiju, savjetuje se primjena radioterapije sa ili bez kemoterapije. Potom, nakon perioda 4-8 tjedana treba pokušati radikalno operirati tumor. Ako navedeno nije moguće, započinje se s liječenjem prema protokolu za diseminiranu bolest. (Vrdoljak i sur., 2018; Brenner i sur, 2014)

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Trend pojave kolorektalnog karcinoma je u porastu, a ujedno je i najučestalija zloćudna bolest u Hrvatskoj. Za pacijente s bolešću otkrivenom u lokaliziranom stadiju, petogodišnje preživljenje iznosi oko 90%. Prema podacima Registra za rak, samo je 11% slučajeva otkriveno u lokaliziranome stadiju, dok su u 13% pacijenata prilikom dijagnoze bile prisutne i udaljene metastaze. Navedena činjenica ukazuje na potrebu za napretkom u dijagnostici koja će osigurati pravovremeno dijagnosticiranje i liječenje novooboljelih. Istraživanjem se nastojalo utvrditi postoji li razlika u parametrima kompletne krvne slike (KKS-a) i biomarkera povezanih s upalom izvedenih iz parametara KKS, MPV/PC-a, PLR-a, NLR-a, LWR-a, LMR-a, NMR-a i LCR-a, između pacijenata s CRC-om i pacijenata s adenomom debelog crijeva. Nadalje, ovim istraživanjem ispitana je i dijagnostička točnost ovih parametara za razlikovanje pacijenta s CRC-om od onih s adenomom debelog crijeva. Ispitano je i može li se praćenjem parametara KKS-a i biomarkera povezanih s upalom, ranije prepoznati maligna preobrazba koja zahtijeva liječenje, čiji uspjeh uvelike ovisi i o stadiju u kojemu je bolest otkrivena.

3. MATERIJALI I METODE

3.1 DIZAJN ISTRAŽIVANJA

Istraživanje je provedeno u sklopu projekta „Gensko, proteinsko i RNA profiliranje kolorektalnog karcinoma primjenom tekuće biopsije“ (HRZZ broj IP-2019-04-4624, voditeljica projekta: prof.dr. sc. Karmela Barišić) u suradnji sa Zavodom za gastroenterologiju i hepatologiju i Zavodom za kliničku kemiju, Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice u Zagrebu (KBCSM), te sa Zavodom za medicinsku biokemiju i hematologiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta (FBF), Sveučilišta u Zagrebu. U istraživanje su uključeni pacijenti sa Zavoda za gastroenterologiju i hepatologiju KBCSM-a u periodu od prosinca 2019. do veljače 2024. godine. Analiza uzoraka provedena je na Zavodu za kliničku kemiju KBCSM-a u Zagrebu.

3.2 ISPITANICI I UZORCI

U istraživanje je uključeno 155 pacijenata sa sumnjom na CRC prema kliničkim simptomima. Svim uključenim sudionicima napravljena je kolonoskopija te su na osnovu rezultata histopatološke analize tkiva podijeljeni u dvije grupe, 74 pacijenata s adenomom i 81 pacijent s potvrđenim CRC-om. Histopatološka analiza bioptata provedena je prema trenutno važećim nacionalnim smjernicama i najnovijim istraživanjima (Vrdoljak E. i sur, 2018; Demirović i sur, 2017).

Istraživanje je odobreno od strane Etičke komisije KBCSM-a (broj: EP-19243/17-6) i FBF-a (broj: 251-62-03-19-29). Svi uključeni ispitanici potpisali su informirani pristanak.

Uzorkovanje krvi provedeno je ujutro, nakon 12-satnoga posta. Uzorci pacijenata prikupljeni su u K₃EDTA epruvete (Greiner Bio-One, Kremsmünster, Austria) za određivanje parametara KKS-a, i u epruvete s aktivatorom zgrušavanja (Greiner Bio-One, Kremsmünster, Austria) za određivanje koncentracije CRP u serumu. Uzorci seruma dobiveni su nakon 30-minutnog zgrušavanja i centrifugiranja na 2000g tijekom 10 minuta, na sobnoj temperaturi. Svi uzorci pune krvi i seruma, potom su analizirani.

3.3 METODE

Rutinsko određivanje parametara KKS-a provedeno je na hematološkom analizatoru Sysmex XN1000 (Sysmex Inc, Kobe, Japan), dok je koncentracija CRP-a mjerena na integriranom biokemijskom i imunokemijskom analizatoru Alinity ci-series (Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL, USA).

Vrijednosti MPV/PC-a izračunate su iz MPV-a i broja trombocita, PLR-a iz broja trombocita i apsolutnog broja limfocita, NLR-a iz apsolutnog broja neutrofila i apsolutnog broja limfocita, LWR-a iz apsolutnog broja limfocita i broja leukocita, LMR-a iz apsolutnog broja limfocita i apsolutnog broja monocita, NMR-a iz apsolutnog broja neutrofila i apsolutnog broja monocita, te LCR-a iz apsolutnog broja limfocita i vrijednosti CRP-a.

3.3.1 NAČELO RADA HEMATOLOŠKOG ANALIZATORA

Dva su osnovna načela mjerenja na kojima se temelji rad hematoloških analizatora; promjena otpora, odnosno impedance, te rasap svjetlosti, tj. optička metoda.

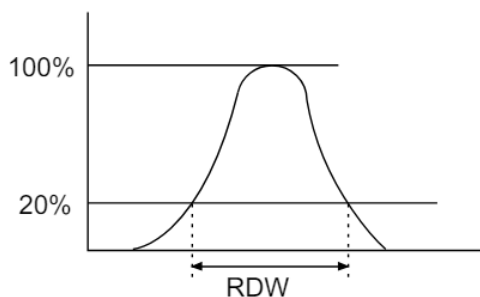
Metoda promjene impedance zasniva se na pojavi i mjerenju promjena u električnom otporu koje proizvode stanice suspendirane u elektrolitskoj otopini. Prolazak stanica kroz otvor u cijevi uzrokuje promjenu električnoga otpora između dvije elektrode, ili impedance u struji, što konačno uzrokuje mjerljive promjene napona. Broj promjena razmjernan je broju stanica, dok je intenzitet promjene razmjernan volumenu stanice. Na taj je način omogućeno razlikovanje i brojenje stanica određene veličine. Prikupljeni signali razvrstavaju se prema amplitudama, a podatci se grafički prikazuju; na apscisi veličina stanice, a na ordinati njihovi relativni brojevi. Dobiveni histogram prikazuje raspodjelu stanica po volumenu, a omogućava analizu jedne populacije stanica, kao i skupina u određenoj populaciji. Hidrodinamičkim fokusiranjem, tj. oblaganjem struje uzorka tekućinom, ispravljaju se mane metode promjene otpora kao što su recirkulacija stanica i pojava lažnih impulsa, te prolazak više stanica kroz aperturu istodobno. Optička metoda koristi karakteristike monokromatskoga svjetla u svrhu brojenja i diferenciranja vrste stanica. Pri tome se hidrodinamički fokusirana zraka uzorka usmjeri kroz kvarcnu kivetu na izvor svjetla. Prolaskom kroz područje detekcije, stanice prekidaju zraku svjetlosti čime se ona rasipa u svim smjerovima. Fotodiode i fotomultiplikatori postavljeni pod različitim kutovima detektiraju i pretvaraju raspršene zrake u električne signale, a u konačnici se dobiju

različiti fizikalni podatci o svakoj pojedinoj stanici. Instrument mjeri prednje raspršeno svjetlo, što daje podatak o veličini stanice; i postranično raspršeno svjetlo što daje podatke o sadržaju stanice (veličina jezgre, unutrašnja složenost stanice). Pri tome, rasap svjetlosti pod 0° te pod $2-3^\circ$ korelira s volumenom stanice zbog ogiba svjetlosti, dok rasap svjetlosti pod 90° te pod $5-15^\circ$ korelira sa stupnjem unutarnje složenosti, a rezultat je refrakcije i refleksije svjetla većih struktura u stanici. (Labar i sur., 2017)

Analizator Sysmex XN1000 implementira oba načela u svome radu. Dodatno, u metodi protočne citometrije pomoću poluvodičkoga lasera, osim prednje i bočne raspršene svjetlosti, mjeri se i intenzitet fluorescentnog svjetla koje emitiraju krvne stanice, a koja odgovara njihovom sadržaju DNA i RNA.

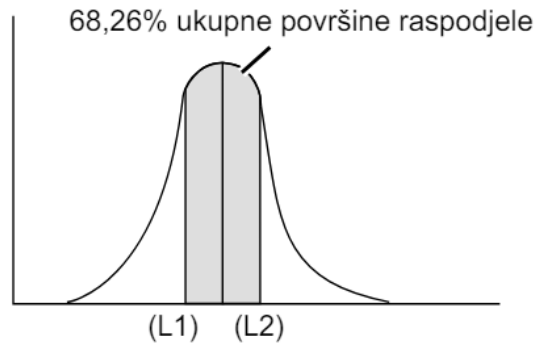
Broj eritrocita i trombocita određuje se primjenom metode hidrodinamičkoga fokusiranja. Međutim, analizator ima mogućnost odrediti iste i optičkom metodom, a trombocite i metodom fluorescencije. Hematokrit se izračunava metodom detekcije visine impulsa, odnosno zbrajanjem njihovih vrijednosti. RDW se izražava na dva načina; kao standardna devijacija ili koeficijent varijacije. Pri tome, broj eritrocita se računa kao broj čestica između donjeg i gornjeg diskriminatora koji se prema potrebi, automatski smještaju između 25-75 fL i 200-250 fL.

Pod pretpostavkom da je visina vrha 100%, širina raspodjele na frekvencijskoj razini od 20% je RDW-SD, što je prikazano i na Slici 4.



Slika 4. Izražavanje RDW-a kao RDW-SD

Ako se točke $L1$ i $L2$ nalaze na frekvenciji od 68,26% ukupne površine raspodjele, RDW-CV se računa preko jednadžbe: $RDW-CV(\%) = \frac{L2-L1}{L2+L1} \times 100$. Isto je prikazano na Slici 5.



Slika 5. izražavanje RDW-a kao RDW-CV

MPV se računa preko sljedeće formule: $MPV(fL) = \frac{PCT(\%)}{PLT \cdot 10^9/L} * 1000$, pri čemu je PCT kratica za trombokrit i izračunava se iz frekvencije trombocita.

Određivanje sadržaja hemoglobina temelji se na modifikaciji metode s kalijevim cijanidom, umjesto kojega se koristi natrijev lauril sulfat. Isti se veže na hemoglobin nakon hemolize eritrocita tvoreći kompleks, natrijev-laurosulfat-hemoglobin, čija se apsorpcija mjeri na 555 nm.

Eritrocitne konstante MCV, MCH i MCHC izračunavaju se iz broja eritrocita, hemoglobina i hematokrita prema sljedećim formulama.

$$MCV (fL) = \frac{Hct (L/L)}{Erc \cdot 10^{12} /L}$$

$$MCH (pg) = \frac{Hb (g/L)}{Erc \cdot 10^{12} /L}$$

$$MCHC (g/L) = \frac{Hb(g/L)}{Hct (L/L)}$$

Broj leukocita i diferencijalna krvna slika određuju se metodom protočne citometrije pomoću poluvodičkog lasera. (Automated Hematology Analyzer XN series, 2022)

3.3.2 NAČELO ODREĐIVANJA CRP-a

Kvantitativno određivanje koncentracije CRP-a bazira se na imunokemijskoj reakciji, odnosno reakciji antigena i antitijela. U tu svrhu koriste se lateks čestice na čijoj su površini vezana antitijela koja specifično prepoznaju CRP. Posljedica reakcije CRP-a, iz uzorka pacijenta, te antitijela, adsorbiranih na površini lateks čestica, jest tvorba imunokompleksa. Aglutinacija dovodi do zamućenja, odnosno manifestira se promjenom apsorbancije reakcijske smjese na 572 nm. Stupanj promjene apsorbancije proporcionalan je koncentraciji CRP-a u uzorku.

3.3.3 STATISTIČKA ANALIZA

Ovisno o normalnosti razdiobe podatci su prikazani kao medijan (interkvartilni rason) ili kao aritmetička sredina \pm standardna devijacija. Normalnost raspodjele ispitana je Kolmogorov-Smirnovljevim testom. Za usporedbu dvije skupine brojčanih podataka korišteni su t-test ili Mann-Whitneyev test. Dijagnostička točnost ispitana je analizom površine ispod krivulje (engl. *Receiver operating characteristic*, ROC), a rezultati su prikazani kao površina ispod krivulje (engl. *Area Under the Curve*, AUC) uz pripadajući 95 % interval pouzdanosti (engl. *95 % Confidence interval*, 95 % CI), specifičnost, točnost i granična vrijednost. P-vrijednosti manje od 0,05 smatrane su statistički značajnima.

Statistička analiza provedena je korištenjem MedCalc® statističkog softwarea verzije 22.014 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium).

4. REZULTATI

Vrijednosti parametara KKS-a za obje ispitivane skupine kao i koncentracija CRP prikazani su u Tablici 4.

Tablica 4. Parametri KKS-a ispitivanih skupina

| | <i>Adenom</i> | <i>CRC</i> | <i>P</i> |
|-----------------------------------|-----------------------|-----------------------|------------------|
| | <i>N=74</i> | <i>N=81</i> | |
| Eritrociti (*10 ¹² /L) | 4,57 ± 0,55 | 4,46 ± 0,57 | 0,238 |
| Hemoglobin (g/L) | 137 (129 - 145) | 130 (107 - 137) | 0,001 |
| Hematokrit (L/L) | 0,411 (0,391 - 0,436) | 0,396 (0,333 - 0,414) | 0,004 |
| MCV (fL) | 89,3 (87,0 - 92,4) | 86,0 (81,2 - 91,0) | 0,002 |
| MCH (pg) | 30,0 (29,0 - 31,1) | 28,6 (25,5 - 30,5) | <0,001 |
| MCHC (g/L) | 333 (327 - 340) | 329 (317 - 335) | 0,002 |
| RDW (%) | 13,2 (12,8 - 14,0) | 14,3 (13,3 - 16,2) | <0,001 |
| Leukociti (*10 ⁹ /L) | 8,26 (6,90 - 11,10) | 7,20 (6,20 - 9,23) | 0,006 |
| Neutrofili (*10 ⁹ /L) | 5,70 (4,49 - 8,02) | 4,82 (3,88 - 6,05) | 0,005 |
| Neutrofili (%) | 67,4 ± 8,6 | 66,1 ± 8,7 | 0,330 |
| Limfociti (*10 ⁹ /L) | 1,81 (1,50 - 2,30) | 1,58 (1,29 - 2,10) | 0,059 |
| Limfociti (%) | 21,7 ± 7,2 | 22,5 ± 7,5 | 0,471 |
| Eozinofili (*10 ⁹ /L) | 0,10 (0,05 - 0,17) | 0,14 (0,10 - 0,23) | 0,019 |
| Eozinofili (%) | 1,3 (0,5 - 2,1) | 2,0 (1,1 - 3,1) | 0,001 |
| Monociti (*10 ⁹ /L) | 0,70 (0,60 - 0,89) | 0,63 (0,50 - 0,78) | 0,007 |
| Monociti (%) | 8,7 ± 2,2 | 8,3 ± 2,1 | 0,282 |
| Bazofili (*10 ⁹ /L) | 0,04 (0,02 - 0,07) | 0,05 (0,02 - 0,10) | 0,253 |
| Bazofili (%) | 0,5 (0,3 - 0,7) | 0,6 (0,5 - 1,0) | 0,001 |
| Trombociti (*10 ⁹ /L) | 218 (184 - 258) | 277 (223 - 319) | <0,001 |
| MPV (fl) | 9,8 ± 1,3 | 9,2 ± 1,2 | 0,003 |
| S-CRP (g/L) | 6 (3 - 18) | 4 (2 - 11) | 0,070 |

Srednji volumen eritrocita (MCV), prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu (MCH), prosječna koncentracija hemoglobina u krvi (MCHC), raspodjela eritrocita prema veličini (RDW), srednji volumen trombocita (MPV).

Podatci su prikazani kao medijan (interkvartilni rason) ili kao aritmetička sredina ± standardna devijacija.

Korišteni su t-test ili Mann-Whitneyev test.

Pacijenti s CRC-om imali su značajno niže vrijednosti hemoglobina, u odnosu na pacijente s adenomom (130 g/L i 137 g/L, P=0,001). Također, vrijednosti hematokrita (0,396 % i 0,411 %, P=0,004) kao i eritrocitnih konstanti; MCV-a (86,0 fL i 89,3 fL, P=0,002), MCH-a (28,6 pg i 30,0 pg, P<0,001) i MCHC-a (329 g/L i 333g/L, P=0,002), bile su značajno niže u skupini pacijenata s CRC-om, dok je vrijednost RDW-a bila značajno viša u usporedbi sa skupinom pacijenta s adenomom (14,3 % i 13,2 %, P<0,001).

Apsolutni broj leukocita ($7,20 \cdot 10^9/L$ i $8,26 \cdot 10^9/L$, P=0,006), apsolutni broj neutrofila ($4,82 \cdot 10^9/L$ i $5,70 \cdot 10^9/L$, P=0,005) i apsolutni broj monocita ($0,63 \cdot 10^9/L$ i $0,70 \cdot 10^9/L$, P=0,007) značajno su niži u grupi pacijenata s CRC-om. Nasuprot tome, apsolutni ($0,14 \cdot 10^9/L$ i $0,10 \cdot 10^9/L$, P=0,019) i relativni broj (2,0 % i 1,3 %, P=0,001) eozinofila, kao i relativni broj bazofila (0,6 % i 0,5 %, P=0,001) bili su značajno viši u ispitivanoj skupini s CRC-om u odnosu na skupinu pacijenata s adenomom.

Broj trombocita značajno je viši ($277 \cdot 10^9/L$ i $218 \cdot 10^9/L$, P<0,001), dok je vrijednost MPV-a (9,2 fL i 9,8 fL, P=0,003) bila značajno niža u skupini pacijenata s CRC-om.

Tablica 5. Biomarkeri povezani s upalom dobiveni iz vrijednosti parametara KKS-a ispitivanih skupina

| | <i>Adenom</i> | <i>CRC</i> | <i>P</i> |
|--------|--------------------------|--------------------------|------------------|
| | <i>N=74</i> | <i>N=81</i> | |
| MPV/PC | 0,05 (0,03 - 0,06) | 0,03 (0,03 - 0,04) | <0,001 |
| PLR | 119,71 (102,16 - 147,03) | 167,46 (124,58 - 222,45) | <0,001 |
| NLR | 3,33 (2,54 - 4,18) | 2,99 (2,38 - 4,08) | 0,321 |
| NMR | 8,04 (6,33 - 10,05) | 8,00 (6,35 - 9,85) | 0,983 |
| LMR | 2,50 (1,94 - 3,29) | 2,60 (2,10 - 3,27) | 0,492 |
| LWR | 0,21 (0,18 - 0,25) | 0,22 (0,18 - 0,26) | 0,432 |
| LCR | 0,27 (0,09 - 0,56) | 0,36 (0,16 - 0,68) | 0,153 |

MPV/PC (MPV / broj trombocita); PLR (broj trombocita / apsolutni broj limfocita); NLR (apsolutni broj neutrofila / apsolutni broj limfocita); NMR (apsolutni broj neutrofila / apsolutni broj monocita); LMR (apsolutni broj limfocita / apsolutni broj monocita); LWR (apsolutni broj limfocita / apsolutni broj leukocita); LCR (apsolutni broj limfocita / CRP).

Podatci su prikazani kao medijan (interkvartilni rason) ili kao aritmetička sredina ± standardna devijacija.

Korišteni su t-test ili Mann-Whitneyev test.

Od svih ispitanih potencijalnih biomarkera (Tablica 5.), samo su vrijednosti MPV/PC-a i PLR-a pokazale statistički značajnu razliku između dvije ispitivane skupine pacijenata. MPV/PC vrijednost (0,03 i 0,05, $P < 0,001$) značajno je niža, dok je vrijednost PLR-a (167,46 i 119,71, $P < 0,001$) značajno viša u skupini pacijenata s CRC-om.

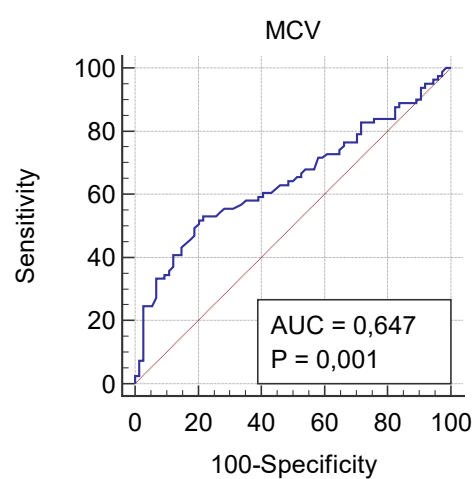
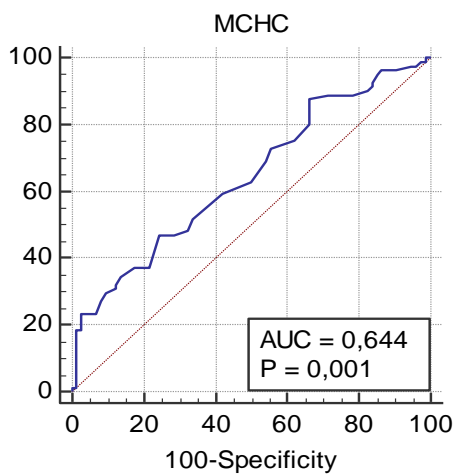
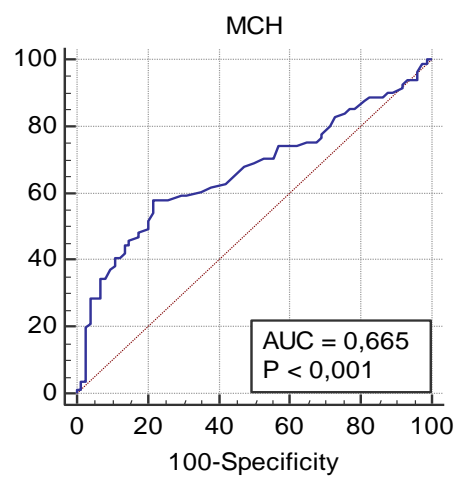
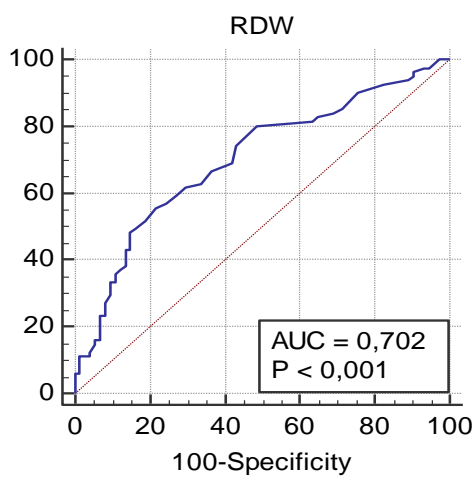
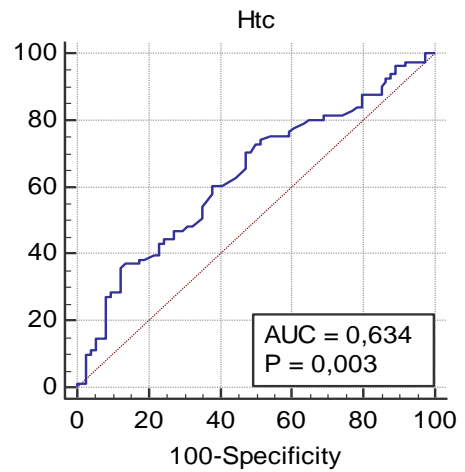
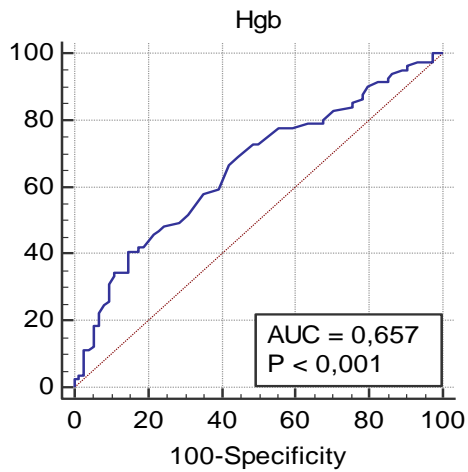
Za sve parametre koji su se pokazali statistički značajno različitima između skupine ispitanika s CRC i adenomom, u Tablici 6. i na Slikama 6., 7. i 8. prikazani su rezultati ROC analize uz AUC vrijednosti s pripadajućim 95 % CI-om, osjetljivost, specifičnost te pripadajuća granična vrijednost. Analizom ROC krivulja nijedan parametar nije pokazao zadovoljavajuću dijagnostičku točnost, za sve parametre AUC vrijednosti bile su $\leq 0,7$.

Tablica 6. Dijagnostička točnost parametara KKS-a i upalnih biomarkera dobivenih na temelju KKS-a dviju ispitivanih skupina

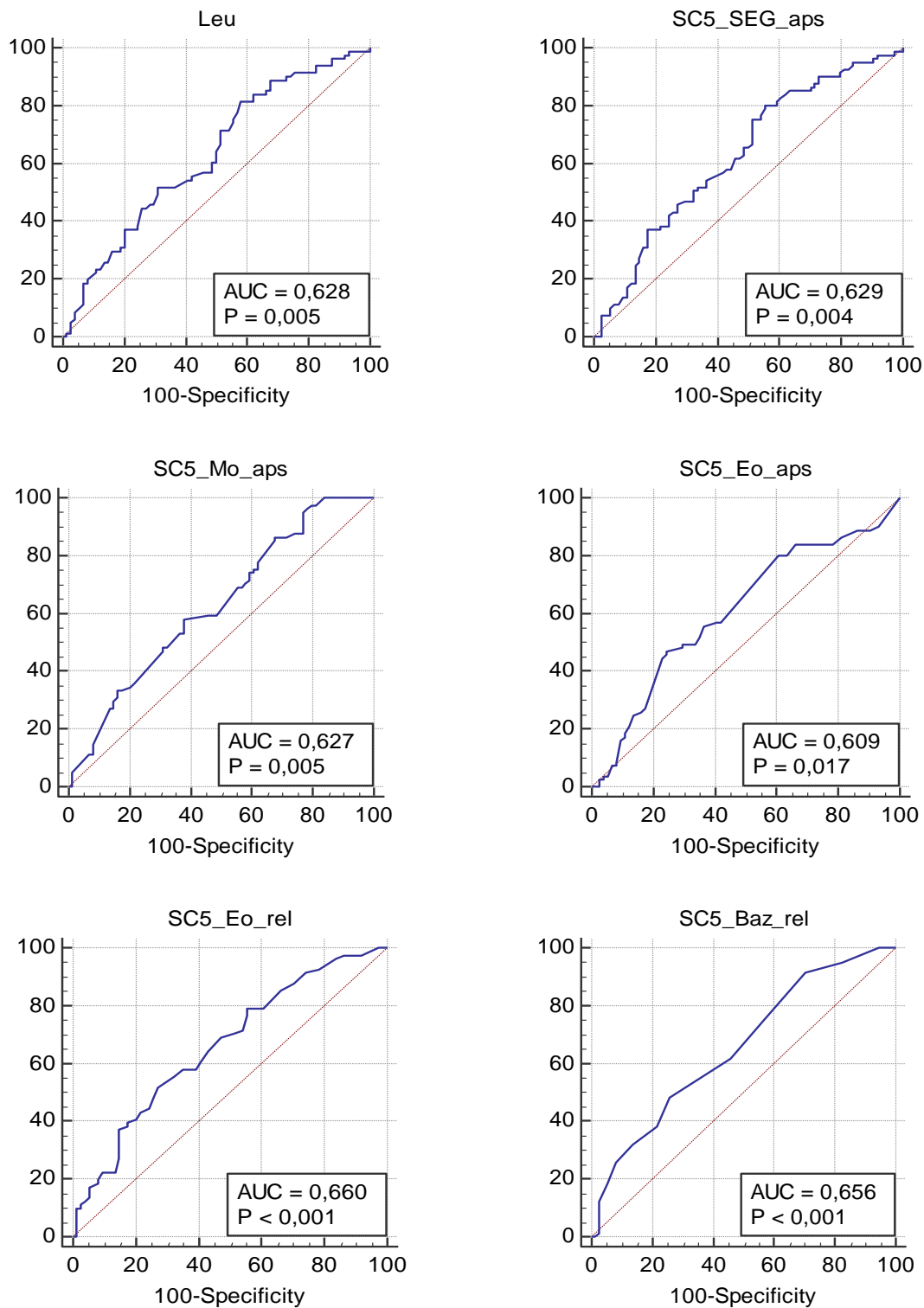
| | AUC (95% CI) | P | Osjetljivost | Specifičnost | Cut off |
|------------|---------------------|----------|---------------------|---------------------|--------------------------|
| Hemoglobin | 0,66 (0,58 – 0,73) | <0,001 | 40,74 | 85,14 | ≤122 g/L |
| Hematokrit | 0,63 (0,55 – 0,71) | 0,003 | 35,80 | 87,84 | ≤0,366 L/L |
| MCV | 0,65 (0,57 - 0,72) | 0,001 | 51,9 | 79,7 | ≤86,1 fL |
| MCH | 0,67 (0,59 – 0,74) | <0,001 | 58,02 | 78,38 | ≤28,9 pg |
| MCHC | 0,64 (0,56 – 0,72) | 0,001 | 46,91 | 75,68 | ≤326 g/L |
| RDW | 0,70 (0,62 – 0,77) | <0,001 | 55,56 | 78,38 | >14,1 % |
| Leukociti | 0,63 (0,55 – 0,70) | 0,005 | 81,48 | 41,89 | ≤9,4 *10 ⁹ /L |
| Neutrofili | 0,63 (0,55 – 0,71) | 0,004 | 80,25 | 44,59 | ≤6,31*10 ⁹ /L |
| Eozinofili | 0,61 (0,53 – 0,69) | 0,017 | 46,91 | 75,68 | >0,17*10 ⁹ /L |
| Eozinofili | 0,66 (0,58 – 0,73) | <0,001 | 51,85 | 72,97 | >1,9 % |
| Monociti | 0,63 (0,54 – 0,70) | 0,005 | 58,02 | 62,16 | ≤0,66*10 ⁹ /L |
| Bazofili | 0,66 (0,58 – 0,73) | <0,001 | 48,15 | 74,32 | >0,6 % |
| Trombociti | 0,72 (0,65 – 0,79) | <0,001 | 69,14 | 70,27 | >238*10 ⁹ /L |
| MPV | 0,63 (0,55 – 0,71) | 0,004 | 58,02 | 66,22 | ≤9,3 fL |
| PLR | 0,71 (0,64 – 0,78) | <0,001 | 62,96 | 77,03 | >150,88 |
| MPV/PC | 0,72 (0,64 – 0,79) | <0,001 | 81,48 | 55,41 | ≤0,04 |

Srednji volumen eritrocita (MCV), prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitu (MCH), prosječna koncentracija hemoglobina u krvi (MCHC), raspodjela eritrocita prema veličini (RDW), srednji volumen trombocita (MPV), MPV/PC (MPV / broj trombocita); PLR (broj trombocita / apsolutni broj limfocita).

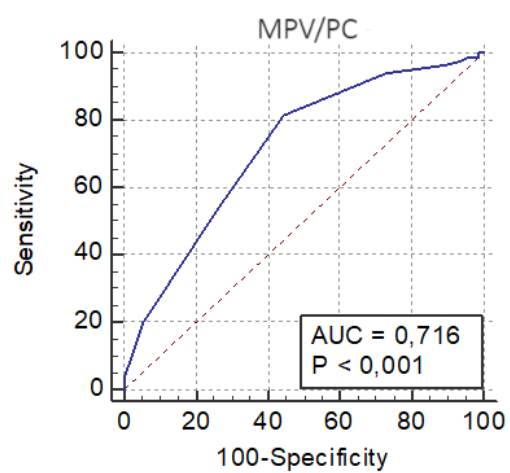
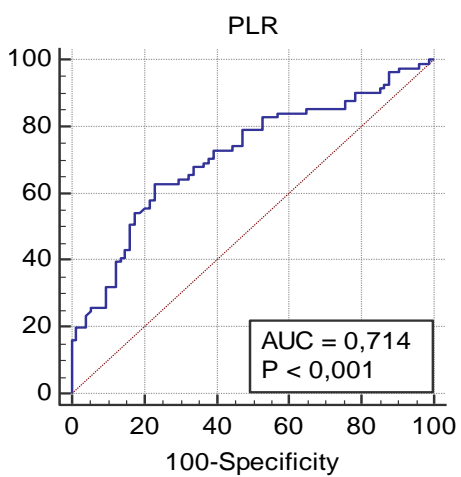
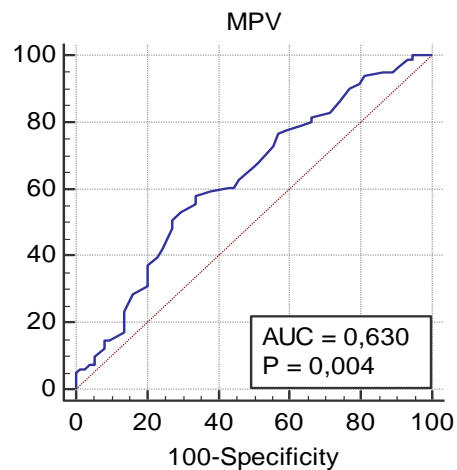
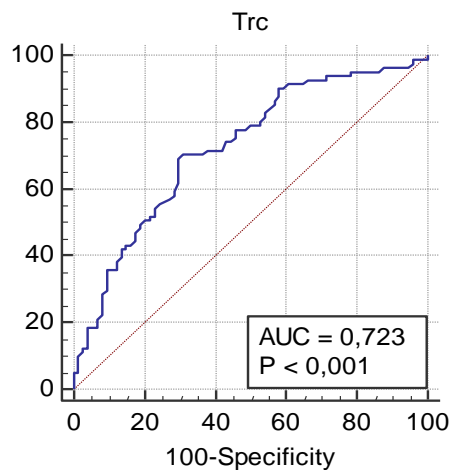
ROC analiza; rezultati su prikazani kao površina ispod krivulje (AUC) s pripadajućim 95 % intervalom pouzdanosti (95% CI), osjetljivost, specifičnost te pripadajuća granična vrijednost.



Slika 6. ROC krivulje; hemoglobin, hematokrit, RDW, MCH, MCHC, MCV



Slika 7. ROC krivulje; apsolutni broj leukocita, apsolutni broj neutrofila i monocita, apsolutni i relativni broj eozinofila, relativni broj bazofila.



Slika 8. ROC krivulje; broj trombocita, MPV, PLR, MPV/PC.

5. RASPRAVA

U ovom istraživanju fokus je bio utvrditi postoje li razlike u vrijednostima parametara KKS-a i upalnih biomarkera MPV/PC-a, PLR-a, NLR-a, LWR-a, LMR-a, NMR-a i LCR-a, između dvije skupine pacijenata, oboljelih od CRC-a te onih u stadiju adenoma.

Hemoglobin se kod pacijenata s CRC-om, ali i adenomima najčešće spominje u kontekstu hematohezije i krvarenja iz probavnoga trakta te razvoja anemije. Međutim, razlike u količini izgubljene krvi i učestalosti krvarenja postoje, te jasno mogu objasniti niže vrijednosti hemoglobina u pacijenata s CRC-om. Također, anemija u bolesnika s CRC-om potječe i od sistemskog upalnog odgovora povezanog s cirkulirajućim upalnim čimbenicima. Hematohezija je obično povezana s manje uznapredovalim stadijem karcinoma, dok se anemija veže uz uznapredovale stadije i one s višim stopama mortaliteta. (Feng i sur., 2023; Zhou i sur., 2023; Alsalman, 2022) U retrospektivnoj studiji iz 2023. ispitivana je dijagnostička vrijednost i značajnost markera povezanih s upalom u svrhu razlikovanja ranoga CRC-a i adenomatoznih polipa. Istraživanje je obuhvatilo ukupno 342 pacijenta, 216 s CRC-om i 126 pacijenata s adenomatoznim polipima. Pokazana je statistički značajna razlika u vrijednostima hemoglobina dviju skupina, uz niže vrijednosti u skupini pacijenata s CRC-om. Dodatno, temeljem multivarijantne analize, dob, vrijednosti CEA, snižen broj monocita i snižena vrijednost hemoglobina pokazali su se kao neovisni čimbenici rizika za dijagnozu stadija I CRC-a. (Feng i sur., 2023) Sukladno tome, rezultati dobiveni u ovome istraživanju ukazuju na statistički značajno niže vrijednosti hemoglobina, ali i hematokrita, MCV-a, MCH-a i MCHC-a, te više vrijednosti RDW-a u skupini pacijenata s CRC-om.

Razvoj i progresija malignih bolesti, pa tako i CRC-a blisko je povezana s imunosnim statusom organizma i upalnim odgovorom. Leukociti su glavne stanice zadužene za imunosnu obranu, ali i glavni posrednici upale. Karakteristika prisutne upale u podlozi karcinogeneze je i leukocitoza periferne krvi. Osim toga, heterogena infiltracija imunosnih stanica te promjene u broju stanica periferne krvi utječu na mikrokruženje koje podržava rast tumora. Tako je u samome procesu nastanka i progresije CRC-a primijećen porast cirkulirajućih neutrofila, kao posljedica povećanog lučenja faktora rasta koji ih privlače na mjesto upale, i smanjenje broja cirkulirajućih limfocita. Obje komponente utječu na daljnju progresiju bolesti, neutrofilu utječu

na pojačanu ekspresiju faktora rasta koji potiču rast karcinoma, dok smanjenje broja limfocita slabi antitumorski odgovor organizma. Stoga se leukocitoza, neutrofilija i limfopenija smatraju lošim prognostičkim čimbenicima. (Jia i sur., 2021) Broj bazofila još je jedan od indikatora upale čija je infiltracija u tumorskome mikrookruženju dokazana. Primijećen je povoljan utjecaj bazofilije na infiltraciju T-limfocita i suzbijanje rasta tumora. Također, uočen je i pozitivan utjecaj na humoralnu imunost. Konačno, broj bazofila u negativnoj je korelaciji s mortalitetom i morbiditetom pacijenata s CRC-om. (Liu i sur., 2020). Literaturni podatci ukazuju i na utjecaj monocita na progresiju karcinoma, kako u ranijim stadijima bolesti pa tako i u metastaziranju. Povećani broj monocita, prijeoperativno i postoperativno, u nekoliko je istraživanja pokazan kao faktor rizika za kraće ukupno preživljenje (Jakubowska i sur., 2020). U ovome istraživanju, u grupi pacijenata s CRC-om apsolutni broj leukocita, neutrofila i monocita statistički su značajno niži, dok je relativan broj bazofila statistički značajno viši u usporedbi sa skupinom pacijenata s adenomom.

Eozinofili su kao subpopulacija leukocita najviše proučavani u kontekstu parazitarne infekcija i alergija. Unatoč tome, utvrđeno je da eozinofili infiltriraju više vrsta karcinoma uključujući karcinome mjehura, želudca, jednjaka, glave i vrata, pluća, jetre, jajnike i cerviksa. Meta-analizom iz 2020., koja je uključila 6384 pacijenata iz 26 istraživanja, utvrđena je značajna povezanost između s tumorom povezane tkivne eozinofilije (engl. *Tumor-associated tissue eosinophilia*, TATE) i ukupnog preživljenja pacijenata s različitim solidnim tumorima, posebice CRC-om. (Hu i sur., 2020.) Ovim istraživanjem također je uočena eozinofilija u perifernoj krvi pacijenata s CRC-om. Ipak, korelacija broja eozinofila u perifernoj krvi i patogeneze CRC-a još nije utvrđena. Retrospektivna studija iz 2022. godine bila je provedena s ciljem da se procijeni povezanost trenda apsolutnog broja eozinofila u perifernoj krvi i dijagnoze CRC-a. Sveukupno je bilo uključeno 8334 pacijenata s CRC-om te 8334 zdravih kontrola, a u konačnici je pozitivna linearna promjena apsolutnoga broja eozinofila detektirana kao neovisni prediktor CRC-a. Moguće objašnjenje ove pojave jest regrutiranje eozinofila u mikrookruženje samoga tumora. Uz dodatne studije, autori sugeriraju da bi promjena apsolutnoga broja eozinofila u budućnosti mogla poslužiti kao dodatna metoda probira. (Rosman i sur., 2022.)

Promjene hemostaze obično prate progresiju malignih bolesti, a svaka pojedina komponenta može biti pogođena. Većina pacijenata s aktivnom neoplastičnom bolesti pokazuje određene promjene u hemostatskome procesu, a manjina njih, također će razviti kliničku trombozu ili krvarenje. Konačno, tromboza može biti prvi znak maligne bolesti, koji mjesecima ili čak godinama prethodi kliničkom otkrivanju raka (Goldsmith, 2001, Falanga i sur., 2013). Međutim, i sam hemostatski sustav utječe na malignu tvorbu. Hemostatske komponente, kao što su trombin, tkivni faktor, faktor VIIa, Xa, fibrinogen i vaskularne stanice igraju ulogu u progresiji, rastu i diseminaciji tumora, a mogu biti ovisni i neovisni o zgrušavanju (Falanga, 2013). CRC, ali i druge solidne maligne bolesti, prate promjene hemostaze koje često favoriziraju nastanak trombotičkog potencijala. Nadalje, nastalo hiperkoagulabilno stanje povezuje se s tvorbom udaljenih metastaza, neovaskularizacijom i zaštitom tumorskih stanica od domaćinog imunskog sustava. Pojačana metabolička aktivnost i rast CRC-a zahtjeva angiogenezu, a sam taj proces karakteriziran je nastankom krvnih žila prokoagulantnog fenotipa, tvorbom mikrotromba koji favoriziraju hipoksično stanje, koje u konačnici rezultira pojačanom ekspresijom molekula koje potiču neoangiogenezu. Dodatno, izloženi subendotelni matriks novonastalih krvnih žila, osim što djeluje prokoagulantno, također promovira lokalni rast tumora i njegovu sposobnost izmicanja stanicama imunskog sustava. Trombociti degranulacijom oslobađaju brojne molekule, koje osim reguliranja hemostaze kontroliraju i već spomenute procese neovaskularizacije te upalu usmjerenu na stanice tumora, kao i upalni odgovor tumorskih stanica. Konačno, svojim površinskim receptorima mogu vezati neoplastične stanice te ih maskirati kako bi izbjegle nadzor T-limfocita i NK-stanica. Oslobađanjem adhezijskih molekula i proteina PDGF (engl. *Platelet-derived growth factor*, PDGF) i TGF- β (engl. *Transforming growth factor beta*, TGF- β), olakšavaju vezanje kompleksa trombocita i tumorskih stanica na mjesto diseminacije te direktno inhibiraju citotoksični učinak stanica ubojica (Seretis i sur, 2015). Sam broj trombocita može biti povišen i snižen, ali i unutar referentnih vrijednosti, unatoč prisutnom hiperkoagulabilnom i proupalnom stanju. Za potonje su odgovorni jednako povećanje i proizvodnje i potrošnje trombocita. Stoga bi prisutnost trombocitoze mogla ukazivati na stanje bolesti u kojem je kompenzacija prevladana, to jest veći je opseg diseminacije karcinoma. Promjena MPV-a pokazala se povezanom s različitim zloćudnim bolestima kao što su karcinom štitnjače, jetre, bubrega, dojke, jednjaka te CRC, a veže su uz njihovu aktivaciju i proizvodnju. Iako je indikator upalne bolesti, vezan uz njezinu aktivnost i jačinu, sama implikacija MPV-a još se čini kontroverznom.

Pojedina su istraživanja uočila u pacijenata s karcinomom jetre i pankreasa više vrijednosti MPV-a negoli u zdravih kontrola. Također, određene su studije ukazale na pozitivnu korelaciju povišenog MPV-a i viših stadija hepatocelularnog karcinoma i karcinoma endometrija (Kurtoglu i sur, 2015, Cho i sur, 2013; Karaman i sur, 2011). Međutim, pronađena je i značajnost nižih razina MPV-a kao neovisnog prognostičkog pokazatelja kraćeg razdoblja bez bolesti i ukupnog preživljenja kod pacijenata s resektabilnim karcinomom pluća nemalih stanica (Kumagi i sur, 2015). Dodatno, uočena je i korelacija nižih razina MPV-a i viših stadija tumora te lošije prognoze pacijenata s CRC-om (Qian i sur, 2019).

U ovome istraživanju primijećeni su značajno veći broj trombocita i značajno niža vrijednost MPV-a u skupini pacijenata s CRC-om. Veći je broj kliničkih studija provedeno u svrhu ispitivanja prognostičkoga značenja ovih dvaju parametara. Istraživanje provedeno 2022. uključilo je 97 pacijenata prije primjene terapije koji su bili podijeljeni u dvije grupe s obzirom na lokalizaciju karcinoma na desnoj, odnosno lijevoj strani crijeva. U skupini pacijenata s desnostranim, ali ne i s lijevostranim CRC-om, trombocitoza je bila povezana s kraćim periodom bez bolesti. Dodatno, niže vrijednosti MPV-a u obje su skupine bile povezane s kraćim periodom bez bolesti, te su također, autori niže vrijednosti uočili u bolesnika s ranijim stadijima bolesti (Alsaman i sur, 2022.). Slično tome, u retrospektivnoj studiji koja je uključila 148 pacijenata, 53 s metastatskim i 95 pacijenata s nemetastatskim CRC-om, vrijednosti MPV-a bile su više kod pacijenata s metastatskom bolesti. Međutim, u skupini pacijenata s metastatskim CRC-om, uočeno je kraće razdoblje bez progresije bolesti za one pacijente s višim vrijednostima MPV-a (Tuncel i sur, 2014). Druge su studije opazile pad vrijednosti MPV-a s obzirom na više stadije prema TNM-klasifikaciji, ali još uvijek bez značajne korelacije (Alsaman i sur., 2022; S. Lalošević i sur., 2019). Meta-analiza iz 2016. obuhvatila je 30 različitih studija vezanih uz prognostičku značajnost povišenoga broja trombocita prije uvođenja terapije u pacijenata s CRC-om. Isti se pokazao kao neovisan prognostički pokazatelj kraćeg ukupnog preživljenja kao i kraćeg razdoblja bez bolesti (Long i sur, 2016). Dodatno, meta-analiza temeljena na 9 retrospektivnih kohortnih studija, bavila se sličnim pitanjem. Istraživanje je obuhvatilo 3413 pacijenata, a u konačnici je povišen broj trombocita povezan s kraćim razdobljem bez bolesti i ukupnim preživljenjem (Rao i sur, 2018).

Od većega interesa nedavno su, osim ukupnoga broja trombocita i MPV-a, također i omjeri izvedeni pomoću njih, MPV/PC i PLR, ispitivani kao novi klinički biomarkeri. Ovim

istraživanjem, sukladno literaturnim podacima, utvrđena je statistički manja vrijednost MPV/PC-a i veća vrijednost PLR-a u bolesnika s CRC-om. Retrospektivnom studijom, koja je obuhvatila 526 pacijenata, 186 dijagnosticiranih s CRC-om, 132 pacijenta s adenomom i 108 zdravih kontrola, pokazana je značajno niža vrijednost MPV/PC-a u skupini pacijenata s CRC-om u usporedbi sa skupinama zdravih kontrola i pacijenata s adenomom. Također, postojala je i značajna razlika u vrijednostima MPV/PC-a između pacijenata sa stadijima I/II te stadijima III/IV CRC-a, kao i između onih s metastazama u regionalnim limfnim čvorovima. Konačno, autori su predložili korištenje MPV/PC-a kao dijagnostičkog markera za razlikovanje malignog i benignog tumora, kao i ranog od uznapredovalog CRC-a (Wu i sur, 2019). Suglasno s tim istraživanjem, i ovo je dokazalo postojanje razlike u vrijednostima MPV/PC između skupine pacijenata s CRC-om i skupine pacijenata s adenomom, uz značajno niže vrijednosti u skupini oboljelih od karcinoma.

PLR je kao sistemski upalni biljeg povezivan uz lošu prognozu u različitim vrstama karcinoma, pa tako i u CRC-u, ali s različitim optimalnim cut-off vrijednostima ovisno o malignom tumoru. Meta-analiza koja je uključila 24 istraživanja i 13719 pacijenata, ukazala je na jaku povezanost visokog PLR-a s lošijim ukupnim preživljenjem u pacijenata s CRC-om. Međutim, nisu našli povezanost istoga s razdobljem bez bolesti i preživljenjem specifičnim za karcinom (Chen i sur, 2017). Studija iz 2021. uključila je 71 pacijenata, stadija III i IV koji su primali neoadjuvantnu kemoradioterapiju, s ciljem određivanja povezanosti upalnih markera s ukupnim i preživljenjem bez bolesti. Istraživanje je pokazalo korelaciju i NLR-a i PLR-a s ukupnim preživljenjem pacijenata. Nadalje, dvama su različitim testovima ispitali značajnost korelacije PLR-a s preživljenjem bez bolesti. Iako jedan test nije ukazao na značajnu korelaciju, drugim je testom skoro postignuta zadovoljavajuća značajnost (Solak Mekić i sur, 2018). Uz to, retrospektivna analiza na 198 bolesnika sa CRC-om i 254 pacijenata sa adenomatoznim polipom ispitana je značajnost razlike u vrijednostima NLR-a, PLR-a, broja trombocita i MPV-a između tih dviju skupina. Dok su vrijednosti NLR-a, PLR-a i trombocita bile značajno više u skupini pacijenata s CRC-om, vrijednost MPV-a bila je viša u skupini pacijenata s adenomatoznim polipom (Tao i sur, 2020). Uz to, istraživanje na 752 ispitanika također je utvrdilo postojanje značajne razlike vrijednosti NLR-a između ispitivanih skupina pacijenata s CRC-om, adenomatoznim polipom i zdravih kontrola, s najvišim vrijednostima u pacijenata s karcinomom. Uz to, autori su naglasili važnost NLR-a posebice za pacijente s adenomom zbog

njegove visoke specifičnosti u razlikovanju od zdravih kontrola (Zhou i sur., 2017). Suprotno tim studijama, u ovoj nije pronađena značajna razlika u vrijednostima NLR-a između ispitivanih skupina.

Broj neutrofila sve se više istražuje u kontekstu NLR-a. Nedavna su saznanja i prikupljeni dokazi pokazali da neutrofili, poznati kao „neutrofili povezani sa tumorom“ (engl. Tumor-Associated Neutrophils, TAN), mogu podržati rast i invaziju stanica raka, kao i angiogenezu, iako se klasično smatralo da ispoljavaju obrambeni odgovor protiv tumorskih stanica. Imunohistokemijske analize potvrdile su prisutnost neutrofila i njihovu pomiješanost u tkivima različitih karcinoma. Tumorske stanice luče kemokine koji usmjeravaju migraciju neutrofila prema lokaciji tumora, koju potom infiltriraju i pospješuju daljnju diseminaciju. Sam odnos infiltracije TAN-a i prognoze karcinoma u ljudi nije dovoljno istražena i uvelike je kontroverzna, dok je povećanje broja neutrofila u perifernoj krvi, kao i porast NLR-a, povezan s lošim kliničkim ishodima raka gušterače, želudca i dojke. Visoki NLR također se pokazao kao loš prognostički faktor u bolesnika s CRC-om (Zheng i sur., 2022; Mizuno i sur., 2019). S druge pak strane, neutropenija koja se može uočiti kod pacijenata s CRC-om, veže se uz primijenjenu kemoterapiju (engl. *chemotherapy-induced neutropenia*, CIN). Dodatno, CIN je jedna od najčešćih nuspojava povezanih s kemoterapijskim lijekovima koji se primjenjuju sustavno i odraz je sistemske toksičnosti (Kim i sur., 2021). Nekoliko je izvještaja sugeriralo da bi CIN mogao biti pozitivan prognostički faktor kod pacijenata koji su primali kemoterapiju za rak dojke, jajnika, limfom i CRC (Zhou i sur., 2017). U istraživanju na 246 pacijenata, neutropenija je bila neovisni pozitivni prognostički čimbenik za preživljenje bez bolesti, a ujedno je bila povezana s intenzivnijim liječenjem (Cashin i sur., 2020). Međutim, razlika u broju neutrofila između pacijenata s CRC-om i pacijenata s adenomom nije opsežno istraživana tema. Retrospektivnom studijom koja je ispitala dijagnostičku vrijednost pokazatelja povezanih s upalom, među njima i aposlutnog broja neutrofila, u razlikovanju CRC-a i kolorektalnog adenoma, nije pronađena značajna razlike u dvije ispitivane skupine (Feng i sur., 2023).

Uz već spominjane omjere, i drugi biomarkeri povezani s upalom, LMR, LCR, LWR i NMR, ispitivani su u različitim vrstama tumora, uključujući i CRC. Chan i sur. ukazali su na vrijednost povišenog LMR-a kao neovisnog prognostičkog pokazatelja duljeg ukupnog preživljenja za pacijente s CRC-om koji su podvrgnuti kirurškoj resekciji. Također, uočena je povezanost

LMR-a i kliničko-patoloških čimbenika. Nizak LMR autori su uočili u uznapredovanom T stadiju i tumorima koji su histološki visokog gradusa, kao i u onih tumora koji su lokalizirani na lijevoj strani kolona. (Chan i sur., 2017) Krakowska i sur., retrospektivnom studijom na 295 pacijenata, također su povezali povišeni LMR s povoljnijom prognozom i duljim razdobljem bez bolesti u pacijenata s uznapredovalim CRC-om. (Krakowska i sur., 2018) Nadalje, Li i sur. odredili su dijagnostičku vrijednost upalnih markera u dvije kohorte koje su uključile zdrave kontrole, pacijente s adenomom i CRC-om. Autori su posebno istaknuli vrijednost korištenja PLR-a, LMR-a i CEA za učinkovito razlikovanje ranog CRC-a od zdravih kontrola i adenomatoznih polipa. Naime uočene su značajno više vrijednosti PLR-a i značajno niže vrijednosti LMR-a u pacijenata s ranim stadijem CRC-a u usporedbi s druge dvije grupe. Nadalje, vrijednost LMR-a isto se pokazala značajno nižom u pacijenata s uznapredovalim CRC-om, u odnosu na pacijente s ranijim stadijem (Li i sur., 2019).

LCR je u više istraživanja ustanovljen kao neovisni prognostički čimbenik koji korelira i s ukupnim i s preživljenjem bez bolesti (Nakamura i sur., 2021; Okugawa i sur., 2019; Suzuki i sur., 2019). Također, prema retrospektivnoj studiji, nizak LCR nakon kemoradioterapije značajno je korelirao s lošom prognozom u pacijenata s CRC-om, odnosno s kraćim ukupnim preživljenjem (Nishi i sur., 2021). Retrospektivno istraživanje na 145 pacijenata, koji su prošli kroz ciklus predoperativne neoadjuvantne kemoradioterapije, pokazalo je značajnu korelaciju LWR-a sa spolom i lokacijom tumora. Također, grupa pacijenata s višim LWR-om pokazivala je dulje ukupno preživljenje i preživljenje bez bolesti, međutim isti se nije pokazao kao njihov neovisni pokazatelj (Jia i sur., 2021). Uz to, kohortna studija na 177 pacijenata kojima je predoperativno određen LWR, pokazala je njegovu korist kao nezavisnog čimbenika rizika za ukupni morbiditet i višestruke morbiditete nakon elektivne operacije CRC-a (Jun Ang i sur., 2021). Manji se broj istraživanja do sada fokusirao na NMR-a kao upalni biomarker CRC-a ili kolorektalnih adenoma. Kostakis i sur. su ispitivanjem vrijednosti predoperativnih rezultata KKS-a na 167 pacijenata ukazali na povezanost NMR-a s veličinom tumora, stadijem bolesti i prisutnošću udaljenih metastaza. Dodatno, pacijenti s višim stadijima bolesti, udaljenim metastazama i većim dijametrom tumora pokazivali su značajno više vrijednosti NMR-a (Kostakis i sur., 2018).

Ovim istraživanjem nisu pronađene značajne razlike u vrijednostima LMR-a, LCR-a, LWR-a i NMR-a između skupine pacijenata s CRC-om i adenomom. Kao mogući uzrok drugačijih rezultata nameće se različiti dizajn istraživanja.

U ovom istraživanju jedan od ciljeva bio je određivanje dijagnostičke točnosti parametara KKS-a i izračunatih upalnih biomarkera koji su se pokazali značajno različitim između dvije ispitivane skupine. Međutim, ROC analizom nijedan parametar nije pokazao zadovoljavajuće rezultate. Veći je broj istraživanja proveden s ciljem određivanja dijagnostičke točnosti parametara KKS-a i upalnih biomarkera čiji su rezultati pokazali dobru dijagnostičku točnost. Stojković Lalošević i sur. ispitali su učinkovitost određivanja NLR-a, PLR-a i MPV-a u svrhu detekcije novih slučajeva CRC-a. Rezultati su ukazali na visoku dijagnostičku točnost kombiniranog određivanja NLR-a i PLR-a. Dodatno, određivanjem MPV-a uz prethodna dva omjera, autori su za kombinaciju ova tri markera postigli još veću dijagnostičku točnost negoli za svaki pojedinačno (Stojković Lalošević i sur., 2019). Nadalje, Wu i sur. su uz MPV ispitali i dijagnostičku točnost MPV/PC-a za razlikovanje CRC-a od adenomatoznih polipa i zdravih osoba. Također, izračunate su i dijagnostička osjetljivost i specifičnost za svaki parametar. ROC krivulje su ukazale na visoku dijagnostičku točnost MPV/PC-a u razlikovanju spomenutih grupa, uz puno veću efikasnost od korištenja NLR-a, PLR-a ili MPV-a zasebno (Wu i sur., 2019). Još jednom, razlike u dizajnu studije te razlika u odabiru ispitivanih skupina, mogući je uzrok i drugačijeg krajnjeg ishoda.

U skladu s brojnim drugim istraživanjima, niže su vrijednosti hemoglobina uočene u pacijenata s CRC-om, vjerojatno zbog učestalijeg i obilnijeg krvarenja iz probavnoga trakta. Više vrijednosti bazofila i eozinofila pokazala je skupina pacijenata s CRC-om. Obje podvrste polimorfonukleara povezane su s upalom u kontekstu CRC-a, međutim uz dosadašnje kontroverzne rezultate i daljnjom potrebom za studijama koje će razjasniti ulogu bazofila u tumorskom mikrokruženju. Unatoč češće uočenoj neutrofiliji i leukocitozi kod pacijenata s CRC-om, rezultati su pokazali više vrijednosti neutrofila i leukocita u skupini pacijenata s adenomom. Također, u istoj je skupini i broj monocita bio viši. Nadalje, u skladu s drugim provedenim istraživanjima, uočene su više vrijednosti trombocita i niža vrijednost MPV-a u skupini pacijenata s CRC-om negoli u skupini pacijenata s adenomom. U konačnici, rezultati dobiveni u ovome radu pokazuju statistički značajnu razliku u vrijednostima PLR-a i MPV/PC-

a između dvije ispitivane skupine, uz više vrijednosti PLR-a i niže vrijednosti MPV/PC-a u skupini pacijenata s CRC-om. Uz to, statističkom analizom nije uočena značajna razlika u vrijednostima ostalih istraživanih omjera NLR-a, NMR-a, LMR-a, LWR-a i LCR-a između pacijenata s CRC-om i pacijenata s adenomatoznim polipom. Od svih parametara koji su se razlikovali između ispitivanih skupina niti jedan se nije pokazao kao potencijalni biomarker za razlikovanje bolesnika s CRC i adenomom tj. niti jedan od testiranih parametara nije pokazao zadovoljavajuću dijagnostičku točnost.

6. ZAKLJUČAK

1. Vrijednosti hemoglobina, hematokrita i eritrocitnih konstanti, MCV-a, MCH-a i MCHC-a pokazale su se značajno nižima u skupini pacijenata s CRC-om, uz značajno više vrijednosti RDW-a u usporedbi sa skupinom pacijenata s adenomom.
2. Broj leukocita, apsolutni broj neutrofila i monocita značajno su niži u skupini pacijenata s CRC-om, dok su apsolutni i relativni broj eozinofila te relativni broj bazofila značajno viši u odnosu na skupinu pacijenata s adenomom.
3. Broj trombocita značajno je viši u skupini pacijenata s CRC-om, a ista je skupina pokazala i statistički značajno niže vrijednosti MPV-a.
4. Od ispitanih potencijalnih biomarkera, vrijednosti MPV/PC-a i PLR-a pokazale su statistički značajnu razliku između dviju ispitanih skupina. Pri tome, niža vrijednost MPV/PC-a i viša vrijednost PLR-a uočena je u skupini pacijenata s CRC-om.
5. Unatoč postojanju značajne razlike, analizom ROC krivulja nijedan parametar nije pokazao dovoljnu dijagnostičku točnost za razlikovanje dviju ispitivanih skupina.

7. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA

APC - engl. Adenomatous Polyposis Coli

AUC – engl. Area Under the Curve

BRAF - engl. V-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1

CCND1 - engl. Cyclin D1

CDKN2A - engl. Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A

CEA - engl. Carcinoembryonic antigen

CI – Confidence interval

CIMP - engl. CpG island methylator phenotype

CIMP-H - engl. CIMP-high

CIMP-L - engl. CIMP-low

CIN - engl. chemotherapy-induced neutropenia

CIN - engl. Chromosomal instability

CRC - engl. Colorectal Cancer

EGF - engl. Epidermal growth factor

EGFR - engl. Epidermal growth factor receptor

EPCAM - engl. Epithelial cellular adhesion molecule

HNPCC - engl. Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer

KKS - kompletna krvna slika

KRAS - engl. Kirsten rat sarcoma virus

LCR – engl. lymphocyte to CRP ratio

LMR – engl. lymphocyte to monocyte ratio,

LWR – engl. lymphocyte to leukocyte ratio

MAFG - engl. V-maf avian musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog G

MCH – engl. Mean Cell Hemoglobin

MCHC – engl. Mean Cell Hemoglobin Concentration

MCV – engl. Mean Corpuscular Volume

MINT 1, 2, 31 - engl. methylated in tumors 1, 2, 31

MLH1 - engl. MutL homolog 1

MLR – engl. monocyte to lymphocyte ratio

MMR - engl. DNA Mismatch Repair

MPV – engl. Mean Platelet Volume
MPV/PC – engl. MPV to platelet ratio
MSH2, 6- engl. MutS homolog 2, 6
MSI - engl. Microsatellite instability
MSI-H - engl. MSI-high
MSI-L - engl. MSI-low
MSS - engl. Microsatellite stable
MYC - engl. Myelocytomatosis oncogene
NLR – engl. neutrophil to lymphocyte ratio
NMR – engl. neutrophil to monocyte ratio
NOS - engl. Not Otherwise Specified
PDGF – engl. Platelet-derived growth factor, PDGF
PHD - patohistološka dijagnoza
PIK3CA - engl. Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphate 3-Kinase
PLR – engl. platelet to lymphocyte ratio
PMS2 - engl. Postmeiotic segregation increased 2
RDW – engl. Red Cell Distribution Width
ROC – engl. Receiver operating characteristic
SMAD4 - engl. mothers against decapentaplegic homolog 4
TAN – engl. Tumor-Associated Neutrophils
TATE – engl. Tumor-associated tissue eosinophilia
TGF- β – engl. Transforming growth factor beta
TP53 - engl. Tumor protein 53
VEGF - engl. Vascular endothelial growth factor
Wnt - engl. Wingless related integration site

8. LITERATURA

Aceto GM, Catalano T, Curia MC. Molecular Aspects of Colorectal Adenomas: The Interplay among Microenvironment, Oxidative Stress, and Predisposition. *BioMed Res Int*, 2020, 2020, 1726309.

Als Salman A, Al-Mterin MA, Abu-Dayeh A, Alloush F, Murshed K, Elkord E. Associations of Complete Blood Count Parameters with Disease-Free Survival in Right- and Left-Sided Colorectal Cancer. *J Pers Med*, 2022, 12, 816.

Arends MJ. Pathways of colorectal carcinogenesis. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2013, 21(2), 97-102.

Automated Hematology Analyzer XN series (XN-1000), 22. izdanje. Sysmex Corporation, Kobe, Japan, 2022.

Ballinger AB, Anggiansah C. Colorectal cancer. *BMJ*, 2007, 335(7622), 715-718.

Bergman Marković B. Prevencija i rano otkrivanje karcinoma debelog crijeva. *Acta Med Croatica*, 2015, 69, 365-371.

Brenner H, Kloor M, Pox CP. Colorectal cancer. *Lancet*, 2014, 383 (9927), 1490-1502.

Brkić T, Grgić M. Kolorektalni karcinom. *Medicus*, 2006, 15(1), 89-97.

Brown KGM, Solomon MJ, Mahon K, O'Shannassy S. Management of colorectal cancer. *BMJ*, 2019, 366, l4561.

Cashin PH, Ghanipour L, Enblad M, Morris DL. Neutropenia in colorectal cancer treated with oxaliplatin-based hyperthermic intraperitoneal chemotherapy: An observational cohort study. *World J Gastrointest Oncol*, 2020, 12(5), 549-558.

Chan J, Chan DL, Diakos C, Engel A, Pavlakis N, Gill A, Clarke SJ. The Lymphocyte-to-Monocyte Ratio is a Superior Predictor of Overall Survival in Comparison to Established Biomarkers of Resectable Colorectal Cancer. *Ann Surg*, 2017, 265(3), 539-546.

Chen N, Li W, Huang K, Yang W, Huang L, Cong T, Li Q, Qiu M. Increased platelet-lymphocyte ratio closely relates to inferior clinical features and worse long-term survival in both resected and metastatic colorectal cancer: an updated systematic review and meta-analysis of 24 studies. *Oncotarget*, 2017, 8(19), 32356-32369.

Cho SY, Yang JJ, You E, Kim BH, Shim J, Lee HJ, Lee WI, Suh JT, Park TS. Mean platelet volume/platelet count ratio in hepatocellular carcinoma. *Platelets*. 2013, 24(5), 375-377.

Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, Kasi PM, Wallace MB. Colorectal cancer. *Lancet*, 2019, 394 (10207) , 1467-1480.

Demirović A, Krušlin B. Preporuke za patohistološki pregled i nalaz uzoraka debelog crijeva s karcinomom. *RAD HAZU Medicinske znanosti*, 2017, 530 (44), 67-71.

Dulal S, Keku TO; Gut microbiome and colorectal adenomas. *Cancer J*, 2014, 20(3), 225-231.

Falanga A, Marchetti, Vignoli A; Coagulation and cancer. biological and clinical aspects. *J Thromb Haemostasis*, 2013, 11(2), 223-233.

Feng Z, Lin H, Yang X, Cao S, Gu X, Zhang Z, Deng W. Diagnostic Value of Inflammation-Related Indicators in Distinguishing Early Colon Cancer and Adenomatous Polyps. *Cancer Control*. 2023, 30, 10732748231180745.

Fleming M, Ravula S, Tatishchev SF, Wang HL. Colorectal carcinoma: Pathologic aspects. *J Gastrointest Oncol*, 2012, 3(3), 153-173.

Goldsmith GH. Hemostatic changes in patients with malignancy. *Int J Hematol*, 2001,73 (2), 151-156.

Hamilton W, Lancashire R, Sharp D, Peters Tim, Cheng KK, Marshall T. The risk of colorectal cancer with symptoms at different ages and between the sexes: a case-control study. *BMC Medicine*, 2009, 7, 17.

Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Registar za rak Republike Hrvatske. Incidencija raka u Hrvatskoj 2020., Bilten 45, Zagreb, 2022.

Hu G, Wang S, Zhong K, Xu F, Huang L, Chen W, Cheng P. Tumor-associated tissue eosinophilia predicts favorable clinical outcome in solid tumors: a meta-analysis. *BMC Cancer*. 2020, 20, 454.

Itzkowitz SH, Yio X; Inflammation and cancer IV. Colorectal cancer in inflammatory bowel disease: the role of inflammation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2004,287(1),G7-G17.

Jakubowska K, Koda M, Grudzińska M, Kańczuga-Koda L, Famulski W. Monocyte-to-Lymphocyte ratio as a prognostic factor in peripheral whole blood samples of colorectal cancer patients. *World J Gastroenterol*, 2020, 26(31), 4639-4655.

Jia W, Yuan L, Ni H, Xu B, Zhao P. Prognostic Value of Platelet-to-Lymphocyte Ratio, Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio, and Lymphocyte-to White Blood Cell Ratio in Colorectal Cancer Patients Who Received Neoadjuvant Chemotherapy. *Technol Cancer Res Treat*, 2021, 20, 15330338211034291.

Jun Ang J, Chia DKA, Hong Chan DK. Lymphocyte-White Cell Ratio is a Novel Marker of Morbidity Following Colorectal Cancer Surgery. *J Surg Res*, 2021, 259, 71-78

Kapitanović S. Molecular stratification of sporadic and hereditary colorectal cancer – mini review. *Med Sci*, 2017, 44, 73-79.

Karaman K, Bostanci EB, Aksoy E, Kurt M, Celep B, Ulas M, Dalgic T, Surmelioglu A, Hayran M, Akoglu. The predictive value of mean platelet volume in differential diagnosis of non-functional pancreatic neuroendocrine tumors from pancreatic adenocarcinomas. *Eur J Intern Med.* 2011, 22, 95-98.

Kim S, Kang S, Kim S, Kim JH. Prognostic Implications of Chemotherapy-Induced Neutropenia in Stage III Colorectal Cancer. *J Surg Res,* 2021, 267, 391-396.

Kostakis ID, Vaiopoulos AG, Garoufalia Z, Papavassiliou AG, Kykalos S, Kouraklis G, Tsourouflis G. What can preoperative blood tests tell us about colorectal cancer? *J Buon.* 2018, 23(7), 84-95.

Krakowska M, Dębska-Szmich S, Czyżykowski R, Zadrożna-Nowak A, Potemski P. The prognostic impact of neutrophil-to-lymphocyte ratio, lymphocyte-to-monocyte ratio, and platelet-to-lymphocyte ratio in patients with advanced colorectal cancer treated with first-line chemotherapy. *Prz Gastroenterol,* 2018,13(3),218-222.

Kuipers EJ, Grady WM, Lieberman D, Seufferlein T, Sung JJ, Boelens PG, Van de Velde CJH, Watanabe T. Colorectal cancer. *Nat Rev Dis Primers,* 2015, 1, 15065.

Kumagai S, Tokuno J, Ueda Y, Marumo S, Shoji T, Nishimura T, Fukui M, Huang CL. Prognostic significance of preoperative mean platelet volume in resected non-small-cell lung cancer. *Mol Clin Oncol.* 2015, 3(1), 197-201.

Kurtoglu E, Kokcu A, Celik H, Sari S, Tosun M. Platelet Indices May be Useful in Discrimination of Benign and Malign Endometrial Lesions, and Early and Advanced Stage Endometrial Cancer. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2015, 16(13), 5397-5400.

Labar B i sur.; Hematologija. Zagreb, Školska knjiga, 2017, str. 105-108.

Leslie A, Carey FA, Pratt NR, Steele RJC. The colorectal adenoma-carcinoma sequence. *Br J Surg*, 2002, 89, 845-860.

Lewandowska A, Rudzki G, Lewandowski T, Strykowska-Góra A, Rudzki S. Risk Factors for the Diagnosis of Colorectal Cancer. *Cancer Control*. 2022, 29, 10732748211056692.

Li J, Ma X, Chakravarti D, Shalpour S, DePinho R. Genetic and biological hallmarks of colorectal cancer. *Genes Dev*, 2021, 35, 787-820.

Li X, Guo D, Chu L, Huang Y, Zhang F, Li W, Chen J. Potential Diagnostic Value Of Combining Inflammatory Cell Ratios With Carcinoembryonic Antigen For Colorectal Cancer. *Cancer Manag Res*. 2019, 11, 9631-9640.

Liu Q, Luo D, Cai S, Li Q, Li X. Circulating basophil count as a prognostic marker of tumor aggressiveness and survival outcomes in colorectal cancer. *Clin Trans Med*. 2020, 9(1), 6.

Long Y, Wang T, Gao Q, Zhou C. Prognostic significance of pretreatment elevated platelet count in patients with colorectal cancer: a meta-analysis. *Oncotarget*, 2016, 7(49), 81849-81861.

Ljubičić N, Poropat G, Antoljak N, Bašić Marković N, Amerl Šakić V, Rađa M, Soldo D, Štimac D, Kalauz M, Iveković H, Banić M, Turalija F, Puljiz Ž, Brkić Biloš I. Oportunistički probir raka debelog i završnog crijeva u visokorizičnih bolesnika u ordinacijama obiteljske medicine u Republici Hrvatskoj. *Acta Clin Croat*, 60(2), 27-35.

Marone G, Gambardella AR, Mattei F, Mancini J, Schiavoni G, Varricchi G. Basophils in Tumor Microenvironment and Surroundings. *Adv Exp Med Biol*. 2020, 1224, 21-34.

Mizuno R, Kawada K, Itatani Y, Ogawa R, Kiyasu Y, Sakai Y. The Role of Tumor-Associated Neutrophils in Colorectal Cancer. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(3), 529.

Nakamura Y, Shida D, Boku N, Yoshida T, Tanabe T, Takamizawa, Y, Takashima A, Kanemitsu Y. Lymphocyte-to-C-Reactive Protein Ratio Is the Most Sensitive Inflammation-Based Prognostic Score in Patients With Unresectable Metastatic Colorectal Cancer. *Dis Colon Rectum*, 2021, 64(11), 1331-1341.

Nawa T, Kato J, Kawamoto H, Okada H, Yamamoto H, Kohno H, Endo H, Shiratori Y. Differences between right- and left-sided colon cancer in patient characteristics, cancer morphology and histology. *J Gastroenterol Hepatol*, 2008, 23(3), 418-423.

Nguyen L, Goel A, Chung D. Pathways of Colorectal Carcinogenesis. *Gastroenterology*, 2020, 158(2), 291-302.

Nishi M, Shimada M, Toukunaga T, Higasijima J, Yoshikawa K, Kashihara H, Takasu C, Ishikawa D, Wada Y, Eto S, Yoshimoto T. Lymphocyte to C-reactive protein ratio predicts long-term outcomes for patients with lower rectal cancer. *World J Surg Oncol*, 2021, 19, 201.

Okugawa Y, Toiyama Y, Fujikawa H, Kawamura M, Yasuda H, Yokoe Takeshi, Mochiki I, Okita Y, Ohi M, Nakatani K. Cumulative perioperative lymphocyte/C-reactive protein Ratio as a predictor of the long-term outcomes of patients with colorectal cancer. *Surg Today*, 2021, 51, 1906-1917.

PatologyOutlines, <https://www.pathologyoutlines.com/topic/colontumorwhoclassification.html>, pristupljeno 1.3.2024.

Qian W, Ge XX, Wu J, Gong FR, Wu MY, Xu MD, Lian L, Wang WJ, Li W, Tao M. Prognostic evaluation of resectable colorectal cancer using platelet-associated indicators. *Oncol Lett*, 2019, 18(1), 571-580.

Rao XD, Zhang H, Xu ZS, Cheng H, Shen W, Wang XP. Poor prognostic role of the pretreatment platelet counts in colorectal cancer. *Medicine*, 2018, 97(23), e10831.

Ren G, Li R, Zheng G, Du K, Dan H, Wu H, Dou X, Duan L, Xie Z, Niu L, Tian Y, Zheng J, Feng F. Prognostic value of normal levels of preoperative tumor markers in colorectal cancer. *Sci Rep*, 2023, 13, 22830.

Rosman Y, Hornik-Lurie T, Meir-Shafir, Lachover-Roth I, Cohen-Engler A, Munitz A, Confino-Cohen R. Changes in peripheral blood eosinophils may predict colorectal cancer - A retrospective study. *World Allergy Organ J*, 2022, 15(10), 100696.

Roth A, Roth A. Rak debelog crijeva. *Medicus*, 2001, 10(2), 191-199.

Sawicki T, Ruszkowska M, Danielewicz A, Niedźwiedzka E, Arłukowicz T, Przybyłowicz KE. A Review of Colorectal Cancer in Terms of Epidemiology, Risk Factors, Development, Symptoms and Diagnosis. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(9), 2025.

Seretis C, Youssef H, Chapman M. Hypercoagulation in colorectal cancer: What can platelet indices tell us? *Platelets*, 2015, 26(2), 114-118.

Shen Z, Ye Y, Bin L, Yin M, Yang X, Jiang K, Wang S. Metabolic syndrome is an important factor for the evolution of prognosis of colorectal cancer: survival, recurrence, and liver metastasis. *Am J Surg*, 2010, 200(1), 59-63.

Sillars-Hardebol AH, Carvalho B, van Engeland M, Fijneman RJ, Meijer GA. The adenoma hunt in colorectal cancer screening: defining the target. *J Pathol*, 2012, 226, 1-6.

Solak Mekić M, Pedišić I, Šobat H, Vučićević Boras V, Kirac I, Štefančić LJ, Šekerija M, Vrdoljak B, Vrdoljak D. The Role of Complete Blood Count Parameters in patients with Colorectal Cancer. *Acta Clin Croat*, 2018, 57, 624-629.

Suzuki S, Akiyoshi T, Oba K, Otsuka F, Tominaga T, Nagasaki T, Fukunaga Y, Ueno M. Comprehensive Comparative Analysis of Prognostic Value of Systemic Inflammatory Biomarkers for Patients with Stage II/III Colon Cancer. *Ann Surg Oncol*. 2020, 27(3), 844-852.

Štimac D, Katičić M, Kujundžić M, Ljubičić N, Poropat G, Bokun T. Značaj ranog otkrivanja raka debelog crijeva. *Medicina Fluminensis*, 2008, 44(1), 7-15.

Tao D, Guo L. Clinical Significance of NLR, PLR and MPV for Predicting Colorectal Adenomatous Polyp and Colorectal Cancer. *Chin J Gastroenterol*, 2020, 25(3), 162-166.

Stojkovic Lalosevic M, Pavlovic Markovic A, Stankovic S, Stojkovic M, Dimitrijevic I, Radoman Vujacic I, Lalic D, Milovanovic T, Dumic I, Krivokapic Z. Combined Diagnostic Efficacy of Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio (NLR), Platelet-to-Lymphocyte Ratio (PLR), and Mean Platelet Volume (MPV) as Biomarkers of Systemic Inflammation in the Diagnosis of Colorectal Cancer. *Dis Markers*. 2019, 2019, 6036979.

Tuncel T, Ozgun A, Emirzeoglu L, Celik S, Bilgi O, Karagoz B. Mean platelet volume as a prognostic marker in metastatic colorectal cancer patients treated with bevacizumab-combined chemotherapy. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014, 15, 6421–6423.

Vrdoljak E, Pleština S, Omrčen T, Juretić A, Belac Lovasić I, Krznarić Ž, Flam J, Šobat H, Šeparović R, Bolanča A, Vojnović Ž, Boban M, Perko Z, Patrlj L, Zelić M, Gašparov S, Tomaš I, Cambj Sapunar L, Miletić D, Štimac D. Smjernice za dijagnosticiranje, liječenje i praćenje bolesnika oboljelih od raka debelog crijeva. *Liječ vjesn*. 2018, 140, 241-247.

Walter F, Emery J, Mendonca S, Hall N, Morris HC, Mills K, Dobson C, Bankhead C, Johnson M, Abel GA, Rutter MD, Hamilton W, Rubin GP. Symptoms and patient factors associated with longer time to diagnosis for colorectal cancer: results from a prospective cohort study. *Br J Cancer*, 2016, 115, 533–541.

Wu J, Ge XX, Zhu W, Zhi Q, Xu MD, Duan W, Chen K, Gong FR, Tao M, Shou LM, Wu MY, Wang WJ. Values of applying white blood cell counts in the prognostic evaluation of resectable colorectal cancer. *Mol Med Rep*, 2019, 19(3), 2330-2340.

Yamagishi H, Kuroda H, Imai Y, Hiraishi H. Molecular pathogenesis of sporadic colorectal cancers. *Chin J Cancer*, 2016, 35, 4.

Yamamoto T, Kawada K, Obama K. Inflammation-Related Biomarkers for the Prediction of Prognosis in Colorectal Cancer Patients. *Int J Mol Sci*, 2021, 22, 8002.

Ying HQ, Deng QW, He BS, Pan YQ, Wang F, Sun HL, Chen J, Liu X, Wang SK. The prognostic value of preoperative NLR, d-NLR, PLR and LMR for predicting clinical outcome in surgical colorectal patients. *Med Oncol*, 2014, 31(12), 305.

Zheng W, Wu J, Peng Y, Sun J, Cheng P, Huang Q. Tumor-Associated Neutrophils in Colorectal Cancer Development, Progression and Immunotherapy. *Cancers (Basel)*. 2022, 14(19), 4755.

Zhou C, Ma H, Wang G, Liu Y, Li B, Niu J, Zhao Y, Wang G. Association between different types of preoperative anemia and tumor characteristics, systemic inflammation, and survival in colorectal cancer. *PeerJ*, 2023, 11, e16293.

Zhou WW, Chu YP, An GY. Significant difference of neutrophil-lymphocyte ratio between colorectal cancer, adenomatous polyp and healthy people. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(23), 5386-5391.

Zhu X, Cao Y, Lu P, Kang Y, Lin Z, Hao T, Song Y. Evaluation of platelet indices as diagnostic biomarkers for colorectal cancer. *Sci Rep*, 2018, 8(1), 11814.

9. SAŽETAK / SUMMARY

9.1 SAŽETAK

Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije i Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo, CRC je treći po redu najučestaliji karcinom u svijetu te prvi u Hrvatskoj. Po smrtnosti, nalazi se na drugome mjestu, odmah nakon raka pluća, a bilježi oko 900 000 smrtnih slučajeva u 2020. godini. U posljednjem desetljeću zamijećen je porast broja oboljelih. Uz stariju životnu dob, čimbenici rizika za razvoj bolesti jesu i obiteljska povijest bolesti, upalne bolesti crijeva, pretilost, pušenje, prehrana bogata crvenim mesom, odnosno stil života. Cilj provedenog istraživanja bio je ispitati parametre KKS-a i biomarkere povezane s upalom, MPV/PC-a, PLR-a, NLR-a, LWR-a, LMR-a, NMR-a i LCR-a u pacijenata s CRC-om te onih s adenomom. Istraživanje je obuhvatilo 155 pacijenata podijeljenih u dvije grupe, 81 s CRC-om i 74 s adenomom, s obzirom na nalaz patohistološke analize. Parametri KKS-a određeni su na hematološkom analizatoru Symsex-XN (Sysmex Inc, Kobe, Japan), koncentracija CRP-a izmjerena je na analizatoru Alinity ci-series (Abbot Diagnostics, Abbot Park, IL, USA), a statistička analiza i analiza ROC krivulja napravljena je korištenjem MedCalc® statističkog softwera verzije 22.014 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium). Koncentracija hemoglobina, hematokrit, MCV, MCH i MCHC bili su niži, a RDW viši u skupini pacijenata s CRC-om. Apsolutni broj leukocita, neutrofila i monocita niži je u pacijenata s CRC-om, dok je apsolutni i relativan broj eozinofila kao i relativni broj bazofila u istoj grupi bio viši negoli u skupini pacijenata s adenomom. Broj trombocita bio je značajno viši, a MPV značajno niži u skupini pacijenata s CRC-om. Od svih ispitanih biomarkera povezanih s upalom, jedino su MPV/PC i PLR pokazali s statistički značajnu razliku između dviju skupina, uz niže vrijednosti MPV/PC-a i više vrijednosti PLR-a u skupini pacijenata s CRC-om. Unatoč postojanju razlike, analizom ROC krivulja niti jedan ispitani parametar nije pokazao zadovoljavajuću dijagnostičku točnost za razlikovanje dviju skupina.

9.2 SUMMARY

According to the World Health Organization's and the Croatian Institute of Public Health's data, CRC is the third most common cancer in the world and first in Croatia. In terms of mortality, it is in second place, right after lung cancer, with around 900,000 deaths in 2020. An increase in the number of patients has been observed in the last decade. In addition to older age, risk factors for the development of the disease also include a family history of diseases, inflammatory bowel diseases, obesity, smoking, a diet rich in red meat, or in other words, lifestyle. The aim of the research was to examine parameters of CBC and biomarkers related to inflammation, MPV/PC, PLR, NLR, LWR, LMR, NMR and LCR in CRC patients and those with adenoma. The research included 155 patients divided into two groups, 81 with CRC and 74 with adenoma, based on the pathohistological analysis. CBC parameters were determined on a Symsex-XN hematology analyzer (Sysmex Inc, Kobe, Japan), CRP concentration was measured on an Alinity ci-series analyzer (Abbot Diagnostics, Abbot Park, IL, USA), statistical and the ROC curve analysis was made using MedCalc® statistical software version 22.014 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium). Hemoglobin concentration, hematocrit, MCV, MCH and MCHC were lower, and RDW higher in the group of patients with CRC. The absolute number of leukocytes, neutrophils and monocytes was lower in patients with CRC, while the absolute and relative number of eosinophils as well as the relative number of basophils in the same group was higher than in the group of patients with adenoma. Platelet count was significantly higher and MPV significantly lower in the group of patients with CRC. Of all the investigated biomarkers related to the inflammation, only MPV/PC and PLR showed a statistically significant difference between the two groups, with lower values of MPV/PC and higher values of PLR in the group of patients with CRC. Despite the existence of the difference, after ROC curve analysis, none of the examined parameters showed satisfactory diagnostic accuracy for distinguishing the two groups.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Medicinska biokemija
Zavod za medicinsku biokemiju i hematologiju
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

Parametri kompletne krvne slike i računski hematološki upalni pokazatelji u kolorektalnom karcinomu

Tena Žanić

SAŽETAK

Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije i Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo, CRC je treći po redu najučestaliji karcinom u svijetu te prvi u Hrvatskoj. Po smrtnosti, nalazi se na drugome mjestu, odmah nakon raka pluća, a bilježi oko 900 000 smrtnih slučajeva u 2020. godini. U posljednjem desetljeću zamijećen je porast broja oboljelih. Uz stariju životnu dob, čimbenici rizika za razvoj bolesti jesu i obiteljska povijest bolesti, upalne bolesti crijeva, pretilost, pušenje, prehrana bogata crvenim mesom, odnosno stil života. Cilj provedenog istraživanja bio je ispitati parametre KKS-a i biomarkere povezane s upalom, MPV/PC-a, PLR-a, NLR-a, LWR-a, LMR-a, NMR-a i LCR-a u pacijenata s CRC-om te onih s adenomom. Istraživanje je obuhvatilo 155 pacijenata podijeljenih u dvije grupe, 81 s CRC-om i 74 s adenomom, s obzirom na nalaz patohistološke analize. Parametri KKS-a određeni su na hematološkom analizatoru Symsex-XN (Sysmex Inc, Kobe, Japan), koncentracija CRP-a izmjerena je na analizatoru Alinity ci-series (Abbot Diagnostics, Abbot Park, IL, USA), a statistička analiza i analiza ROC krivulja napravljena je korištenjem MedCalc® statističkog softwera verzije 22.014 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium). Koncentracija hemoglobina, hematokrit, MCV, MCH i MCHC bili su niži, a RDW viši u skupini pacijenata s CRC-om. Apsolutni broj leukocita, neutrofila i monocita niži je u pacijenata s CRC-om, dok je apsolutni i relativni broj eozinofila kao i relativni broj bazofila u istoj grupi bio viši negoli u skupini pacijenata s adenomom. Broj trombocita bio je značajno viši, a MPV značajno niži u skupini pacijenata s CRC-om. Od svih ispitanih biomarkera povezanih s upalom, jedino su MPV/PC i PLR pokazali statistički značajnu razliku između dviju skupina, uz niže vrijednosti MPV/PC-a i više vrijednosti PLR-a u skupini pacijenata s CRC-om. Unatoč postojanju razlike, analizom ROC krivulja niti jedan ispitani parametar nije pokazao zadovoljavajuću dijagnostičku točnost za razlikovanje dviju skupina.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 59 stranica, 8 grafičkih prikaza, 6 tablica i 76 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: kolorektalni karcinom, kompletna krvna slika, biomarkeri povezani s upalom

Mentor: **Dr. sc. Marija Grdić Rajković**, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Marija Grdić Rajković**, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Dr. sc. Sandra Šupraha Goreta, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Dr. sc. Karmela Barišić, *redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: svibanj 2024.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Medical biochemistry
Department of medical biochemistry and haematology
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

Complete blood count parameters and calculated haematological inflammation-related biomarkers in colorectal carcinoma

Tena Žanić

SUMMARY

According to the World Health Organization's and the Croatian Institute of Public Health's data, CRC is the third most common cancer in the world and first in Croatia. In terms of mortality, it is in second place, right after lung cancer, with around 900,000 deaths in 2020. An increase in the number of patients has been observed in the last decade. In addition to older age, risk factors for the development of the disease also include a family history of diseases, inflammatory bowel diseases, obesity, smoking, a diet rich in red meat, or in other words, lifestyle. The aim of the research was to examine parameters of CBC and biomarkers related to inflammation, MPV/PC, PLR, NLR, LWR, LMR, NMR and LCR in CRC patients and those with adenoma. The research included 155 patients divided into two groups, 81 with CRC and 74 with adenoma, based on the pathohistological analysis. CBC parameters were determined on a Sysmex-XN hematology analyzer (Sysmex Inc, Kobe, Japan), CRP concentration was measured on an Alinity ci-series analyzer (Abbot Diagnostics, Abbot Park, IL, USA), statistical and the ROC curve analysis was made using MedCalc® statistical software version 22.014 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium). Hemoglobin concentration, hematocrit, MCV, MCH and MCHC were lower, and RDW higher in the group of patients with CRC. The absolute number of leukocytes, neutrophils and monocytes was lower in patients with CRC, while the absolute and relative number of eosinophils as well as the relative number of basophils in the same group was higher than in the group of patients with adenoma. Platelet count was significantly higher and MPV significantly lower in the group of patients with CRC. Of all the investigated biomarkers related to the inflammation, only MPV/PC and PLR showed a statistically significant difference between the two groups, with lower values of MPV/PC and higher values of PLR in the group of patients with CRC. Despite the existence of the difference, after ROC curve analysis, none of the examined parameters showed satisfactory diagnostic accuracy for distinguishing the two groups.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 59 pages, 8 figures, 6 tables and 76 references. Original is in Croatian language.

Keywords: colorectal cancer, complete blood count, inflammation related biomarkers

Mentor: **Marija Grdić Rajković, Ph.D.** *Associate Professor* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Marija Grdić Rajković, Ph.D.** *Associate Professor* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Sandra Šupraha Goreta, Ph.D. *Associate Professor* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Karmela Barišić, Ph.D. *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: May 2024.