

# Broj trombocita kao prognostički čimbenik u bolesnika s metastatskim karcinomom debelog crijeva

---

Varganović, Dijana

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:348835>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-07**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**Sveučilišni studij medicinsko laboratorijske dijagnostike**

**Varganović Dijana**

**BROJ TROMBOCITA KAO  
PROGNOSTIČKI ČIMBENIK U  
BOLESNIKA S METASTATSKIM  
KARCINOMOM DEBELOG CRIJEVA**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2018.**



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**

**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**Studij medicinsko laboratorijske dijagnostike**

**Varganović Dijana**

**BROJ TROMBOCITA KAO  
PROGNOSTIČKI ČIMBENIK U  
BOLESNIKA S METASTATSKIM  
KARCINOMOM DEBELOG CRIJEVA**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2018.**

Rad je ostvaren u Zavodu za onkologiju Kliničkog bolničkog centra Osijek.

Mentor rada: Doc. dr. sc. Mirjana Stupnišek

Rad ima 41 list, 4 tablice i 2 slike.

## PREDGOVOR

Zahvaljujem doc. dr. sc. Mirjani Stupnišek na velikoj pomoći i strpljenju pri izradi ovoga diplomskoga rada, koja je svojim stručnim znanjem pomogla pri realizaciji rada.

Zahvaljujem se doc. dr. sc. Vatroslavu Šeriću, mag. med. biochem., spec. med. biokemije, voditelju Zavoda za kliničko laboratorijsku dijagnostiku i Štefici Klisurić, bacc. med. lab. diagn. na razumijevanju i strpljenju tijekom studiranja.

Zahvaljujem doc. dr. sc. Ilijanu Tomašu, dr. med., pročelniku Zavoda za onkologiju i dr. sc. Josipi Flam, dr. med., kao i cijelom osoblju Zavoda na nesebičnoj pomoći prilikom izrade diplomskog rada.

Zahvaljujem prijateljima i kolegicama koji su me poticali i na bilo koji način pomogli tijekom studiranja i izrade rada.

Posebno se zahvaljujem suprugu, djeci i cijeloj obitelji na ljubavi, strpljenju i velikom odricanju, koji su vjerovali u mene i mi bili najveća podrška.

Hvala mama i tata...

## SADRŽAJ

<b>1.</b>	<b>UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1.</b>	<b>TROMBOCITI</b> .....	<b>2</b>
1.1.1.	Trombocitopoeza.....	2
1.1.2.	Građa trombocita.....	3
1.1.3.	Funkcija trombocita.....	4
1.1.4.	Poremećaji trombocita.....	6
1.1.5.	Određivanje broja trombocita na hematološkom brojaču.....	6
<b>1.2.</b>	<b>KARCINOM DEBELOG CRIJEVA</b> .....	<b>7</b>
1.2.1.	Epidemiologija karcinoma debelog crijeva .....	7
1.2.2.	Etiologija karcinoma debelog crijeva .....	7
<b>1.3.</b>	<b>KARCINOM I TROMBOCITOZA</b> .....	<b>8</b>
1.3.1.	Interakcija trombocita i tumorskih stanica .....	9
1.3.2.	Trombociti, hemostaza i metastaze .....	9
<b>1.4.</b>	<b>KARCINOM DEBELOG CRIJEVA I METASTAZE</b> .....	<b>10</b>
<b>2.</b>	<b>HIPOTEZA</b> .....	<b>12</b>
<b>3.</b>	<b>CILJ</b> .....	<b>13</b>
<b>4.</b>	<b>ISPITANICI I METODE</b> .....	<b>14</b>
4.1.	USTROJ STUDIJE.....	14
4.2.	METODE .....	144
4.3.	ISPITANICI .....	14
<b>5.</b>	<b>STATISTIČKE METODE</b> .....	<b>16</b>
<b>6.</b>	<b>REZULTATI</b> .....	<b>17</b>
<b>7.</b>	<b>RASPRAVA</b> .....	<b>21</b>
<b>8.</b>	<b>ZAKLJUČAK</b> .....	<b>25</b>
<b>9.</b>	<b>SAŽETAK</b> .....	<b>26</b>
<b>10.</b>	<b>SUMMARY</b> .....	<b>27</b>
<b>11.</b>	<b>LITERATURA</b> .....	<b>28</b>
<b>12.</b>	<b>ŽIVOTOPIS</b> .....	<b>31</b>

## POPIS KRATICA

AA	<i>Arahidonic acid</i> (engl.) arahidonska kiselina
ADP	adenozindifosfat
COX 1	<i>Cyclo-oxygenase</i> (engl.) ciklooksigenaza
DTS	<i>Dense tubular system</i> (engl.) gusti tubularni sustav
GP	glikoprotein
KKS	kompletna krvna slika
MPV	<i>Mean platelet volume</i> (engl.) prosječni volumen trombocita
NO	dušikov oksid
OCS	<i>Open canicular system</i> (engl.) otvoreni kanikularni sustav
PAI	<i>Plasminogen-activator inhibitor</i> (engl.) inhibitor aktivatora plazminogena
PAR	<i>Protease activated receptor</i> (engl.) proteazom aktivirani receptor
PCT	<i>Platelecrit</i> (engl.) trombokrit
PDGF	<i>Platelet growth factor</i> (engl.) faktor rasta trombocita
PDGFR	receptor faktora rasta trombocita
PDW	<i>Platelet distribution width</i> (engl.) raspodjela trombocita po volumenu



PF	<i>Platelet factor</i> (engl.) trombocitni faktor
PF4	trombocitni faktor 4
PG	prostaglandin
PGI2	prostaciklin
TF	<i>Tissue factor</i> (engl.) tkivni faktor
TGF- $\beta$	<i>Transforming growth factor <math>\beta</math></i> (engl.) transformirajući faktor rasta
TPO	trombopoetin
Trc	trombociti
TXA2	tromboksan A2
VEGF	<i>Vascular endothelial growth factor</i> (engl.) faktor rasta vaskularnog endotela
vWF	von Willebrandov faktor

## POPIS TABLICA

Tablica 1: Opis pacijenata po spolu i dijagnozi .....	17
Tablica 2: Usporedba vrijednosti parametara krvne slike prije te nakon terapije.....	18
Tablica 3: Utjecaj trombocita na pojavu metastaza i vrijeme preživljenja .....	19
Tablica 4: Utjecaj promatranih parametara/prediktora na vrijeme preživljenja.....	20

## POPIS SLIKA

Slika 1: Vrijeme preživljenja u mjesecima od postavljanja dijagnoze do smrti .....	19
Slika 2: Vrijeme preživljenja u mjesecima od dijagnoze do pojave metastaze.....	20

### 1. UVOD

Davne 1872 .godine Leopold Riess opisao je „masivno povećanje trombocita“ u bolesnika s karcinomom (1). Ovo otkriće je potvrdio i proširio Theodor Billroth, koji je prvi povezo porast broja trombocita ne samo s rastom tumora nego s metastatskim širenjem. T. Billroth je pretpostavio kako se hematogeno širenje malignih stanica može pospješiti trombima koji sadrže tumorske stanice i kako se metastaze pojavljuju kada se dijelovi tromba koji sadrže tumorske stanice otkinu i emboliziraju krvne žile negdje u distalnim dijelovima cirkulacije (2).

U novije vrijeme, povećani broj trombocita u vrijeme dijagnoze povezan je s značajnim skraćanjem preživljenja kod bolesnika sa solidnim tumorima.

Studije upućuju na povratnu spregu između trombocita i tumorskih stanica, s recipročnom interakcijom između tumorskog rasta i metastaziranja i trombocitoze, tj. aktivacije trombocita. Identificirani su specifični molekularni putevi kojima tumor stimulira proizvodnju trombocita i njihovu aktivaciju, a s druge strane aktivirani trombociti mogu pospješiti tumorski rast i metastaziranje. Ovo saznanje može biti cilj za nove potencijalne lijekove i terapijske intervencije (3).

U studiji Lina i suradnika iz 2012. godine opisana je snažna povezanost između preoperativnih vrijednosti trombocita i ponašanja tumora debelog crijeva. Pokazano je kako je povišen broj trombocita prije operacije povezan sa stadijem tumora, zahvaćenosti limfnih čvorova, postojanjem udaljenih metastaza, a tako i preživljenjem bez znakova bolesti i ukupnim preživljenjem bolesnika (4). Broj trombocita opisan je kao prognostički čimbenik kod bolesnika sa solitarnim jetrenim metastazama koje su operirane, te je povećan broj trombocita povezan s lošijim preživljenjem do progresije bolesti i ukupnim preživljenjem (5).

Trombocitoza je prognostički čimbenik kod mnogih karcinoma, tako i kod karcinoma debelog crijeva. Poznato je da nakon operativnog zahvata karcinoma broj trombocita pada, te korelira s vremenom do progresije bolesti i s ukupnim preživljenjem. Porast broja trombocita je jedan od prvih, nespecifičnih znakova progresije maligne bolesti.

### 1.1. TROMBOCITI

#### 1.1.1. Trombocitopoeza

Trombocite je prvi put opisao Giulio Bizzozero 1881. kao nezavisni tip stanica u krvi. Giulio Bizzozero je prvi opisao morfološke promjene u trombocitima koje nastaju pri aktivaciji trombocita i važnu ulogu u stvaranju tromba, odnos između adhezije trombocita, agregacije i kasnijeg stvaranja fibrina. On je prvi definirao megakariocite u koštanoj srži i trombocite kao središnje stanice zgrušavanja (6).

Trombociti ili krvne pločice se stvaraju u koštanoj srži fragmentiranjem citoplazme zrelih megakariocita koji nastaju iz nezrelih hematopoetskih matičnih stanica. Megakariocitopoeza je proces diferencijacije u megakariocite, njihovo sazrijevanje i stvaranje trombocita.

Megakariociti su stanice najviše zastupljene u koštanoj srži, ali se nalaze i u plućima i bubrezima. Prva morfološki prepoznatljiva stanica trombocitne loze je megakarioblast iz kojeg redom nastaju promegakariocit, granulirani megakariocit i zreli megakariocit. Zreli megakariociti nemaju daljnju sposobnost diferencijacije, ali imaju povećanu sintezu DNK, te sposobnost da iz jedne stanice stvore 2000-3000 trombocita. Rezultat razvoja megakariocita je otpuštanje trombocita u cirkulaciju. Trombociti nastaju iz citoplazme megakariocita stvaranjem izduženih tankih pseudopodija koji postupno prelaze u tanke razgranate protrombocite (7). Trombopoetin (TPO) je najvažniji faktor rasta u proliferaciji, diferencijaciji i stvaranju megakariocita, stvara se u koštanoj srži, jetri, koštanoj srži, slezeni i bubrezima. Produkcija i oslobađanje iz koštane srži u cirkulaciji kontrolirana je preko dva "trombopoetina". Jedan regulira količinu megakariocitnih matičnih stanica (stem cells), a drugi modelira njihovo sazrijevanje (8).

Trombopoetin potiče proces sazrijevanja i dovodi do znatnog povećanja megakariocitne DNK i sinteze trombocitnih specifičnih proteina. Zreli megakariociti sadrže trombocitni faktor 4 (PF4, engl. *Platelet factor 4*), von Willebrandov faktor (vWF), trombomodulin i trombospondin. Trombociti oslobađaju citokine, transformirajući faktor rasta (TGF- $\beta$  -engl. *Transforming growth factor-beta*), trombocitni faktor 4 (PF4) i interferone koji inhibiraju megakariocitopoezu (9).

Za stvaranje trombocita u procesu megakariocitopoeze potrebno je desetak dana. Normalan broj trombocita u cirkulaciji je  $150 - 400 \times 10^9/L$ , u perifernoj krvi nalaze se 9 - 11 dana. U

krvotoku se nalazi 2/3 trombocita, dok se 1/3 zadržava u slezeni. Uništavaju se procesom fagocitoze u koštanoj srži, jetri i slezeni (9).

### 1.1.2. Građa trombocita

Trombociti su stanice diskoidnog oblika, glatke površine bez jezgre, citoplazmatske mrežice i Golgijevog aparata te je njihova funkcionalna aktivnost uvjetovana proteinima sintetiziranim u megakariocitima. Struktura trombocita podijeljena je u 4 zone s određenom funkcionalnom aktivnošću: periferna zona, strukturalna zona, membranski sustav i citoplazmatska zona s granulama i organelama.

Periferna zona trombocita prekrivena je glikokaliksom. Glikokaliks sadrži glikoproteine, glikolipide, proteine plazme, faktore koagulacije, fibrinolize i komplementa, glikoproteinske receptore za tvari manje molekulske mase (adenozindifosfat (ADP), serotonin, acetil-kolin i prostaglandin). Glikokaliks sadrži 30-tak glikoproteina, a za daljnju funkciju trombocita najvažniji su glikoprotein (GP) Ib, IIb, IIIa. Glikoprotein IIb i IIIa tvore kompleks (GP IIb/IIIa) koji je receptor za fibrinogen, odgovoran je za agregaciju trombocita i interakciju s ostatkom staničnih elemenata krvi (9).

Negativno nabijena fosfolipidna membrana (sol-gel zona) nalazi se ispod glikokaliksa, sastavljena je od lipidnih i proteinskih molekula (glikolipidi, glikoproteini, holesterol) (6). Sadrži i jednu nezasićenu masnu kiselinu; arahidonsku kiselinu (AA) potrebnu za stvaranje tromboksana A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>). TXA<sub>2</sub> ima protrombična svojstva, stimulira aktivaciju novih trombocita, povećava agregaciju trombocita i kontrakciju krvnih žila. Stvaranje TXA<sub>2</sub> iz AA ide posredstvom enzima ciklooksigenaze (COX) (9).

Citoskelet trombocita čini mreža različitih proteinskih filamenata a glavni su: mikrotubuli (sastavljeni od tubulina koji održavaju formu trombocita u mirovanju), mikrofilamenti (sastavljeni od aktina; glavna uloga je učestvovanje u aktivaciji trombocita pomoću ADP-a, trombina, adrenalina i kolagena) i intermedijalni filamenti (sastavljeni od vimentina koji omogućuju kontrakciju trombocita) (10).

Membranski sustav čine otvoreni kanikularni sustav (engl. OCS – *open canicular system*) i gusti tubularni sustav (eng. DTS – *dense tubular system*). Invaginacijom plazmatske membrane stvara se otvoreni kanikularni sustav koji predstavlja prolaz kroz koji se u krvotok mogu izlučiti, ali i aktivno unositi supstance trombocitnih granula i rezervoar je

plazmatske membrane i njenih receptora. Gusti tubularni sustav trombocita spada u strukturnu zonu ili regiju trombocita. Taj sustav predstavlja analogiju endoplazmatskoj mrežici te je prevladavajući sustav skladištenja kalcija, regulacije koncentracije kalcijevih iona, mjesto sinteze prostaglandina i tromboksana A<sub>2</sub> (7,11).

Zona organela sastoji se od mitohondrija, alfa-granula, gustih-granula, lizozoma i peroksizoma.

Alfa granule su najbrojnije od svih, sadrže adhezivne proteine (vWF, fibrinogen), trombocitni faktor rasta (PDGF, beta-tromboglobulin, trombospondin, PF4) i faktore koagulacije (faktor V, XI, protein S, fibrinogen, inhibitor aktivatora plazminogena (PAI-I)). Guste granule sadrže ATP, ADP, serotonin, kalcijeve ione, magnezij koji imaju ključnu ulogu u primarnoj hemostazi, služe kao mehanizam povratne sprege, stimulirajući aktivaciju trombocita ADP-om. Mitohondriji su važni za metabolizam i aerobnu glikolizu. Lizosomi sadrže nekoliko hidrolitičkih enzima, a peroksizomi su bogati katalazom (9).

Trombocitne granule sadrže obilje faktora rasta koji imaju ključnu ulogu u procesu cijeljenja i regeneracije tkiva, potiču migraciju i umnažanje matičnih stanica.

Trombocitni receptori su glikoproteini smješteni na površini trombocita i predstavljaju poveznicu trombocita s njihovom okolinom te su odgovorni za reaktivnost trombocita s nizom različitih agonista i adhezivnih proteina. Trombin je najsnažniji agonist trombocita, veže se na transmembranske receptore iz porodice proteazom aktiviranih receptora (engl. PARs – *protease-activated receptors*) PAR1, PAR4 i GPIIb $\alpha$  (12).

Postoje i niz drugih GP receptora koji uključuju selektine (GMP140, P-selektin), integrine (GPI, GPII, GPIII, GPIV, GPV), imunoglobuline, receptore za ADP (P2Y<sub>12</sub>, P2<sub>1</sub>, P2X<sub>1</sub>), kolagen, adrenalin, serotonin, trombin (PAR1, PAR4), TXA<sub>2</sub>.

### 1.1.3. Funkcija trombocita

Glavna funkcija trombocita je primarna hemostaza, stvaranje mehaničkog privremenog ugruška tijekom hemostatskog odgovora na ozljedu, djelujući antikoagulantnim i prokoagulantim faktorima na mikrookoliš krvne žile. U sekundarnoj hemostazi aktivirani faktori zgrušavanja vežu se za površinu membrane trombocita i dovode do stvaranja trombina i aktivacije enzima (9).

## 1. UVOD

Najvažnija uloga trombocita je u hemostazi: održavanje vaskularnog integriteta, adhezija (kod oštećenja endotela vWF se veže za subendotelni kolagen, a zatim se veže za trombocitni receptor GPIIb/IX čime dolazi do aktivacije trombocita), agregacija (formiranje većih trombocitnih agregata i stabilizacija hemostatskog ugruška), aktivacija (dolazi do otpuštanja vWF i fibrinogena iz alfa granula i serotonina i ADP-a iz gustih granula), uloga u započinjanju koagulacije i aktiviranje koagulacijske kaskade (13).

Brojni glikoproteini koji se nalaze na površini trombocita imaju važnu ulogu u reakcijama agregacije i adhezije trombocita. Nakon oštećenja endotela bazalne membrane krvne žile i kolagen se izlažu cirkulaciji, što dovodi do aktivacije trombocita (7).

Hemostatsku aktivnost pokazuje niz molekula koje sadrži endotel krvnih žila. To su: u subendotelu (vWF, kolagen, F IV, V, VI, trombospondin, fibronektin, fibrin, vitronektin, laminin), u mediji (kolagen tipa I i III), u adventiciji (kolagen tipa I i III, tkivni faktor (TF)). Endotelne stanice luče nekoliko lokalnih antitrombotičkih i vazoktivnih tvari kao što su dušikov oksid (NO) i prostaciklin (PGI<sub>2</sub>) i enzim ekto-ADPazu koji potiču razgradnju ADP, a time inhibiraju aktivaciju trombocita i njihovo nakupljanje na endotel krvne žile. Adhezija na kolagen zbiva se vezanjem vWF i glikoproteina Ia na trombocite, nakon čega nastaje niz metaboličkih reakcija, promjena oblika trombocita i oslobađanje trombocitnih aktivnih tvari te pojačavaju proces agregacije (9).

Sekrecijom sadržaja trombocitnih granula, kolagen i trombin aktiviraju trombocitnu sintezu prostaglandina. Oslobađa se diacetilglicerol, inozitoltrifosfat, arahidonska kiselina iz stanične membrane i dolazi do stvaranja TXA<sub>2</sub>. TXA<sub>2</sub> potencira agregaciju trombocita i ima jaku vazokonstriktornu aktivnost. Zbog visoke koncentracije ADP-a, oslobađanja enzima tijekom reakcije sekrecije i trombocitnog kontraktilnog proteina agregacija postaje ireverzibilna. Spajanje trombocita pospješuje i trombin, a vWF ima funkciju u agregaciji i adheziji trombocita (9).

Trombociti sudjeluju u održavanju imuniteta svojim interakcijama s virusima, bakterijama i parazitima, što potiče aktivaciju trombocita i fagocitozu bakterija kao i sekreciju antimikrobnih peptida-trombocita.

Osim u hemostazi, novija istraživanja govore da funkcija trombocita doseže daleko dalje. Aktivno su uključeni u upalne procese, obranu od mikroorganizama, angiogenezu, regulaciju tonusa krvnih žila, cijeljenje, rast i metastaziranje tumora (14,15).



### 1.1.4. Poremećaji trombocita

Poremećaji broja trombocita mogu biti kvalitativni i kvantitativni.

Kvalitativne promjene trombocita ili poremećaji funkcije trombocita nazivaju se trombocitopatije, mogu biti stečene ili nasljedne. Nasljedne trombocitopatije dijele se na temelju promjena koje mijenjaju trombocite, to su trombocitopatije s poremećajem adhezije, agregacije, sekrecije, aktivacije trombocita, poremećaj prokoagulantne aktivnosti. Stečene trombocitopatije su češće, prate niz bolesti i sindroma kao što su zloćudni tumori krvotvornog sustava, bolesti jetre, bubrežna zatajenja, sustavne autoimune bolesti, a mogu biti izazvane raznim lijekovima (9).

U kvantitativne poremećaje ubrajaju se trombocitopenije i trombocitoze. Trombocitopenija je stanje sa smanjenim brojem trombocita u odnosu na referenti raspon, dijele se prema mehanizmu nastanka ili na nasljedne i stečene. Klinička slika je raznolika i povezana je sa stupnjem izraženosti trombocitopenije. Podjela trombocitopenija: trombocitopenije nastale zbog nedovoljnog stvaranja trombocita (nasljedne i stečene), trombocitopenije nastale zbog ubrzane razgradnje i potrošnje trombocita (imunosna trombocitopenija i trombotska mikroangiopatija), trombocitopenije nastale zbog poremećaja raspodjele u cirkulaciji i uzrokovane lijekovima i pseudotrombocitopenija.

Trombocitoze su niz patoloških s povišenim brojem trombocita, mogu se podijeliti na primarnu trombocitozu koja je klonalna bolest pluripotentne matične stanice i sekundarne ili reaktivne trombocitoze (sva ostala stanja praćena trombocitozom: hematološke bolesti, zloćudni tumori, infekcije, upalne bolesti, ozljede i traume, veliki operativni zahvati, poremećaji funkcije slezene i dr. (9).

### 1.1.5. Određivanje broja trombocita na hematološkom brojaču

Kompletna krvna slika (KKS) je najčešća rutinska pretraga koja se određuje pomoću suvremenih automatiziranih hematoloških brojača. Sastavni dio KKS je i određivanje trombocita. Hematološki analizatori uz broj trombocita uključuju i nove trombocitne pokazatelje (indekse) o njihovoj veličini, izražen kao srednji volumen trombocita ili MPV (engl. *mean platelet volume*), širinu raspodjele trombocita po volumenu ili PDW (engl. *platelet distribution width*), trombokrit ili PCT (engl. *plateletcrit*) volumni postotak trombocita i frakciju velikih trombocita ili P-LCR (engl. *platelet-large cell ratio*), parametre

koji se izvode iz krivulje raspodjele volumena trombocita. Noviji trombocitni pokazatelji su retikulirani trombociti, izraženi kao frakcija nezrelih trombocita ili IPF (engl. *immature platelet fraction*), a njihovo mjerenje je izravan pokazatelj aktivnosti trombopoeze (16).

### 1.2. KARCINOM DEBELOG CRIJEVA

#### 1.2.1. Epidemiologija karcinoma debelog crijeva

Karcinom debelog crijeva ili CRC (engl. *colorectal cancer*) je jedan od vodećih zdravstvenih problema kako u svijetu tako i u Hrvatskoj. U Republici Hrvatskoj je karcinom debelog crijeva najčešći tumor probavnog sustava i nalazi se na drugom mjestu po učestalosti u oba spola nakon karcinoma pluća kod muškaraca i karcinoma dojke kod žena. Prema podacima Registra za rak Republike Hrvatske kolon, rektum, rektosigma i anus zajedno u incidenciji sudjeluju s 17% u muškaraca i 12% u žena. U 2009. godini, u Republici Hrvatskoj dijagnosticirano je 2912 novooboljelih bolesnika, od kojih je umrlo 1866 bolesnika (17). Najveću incidenciju karcinoma debeloga crijeva u svijetu imaju stanovnici razvijenih zemalja dok siromašne države Afričkoga kontinenta i jugoistočne Azije bilježe najmanju incidenciju. Ova zemljopisna raznolikost uvjetovana je različitim prehrambenim navikama i utjecajem raznih čimbenika okoliša. U svijetu je 2008. godine dijagnosticirano preko 1.200.000 novooboljelih bolesnika od karcinoma debelog crijeva, a umrlo ih je 608.700 (18).

#### 1.2.2. Etiologija karcinoma debelog crijeva

Postoje brojni, dobro definirani rizični faktori za razvoj karcinoma debelog crijeva, a većina se razvija iz polipa, tumorske mase koja se izbočuje u lumen crijeva. Klinički najznačajniji i najčešći neoplastični polipi su adenomi debelog crijeva i česti su u osoba starijih od 60 godina (19). Oko 80% karcinoma javlja se sporadično, bez poznatog rizičnog faktora, a oko 20% bolesnika ima pozitivnu obiteljsku anamnezu. Rizik za razvoj karcinoma imaju oboljeli od ulceroznog kolitisa ili Chron-ove bolesti, ljudi sa genetskom predispozicijom za razvoj bolesti i u obiteljima s familijarnom adematoznom polipozom (FAP) i nasljednim ne polipoznim karcinomom (HNPCC). Mutacije gena koji su odgovorni za normalan rast stanica, replikaciju i diferencijaciju, APC (adenomatous polyposis coli), DCC (deleted colon cancer), ras gen ( H-ras, K-ras, N-ras) i gen p53 te inaktivacija tumor-supresorskog gena imaju važnu

ulogu u nastajanju karcinoma debelog crijeva. Rizik za razvoj karcinoma imaju i okolišni čimbenici, prehrana, konzumiranje alkohola, pušenje, fizička aktivnost, uzimanje nesteroidnih protuupalnih lijekova i hormonskog nadomjesnog liječenja (20).

Karcinom debelog crijeva smatra se izlječivom bolesti u ranim stadijima stoga je važna primarna prevencija bolesti (pregled stolice na okultno krvarenje, digitorektalni pregled, fekalna DNA, kolonoskopija, kopjutorizirana tomografija (CT)). U Hrvatskoj postoji Nacionalni program ranog otkrivanja karcinoma debelog crijeva, u koji su uključene osobe od 50-74 godine i mlađe osobe s povišenim ili visokim rizikom (21).

Liječenje karcinoma debelog crijeva je multidisciplinarno. Radikalna kirurška terapija jedina pruža bolesniku mogućnost za izlječenje karcinoma, a njegova uspješnost ovisi o veličini i proširenosti tumora. Kemoterapija i zračenje karcinoma debelog crijeva provodi se ovisno o stadiju bolesti i lokalizaciji karcinoma, provodi se u liječenju metastatske bolesti kao i u adjuvantnom liječenju. Biološki lijekovi svojim ciljanim djelovanjem na tumorsku stanicu značajno poboljšavaju ishod liječenja (22).

### 1.3. KARCINOM I TROMBOCITOZA

Uloga trombocita u hemostazi i trombozi je dobro poznata, ali je sve više eksperimentalnih dokaza koji upućuju da su ključni faktori u rastu tumorskih stanica, širenju i angiogenezi, progresiji karcinoma, metastaziranju i trombozama vezanim za karcinom. Povećanje broja trombocita i njihova aktivnost primjećuje se kod pacijenata koji imaju široki spektar malignih oboljenja, a što je u koleraciji s padom općeg preživljavanja i lošom prognozom (23).

U interakciji s imunološkim stanicama trombociti stimuliraju anti-tumorske odgovore i mogu se aktivirati imunološkim i tumorskim stanicama. Aktivacija trombocita može dovesti do složenih interakcija između trombocita i tumorskih stanica. Trombociti olakšavaju rast i metastaziranje karcinoma stvaranjem agregata s tumorskim stanicama, potiču rast tumora, epitelno-mezenhimalni prijelaz (EMT) i invaziju, sudjeluju u zaštiti cirkulirajućih tumorskih stanica od imunološkog nadzora i uništavanja, olakšavaju povezivanje i zaustavljanje cirkulirajućih tumorskih stanica te potiču proces angiogeneze i stvaranje tumorskih stanica na udaljenim mjestima. Tumorske stanice i mikročestice nastale iz tumora dovode do tromboze izlučivanjem prokoagulacijskih čimbenika, što dovodi do aktivacije trombocita i zgrušavanja (24).

Trombociti također aktiviraju makrofage i neutrofile u tumorskom tkivu, stimuliraju oslobađanje TGF- $\beta$  i agregaciju stanica trombocita. Makrofagi infiltriraju tumore i oslobađaju citolitičke čimbenike, uključujući čimbenik tumorske nekroze  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) za uništavanje tumora (25,26).

### 1.3.1. Interakcija trombocita i tumorskih stanica

Tumorske stanice dolaze u interakciju s trombocitima kroz brojne receptore i signalne molekule. One oslobađaju topive molekule koje aktiviraju trombocite, uključujući ADP i trombin, dok izravni kontakt trombocita s tumorskim stanicama također rezultira aktivacijom. Nakon aktiviranja, trombociti se mogu vezati na tumorske stanice preko P-selektina i glikoproteina i direktno inducirati rast tumora i nastanak metastaza oslobađanjem faktora angiogeneze i faktora rasta (27).

Adhezija trombocita i stvaranje agregata na tumorske stanice pomažu im da izbjegnu imunološki nadzor i citolizu posredovanu stanicama prirodnim ubojicama (NK stanice).

Agregacija trombocita izazvana tumorskim stanicama (TCIPA) je proces formiranja agregata trombocita i tumorskih stanica čime se povećava preživljavanje tumorskih stanica i rast (28).

### 1.3.2. Trombociti, hemostaza i metastaze

Aktivacija trombocita i koagulacijskog sustava imaju ključnu ulogu u progresiji raka, a stvaranje krvnih žila (angiogeneza) u unutrašnjosti tumora uvjet je za širenje tumorskih stanica organizmom.

Faktori vanjskog puta zgrušavanja, posebice faktor VII (FVII) te tkivni faktor su dramatično aktivirani kod onkoloških bolesnika. Tkivni faktor kojeg izlučuje tumorska stanica ulazi u interakciju sa koagulacijskim faktorom VII i koagulacijskim faktorom X te stvara trombin kako bi se pospješila tumorska progresija. Trombin, osim što dovodi do formiranja fibrina i aktiviranja trombocitnih receptora koji dovode do tromboze, također potpomaže malignost tumora. Tkivni faktor i trombin imaju ključnu ulogu u rastu tumora, angiogenezi te stvaranju metastaza (29).

Činjenica da trombociti aktivacijom otpuštaju vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF) bio je prvi dokaz da trombociti pospješuju angiogenezu. Trombociti sadrže mnogo faktora koji se otpuštaju tijekom njihove aktivacije i reguliraju proces angiogeneze. To su anti-angiogeni

faktori (angiopietin 1, trombospondin 1, serotonin) ili su pro-angiogeni (poput VEGF-a, epidermalni faktor rasta,...) ili djeluju kao citokini (poput Interleukin-1 $\beta$ ) ili djeluju kao proteaze) (30).

Kod onkoloških pacijenata često su prisutni simptomi tromboze, koji su najizraženiji ukoliko je došlo do nastanka metastaza. Teški oblici tromboze uključuju diseminarnu intravaskularnu koagulaciju, tromboflebitis te plućnu emboliju, što ukazuje na pojačanu aktivaciju i agregaciju trombocita. Širenje tumorskih metastaza na udaljene organe ovisi o interakciji između tumorske stanice i mikro-uvjeta unutar krvožilnog i limfnog sustava, te ciljanog tkiva. Ovo uključuje krvne stanice, faktore koagulacije, stromalne stanice i izvanstaničnu tekućinu. Stanice unutar krvotoka koje doprinose širenju metastaza su stanice endotela, trombociti, limfociti, makrofagi, mastociti, fibroblasti, te progenitorske stanice derivirane iz koštane srži (31).

Aktivirani trombociti imaju višestruke uloge u napredovanju tumorske metastaze, uključujući olakšavanje epitelno-mezenhimalne tranzicije tumorskih stanica (EMT), degradaciju ekstracelularnog matriksa (ECM), povećanje vaskularne propusnosti i pomaganje u uspostavljanju malignih tvorbi u udaljenim tkivima kroz interakcije s tumorskim stanicama putem selektina i glikoproteina (24).

### 1.4. KARCINOM DEBELOG CRIJEVA I METASTAZE

Rak debelog crijeva ili kolorektalni karcinom (CRC) jedan je od najčešćih tipova raka probavnog trakta i treći vodeći uzrok smrti povezanih s rakom u svijetu. Zahvaća rektum, kolon i cekum. Iako je došlo do brzog razvoja tehnologije u dijagnostici i liječenju, stope preživljavanja od pet godina nisu obećavajuće za kirurško liječenje novih tumora ili udaljenih metastaza kolorektalnog karcinoma (32).

Kod onkoloških bolesnika rast tumora popraćen je povećanim rizikom za stvaranje krvnih ugrušaka, trombocitnim anomalijama, te povećanim rizikom za stvaranje tromboembolijskih bolesti. Venska tromboembolija (VTE) je važna rana dijagnostička značajka, te čest uzrok smrti. Aktivacija trombocita pojačana je kod mnogih karcinoma, a broj trombocita često varira tijekom progresije karcinoma, te može ukazati na klinički ishod (33).

## 1. UVOD

Prognoza bolesnika s karcinomom debelog crijeva i temelj terapijskih odluka je stupnjevanje karcinoma debelog crijeva koje se zasniva na TNM klasifikaciji, prema AJCC (American Joint Committee on cancer staging manual), gdje T - označava dubinu prodora primarnog tumora, N - prisutnost ili odsutnost pozitivnih limfnih čvorova, M – prisutnost ili odsutnost udaljenih metastaza (34). Uz TNM klasifikaciju za stupnjevanje i proširenost bolesti koriste se klasifikacija po Dukes-u i modificirana Astler Coller klasifikacija (MAC klasifikacija) (35).

Iako je temelj terapije kirurgija i operacija, jedna trećina bolesnika umire do 5 godina poslije operacije. Najčešće sjelo metastaza karcinoma debelog crijeva koje su odgovorne za visoku stopu smrtnosti smještene su u jetri. Kod približno četvrtine bolesnika metastaze jetre su prisutne u vrijeme dijagnoze CRC i približno toliko ih razvije jetrene metastaze i nakon resekcije tumora (5).

Ostala sjela metastaza CRC su regionalni limfni čvorovi, pluća, kosti i potrbušnica.

Trombocitoza je povezana s lošom prognozom i kod karcinoma crijeva, dojke, pluća, želuca, bubrega, cerviksa, gušterače, endometrija, mozga te jajnika.

Trombocitopenija se također pojavljuje, ali je uglavnom posljedica kemoterapije koja umanjuje proizvodnju trombocita u koštanoj srži (30).

### 2. HIPOTEZA

Pretpostavlja se da je broj trombocita povezan s lošijom prognozom kod bolesnika s metastatskim kolorektalnim karcinomom, te da će bolesnici koji primarno imaju veći broj trombocita imati statistički značajno manje ukupno preživljenje i preživljenje do progresije bolesti .

### 3. CILJ

Cilj našeg istraživanja je odrediti utjecaj broja trombocita na preživljenje do progresije bolesti, te na ukupno preživljenje kod bolesnika sa metastatskim karcinomom debelog crijeva, a kod kojih metastaze nisu operirane.



### 4. ISPITANICI I METODE

#### 4.1. USTROJ STUDIJE

Retrospektivna (kohortna) studija odnosi se na vremensko razdoblje od tri godine (2010/2012. godina ) i obuhvaća ispitanike kojima je u tom periodu dijagnosticiran metastatski karcinom debelog crijeva.

#### 4.2. METODE

Iz povijesti bolesti bolesnika sa Zavoda za onkologiju i radioterapiju dobiveni su podaci o dobi i spolu bolesnika, sijelu metastatske bolesti, te broju trombocita. Također su dobiveni podaci o načinu postavljanja dijagnoze, vremenu do progresije bolesti i nadnevku smrti. U povijestima bolesti postoje podaci i o laboratorijskim vrijednostima pri svakoj posjeti, te su se pratile vrijednosti krvne slike, a time i vrijednosti trombocita kroz vrijeme.

#### 4.3. ISPITANICI

Na zavodu za onkologiju i radioterapiju Kliničkog bolničkog centa (KBC) Osijek u razdoblju od 2010.-2012.godine evidentirano je 917 oboljelih osoba od karcinoma debelog crijeva, kod kojih je 463 bolesnika sa dijagnozom karcinoma debelog crijeva - kolona i 454 bolesnika sa dijagnozom karcinoma završnog debelog crijeva – rektuma.

U naše istraživanje uključeni su bolesnici kod kojih je u periodu od tri godine (2010.- 2012.g.) na Zavodu za onkologiju Kliničkog bolničkog centra Osijek, otkriven metastatski karcinom debelog crijeva. Iz povijesti bolesti bolesnika sa Zavoda za onkologiju dobiveni su podaci o dobi, spolu, dijagnozi, sijelu metastatske bolesti, nadnevku otkrivanja metastatske bolesti. Dobiveni su nadnevci početka liječenja, podaci o vrsti provedene terapije, kontrolama tijekom liječenja, nalazima različitih dijagnostičkih pretraga kako bi se pratilo liječenje, podatke o laboratorijskim vrijednostima pri svakoj posjeti, prije početka liječenja, tijekom liječenja, te po završetku liječenja, nadnevak zadnje kontrole onkologa. Praćene su vrijednosti trombocita kroz vrijeme. Iz studije su isključeni bolesnici zbog nepotpune medicinske dokumentacije, te je ukupan broj ispitanika 179.

#### **4. ISPITANICI I METODE**

Svi bolesnici su prilikom započinjanja liječenja potpisali pristanak za liječenje, identitet bolesnika ostao je anonimn, bolesnicima se nije radio nikakav invazivni postupak, već su se koristili samo podaci iz povijesti bolesti, u skladu s etičkim standardima propisanim za medicinska istraživanja i načelima dobre kliničke prakse.

Istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo Kliničkog bolničkog centra Osijek (Broj: R2:4754-4>/2017.).

### 5. STATISTIČKE METODE

Svi prikupljeni kategorički podatci predstavljani su apsolutnim i relativnim frekvencijama, dok su numerički podaci opisani aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom te medijanom i interkvartilnim rasponom. Rezultati su prezentirani grafički i tablično.

Za usporedbu kategorijskih podataka između nezavisnih skupina korišten je Hi-kvadrat test. Za usporedbu ponovljenih numeričkih mjerenja korišten je Wilcoxon test, za analizu utjecaja trombocita na preživljenje korišten je Kaplan-Meier test preživljenja, dok je za analizu prognostičkih parametara korištena Cox proporcionalna hazard regresija (sa odabranom metodom - Forward).

Statistička analiza učinjena je programskim sustavom MedCalc (inačica 18.6.0, MedCalc Software bvba), uz odabranu razinu značajnosti od  $\alpha=0,05$ .

## 6. REZULTATI

U promatranome razdoblju evidentirano je ukupno 203 pacijenta sa dijagnozom metastatskog karcinoma. Od tog broja za 24 pacijenta su bili nepotpuni podaci o bolesti, nepotpuni laboratorijski nalazi, nepoznat krajnji ishod liječenja, te su izuzeti iz daljnje analize. Ukupan broj ispitanika koji su uključeni u studiju je 179.

Ispitanici su bili prosječne starosti od  $61,1 \pm 10,9$  (aritmetička sredina  $\pm$  standardna devijacija) godina, u rasponu od najmlađeg sa 26 do najstarijeg sa 86 godina. Opis pacijenata po spolu te prema načinu postavljanja i vrsti dijagnoze prikazan je tablično (Tablica 1).

Tablica 1: Opis pacijenata po spolu i dijagnozi

Obilježje	Kategorije	Broj (%) pacijenata	P*
Spol pacijenata	Muški	110 (61,4)	<b>0,03</b>
	Ženski	69 (38,6)	
Dijagnoze	C18	106 (59,2)	<b>&lt;0,001</b>
	C19	3 (1,7)	
	C20	70 (39,1)	
Način postavljanja dijagnoze	Kolonoskopija	26 (14,5)	<b>&lt;0,001</b>
	Operacija	78 (43,6)	
	Kolonoskopija i operacija	78 (41,9)	
Metastaze	Prisutne pri dijagnozi CRC	108 (60,3)	<b>0,04</b>
	Nastale tijekom bolesti	71 (39,7)	
Sijela metastaza	Jetra	109 (60,1)	0,06
	Ostala (pluća, potrbušnica, limfni čvorovi)	70 (39,1)	
Ukupno		179 (100,0)	

\*Hi-kvadrat test

Dijagnoze:

C18 – zloćudna novotvorina debelog crijeva (kolona)

C19 – zloćudna novotvorina rektosigmoidnog prijelaza

C20 – zloćudna novotvorina završnog debelog crijeva (rektuma)

Muških pacijenata je bilo značajno više (Hi-kvadrat test,  $P = 0,03$ ) u usporedbi sa ženskim pacijentima, od postavljenih dijagnoza značajno je najmanje bilo C19 dijagnoza (Hi-kvadrat test,  $P < 0,001$ ), te je značajno više bilo pacijenata koji su išli na operaciju (Hi-kvadrat test,  $P < 0,001$ ). Nađena je značajna razlika između pacijenata kojima je kolonoskopijom potvrđena dijagnoza (Hi-kvadrat test,  $P = 0,01$ ) i pacijenata kojima je dijagnoza potvrđena operacijom ili operacijom i kolonoskopijom. Nađena je značajna razlika između metastaza prisutnim pri dijagnozi CRC (Hi-kvadrat test,  $P = 0,04$ ) i metastaza razvijenih tijekom bolesti (Tablica 1).

Usporedbom vrijednosti parametara krvne slike prije prve terapije te nakon perioda liječenja dobivena je značajna razlika za eritrocite (Wilcoxon test,  $P < 0,001$ ) te za trombocite (Wilcoxon test,  $P = 0,001$ ), odnosno vrijednosti su značajno niže nakon primjene određene terapije (Tablica 2).

Tablica 2: Usporedba vrijednosti parametara krvne slike prije te nakon terapije

Vrijednosti parametara krvne slike	Medijan (interkvartilni raspon)		P*
	Prije terapije	Nakon terapije	
Leukociti ( $\times 10^9/L$ )	7,95 (6,95 do 10,3)	8,15 (6,5 do 10,2)	0,89
Eritrociti ( $\times 10^{12}/L$ )	4,3 (4,0 do 4,7)	4,0 (3,5 do 4,5)	<b>&lt;0,001</b>
Hemoglobin (g/L)	119,5 (107,5 do 128,5)	120,5 (107,0 do 135,0)	0,13
Trombociti ( $\times 10^9/L$ )	330,5 (258,5 do 419,0)	288,0 (207,5 do 385,5)	<b>0,001</b>

\*Wilcoxon test

## 6. REZULTATI

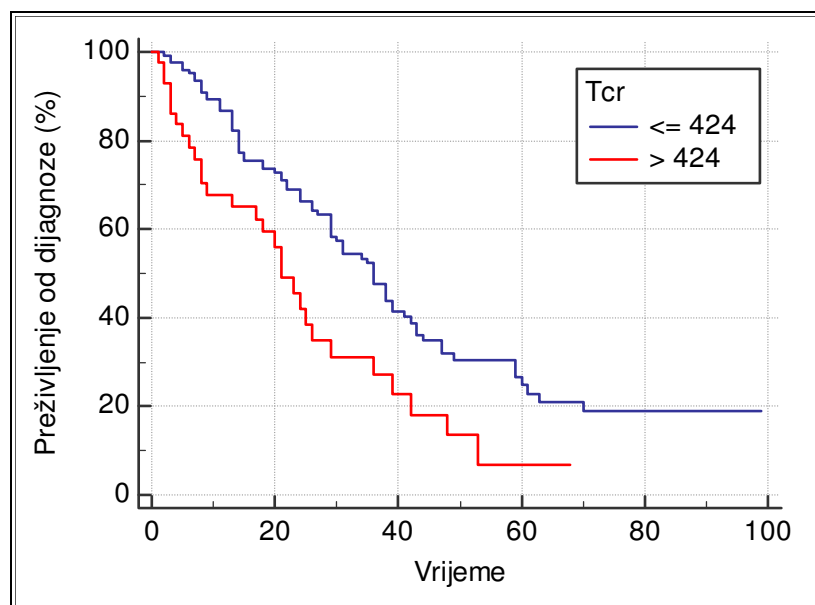
Rezultati analize su pokazali statistički značajan utjecaj trombocita na preživljenje promatranih pacijenata (Kaplan-Meier test preživljenja,  $P = 0,002$ ), međutim nisu pokazali statistički značajan utjecaj trombocita na vrijeme do pojavljivanja metastaza (Tablica 3).

Tablica 3: Utjecaj trombocita na pojavu metastaza i vrijeme preživljenja

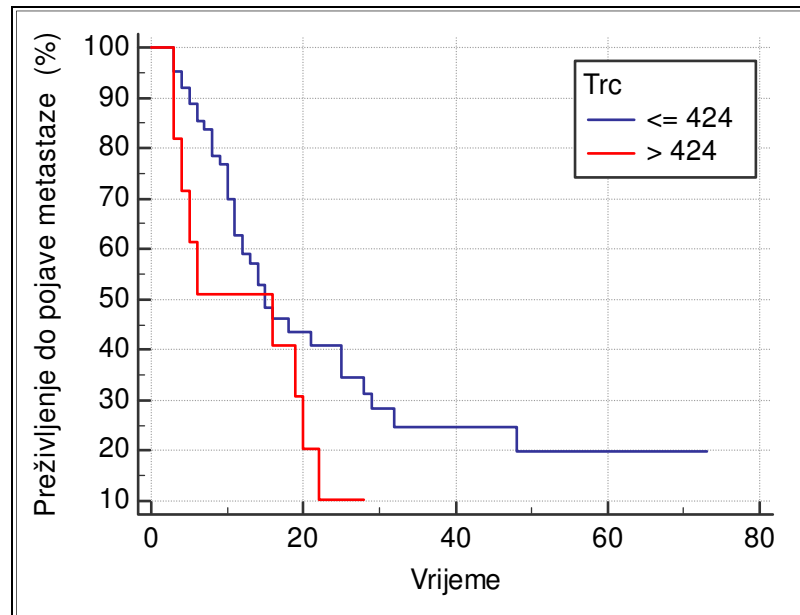
Preživljenje u mjesecima	Medijan (95% CI)		P*
	$\leq 424 \times 10^9/L$ trombocita	$> 424 \times 10^9/L$ trombocita	
Nakon postavljanja dijagnoze /n=170	36,0 (29,0 do 41,0)	21,0 (17,0 do 29,0)	<b>0,002</b>
Do pojave metastaza /n=75	15,0 (12,0 do 25,0)	16,0 (4,0 do 20,0)	0,10

\*Kaplan-Meier test preživljenja

Grafikon utjecaja početne razine trombocita na vrijeme preživljenja pacijenata od postavljanja dijagnoze do smrti prikazan je na Slici 1, dok je grafikon utjecaja početne razine trombocita na vrijeme do pojave metastaza kod pacijenata prikazan je na Slici 2.



Slika 1: Vrijeme preživljenja u mjesecima od postavljanja dijagnoze do smrti



Slika 2: Vrijeme preživljenja u mjesecima od dijagnoze do pojave metastaze

U Coxov regresijski model uvršteni su slijedeći parametri: dob pacijenata, te početne vrijednosti eritrocita, leukocita, trombocita i hemoglobina. Kao jedini statistički značajan prediktor istaknuta je vrijednost leukocita, i u analizi preživljenja pacijenata i u analizi vremena do pojave metastaza kod pacijenata koji nisu imali metastaze prilikom postavljanja dijagnoze (Tablica 4).

Tablica 4: Utjecaj promatranih parametara/prediktora na vrijeme preživljenja

Leukociti	<b>b</b>	<b>Exp(b)</b>	<b>95% CI</b>	<b>P*</b>
Nakon postavljanja dijagnoze /n=170	0,17	1,18	1,10 do 1,27	<b>&lt;0,001</b>
Do pojave metastaza /n=75	0,17	1,19	1,06 do 1,33	<b>0,003</b>

\*Cox proporcionalna hazard regresija (Forward)

Korištenjem Forward metode u Coxovom regresijskom modelu dobiven je identični beta koeficijent regresije ( $b = 0,17$ ) za vrijeme preživljenja te za vrijeme do pojave metastaza kod pacijenata. Omjeri vjerojatnosti i pripadajući 95% CI su također vrlo slični za oba vremena, te pokazuju da viši leukociti kod pacijenata za 1,19 puta povećavaju rizik dobivanja metastaza odnosno 1,18 puta povećavaju rizik od smrti pacijenata (Tablica 4).

### 7. RASPRAVA

Prema podacima Registra za rak Republike Hrvatske, karcinom debelog crijeva čini 17% svih novodijagnosticiranih karcinoma u muškaraca i 12% u žena i nalazi se na drugom mjestu po učestalosti u incidenciji svih karcinoma (17). Isto tako i stopa smrtnosti je 30-40 % veća u muškaraca nego u žena. Vjerojatni razlozi za to su posljedica izlaganja rizičnim čimbenicima, složena interakcija spolnih hormona ili probir pacijenata (32).

U našem istraživanju bilo je muških bolesnika (110) značajno više (Hi-kvadrat test,  $P = 0,03$ ) u usporedbi sa ženskim pacijentima (69). Incidencija karcinoma debelog crijeva veća je u muškaraca nego u žena što se slaže s podacima navedenim u gornjem tekstu,(13) a može se povezati sa okolišnim rizičnim čimbenicima (pušenje, konzumiranje alkohola, prehrana...).

Većina oboljelih od karcinoma debelog crijeva javlja se u dobi od 65-75 godina (32).

Prosječna dob bolesnika u našem istraživanju je 61 godina, te su nešto mlađi nego se navodi u literaturi.

U Republici Hrvatskoj se provodi Nacionalni program za rano otkrivanja karcinoma debelog crijeva kojim su obuhvaćene sve osobe između 50 i 75 godina, tako da je prosječna dob 62 godine što se podudara s našim istraživanjem. Otkrivanjem raka debelog crijeva u ranoj fazi bolesti mogu se spasiti mnogi životi (36).

U našem istraživanju od postavljenih dijagnoza značajno najmanje bolesnika je bilo s dijagnozom C19 - zloćudna novotvorina rektosigmoidnog prijelaza (Hi-kvadrat test,  $P < 0,001$ ), s dijagnozom C20 - zloćudna novotvorina završnog debelog crijeva-rektuma bilo je 39,1%, dok je najviše bolesnika bilo s dijagnozom C18 - zloćudna novotvorina kolona, 59,2%.

Kolonoskopija je svakodnevnoj kliničkoj praksi „zlatni standard“ u dijagnostici karcinoma debelog crijeva. Omogućava otkrivanje promjena sluznice crijeva u ranom stadiju, što za bolesnika može značiti i potpuno izlječenje, a pruža mogućnost uklanjanja mogućih polipa koji se nađu u skoro 50% slučajeva bolesnika s karcinomom debelog crijeva (37).



U našem istraživanju dijagnoza karcinoma debelog crijeva, nađena značajna razlika između pacijenata kojima je kolonoskopijom potvrđena dijagnoza (26%) i pacijenata kojima je dijagnoza potvrđena operacijom ili kolonoskopijom i operacijom (75%), te je značajno više bilo pacijenata koji su išli na operaciju (Hi-kvadrat test,  $P < 0,001$ ). To se može objasniti činjenicom da većina bolesnika dolazi na pregled kada već ima izražene simptome, pa je mogućnost otkrivanja CRC veća, a time i potreba za kirurškim zahvatom, koji je temelj terapije.

U trenutku postavljanja dijagnoze oko 30-40% bolesnika ima već proširenu bolest i prisustvo metastaza. Bolesnici mogu imati jedan ili više kliničkih simptoma koji ukazuju na prisutnost karcinoma ili mogu biti asimptomatski. Kraće preživljenje od 5 godina imaju simptomatski bolesnici (37).

U našem istraživanju kod postavljanja dijagnoze dokazano je prisustvo metastaza kod 108 ili 60,9% bolesnika, dok je kasnije metastaze razvilo 71 ili 39,1% bolesnik. Značajno više metastaza nađeno je u jetri bolesnika 109 (60,9%), dok se ostale metastaze nalaze na plućima, potrbušnici, limfnim čvorovima (39,1%). Prema literaturnim podacima u kojima su metastaze prisutne kod postavljanja dijagnoze u manjem postotku, naši rezultati su pokazali veći postotak metastaza u jetri. Da li je razlog tome da se pacijenti javljaju liječniku kada su simptomi CRC puno izraženiji ili su uzroci obolijevanja nepoznati - tema je nekog drugog ispitivanja!

Postoji sve više dokaza i hipoteza koji pokazuju povezanost između rasta karcinoma, metastaza i izlučivanja trombocita (38).

Analizirajući broj trombocita na vrijeme preživljenja bolesnika, od postavljanja dijagnoze do smrti (Slika 1.), rezultati analize su pokazali statistički značajan utjecaj trombocita na preživljenje promatranih pacijenata (Kaplan-Meier test preživljenja,  $P = 0,002$ ), ali nisu pokazali statistički značajan utjecaj trombocita na vrijeme do pojavljivanja metastaza (Tablica 3.)

Grafikon utjecaja početnih vrijednosti trombocita na vrijeme preživljavanja bolesnika od postavljanja dijagnoze do smrti prikazan je na Slici 2., dok je grafikon utjecaja početne razine trombocita na vrijeme do pojave metastaza kod bolesnika prikazan na slici 4.

U literaturi se mogu naći različito postavljene gornje granične vrijednosti trombocita, od  $400 \times 10^9/L$  (9)(39), a u nekim ispitivanjima  $300$  i  $450 \times 10^9/L$  (40).

Referentna vrijednost trombocita u laboratoriju Zavoda za kliničko laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Osijek je  $158-424 \times 10^9/L$ . Mi smo u ovom istraživanju koristili gornju referentnu vrijednost trombocita  $424 \times 10^9/L$ . Prema rezultatima možemo vidjeti utjecaj povećanog broja trombocita kako na vrijeme preživljenja bolesnika od postavljanja dijagnoze do smrti, tako i utjecaj trombocita od dijagnoze do pojave metastaza.

Tijekom praćenja bolesnika sa karcinomom debelog crijeva, prilikom svakog posjeta liječniku ili prije terapije rade se i ostali laboratorijski parametri, biokemijski parametri i tumor markeri, ali u ovom radu nisu prikazani rezultati tih analiza, jer nisu bili tema našeg istraživanja, te nam nisu bili bitni.

U našem istraživanju pratili smo vrijednosti eritrocita prije prve terapije te nakon perioda liječenja i dobivena je značajna razlika za eritrocite (Wilcoxon test,  $P < 0,001$ ) te za trombocite (Wilcoxon test,  $P = 0,001$ ), odnosno vrijednosti su značajno niže nakon primjene određene terapije (Tablica 2).

U Coxov regresijski model uvršteni su slijedeći parametri: dob pacijenata, te početne vrijednosti eritrocita, leukocita, trombocita i hemoglobina. Kao jedini statistički značajan značajan prediktor istaknuta je vrijednost leukocita, i u analizi preživljenja pacijenata i u analizi vremena do pojave metastaza kod pacijenata koji nisu imali metastaze prilikom postavljanja dijagnoze (Tablica 4.).

Korištenjem Forward metode u Coxovom regresijskom modelu dobiven je identični beta koeficijent regresije ( $b = 0,17$ ) za vrijeme preživljenja te za vrijeme do pojave metastaza kod pacijenata. Omjeri vjerojatnosti i pripadajući 95% CI su također vrlo slični za oba vremena, te pokazuju da povišene vrijednosti leukocita kod pacijenata za 1,19 puta povećavaju rizik dobivanja metastaza odnosno 1,18 puta povećavaju rizik od smrti pacijenata (Tablica 4).

Našim istraživanjem smo dobili važne rezultate vrijednosti eritrocita, hemoglobina i leukocita, međutim oni nisu bili tema ovoga rada, ali pretpostavljamo da će biti korisni podaci za iduća istraživanja.

Doprinos trombocita patogenezi karcinoma je izuzetno kompleksan i ovisi o dvosmjernoj interferenciji između trombocita, tumorskih stanica, leukocita, stromalnih stanica endotelnih stanica

## **7. RASPRAVA**

Javlja se puno neodgovorenih klinički relevantnih pitanja, kao što su: Koji pacijenti mogu izvući najveće koristi iz anti-trombocitne terapije? Jesu li anti-trombocitni lijekovi najbolje korišteni u terapiji malignih oboljenja? I koji marker ili tipovi malignosti mogu predvidjeti terapijsku ulogu inhibicije trombocita? Ova pitanja, mogu se rješavati kako u eksperimentalnim uvjetima tako i kroz provođenje dobro oblikovanih kliničkih ispitivanja.

### 8. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih rezultata može se zaključiti sljedeće:

1. Rezultati analize su pokazali statistički značajan utjecaj trombocita na preživljenje promatranih pacijenata (Kaplan-Meier test preživljenja,  $P = 0,002$ ).
2. Trombociti imaju statistički značajan utjecaj na preživljenje promatranih bolesnika od dijagnoze bolesti do smrti, jer su našim istraživanjem dobiveni rezultati koji to potvrđuju.
3. Trombociti nemaju statistički značajan utjecaj na vrijeme do pojavljivanja metastaza.
4. Broj trombocita povezan s lošijom prognozom kod bolesnika s metastatskim kolorektalnim karcinomom.
5. Povećan broj trombocita može poslužiti kao prognostički čimbenik u bolesnika s metastatskim karcinomom debelog crijeva.

### 9. SAŽETAK

**Uvod:** Trombocitoza je prognostički čimbenik kod mnogih karcinoma, tako i kod karcinoma debelog crijeva. Poznato je da nakon operativnog zahvata karcinoma broj trombocita pada, te korelira s vremenom do progresije bolesti i s ukupnim preživljenjem. Porast broja trombocita je jedan od prvih, nespecifičnih znakova progresije maligne bolesti.

**Cilj:** Cilj našeg istraživanja je odrediti utjecaj broja trombocita na preživljenje do progresije bolesti, te na ukupno preživljenje kod bolesnika sa metastatskim karcinomom debelog crijeva, a kod kojih metastaze nisu operirane.

**Metode:** Iz povijesti bolesti bolesnika sa Zavoda za onkologiju i radioterapiju dobiveni su podaci o dobi i spolu bolesnika, sijelu metastatske bolesti, te broju trombocita. Također su dobiveni podaci o načinu postavljanja dijagnoze, vremenu do progresije bolesti i datumu smrti.

**Rezultati:** Rezultati analize su pokazali statistički značajan utjecaj trombocita na preživljenje promatranih pacijenata, međutim nisu pokazali statistički značajan utjecaj trombocita na vrijeme do pojavljivanja metastaza.

**Zaključak:** Povećan broj trombocita može poslužiti kao dobar prognostički čimbenik u bolesnika s metastatskim karcinomom debelog crijeva

**Ključne riječi:** karcinom, karcinom debelog crijeva, metastaze, trombociti

### 10. SUMMARY

#### **Platelet count as a prognostic factor in patients with metastatic colorectal cancer**

**Introduction:** Thrombocytosis is a prognostic factor in many cancers, including colon cancer. It is well-established that after cancer surgery platelet count decreases and that it correlates with the time to disease progression and overall survival rate. The increase in platelet count is among the first nonspecific symptoms of malignant disease progression.

**Objective:** The objective of our research is to determine the influence of platelet count on survival until disease progression, as well as overall survival rate of patients with metastatic colon cancer who have not undergone surgery.

**Methods:** Data about the patient's age and sex, site of metastasis, and platelet count was obtained from the patient's medical records at the Department of Oncology and Radiotherapy, as well as data about methods of diagnosis, time to disease progression and death date.

**Results:** The results of the analysis have revealed a statistically significant influence of platelet count on the survival rate in the patient sample; however, they failed to show a statistically significant influence of platelet count on the time to metastasis.

**Conclusion:** High platelet count can be used as a good prognostic marker for patients with metastatic colon cancer.

**Keywords:** cancer, colon cancer, metastasis, platelets

### 11. LITERATURA

1. Riess L. Zur pathologischen Anatomie des Blutes. Arch Anat Physiol Wissensch Med 1872; 39: 237 – 49.
2. Billroth T. Lectures on Surgical Pathology and Therapeutics: A Handbook for students and Practitioners.- V.76. London: The New Sydenham Society, 1878.
3. Lin RJ, Afshar-Kharghan V, Schafer AI. Paraneoplastic thrombocytosis: The secrets of tumor self-promotion. Blood 2014; 124:184-187.
4. Lin MS, Huang JX, Zhu J, Shen HZ. Elevation of platelet count in patients with colorectal cancer predicts tendency to metastases and poor prognosis. Hepatogastroenterology. 2012;59(118):1687-90.
5. Jóna V, Krzystanek M, Vass T, Lang T, Juhász V et al. Thrombocytosis of Liver Metastasis from Colorectal Cancer as Predictive Factor. Pathol. Oncol. Res. 2015; 21:991–997.
6. Meikle CK, Kelly CA, Garg P, Wuescher LM, Ali RA, Worth RG. Cancer and Thrombosis: The Platelet Perspective. Front Cell Dev Biol. 2017;4:147.
7. Labar B. Hauptmann E. i sur: Hematologija. Zagreb, Školska knjiga, 2007;1: str 60-66.
8. Ramalingam G, Jones N, Besser M. Platelets for anaesthetists - part 1: Physiology and pathology. BJA Education. 2016; 16(4): 134-139
9. Labar B. i sur. Hematologija. Školska knjiga, Zagreb, 2017; 91-99.
10. Abrams SC, Lawrence FB. Platelet signal transduction. In: Hemostasis and thrombosis, basic principles and clinical practice. 4th ed, Colman RW et al eds, Lipincot, Williams & Wilkins., 2001; 541.
11. McKenzie SB, ed. Clinical laboratory hematology. 1st edition. Upper Sadle River, New Jersey. Prentice Hall, 2004.
12. Kamath S, Blann AD, Lip GY. Platelet activation: assessment and quantification. Eur Heart J, 2001; 22(17): 1561-1571.
13. FitzGerald GA, Moran N. Molecular mechanism of platelet activation and inhibition. In: Hemostasis and thrombosis, basic principles and clinical practices. 4th ed, Colman RW et al eds, Lipincot, Williams & Wilkins, 2001; 1517.
14. Ghoshal K, Bhattacharyya M. Overview of Platelet Physiology: Its Hemostatic and

## 11. LITERATURA

- Nonhemostatic Role in Disease Pathogenesis. *Scientific World J* 2014;781857.
15. Golebiewska EM, Poole AW. Platelet secretion: From haemostasis to wound healing and beyond. *Blood Rev* 29,2015;153-62.
  16. Hrvatska komora medicinskih biokemičara. Getaldić-Švarc B. Tečaj usavršavanja medicinskih biokemičara. Analiza krvnih stanica-mogućnosti ograničenja tehnologija. Priručnik, Medicinska naklada, Zagreb, 2015.
  17. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Registar za rak Republike Hrvatske: Incidencija raka u Hrvatskoj 2014. Zagreb, 2016. Bilten br. 39.
  18. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. 2012. *CA Cancer J Clin.* 2011;61:69-90.
  19. Kierszenbaum AL. *Histology And Cell Biology - An Introduction to Pathology.* 4. izd. Philadelphia: Elsevier-Saunders; 2013; 1689-1699.
  20. Chiba T, Marusawa H, Ushijima T, Inflammation-associated cancer development in digestive organs: mechanisms and roles for genetic and epigenetic modulation. *Gastroenterology*, 2012; 143(3): 550-63.
  21. Hrvatska liga protiv raka, Rak debelog crijeva. Dostupno na adresi: <http://hlpr.hr/rak/vijest/rak-debelog-crijeva>. Datum pristupa: 7.8.2018.
  22. Roth A, Roth A. Rak debelog crijeva. *Medicus.* 15.11.2001.;10(2)\_Maligni tumori:191-199. Dostupno na adresi: <https://hrcak.srce.hr/19349>. Datum pristupa: 21.02.2018.
  23. Sharma D, Brummel-Ziedins KE, Bouchard BA, Holmes CE. Platelets in tumor progression: a host factor that offers multiple potential target sin the treatment of cancer. *J Cell Physiol.* 2014;229(8):1005-15.
  24. Meikle CK, Kelly CA, Garg P, Wuescher LM, Ali RA, Worth RG. Cancer and Thrombosis: The Platelet Perspective. *Front Cell Dev Biol.* 2017;4:147.
  25. Kim, J., and Bae, J.-S. Tumor-associated macrophages and neutrophils in tumor microenvironment. *Mediators Inflamm.* 2016; 11.
  26. Larrick, J.W., and Wright, S.C. Cytotoxic mechanism of tumor necrosis factor-alpha. *FASEBJ.* 1990; 4,3215–3223.
  27. Bambace N. M., Holmes C. E. The platelet contribution to cancer progression. *J. Thromb. Haemost.* 9, 2011; 237–249.



28. Jurasz, P., Alonso-Escolano D., and Radomski, M. W. Platelet–cancer interactions: mechanisms and pharmacology of tumour cell-induced platelet aggregation. *Br. J. Pharmacol.* 2004; 143, 819–826.
29. Kakkar, A. K., Deruvo, N., Chinswangwatanakul, V., Tebbutt, S. & Williamson, R. C. N. Extrinsic-pathway activation in cancer with high factor VIIA and tissue factor. *Lancet* 346, 1004–1005 (1995).
30. Gay LJ, Felding-Habermann B. Contribution of platelets to tumour metastasis. *Nat Rev Cancer.* 2011; 11(2): 123-34.
31. Joyce, J. A. & Pollard, J. W. Microenvironmental regulation of metastasis. *Nature Rev. Cancer* 9, 2009; 239–252.
32. Siegel R, Desantis C, Jemal A. Colorectal Cancer Statistics, 2014. *CA Cancer J Clin.* 2014; 64(1): 104–17).
33. Khorana, A. A. & Connolly, G. C. Assessing risk of venous thromboembolism in the patient with cancer. *J. Clin. Oncol.* 27, 2009: 4839–4847.
34. Brkić T, Grgić M. Kolorektalni karcinom, novosti u gastroenterologiji. *Medicus* 2006. Vol. 15, No. 1, 89-97.
35. Astler VB, Collier FA: The prognostic significance of direct extension of carcinoma of the colon and rectum. *Ann Surg* 1954; 139: 846.
36. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Nacionalni program ranog otkrivanja raka debelog crijeva, 2016.
37. Štimac D, Katičić M, Kujundžić M, Ljubičić N, Poropat G, Bokun T. Značaj ranog otkrivanja raka debelog crijeva. *Medicina Fluminensis.* 01.06.2008. 44(1): 7-15. Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/25943>. Datum pristupa: 08.09.2018.
38. Mitrugno, A. Williams, D. SW Kerrigan, SW. Moran. N. A novel and essential role for FcγRIIa in cancer cell induced platelet activation. *Blood*, 2014, Vol 123, 2.
39. Kostanjšak L. Povezanost trombocitnog serotonina i svojstva trombocita s kliničkom slikom i liječenja depresivnog poremećaja (disertacija). Zagreb: Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu: 2015. 39.
40. Zhang X, Lv Z, Yu H, Zhu J. The clinicopathological and prognostic role of thrombocytosis in patients with cancer: A meta-analysis. *Oncology Letters.* 2017; 13(6): 5002-5008.

## 12. ŽIVOTOPIS

### Osobni podatci:

Ime i prezime: Dijana Varganović

Datum i mjesto rođenja: 10.6.1963., Osijek

Telefon: 095 199 3208

E-mail : [vdijana7@gmail.com](mailto:vdijana7@gmail.com)

### Obrazovanje:

2015. – 2017. Sveučilišni diplomski studij medicinsko-laboratorijska dijagnostika,  
Medicinski fakultet Osijek Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

2010. – 2013. Sveučilišni preddiplomski studij medicinsko- laboratorijska dijagnostika  
Medicinski fakultet Osijek Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

1980. – 1982. Školski centar „Ruđer Bošković“ Osijek

1978. – 1980. Gimnazija CUO „Braća Ribar“ Osijek

### Radno iskustvo:

1985. – do danas Klinički bolnički centar Osijek, Zavod za laboratorijsku dijagnostiku

1983.–1984. godine, Medicinski centar Vinkovci