PROGNOSTIČKA VRIJEDNOST UPALNIH BODOVNIH SUSTAVA I ŠIRINE DISTRIBUCIJE ERITROCITA U BOLESNIKA S B-VELIKOSTANIČNIM LIMFOMOM

Periša, Vlatka

Doctoral thesis / Disertacija

2017

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:152:991251

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Medicine Osijek

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Vlatka Periša

PROGNOSTIČKA VRIJEDNOST UPALNIH BODOVNIH SUSTAVA I ŠIRINE DISTRIBUCIJE ERITROCITA U BOLESNIKA S B-VELIKOSTANIČNIM LIMFOMOM

Doktorska disertacija

Osijek, 2017.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Vlatka Periša

PROGNOSTIČKA VRIJEDNOST UPALNIH BODOVNIH SUSTAVA I ŠIRINE DISTRIBUCIJE ERITROCITA U BOLESNIKA S B-VELIKOSTANIČNIM LIMFOMOM

Doktorska disertacija

Osijek, 2017.

Mentor rada: izv. prof. dr. sc. Lada Zibar

Rad ima 76 lista

Doktorska disertacija izrađena na Odjelu za hematologiju Kliničkog bolničkog centra Osijek

ZAHVALA

Zahvaljujem svojoj mentorici, prof. prim. dr. sc. Ladi Zibar, dr. med., na poticanju mog znanstveno-istraživačkog rada te na nesebičnoj pomoći, uloženom trudu i mnogim savjetima.

Velika hvala mojoj dragoj šefici Jasminki Sinčić-Petričević, dr. med., na podršci mom znanstvenom napredovanju.

Zahvaljujem svim kolegama i medicinskim sestrama s Odjela za hematologiju Kliničkog bolničkog centra Osijek.

Hvala mojoj obitelji (Lota, Frano, moj Igor, mama, tata...) na bezuvjetnoj potpori i ljubavi.

Najveća hvala mom bratu Jurici kojega više na Zemlji nema, ali znam da s neba čuva i prati svoju mlađu seku. Hvala ti, brate!

SADRŽAJ

POPIS KRATICA VII

1. UVOD 1

1.1. B-velikostanični limfom 1

1.1.1. Povijest ne-Hodgkinovih limfoma 1

1.1.2. Definicija B-velikostaničog limfoma 2

1.1.3. Klasifikacija B-velikostaničnog limfoma 2

1.1.4. Epidemiologija 3

1.1.5. Klinička obilježja 3

1.1.6. Dijagnoza 3

1.1.7. Liječenje 4

1.2. Prognostički čimbenici kod B-velikostaničnog limfoma 4

1.2.1. Međunarodni prognostički indeks (IPI 4

1.2.2. Biljezi diferencijacije i aktivacije limfomskih stanica kao prognostički parametri 5

1.3. Novi prognostički čimbenici kod B-velikostaničnog limfoma 6

1.3.1. Upalni prognostički bodovni sustavi 6

1.3.2. Širina distribucije eritrocita 8

2. HIPOTEZA 10

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA 11

4. ISPITANICI I POSTUPCI 12

4.1. Etička načela 12

4.2. Ustroj istraživanja 12

4.3. Ispitanici 12

4.4. Postupci 13

4.4.1. Klinički postupci 13

4.4.2. Statistički postupci 14

5. REZULTATI 15

5.1. Značajke i ishod svih bolesnika 15

5.2. Omjer neutrofila i limfocita 18

5.3. Omjer trombocita i limfocita 25

5.4. Glasgowski prognostički bodovni sustav 31

5.5. Širina distribucije eritrocita 34

5.6. Multivarijatna Coxova regresijska analiza svih utvrđenih prognostičkih čimbenika za ukupno preživljenje i preživljenje bez događaja 42

6. RASPRAVA 45

6.1. Osvrt na rezultate liječenja i kriterij odabira bolesnika 45

6.2. Omjer neutrofila i limfocita 45

6.3. Omjer trombocita i limfocita 46

6.4. Glasgowski prognostički bodovni sustav 47

6.5. Širina distribucije eritrocita 47

7. ZAKLJUČAK 50

8. SAŽETAK 51

9. SUMMARY 53

10. LITERATURA 55

11. ŽIVOTOPIS 68

POPIS KRATICA

aa-IPI- godinama prilagođeni međunarodni prognostički indeks, od engl. *age - adjusted international prognostic index*

ABC - poput aktiviranih B-stanica, od engl. *activated B-cell like*

ALK - površinska bjelančevina, od engl. *anaplastic lymphoma kinase*

ANOVA - analiza varijanci

AUC - površina ispod krivulje, od engl. *area under the curve*

BCL2 - antiapoptotička bjelančevina, od engl. *B-cell lymphoma 2*

BCL6 - gen koji kodira bjelančevinu koja regulira prijepis, od engl. *B-cell lymphoma 6*

B-LCL - B-velikostanični limfom, od engl. *B large cell lymphoma*

BNLI - klasifikacija limfoma, od engl. *British National Lymphoma Investigation*

CBC - kompletna krvna slika, od engl. *complete blood count*

CD - stanični diferencijacijski antigen, od engl. *cluster of differentiation*

CHOP - kemoterapijski protokol: ciklofosfamid, doksorubicin (hidroksidaunorubicin), vinkristin (Oncovin), prednison, od inicijala lijekova korištenih u kemoterapijskom protokolu

CI- interval pouzdanosti, od engl. *confidence interval*

CNOP - kemoterapijski protokol: ciklofosfamid, mitoksantron (Novantrone), vinkristin (Oncovin), prednison, od inicijala lijekova korištenih u kemoterapijskom protokolu

COEP - kemoterapijski protokol: ciklofosfamid, vinkristin (oncovin), etopozid, prednison, od inicijala lijekova korištenih u kemoterapijskom protokolu

CRP - C-reaktivni protein

CVP - kemoterapijski protokol: ciklofosfamid, vinkristin, prednizon, od inicijala lijekova korištenih u kemoterapijskom protokolu

DLBCL - NOS - difuzni B-velikostanični limfom, od engl. *diffuse large B cell lymhoma* - not otherwise specified

E - eritrociti

EBV - Epstein-Barrov virus

ECOG - velika američka kooperativna skupina, od engl. *Eastern Cooperative Oncology Group*

EFS - preživljenje bez događaja, od engl. *event free survival*

EPOCH - infuzijski kemoterapijski protokol: etopozid, prednison, vinkristin (Oncovin), ciklofosfamid, doksorubicin (hidroksidaunorubicin), od inicijala lijekova korištenih u kemoterapijskom protokolu

Fe - željezo, od lat. *ferrum*

GCB - obilježje germinativnog centra, od engl. *germinative cente B-cell like*

GPS - Glasgowski prognostički bodovi, od engl. *Glasgow prognostic score*

HGB - hemoglobin

HHV8 - humani herpes virus 8

HR - omjer rizika, od engl. *hasard ratio*

IPI - međunarodni prognostički indeks, od engl. *international prognostic index*

KOPB - kronična opstruktivna plućna bolest

KBC - klinički bolnički centar

L - leukociti

LDH - laktat dehidrogenaza

MCV - prosječni volumen eritrocita, od engl. *mean cell volumen*

MUM1/IRF4 - transkripcijski faktor, od engl. *Multiple Myeloma 1 / Interferon Regulatory Factor 4 protein*

NHL - ne-Hodgkinov limfom

NLR - omjer neutrofila i limfocita, od engl. *neutrophil to lymphocyte ratio*

OS - ukupno preživljenje, od engl. *overall survival*

PLR - omjer trombocita i limfocita, od engl. *platelet to lymphocyte ratio*

PFS - preživljenje bez progresije, od engl. *progression free survival*

PS - opće stanje, od engl. *performance status*

R - rituksimab

RDW - širina distribucije eritrocita, od engl. *red blood cell distribution width*

REAL - klasifikacija limfoma od engl. *Revised European American lymphoma classification*

ROC - statistička analiza, od engl. *Receiver Operating Characteristic Curve*

Trb - trombociti

SAD - Sjedinjene Američke Države

SZO - Svjetska zdravstvena organizacija

SŽS - središnji živčani sustav

VEGF - vaskularni endotelni čimbenik, od engl. *vascular endothelial growth factor*)

1. UVOD

1.1. B-velikostanični limfom

1.1.1. Povijest ne-Hodgkinovih limfoma

Britanski patolog Thomas Hodgkin prvi je 1832. opisao limfome u svome djelu *„On some morbid appearances of the absorbent glands and spleen“* (1). Kasnijim analizom njegovih uzoraka utvrđeno je da su od sedam uzoraka tri bila Hodkginov limfom, a ostalo su ne-Hodgkinovi limfomi (NHL), reaktivna upala i tuberkuloza (2).

NHL je obuhvaćao veliku skupinu malignih limfoma koji nisu imali patohistološka svojstva Hodgkinovog limfoma. Rappaport klasifikacija, koju je predložio Henry Rappaport 1956. i 1966., prva je široko prihvaćena klasifikacija limfoma koji nisu Hodgkinovi limfomi. Godine 1982. Working Formulation klasifikacija prva je uvela termin NHL. Do pojave klasifikacije prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (SZO) iz 2001. i njezinih modifikacija iz 2008. i 2016., korištene su različite klasifikacije (Rappaportova klasifikacija, Kielska klasifikacija, Lukes-Collinsova klasifikacija, Working Formulation klasifikacija, BNLI - od engl. *British National Lymphoma* klasifikacija, REAL - od. engl. *Revised European-American Lymphoma* klasifikacija) kojima se pokušalo postići konsenzus između patologa i kliničara u cijelom svijetu (3).

Najraniji klasifikacijski sustavi temelje se na patohistološkoj građi tkiva i citološkom izgledu neoplastičnih stanica. Međutim, s razvojem i primjenom imunofenotipizacije, citogenetičkog i molekulskog testiranja, utvrđeno je da se mnogi zasebni entiteti koji postoje ne mogu pouzdano razlikovati na temelju same morfologije. Upravo uključivanje imunofenotipa i genetičkih kriterija 1994. dovelo je do razvoja REAL klasifikacije. Brojne naknadne analize pokazale su da je u REAL klasifikaciji dodana vrijednost na starije sustave za određivanje prognoze i stratifikaciju bolesnika. Klasifikacija SZO (2001., modifikacija 2008. i 2016.) prva je globalno prihvaćena klasifikacija hematopoetskih novotvorina koja se temelji na načelima REAL klasifikacije novotvorina limfocitne loze. Temelj dijagnoze limfoma, prema klasifikaciji SZO-a, nije samo histopatološki imunohistokemijski nalaz („zlatni standard“ prijašnjih klasifikacija) nego kombinacija morfoloških, imunohistokemijskih, citogenetičkih, molekulskih i kliničkih pokazatelja bolesti. Klasifikacija SZO te je dijagnostičke postavke proširila i na mijeloidne, mastocitne i histiocitne novotvorine.

1.1.2. Definicija B-velikostaničog limfoma

NHL su heterogena skupina limfoproliferacijskih bolesti. Nastaju klonskom proliferacijom zloćudne limfatične stanice. Najčešće su lokalizirani u limfnim čvorovima ili drugim limfnim organima, ali i u ekstralimfatičkim organima i koštanoj srži. Prema klasifikaciji SZO-a iz 2016., prema morfološkim, imunofenotipskim, genetičkim i kliničkim osobinama, razlikuje se pet skupina limfoidnih neoplazmi: B stanične, T i NK stanične, Hodgkinov limfom, neoplazme histiocita i dendritičkih stanica te poslijetransplantacijski limfoproliferacijski poremećaji (4). Limfomi podrijetla limfocita B najčešći su i čine 80 % - 85 % svih slučajeva. B-velikostanični limfom (B-LCL, od engl. *B-large cell lymphoma*) najčešći je i na njega otpada oko 25 % NHL-a (4, 5). B-LCL pripada agresivnim limfomima, najčešći je u srednjoj i starijoj životnoj dobi.

1.1.3. Klasifikacija B-velikostaničnog limfoma

B-LCL obuhvaća heterogenu skupinu tumora koja ima kao zajedničku značajku difuzno širenje velikih neoplastičnih B stanica. Modifikacija klasifikacije SZO-a iz 2016. prepoznaje nekoliko vrsta B-LCL-a, od kojih je daleko najčešći nespecificirani difuzni B-velikostanični limfom (DLBCL-NOS, od engl. *diffuse large B cell lymhoma - not otherwise specified*) (4). Osim DLBCL-NOS-a, klasifikacija SZO-a 2016. godine razlikuje nekoliko posebnih podtipova: B-velikostanični limfom bogat T stanicama i histiocitima, primarni DLBCL središnjeg živčanog sustava (SŽS), primarni kožni DLBCL nožnog tipa, nespecificirani na Epstein-Barrov virus (EBV) pozitivan DLBCL, EBV pozitivan mukokutani ulkus, DLBCL udružen s kroničnom upalom, limfomatoidna granulomatoza, primarni medijastinalni B-LCL, intravaskularni B-LCL, ALK (od engl. *anaplastic lymphoma kinase)* pozitivni B-LCL, plazmablastični limfom, nespeficirani DLBCL koji je povezan s Humanim herpes virusom 8 (HHV8) i primarni limfom u izljevu.

1.1.4. Epidemiologija

B-LCL je najčešći oblik NHL-a i pojavljuje se u oko 25 % NHL-a u razvijenim zemljama (4 - 6). U SAD-u i Engleskoj incidencija iznosi 7 na 100.000 osoba godišnje (5, 7). U Europi kao cjelini incidencija iznosi oko 4,92 slučaja na 100.000 osoba godišnje (8). Češće se pojavljuje u muškaraca (u oko 55 % slučajeva) (5). Incidencija se povećava s dobi; medijan dobi je 64 godine, ali čini se da je medijan dobi pojavljivanja u američkih crnaca u odnosu na bijelce

niži (9). U našoj zemlji, prema službenim podacima Registra za rak, incidencija DLBCL-a 2011. godine iznosila je 4,3 na 100.000 ljudi godišnje (10).

1.1.5. Klinička obilježja

B-LCL se ubraja u agresivne limfome po svom kliničkom tijeku, što znači da neliječen dovodi do letalnog ishoda u roku od nekoliko mjeseci. Simptomi i znakovi bolesti mogu biti opći ili uzrokovani samom tumorskom masom. Opći su simptomi, tzv. B simptomi, paraneoplastički simptomi uzrokovani otpuštanjem citokina iz tumorskih stanica ili stanica imunosnog sustava koje reagiraju na tumor (11). Oni uključuju neobjašnjiv gubitak više od 10 % tjelesne mase u posljednjih 6 mjeseci, neobjašnjivu vrućicu > 38^0 C i profuzno noćno znojenje. Opći B simptomi pojavljuju se u 30 % slučajeva (12). Simptomi uzrokovani samom tumorskom masom ovise o veličini i lokalizaciji. Oko 60 % bolesnika prezentirat će se uznapredovalim kliničkim stadijem po Ann Arboru (AA) (III ili IV klinički stadij) (12, 13). Koštana srž je infiltrirana u 30 % slučajeva (14). Oko 40 % B-LCL-a prezentira se ekstranodalnom lokalizacijom (15). Najčešća ekstranodalna lokalizacija je želudac/probavni sustav, ali se bolest može pojaviti u bilo kojem organu, uključujući testis, kost, štitnjaču, žlijezde slinovnice, tonzile, kožu, jetru, dojku, nadbubrežne žlijezde, bubreg, nosnu šupljinu, paranazalne sinuse, vrat maternice, rodnicu i SŽS.

1.1.6. Dijagnoza

Dijagnoza se postavlja histološkim pregledom bioptata i imunohistokemijskom analizom. Tumorske stanice u B-LCL-u općenito izražavaju tzv. pan-B antigene (CD19, CD20, CD22, CD79a), kao i CD45. Većina ima genetičke poremećaje, ali ne postoji nijedna citogenetička promjena koja je tipično dijagnostička. 50 % do 75 % tumora izražava površinski ili citoplazmatski imunoglobulin, najčešće izotip IgM. Neuobičajeno, B-LCL može izražavati CD30 (osobito anaplastične varijante) ili CD5 (16 - 19). Analizom 109 bolesnika s pozitivnim CD5 utvrđeno je da su tumori koji izražavaju CD5 agresivniji, sa znatno lošijom prognozom (20). 25 % do 80 % DLBCL-a izražava BCL-2 (21 - 26), a oko 70 % BCL-6 (24 - 25). Ostali biljezi koji su često izraženi su CD10 (30 % do 60 % slučajeva) i MUM1/IRF4 (od engl. *Multiple Myeloma 1 / Interferon Regulatory Factor 4 protein*) (35 % do 65 % slučajeva). Proliferativna aktivnost stanica, koja je određena Ki-67 bojenjem, obično je veća od 40 %.

1.1.7. Liječenje

Od 70-ih godina prošlog stoljeća, kada su antraciklini uvedeni u terapiju, pa sve do početka ovog stoljeća, nije bilo značajnijeg napretka u liječenju NHL-a. Kemoterapija po shemi CHOP (od inicijala lijekova korištenih u kemoterapijskom protokolu) bila je zlatni terapijski standard. Najveći napredak u liječenju B-staničnih NHL-a, od uvođenja kombinirane kemoterapije, ostvaren je dodavanjem monoklonskog protutijela protiv antigena CD20 (rituksimab - R). U posljednjih su nekoliko godina velika randomizirana istraživanja pokazala da dodatak rituksimaba CHOP-u poboljšava odgovor, preživljenje bez događaja (EFS, od engl. *event-free survival*) i ukupno preživljenje bolesnika (OS, od engl. *overall survival*) s DLBCL-om. Danas je stoga R-CHOP prihvaćen kao novi terapijski standard u liječenju DLBCL-a, kako u mladih, tako i u starijih bolesnika (27 - 29). Ipak, unatoč poboljšanjima u terapiji, približno trećina bolesnika s uznapredovalim stadijem DLBCL-a i dalje će biti rezistentna na terapiju ili će relapsirati (30).

1.2. Prognostiči čimbenici kod B-velikostaničnog limfoma

1.2.1. Međunarodni prognostički indeks (IPI)

Povijesno gledano, liječnici i istraživači oslanjali su se na prognostičke indekse koji uključuju klinička obilježja kojima se može predvidjeti rizik napredovanja bolesti, relapsa i smrti u bolesnika s agresivnim NHL-om. Međunarodni prognostički indeks (IPI) objavljen je 1993. godine kao rezultat retrospektivnog istraživanja na oko 3000 agresivnih limfoma. Čimbenici od prognostičke važnosti, uključeni u IPI, su dob od 60 i više godina, povećana serumska koncentracija laktat dehidrogenaze (LDH), opće stanje bolesnika (PS, od engl. *performance status*), stadij bolesti III ili IV te broj zahvaćenih ekstranodalnih lokalizacija > 1 (Tablica 1.1.) (31). Na osnovi IPI-ja, bolesnici se svrstavaju u četiri rizične skupine, s različitom stopom petogodišnjeg preživljenja (od 26 % do 73 %) (Tablica 1.2.) (31). U starijih bolesnika često komorbiditeti određuju izbor liječenja, stoga je prihvaćen tzv. dobi prilagođen IPI (aa-IPI, od engl. *age adjusted*). On uključuje stadij bolesti, LDH i PS. Kako je IPI uključen u kliničku praksu prije primjene imunokemoterapije, Sehn i suradnici 2007. predlažu R-IPI, u tzv. post-rituksimab eri. Na osnovi R-IPI-ja, bolesnici se svrstavaju u 3 rizične skupine: s jako dobrim (četverogodišnji OS 94 %), dobrim (OS 79 %), i lošim (OS 55 %) ishodom (Tablica 1.3.) (32).

Tablica 1.1. Rizični čimbenici međunarodnog prognostičkog indeksa (IPI)

Čimbenik
Dob ≥ 60 godina
Stadij III ili IV
Povećan LDH*
ECOG PS† ≥ 2
Više od jedne ekstranodalne lokalizacije
*LDH - laktat dehidrogenaza; †ECOG PS - opće stanje
Svaki parametar iznosi 1 bod

Tablica 1.2. Međunarodni prognostički indeks (IPI)

Broj bodova (skor)	**Prognoza (rizik)**	**5-godišnje preživljenje (%)**
0,1	Niska	73
2	niska/srednja	51
3	srednja/visoka	43
4,5	Visoka	26

Tablica 1.3. Revidirani međunarodni prognostički indeks (R-IPI)

Broj bodova (skor)	**Prognoza (rizik)**	**4-godišnje preživljenje (%)**
0	vrlo dobra	94
1,2	Dobra	74
3,4, 5	Loša	55

1.2.2. Biljezi diferencijacije i aktivacije limfomskih stanica kao prognostički parametri

Radi što boljeg razrjašnjavanja biologije limfoma, provedena su brojna istraživanja uz uporabu različitih tehnika za analizu tumorskih stanica. Upotrebom tehnologije genskog čipa omogućeno je analiziranje velikog broja gena iz tumorskog tkiva te su ustanovljene tri podskupine unutar DLBCL-a neovisne o IPI-ju: podskupina GCB (engl. *germinal center B-cell like*, poput B-staničnoga germinativnog središta), koja izražava gene izražene i na normalnim B stanicama germinativnog centra, podskupina ABC (engl. *activated B-cell like*,

poput aktiviranih B stanica) koja izražava gene izražene na aktiviranim B stanicama periferne krvi, i najmanja, treća podskupina, koja je vrlo heterogena (33 - 36). Dokazano je da podskupina GCB ima bolju prognozu, dok su ABC i treća podskupina povezane s lošijim ishodom te se mogu promatrati jedinstveno kao non-GC podskupina.

Kako se tehnika genskog čipa ne može koristiti u rutinskoj kliničkoj praksi, utvrdilo se da se „običnom“ imunohistokemijskom analizom aktivacijskih i diferencijacijskih biljega DLBCL-a mogu podijeliti na prognostički povoljnu - GC i nepovoljnu - non-GC podskupinu. Predložena je podjela na osnovi diferencijacijskih biljega CD10, BCL6 i MUM1, a u nekim istraživanjima i CD138. DLBCL podrijetla germinativnog središta (GCB) su CD 10+ ili BCL 6+, MUM 1-, a oni koji nisu podrijetla germinativnog središta (non-GCB) su CD 10-, MUM 1+ ili BCL 6+, MUM 1- (37-40). Najprihvaćenija je klasifikacija prema C. P. Hansu (37). Međutim, više je radova pokazalo da ova imunohistokemijska podjela nije prognostički značajna (41 - 42)**.**

1.3. Novi prognostički čimbenici kod B-velikostaničnog limfoma

U svrhu postizanja boljih rezultata liječenja i pokušavajući na samom početku predvidjeti one koji će imati lošiji odgovor na liječenje, provedena su brojna istraživanja kojima se pokušavaju identificirati novi prognostički biljezi. Otkriveni su mnogi imunohistokemijski i molekulski biljezi za koje se pokušala dokazati povezanost s prognozom i ishodom bolesti, no niti jedan od njih se nije pokazao boljim od IPI-ja zbog nereproducibilnosti, teške izvedivosti ili skupoće što ograničava njihovu primjenu u rutinskoj kliničkoj praksi. IPI se stoga još uvijek smatra zlatnim standardom s kojim se uspoređuju svi ostali potencijalni prognostički parametri. Postoji sve veći broj dokaza o ulozi upale u biologiji tumora, a za sustavni upalni odgovor utvrđeno je da ima prognostičko značenje u velikom broju različitih malignih bolesti. Stoga se i u B-LCL-u pokušava identificirati važnost ovih jednostavno primjenjivih i lagano dostupnih prognostičkih biljega za individualnu procjenu rizika.

1.3.1. Upalni prognostički bodovni sustavi

Maligni tumori dovode do kronične upale i pothranjenosti (43). Upala je identificirana kao kritična komponenta napredovanja tumora, gdje je mikrookruženje u velikoj mjeri pod utjecajem upalnih stanica te je sudionik u neoplastičnom procesu, poticanju širenja, opstanku i migraciji tumorskih stanica (44). Akutna upalna reakcija čest je događaj u oboljelih od malignih bolesti, što rezultira suviškom proupalnih citokina kao što su interleukin 1, 6 i 8,

čimbenik tumorske nekroze i interferoni (45). Sustavni upalni odgovor utječe na aktivnost bolesti i na domaćinovu urođenu reakciju prema tumoru te ima uzročnu ulogu u razvoju konstituirajućih simptoma i znakova kao što su gubitak tjelesne mase, anoreksija, umor i anemija povezana s malignitetom (46). Utvrđeno je da je sustavni upalni odgovor udružen sa slabim ishodom u različitim bolestima. Za različite solidne tumore, kao i limfome, upalna obilježja, kao što su leukociti, neutrofili, limfociti i C-reaktivni protein (CRP), povezana su s većim stopama smrtnosti (47 - 53). Ta je teorijska pozadina u posljednjih deset godina dovela do razvoja različitih upalnih prognostičkih bodovnih sustava u oboljelih od malignih tumora koji se jednostavno mogu kvantificirati. Neki od upalnih prognostičkih pokazatelja su omjer neutrofila i limfocita (NLR, od engl. *neutrophile to lymphocyte ratio*), omjer trombocita i limfocita (PLR, od engl. *platelet to lymphocyte ratio*) i Glasgowski prognostički bodovni sustav (GPS, od engl. *Glasgow prognostic score*).

Osim apsolutnih vrijednosti upalnih biljega, utvrđeno je da je NLR neovisni prognostički čimbenik za OS i preživljenje bez napredovanja (PFS, od engl. *progression free survival*) u različitim vrstama zloćudnih tumora, uključujući karcinom bubrega, debelog crijeva, želuca, gušterače i sarkom (54 - 58). Porrata i sur. utvrdili su da je NLR jednostavan, jeftin, standardizirani prognostički biljeg kojim se može ocijeniti klinički ishod u DLBCL-a koji se liječe pomoću R-CHOP-a, bolesnici s NLR-om $\geq 3{,}5$ imali su lošiji OS i PFS (59).

Istraživanja su utvrdila da je PLR udružen s proširenim stupnjem bolesti u oboljelih od karcinoma gušterače, jajnika, želuca i lošijim preživljenjem (60 - 62). Asher i sur. utvrdili su da u karcinomu jajnika jaču prognostičku vrijednost ima PLR u odnosu na NLR (61). Hongbing Liu i sur. utvrdili su da je PLR potencijalni korisni prognostički biljeg odgovora na terapiju i prognozu u karcinomu pluća nemalih stanica (63). Unal D i sur. utvrdili su da vrijednost PLR korelira s ukupnim preživljenjem u karcinomu pluća nemalih stanica (64).

GPS je upalni prognostički bodovni sustav koji uključuje vrijednost serumske koncentracije albumina i CRP. Prema GPS-u, bolesnici se mogu stratificirati u 3 skupine po riziku (Tablica 1.4). Prvi su ga put opisali Forrest LM i sur. u oboljelih od karcinoma pluća nemalih stanica (65). Do sada je utvrđeno da je prognostički značajan u karcinomu debelog crijeva, pluća, jednjaka, želuca, gušterače i hepatocelularnom karcinomu (66 - 74). Nedavno su Li YJ i sur. utvrdili da je GPS neovisni prediktor ishoda u bolesnika s ekstranodalnim NK/T staničnim limfomom nazalnog tipa (75). Također su nedavno Li X i sur. utvrdili da je GPS dobar prediktor kliničkog ishoda bolesnika s DLBCL-om liječenih R-CHOP-om (76).

Tablica 1.4. Glasgowski prognostički bodovni sustav

GPS	**Bodovi**
C-reaktivni protein < 10 mg/l i albumin ≥ 35 g/l	0
C-reaktivni protein < 10 mg/l i albumin < 35 g/l	1
C-reaktivni protein ≥ 10 mg/l i albumin ≥ 35 g/l	1
C-reaktivni protein ≥ 10 mg/l i albumin < 35 g/l	2

*GPS - Glasgowski prognostički bodovni sustav, od engl. *Glasgow prognostic score*

1.3.2. Širina distribucije eritrocita

Osim upalnih prognostičkih bodovnih sustava, širina distribucije eritrocita (RDW od engl. *red cell distrubution width*) nedavno je postala predmet istraživanja kao prognostički biljeg u različitim bolestima. RDW se mjeri rutinski u sklopu kompletne krvne slike (CBC, od engl. *complete blood count*). RDW-om utvrđujemo heterogenost veličine eritrocita i ima ulogu u diferencijalnoj dijagnozi anemija (77). Ovaj parametar rutinski određuju automatski hematološki brojači tako što pomnože standardnu devijaciju (SD) volumena crvenih krvnih stanica sa 100 i podjele prosječnim volumenom eritrocita. Izražava se u postotcima (78). Prethodna su istraživanja utvrdila povezanost visoke vrijednosti RDW-a s povećanom smrtnosti u populaciji oboljelih od srčanožilnih bolesti, sepse, kod akutne bubrežne ozljede, kod kronične opstruktivne plućne bolesti, hepatitisa B i onih na kroničnom programu dijalize (79 - 87). Malo je izvješća u kojima je opisana povezanost između RDW-a i malignih tumora. Ograničene su na mala istraživanja u kojima RDW razlikuje maligni od benignog tumora ili predviđa nastanak malignog tumora (88 - 92). Nedavno istraživanje utvrdilo je povezanost visoke vrijednosti RDW-a s lošijim preživljenjem bolesnika s karcinomom pluća (93). Utvrđeno je i da je RDW značajan prediktor prognoze u oboljelih s malignim mezoteliomom (94). U bolesnika sa simptomatskim multiplim mijelomom povišene vrijednosti RDW-a povezane su s proširenom bolesti i lošijom prognozom (95). RDW bi u kombinaciji s drugim biljezima mogao pomoći predvidjeti rizik nastanka karcinoma prostate i njegovo napredovanje (96). Mehanizam kojim se može objasniti povezanost vrijednosti RDW-a s preživljenjem i aktivnošću bolesti nije rasvijetljen, ali se smatra da su visoke vrijednosti RDW-a izazvane kroničnom upalom, slabim nutritivnim statusom, oksidativnim stresom te bolestima povezanima s dobi koje dovode do promjena u eritropoezi (80, 97 - 98).

Dostupni prognostički biljezi u oboljelih od B-LCL-a su nedovoljno pouzdani ili cijena i tehnička ograničenja čine njihovu rutinsku primjenu nepraktičnom. Stoga je potraga za

biljezima koji imaju prognostičku vrijednost i dalje vrlo važna. U ovom radu smo ispitali povezanost NLR-a, PLR-a, GPS-a i RDW-a u oboljelih od B-LCL-a s prognozom i ishodom liječenja, što bi moglo pomoći u identificiranju lagano dostupnog i jeftinog prognostičkog biljega za stratificiranje bolesnika u rizične skupine.

2. HIPOTEZA

U oboljelih od B-velikostaničnog limfoma vrijednost upalnih bodovnih sustava i širine distribucije eritrocita, izmjerena pri utvrđivanju dijagnoze, neovisan je prognostički čimbenik ishoda bolesti, ukupnog preživljenja, OS-a i preživljenja bez događaja, EFS-a.

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

U bolesnika s B-velikostaničnim limfomom:

Primarni ciljevi:

1. Ispitati je li vrijednost NLR-a u vrijeme utvrđivanja dijagnoze neovisan prognostički čimbenik preživljenja (OS, EFS).

2. Ispitati je li vrijednost PLR-a u vrijeme utvrđivanja dijagnoze neovisan prognostički čimbenik preživljenja (OS, EFS).

3. Ispitati je li vrijednost GPS-a u vrijeme utvrđivanja dijagnoze neovisan prognostički čimbenik preživljenja (OS, EFS).

4. Ispitati je li vrijednost RDW-a u vrijeme utvrđivanja dijagnoze neovisan prognostički čimbenik preživljenja (OS, EFS).

Sekundarni ciljevi:

1. Utvrditi međusobni odnos između NLR-a, PLR-a, GPS-a i RDW-a u vrijeme utvrđivanja dijagnoze i njihovu povezanost s demografskim, kliničkim i laboratorijskim obilježjima - spol, dob, AA stadij, IPI, B simptomi, LDH, CRP, serumska koncentracija albumina, vrijednost eritrocita (E), serumska koncentracija hemoglobina (Hgb), željeza (Fe), feritina, prosječni volumen eritrocita (MCV), apsolutna vrijednost leukocita (L), apsolutna vrijednost limfocita, apsolutna vrijednost trombocita (Trb), PS ECOG (od engl. *Eastern Cooperative Oncology Group*) i odgovor na terapiju.

4. ISPITANICI I POSTUPCI

4.1. Etička načela

Istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo KBC-a Osijek (Ur.broj 25-1:3652-2/2014) i Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Osijek (Ur.broj 2158-61-07-14-15). Identitet bolesnika bio je zaštićen.

4.2. Ustroj studije

Radi se o kohortnom retrospektivnom istraživanju u koje su uključeni bolesnici s histološki verificiranim, nodalnim ili ekstranodalnim B-LCL-om, dijagnosticirani od 2006. do 2013. godine u KBC-u Osijek, a koji ispunjavaju sljedeće uključne kriterije:

1. Klinički stupanj proširenosti II-IV, IE ili I *bulky* oblik.

2. Inicijalno se planiralo provesti liječenje s najmanje 4 ciklusa kemoterapije.

3. Dostupni su potrebni klinički podaci.

Isključni kriteriji:

1. Bolesnici s transformiranim indolentnim limfomom.

2. Primarni B-LCL SŽS-a.

3. Liječenje glukokortikoidima prije dobivenih inicijalnih vrijednosti NLR-a, PLR-a, GPS-a i RDW-a.

4. Pacijenti s kliničkim znakovima akutne infekcije.

4.3. Ispitanici

U istraživanju su sudjelovali bolesnici s histološki verificiranim, nodalnim ili ekstranodalnim B-LCL-om koji su dijagnosticirani od 2006. do 2013. godine u KBC-u Osijek. Pregledom arhiva Odjela za hematologiju identificirani su bolesnici koji ispunjavaju kriterije za uključivanje u istraživanje.

Predviđena snaga testa je 0,8.

Najmanja potrebna veličina uzorka izračunata je na temelju pretpostavljenih razlika u vrijednostima RDW-a između skupine ispitanika koja su živi i bolesnika kosu doživjeli loš

ishod (smrt, napredovanje bolesti). Prema pilot-rezultatima, 20 od 73 ispitanika doživjelo je loš ishod pa je za dvosmjerni t-test između dva neovisna uzorka (s lošim ishodom i bez) uz α=0,05 i 1-β (snaga) - 0,8, potrebno najmanje 20 ispitanika u jednoj skupini i 10 ispitanika u drugoj skupini.

U našem ispitivanju veličina uzorka prilagođena je incidenciji od 4.3/100.000 DLBCL-a (Registar za rak 2011.) tijekom promatranog razdoblja u našem Kliničkom bolničkom centru (dakle, oko 75 do 85 očekivanih slučajeva B-LCL-a). Razina statističke značajnosti zaključivanja bila je $P < 0,05$.

4.4. Postupci

4.4.1. Klinički postupci

Promatrani ishodi odgovor su na liječenje, preživljenje - EFS i OS. EFS se računa od dana postavljanja dijagnoze do događaja: neuspjeha liječenja (progresija bolesti; započinjanje nekog drugog anti-limfomskog liječenja; relaps bolesti, smrt od bilo kojeg uzroka ili do posljednje kontrole). OS se računa od dana dijagnoze do dana smrti ili do posljednje kontrole.

Iz medicinskih zapisa preuzet će se demografska i klinička obilježja, obilježja za utvrđivanje NLR-a, PLR-a, GPS-a i druga laboratorijska obilježja (stupanj AA, IPI, B simptomi, LDH, CRP, E, serumska koncentracija albumina, serumska koncentracija Hgb, Fe, feritina, MCV, apsolutna vrijednost L, limfocita, Trb, RDW, PS ECOG) i odgovor na terapiju.

Stadij proširenosti bolesti utvrđen je prema AA klasifikaciji kliničkih stupnjeva malignih limfoma. Opće stanje bolesnika utvrđeno je prema ljestvici procjene općeg stanja prema ECOG-u.

U bolesnika u kojih je započeto i završeno liječenje ispitan je odgovor na terapiju i to prema kriterijima odgovora Međunarodne radne skupine (99).

CBC (uključujući RDW) određen je iz pune krvi s K2EDTA ili K3EDTA antikoagulansom na ADVIA 2100 analizatoru (Siemens Healthcare Diagnostics, Tarrytown, NY, USA). Referentni raspon RDW-a za zdravu populaciju u našem laboratoriju je između 9 % i 15 %. Apsolutna vrijednost neutrofila i limfocita određena je iz pune krvi s K2EDTA ili K3SDTA antikoagulansom na ADVIA 2100 analizatoru (Siemens Healthcare Diagnostics, Tarrytown, NY, USA) optičkom protočnom citometrijom. Serumska koncentracija CRP-a određena je iz seruma imunoturbidimetrijskim određivanjem masene koncentracije na AU 640 analizatoru

(Beckam Coulter, Tokyo, Japan). Serumska koncentracija albumina određena je iz seruma spektrofotometrijskim određivanjem masene koncentracije na AU 640 analizatoru (Beckam Coulter, Tokyo, Japan). Serumska koncentracija LDH-a određena je iz seruma spektrofotometrijskim određivanjem enzimske aktivnosti na AU 680 Olmypus analizatoru (Beckam Coulter, Tokyo, Japan).

Iz medicinske dokumentacije utvrđena je inicijalna vrijednost RDW-a. Inicijalni NLR je dobiven dijeljenjem apsolutne vrijednosti neutrofila apsolutnom vrijednošću limfocita koje su izmjerene u vrijeme utvrđivanja dijagnoze. PLR je dobiven dijeljenjem apsolutne vrijednosti trombocita apsolutnom vrijednošću limfocita koje su izmjerene u vrijeme utvrđivanja dijagnoze. Uvidom u medicinsku dokumentaciju, prema serumskoj koncentraciji albumina i CRP-a, izračunat je GPS u vrijeme utvrđivanja dijagnoze.

4.4.2. Statistički postupci

Podaci su statistički obrađeni računalnim programom SPSS Statistics Inc. (verzija 15.0, Chicago, IL,USA) i MedCalc Statistical Software (verzija 11.4.2, Ostend, Belgium). Rezultati su prikazani opisno, grafički i tablično. Kod numeričkih varijabli (deskriptora) korištena je aritmetička sredina i SD za varijable normalne raspodjele, a medijan i raspon (minimum-maksimum) za varijable asimetrične raspodjele i za dob. Razlike u kategorijskim varijablama ispitane su $\chi 2$ testom ili Fisherovim testom. Razlike između dvije kontunirane neovisne varijable utvrđene su Studentovim t-testom za normalno distribuirane varijable, a neparametrijskim Mann-Whitneyjevim U testom za varijable koje nisu normalno distribuirane. Za utvrđivanje razlika između više od dva neovisna uzorka u parametrijskoj statistici upotrijebljen je ANOVA test, a u neparametrijskoj Kruskal-Wallisov test. Za korelaciju značajki bolesnika korišten je Pearsonovov test. Za analizu preživljenja bolesnika korišten je Kaplan-Meierov postupak i log-rank analiza. Za procjenu prediktivne vrijednosti pojedinih parametara korištena je Coxova regresijska analiza. ROC (od eng. *recieving operating characteristics*) analiza upotrijebljena je za utvrđivanje prediktivne rezne vrijednosti (*cut-off*) NLR-a, PLR-a i RDW-a (*cut-off*) za smrtnost. Razina statističke značajnosti zaključivanja je $P < 0,05$.

5. REZULTATI

5.1. Značajke i ishod svih bolesnika

U istraživanje je uključen 81 bolesnik s veći udjelom žena (64 %). Medijan dobi ispitanika je 64 godine. U Tablici 5.1. prikazana su obilježja bolesnika.

Tablica 5.1. Demografska i klinička obilježja bolesnika uključenih u istraživanje (N = 81)

Obilježje	**Vrijednost**
Dob (godine) (medijan, raspon)	64 (22-85)
Spol (m/ž), n (%)	29 (36) / 52 (64)
Dob (≤ 60 godina / > 60 godina)	31 (38) / 50 (62)
PS po ECOG* (< 2 / ≥ 2), n (%)	64 (79)/17 (21)
IPI† (≤ 2 / > 2), n (%)	47 (58)/34 (42)
LDH‡ (u referentnim vrijednostima / > 241 UI), n (%)	44 (54)/37 (46)
B simptomi (NE / DA), n (%)	37 (46)/44 (54)
Ann Arbor klinički stadij (I i II/III i IV), n (%)	29 (36)/52 (64)
Infiltracija koštane srži§ (NE/DA), n (%)	51(64)/29 (36)
Terapija pri dijagnozi	
Imunokemoterapija, n (%)	77 (96)
Kemoterapija, n (%)	3 (4)
Bez terapije, n (%)	1 (1)
Komorbiditeti	
Šećerna bolest, n (%)	6 (7)
Arterijska hipertenzija, n (%)	22 (27)
Srčanožilne bolesti, n (%)	12 (15)
Kronična plućna bolest (KOPB‖, Astma), n (%)	1 (1)
Kronična jetrena bolest, n (%)	1 (1)
Drugi maligniteti, n (%)	4 (5)
Krvarenje, n (%)	2 (5)

*PS ECOG - opće stanje bolesnika; †IPI - Međunarodni prognostički indeks; ‡LDH - laktat

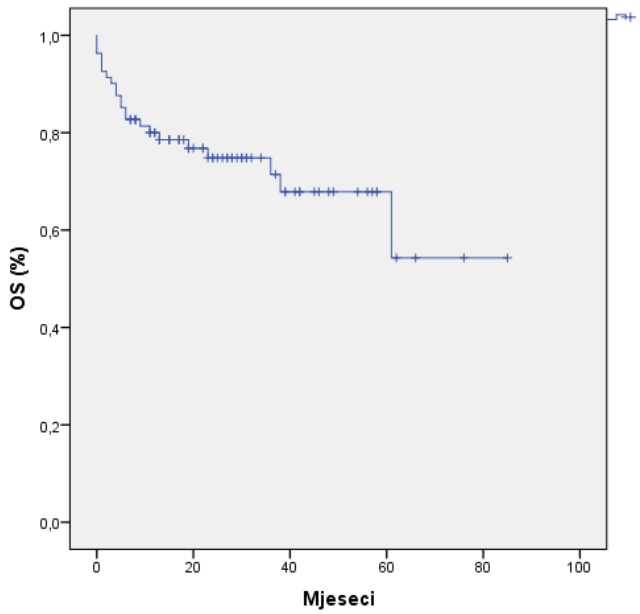
dehidrogenaza; [§]- za jednog bolesnika nije bilo podataka o infiltraciji koštane srži; [ll]KOPB-kronična opstruktivna plućna bolest

U 80 bolesnika započeto je planirano liječenje te je nakon provedene terapije u 57 (70 %) bolesnika postignuta kompletna remisija (KR). Ishod liječenja bolesnika prikazan u Tablici 5.2.

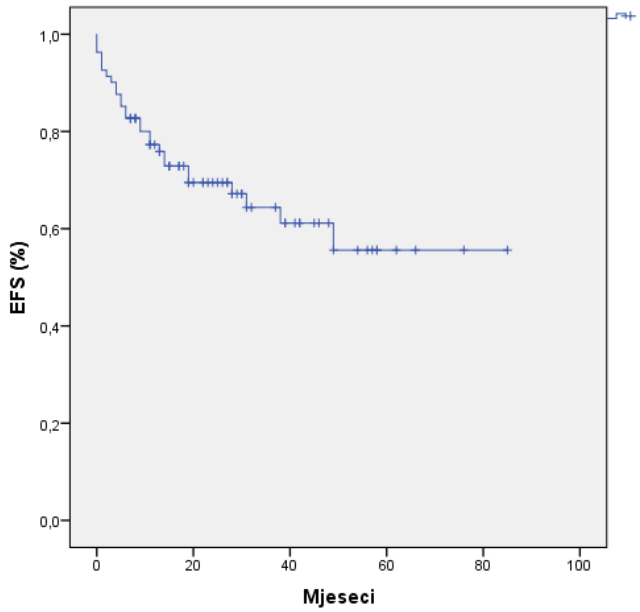
Tablica 5.2. Odgovor na liječenje bolesnika uključenih u istraživanje

Odgovor na liječenje	n (%)
Kompletna remisija (KR)	57 (70)
Parcijalna remisija (PR)	8 (10)
Progresija bolesti	16 (20)

Medijan praćenja bolesnika bio je 22 mjeseca (0-85). Dvogodišnji OS je bio 74,8 % (Slika 5.1). Dvogodišnji EFS je bio 69,5 % (Slika 5.2).



Slika 5.1. Ukupno preživljenje (OS, od engl. *overall survival*) bolesnika s B-velikostaničnim limfomom



Slika 5.2. Preživljenje bez događaja (EFS, od engl. *event free survival*) bolesnika s B-velikostaničnim limfomom

Medijan NLR-a u istraživanje uključenih bolesnika iznosio je 2,92, s rasponom od 0,56 do 17,8. Medijan PLR-a u istraživanje uključenih bolesnika iznosio je 158,65, s rasponom od 13,05 do 608,93. Od ukupnog broja bolesnika, 43 (53) imalo je vrijednost GPS-a 0, 27 (33 %) vrijednost 1, a 11 (14 %) vrijednost 2. Raspon vrijednosti RDW-a u istraživanju bio je od 10,9 do 22,8 %, s aritmetičkom sredinom±SD 14,44±1,84 %. U Tablici 5.3. prikazana su laboratorijska obilježja bolesnika uključenih u istraživanje.

Tablica 5.3. Laboratorijska obilježja bolesnika uključenih u istraživanje (N = 81)

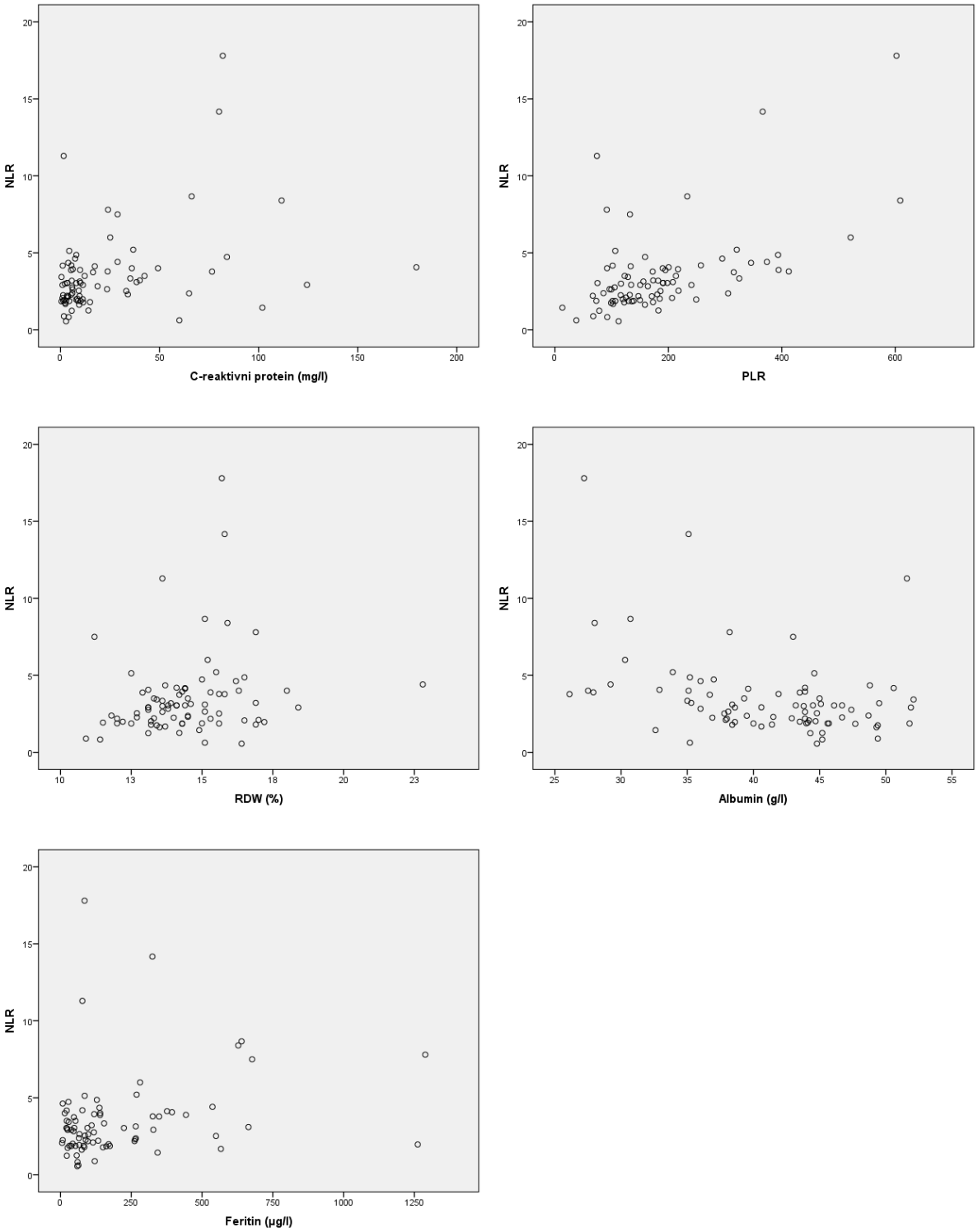
Laboratorijska obilježja	Vrijednosti
NLR* (medijan /min. - max./)	2,92 (0,56-17,8)
PLR† (medijan /min. - max./)	158,65 (13,05-608,93)
GPS‡, n (%)	
0	43 (53,1)
1	27 (33,3)
2	11 (13,6)
RDW§ (%) (aritmetička sredina ± SD)	14,44 ± 1,84
E‖ ($x10^{12}$/l) (aritmetička sredina ± SD)	4,25 ± 0,64

Hgb[¶], g/l (aritmetička sredina ± SD)	120,83 ± 19,46
MCV[**] (fl) (aritmetička sredina ± SD)	85,78 ± 6,20
L[††] ($x10^9$/l) (aritmetička sredina ± SD)	7,18 ± 2,63
Limfociti ($x10^9$/l) (aritmetička sredina ± SD)	1,61 ± 0,93
Trb[‡‡], $x10^9$/l (aritmetička sredina ± SD)	262,49 ± 124,15
CRP[§§] (mg/l) (medijan /min. - max./)	9,4 (0,5-179,6)
Albumin (g/l) (aritmetička sredina ± SD)	41,03 ± 6,42
Fe[IIII] (μmol/l) (aritmetička sredina ± SD)	10,41 ± 6,73
Feritin (μg/l), (medijan /min. – max./)	97,25 (5,8-1288,7)

[*]NLR - omjer neutrofila i limfocita, od engl. *neutrophil to lymphocyte ratio*; [†]PLR - omjer trombocita i limfocita, od engl. *platelet to lymphocyte ratio*; [‡]GPS - Glasgowski prognostički bodovni sustav, od engl. *Glasgow prognostic score*; [§]RDW - širina distribucije eritrocita, od engl. *red blood cell distibution width*; [II]E - eritrociti; [¶]Hgb - hemoglobin; [**]MCV - prosječni volumen eritrocita, od engl. *mean cell volumen*; [††]L - leukociti; [‡‡]Trb - trombociti; [§§]CRP - C-reaktivni protein; [IIII]Fe - željezo, od lat. *ferrum*.

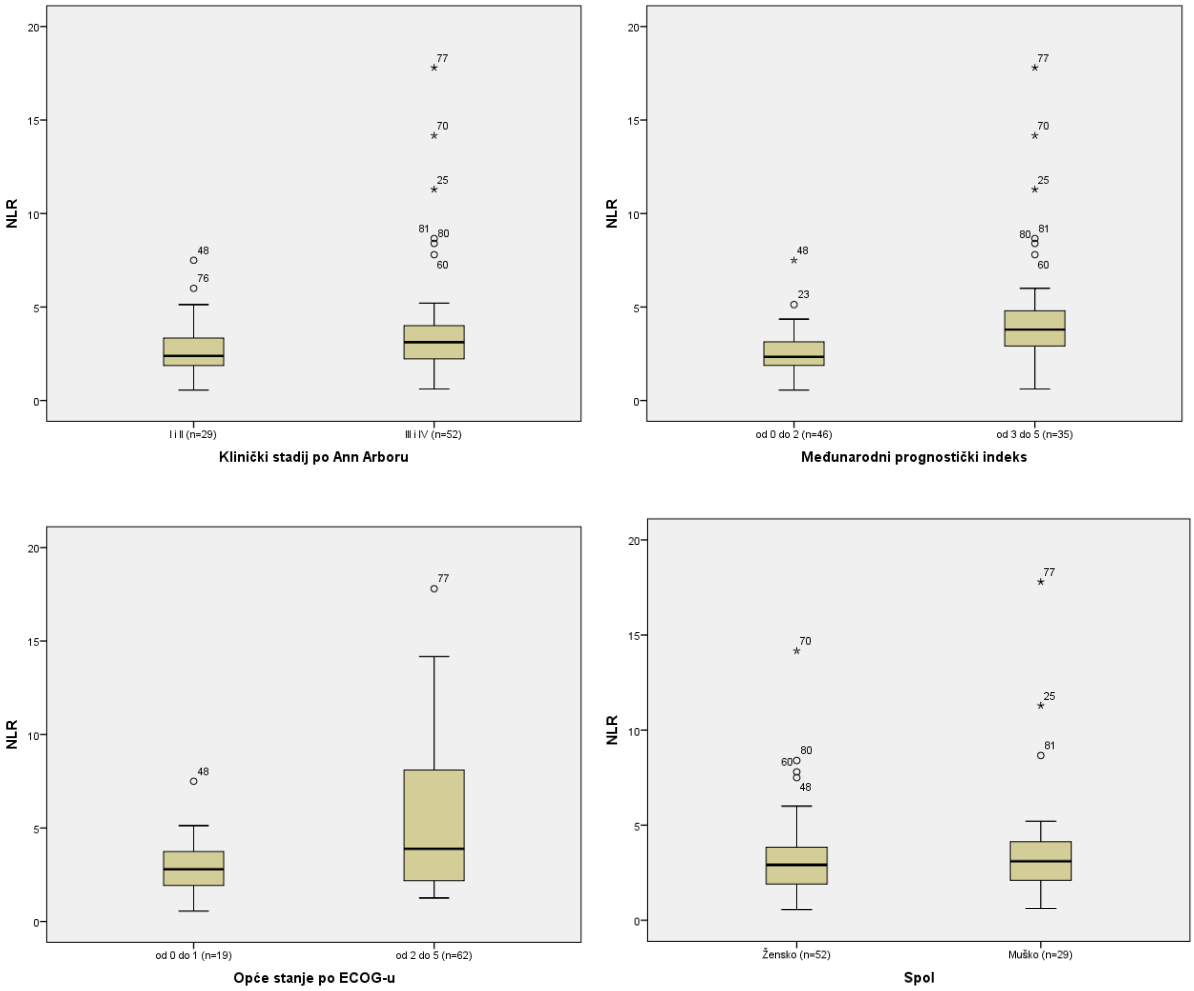
5.2 Omjer neutrofila i limfocita

Medijan NLR-a bolesnika uključenih u istraživanje iznosio je 2,92 s rasponom od 0,56 do 17,8. Utvrđena je pozitivna korelacija između vrijednosti NLR-a i vrijednosti CRP-a, PLR-a, RDW-a, feritina, GPS-a, IPI-ja i statusa ECOG (r_s = 0,364, P = 0,001; r_s = 0,505, P < 0,001; r_s = 0,272, P = 0,014; r_s = 0,239, P = 0,033; r_s = 0,370, P = 0,001; r_s = 0,388, P < 0,001; r_s = 0.29, P = 0,009), a negativna korelacija između vrijednosti serumskih koncentracija Fe i albumina (r_s = -0,376, P = 0.001; r_s = -0,354, P = 0.001) (Slika 5.3.). Nismo našli korelaciju između NLR-a i dobi, kliničkog stupnja, koncentracije eritrocita, eritrocitnih indeksa, Hgb, trombocita i serumske koncentracije kreatinina.



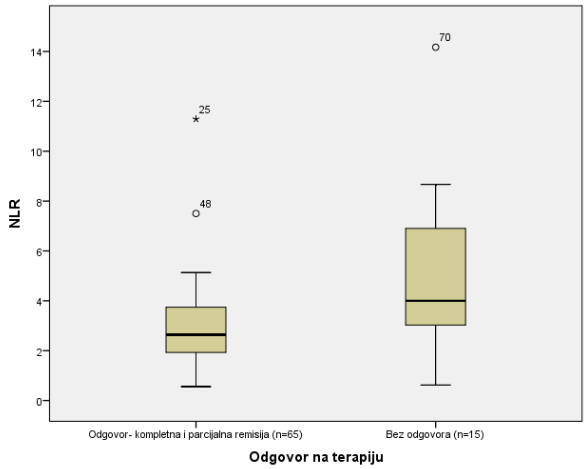
Slika 5.3. Vrijednost omjera neutrofila i limfocita (NLR, od engl. *neutrophil to lymphocyte ratio*) u korelaciji s C-reaktivnim proteinom, omjerom trombocita i limfocita (PLR, od engl. *platelet to lymphocyte ratio*), širinom distribucije eritrocita (RDW, od engl. *red blood cell distribution width*), albuminom i feritinom (N = 81)

Vrijednost NLR-a bila je veća u bolesnika s proširenom bolesti (stadij III i IV) nego u onih s lokaliziranom bolesti (stadij I i II) (3,12 [0,62 – 17,8] *vs* 2,38 [0,56 – 7,5], Mann-Whitneyjev U test, $P = 0{,}037$), u bolesnika s IPI-jem >2 nego u onih s IPI-jem ≤2 (3,79 [0,62 – 17,8] *vs* 2,33 [0,56 – 7,5], Mann-Whitneyjev U test, $P < 0{,}001$) i onih s ECOG PS ≥ 2 nego u onih s PS < 2 (3,89 [1,26 – 17,8] *vs* 2,79 [0,56 – 7,5], $P = 0{,}01$, Mann-Whitneyjev U test, $P = 0.017$). Nije bilo razlike u vrijednosti NLR-a prema spolu (Slika 5.4).



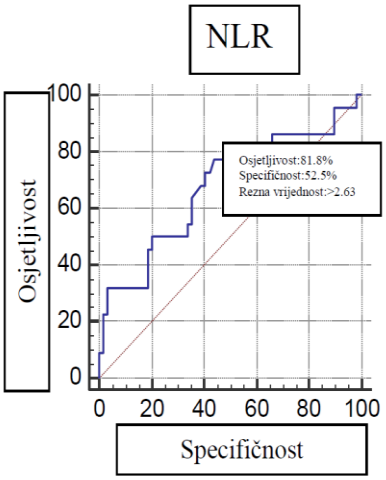
Slika 5.4. Vrijednost omjera neutrofila i limfocita (NLR, od engl. *neutrophil to lymphocyte ratio*) prema kliničkom stadiju bolesti po Ann Arbor, međunarodnom prognostičkom indeksu, općem stanju po ECOG-u (od engl. *Eastern Cooperative Oncology Group*) i spolu (N=81)

Bolesnici koji su odgovorili na terapiju imali su nižu vrijednost NLR-a od onih koji nisu odgovorili na liječenje (2,64 [0,56 – 11,29] *vs* 4 [0,62 – 14,17], Mann-Whitneyjev U test, $P = 0.011$) (Slika 5.5.).



Slika 5.5. Vrijednost omjera neutrofila i limfocita (NLR, od engl. *neutrophil to lymphocyte ratio*) prema odgovoru na terapiju u bolesnika u kojih je započeto liječenje (N = 80)

Potom smo pacijente podijelili u dvije skupine s obzirom na reznu vrijednost NLR-a dobivenu ROC analizom na promatrani ishod OS. Površina ispod ROC krivulje (AUC, od engl. *area under the curve)*, za NLR je 0,679 (95 % interval pouzdanosti (CI, od engl. *confidence interval)* 0,566 - 0,779, Z = 2,51; optimalna rezna vrijednost vrijednost je 2,63 s 81,8 % osjetljivosti i 52,5 % specifičnosti (*P* = 0,00121) (Slika 5.6.).



Slika 5.6. Prognostička vrijednost omjera neutrofila i limfocita (NLR, od eng. *neutrophil to lymphocyte ratio*) za ukupno preživljenje u bolesnika s B-velikostaničnim limfomom mjerena površinom ispod ROC krivulje (N = 81)

35 bolesnika imalo je vrijednost NLR-a manju ili jednaku 2,63, a 46 veću od 2,63. Bolesnici s NLR-om većim od 2,63 imali su viši IPI, češće izražene B simptome, veći LDH, CPR, PLR, RDW, veći GPS, nižu albuminemiju, manju serumsku koncentraciju Fe i lošiji odgovor na terapiju. Komorbiditeti se nisu statistički značajno razlikovali između dviju skupina (Tablica 5.3.).

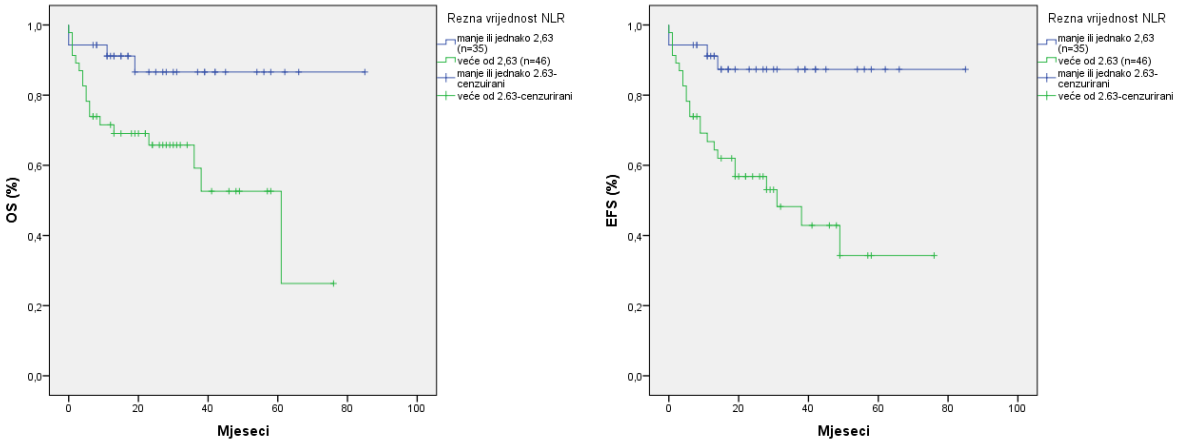
Tablica 5.3. Početna obilježja (demografska, klinička, laboratorijska) i odgovor na terapiju u bolesnika s B-velikostaničnim limfomom, podijeljenih u skupine prema reznoj vrijednosti omjera neutrofila i limfocita (NLR, od engl. *neutrophil to lymphocyte ratio*) (N = 81)

Obilježje	NLR ≤ 2,63 (n = 35)	NLR > 2,63 (n = 46)	*P*
Dob (≤ 60godina / > 60godina), n (%)	12 (34,3) / 23 (65,7)	19 (41,3) / 27 (58,7)	0,645
Spol (muški/ženski), n (%)	12 (34,3) / 23 (65,7)	17 (37) / 29 (63)	0,82
PS po ECOG-u* (< 2 / ≥ 2), n (%)	29 (82,9) / 6 (17,1)	33 (71,7) /13 (28,3)	0,296
IPI† (≤ 2/ > 2), n (%)	27 (77,1) / 8 (22,9)	19 (41,3) / 27 (58,7)	0,002
LDH‡ (u referentnim vrijednostima / > 241 UI), n (%)	27 (77,1) / 8 (22,9)	17 (37) / 29 (63)	<0,001
B simptomi (NE / DA), n (%)	22 (62,9) / 13 (37,1)	15 (32,6) / 31 (67,4)	0,008
Ann Arbor klinički stadij (I i II / III i IV), n (%)	16 (45,7) / 19 (54,3)	13 (28,3) / 33 (71,7)	0,160
Infiltracija koštane srži§ (NE / DA), n (%)	23 (65,7) / 12 (34,3)	28 (62,2) / 17 (37,8)	0,817
Komorbiditeti, n (%)			
Šećerna bolest	4 (11,4)	2 (4,3)	0,64
Arterijska hipertenzija	12 (34,3)	10 (21,7)	0,412
Srčanožilne bolesti	5 (14,3)	7 (15,2)	0,861
Kronična bolest pluća	0 (0)	1 (2,2)	0,654
Kronična jetrena bolest	1 (2,9)	0 (0)	0,61

Maligniteti	2 (5,7)	2 (4,3)	0,878
Krvarenja	1 (2,9)	1 (2,2)	0,921
E[II] (x10^{12}/l) (aritmetička sredina ± SD[¶])	4,26 ± 0,5	4,25 ± 0,74	0,897
Hgb[**] (g/l) (aritmetička sredina ± SD[¶])	122 ± 15	120 ± 22	0,723
MCV[††] (fl) (aritmetička sredina ± SD[¶])	86,74 ± 5,75	85,05 ± 6,49	0,225
L[‡‡] (x10^9/l) (aritmetička sredina ± SD[¶])	6,45 ± 2,36	7,74 ± 2,71	0,025
Neutrofili (x10^9/l) (aritmetička sredina ± SD[¶])	3,69 ± 1,48	5,49 ± 2,05	< 0,001
Limfociti (x10^9/l) (aritmetička sredina ± SD[¶])	1,99 ± 0,73	1,31 ± 0,56	< 0,001
Trb[§§] (x10^9/l) (aritmetička sredina ± SD[¶])	239 ± 89	280 ± 144	0,138
CRP[IIII] (mg/l) (medijan /min. - max./)	6 (0,5 - 101,9)	16,85 (0,5 - 179,6)	0,004
Albumin (g/L) (aritmetička sredina ± SD[¶])	43,09 ± 4,42	39,46 ± 7,26	0,007
Fe[¶¶] (µmol/l) (medijan /min. - max./)	12 (3,1 - 24,4)	8,9 (1,3 - 47,1)	0,009
Feritin (µg/l) (medijan /min. - max./)	86,3 (5,8 - 1262)	119 (7,7 - 1288,7)	0,352
PLR[***] (medijan /min. - max./)	125.17 (13.05 - 305.37)	190,5 (73,98 - 608,93)	<0,001
RDW[†††] (%) (aritmetička sredina ± SD[¶])	13,94 ± 1,7	14,82 ± 1,87	0,032
GPS[‡‡‡] (0 / 1 / 2), n (%)	25 (71,4) / 9 (25,7) / 1 (2,9)	18 (39,1) / 18 (39,1) / 10 (21,8)	0,006
Odgovor na terapiju (DA / NE), n (%)	32 (91,4) / 3 (8,6)	33 (73,3) / 12 (26,7)	0,047

[*]PS ECOG - opće stanje bolesnika; [†]IPI - Međunarodni prognostički indeks; [‡]LDH - laktat dehidrogenaza; [§] - za jednog bolesnika nije bilo podataka o infiltraciji koštane srži; [II]E - eritrociti; [¶]SD - standardna devijacija; [**]Hgb - hemoglobin; [††]MCV - prosječni volumen eritrocita, od engl. *mean cell volumen*; [‡‡]L - leukociti; [§§]Trb - trombociti; [IIII]CRP - C-reaktivni protein; Fe[¶¶] - željezo, od lat. *ferrum*; [***]PLR - omjer trombocita i limfocita, od engl. *platelet to lymphocyte ratio*; [†††]RDW - širina distribucije eritrocita, od engl. *red blood cell distibution width*; [‡‡‡]GPS - Glasgowski prognostički bodovni sustav, od engl. *Glasgow prognostic score*.

Dvogodišnji OS i dvogodišnji EFS bio je signifikantno lošiji u bolesnika s NLR-om > 2,63 (65,8 % *vs* 86,6 % za dvogodišnji OS, *P* = 0,007, log-rank test; 58,2 % *vs* 86,6 % za dvogodišnji EFS, *P* = 0,001, log-rank test) (Slika 5.7.).

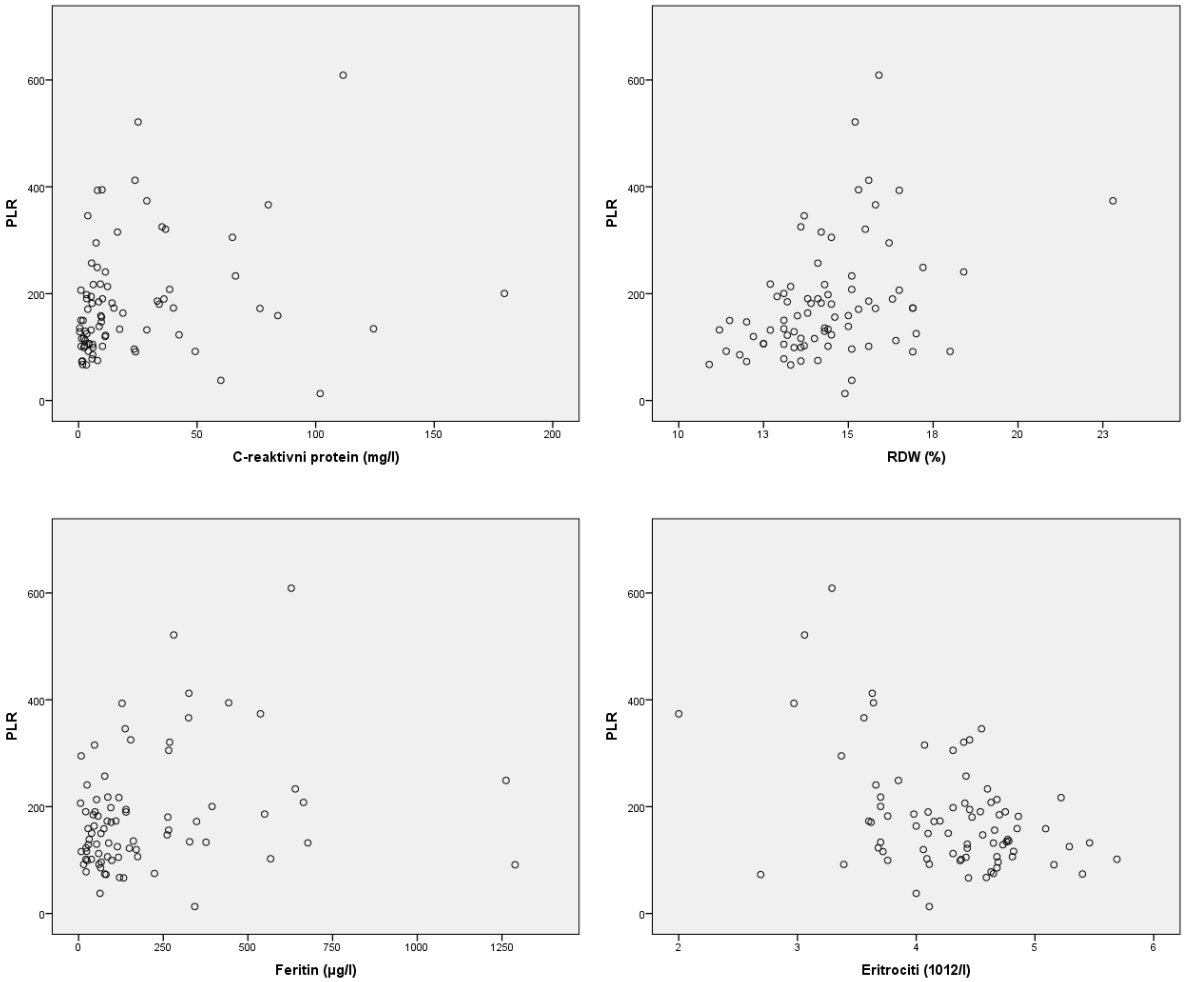


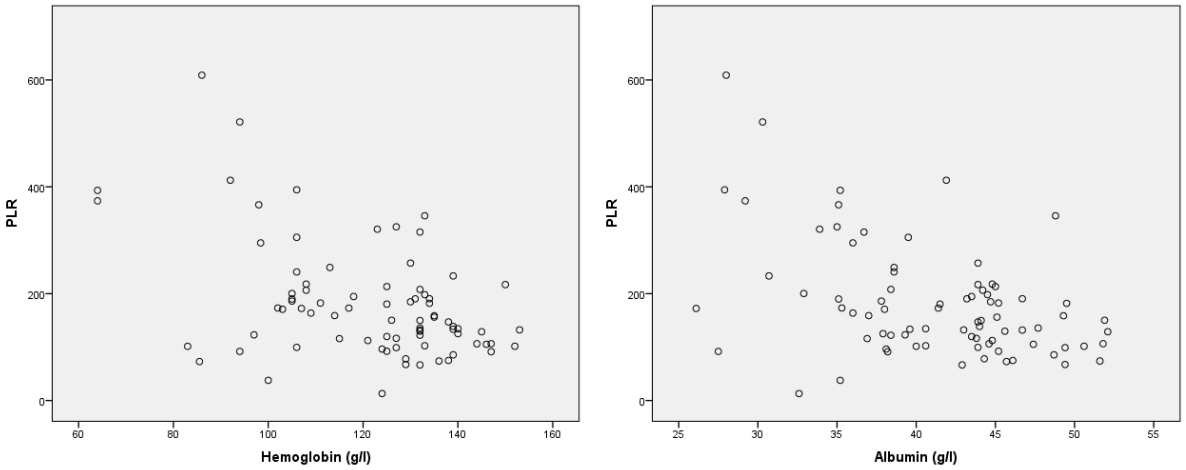
Slika 5.7. Ukupno preživljenje (OS, od engl. *overall survival*) i preživljenje bez događaja (EFS, od engl. *event free survival*) svih bolesnika s B-velikostaničnim limfomom u odnosu na ROC reznu vrijednost omjera neutrofila i limfocita (NLR, od engl. *neutrophil to lymphocyte ratio*) (N=81)

U univarijatnoj Coxovoj regresijskoj analizi vrijednost NLR-a statistički je prognostički značajna za OS (omjer rizika /HR, od engl. *hasard ratio/* 1,255, 95 % CI 1,126-1,4, *P* = 0,075) i EFS (HR 1,249, 95 % CI 1,125 - 1,386, *P* < 0,001). U multivarijatnoj Coxovoj regresijskoj analizi, u koju su kao mogući prognostički čimbenici uvršteni parametri koji su u univarijatnoj analizi bili statistički prognostički značajni, dob bolesnika, PS ECOG, LDH i klinički stadij, spol (samo za OS) te NLR kao kategorijska varijabla (≤ 2,63 / > 2,63), za EFS je NLR (HR 4,268, 95 % CI 1,34 - 13,592, *P* = 0,014) bio statistički prognostički značajan, dok za OS nije (*P* = 0,113).

5.3 Omjer trombocita i limfocita

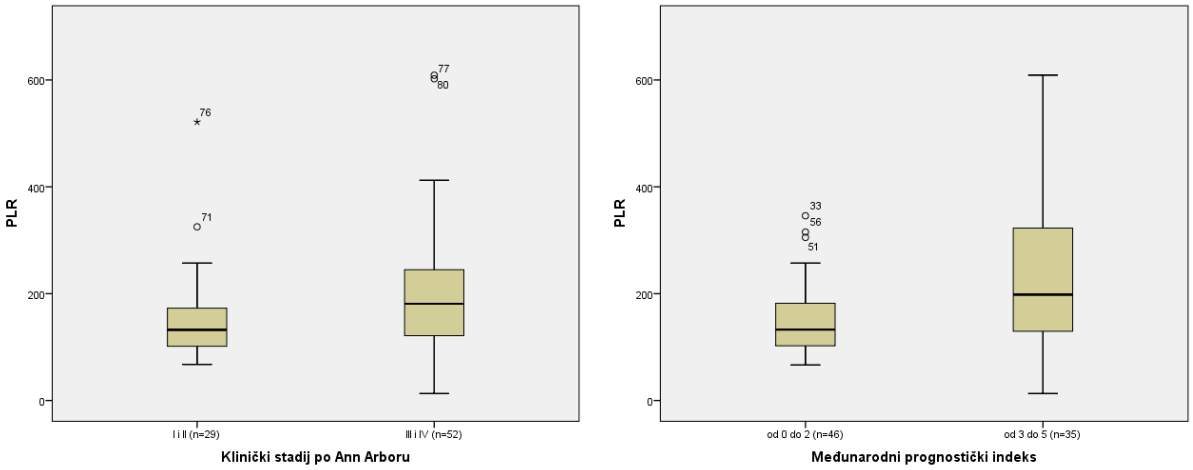
Medijan PLR-a bolesnika uključenih u istraživanje iznosio je 158,65 s rasponom od 13,05 do 608,93. Utvrđena je pozitivna korelacija između vrijednosti PLR-a i CRP-a, RDW-a, feritina, GPS-a, IPI-ja i ECOG statusa (r_s = 0,354, *P* = 0,001; r_s = 0,388, *P* < 0,001; r_s = 0,264, *P* = 0,028; r_s = 0,34, *P* = 0,002; r_s = 0,342, *P* = 0,002; r_s = 0,272, *P* = 0,014), a negativna korelacija između vrijednosti eritrocita, Hgb i albumina (r_s = -0,339, *P* = 0,002; r_s = -0,343, *P* = 0,002; r_s = -0,395, *P* < 0,001) (Slika 5.8.). Nismo našli korelaciju između PLR-a i vrijednosti L, neutrofila, dobi i kliničkog stadija.

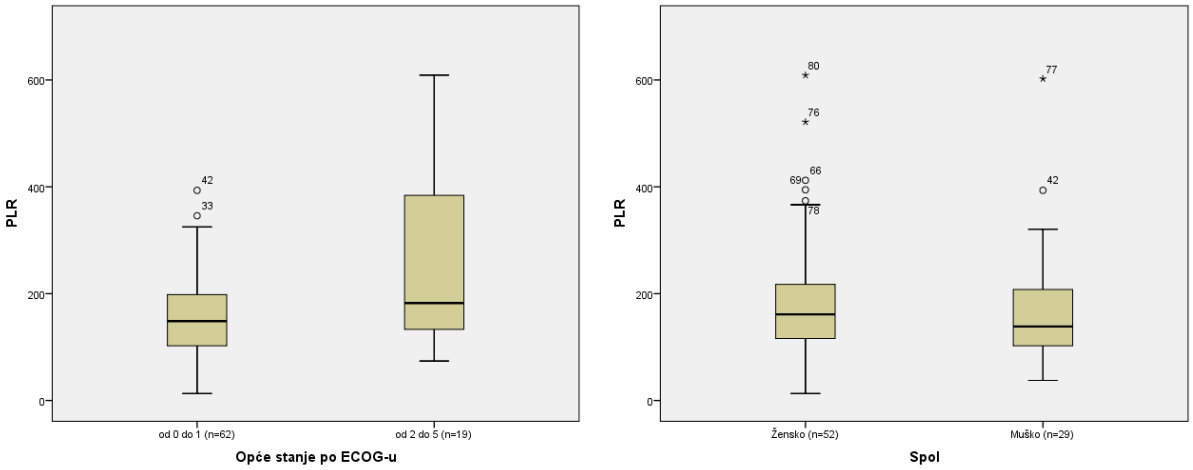




Slika 5.8. Vrijednost omjera trombocita i limfocita (PLR, od engl. *platelet to lymphocyte ratio*) u korelaciji s C-reaktivnim proteinom, širinom distribucije eritrocita (RDW, od engl. *red blood cell distribution width*), feritinom, eritrocitima, hemoglobinom i albuminom (N = 81)

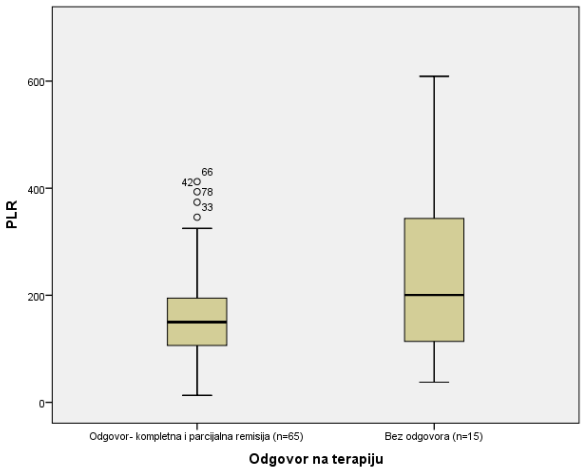
Vrijednost PLR-a bila je veća u bolesnika s proširenom bolesti (stadij III i IV) nego u onih s lokaliziranom bolesti (stadij I i II) (181,18 [13,05 - 608,93] *vs* 132,24 [67,44 - 521,37], Mann Whitneyjev test, $P = 0{,}023$) kao i u onih s IPI-jem > 2 u usporedbi s onima s IPI-jem ≤ 2 (198,16 [13,05 - 608,93] *vs* 132,82 [66,59 - 345,81], Mann Whitneyjev test, $P = 0{,}002$) te onih s ECOG-om PS ≥ 2 u usporedbi s onima s ECOG PS < 2 (182,46 [73,98 - 608,93] *vs* 148,47 [13,04 - 393,42], Mann Whitneyjev test, $P = 0{,}015$). Nije bilo razlike u vrijednosti PLR-a prema spolu (Slika 5.9.).





Slika 5.9. Vrijednost omjera trombocita i limfocita (PLR, od engl. *platelet to lymphocyte ratio*) prema kliničkom stadiju bolesti po Ann Arbor, međunarodnom prognostičkom indeksu, općem stanju po ECOG-u (od engl. *Eastern Cooperative Oncology Group*) i spolu (N=81)

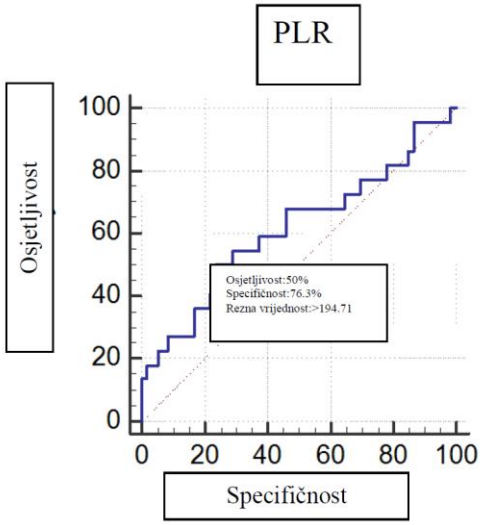
Nije bilo statistički značajne razlike u vrijednosti PLR-a između bolesnika koji su odgovorili na terapiju i onih koji nisu (Mann Whitneyjev test, *P*=0,151) (Slika 5.10).



Slika 5.10. Vrijednost omjera trombocita i limfocita (PLR, od engl. *platelet to lymphocyte ratio*) prema odgovoru na terapiju u bolesnika u kojih je započeto liječenje (N = 80)

Učinjena je ROC analiza. Prema ROC analizi, vrijednost PLR-a nije statistički značajna za OS ni EFS. AUC za PLR je 0,616, 95 % CI 0,502-0,722, Z = 1,533; optimalna rezna

vrijednost je 194,71 s 50 % osjetljivosti i 76,27 % specifičnosti, (*P* = 0,1253) (Slika 5.11.), dok za EFS AUC za PLR je 0,606, 95 % CI 0,491-0,712, Z = 1,497; optimalna rezna vrijednost je 194,71 s 48,15 % osjetljivosti i 77,78 % specifičnosti, (*P* = 0,1343).



Slika 5.11. Prognostička vrijednost omjera trombocita i limfocita (PLR, od eng. *platelet to lymphocyte ratio*) za ukupno preživljenje u bolesnika s B-velikostaničnim limfomom mjerena površinom ispod ROC krivulje (N = 81)

Ipak smo bolesnike podijelili u dvije skupine prema medijanu PLR-a (≤ 158,65 / > 158,65). 41 bolesnik imao je vrijednost PLR-a manju ili jednaku 158,65, a 40 veću od 158,65. Bolesnici s PLR-om većim od 158,65 imali su viši IPI, veći LDH, CRP, NLR, RDW, GPS, prošireni klinički stadij po Ann Arboru, nižu albuminemiju, apsolutnu vrijednost limfocita, serumsku koncentraciju E, manji Hgb i manju serumsku koncentraciju Fe (Tablica 5.4.).

Tablica 5.4. Početna obilježja (demografska, klinička, laboratorijska) i odgovor na terapiju u bolesnika s B-velikostaničnim limfomom, podijeljenih u skupine prema medijanu vrijednosti omjera trombocita i limfocita (PLR, od engl. *platelet to lymphocyte ratio*) (N = 81)

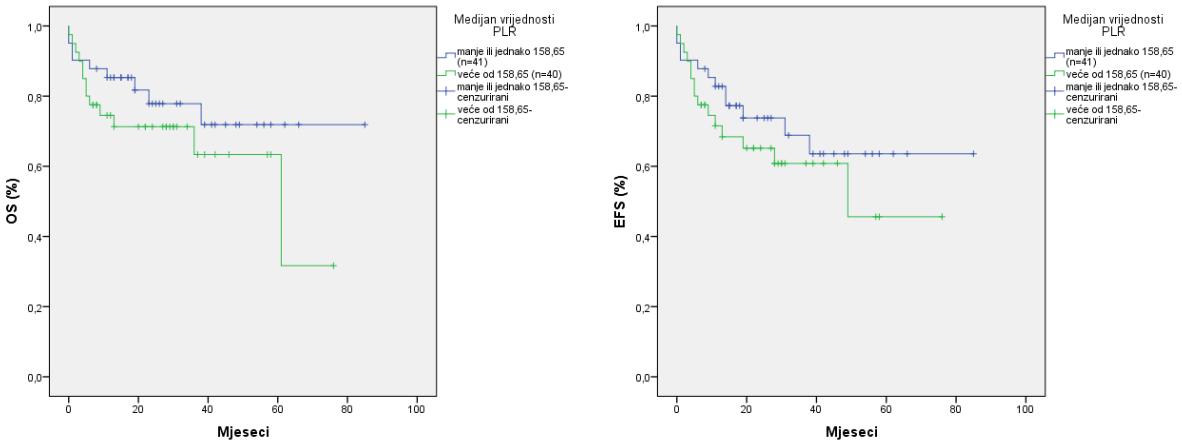
Obilježje	PLR ≤ 158,65 (n = 41)	PLR > 158,65 (n = 40)	*P*
Dob (≤ 60godina / > 60godina), n (%)	16 (39) / 25 (61)	15 (37,5) / 25 (62,5)	0,888
Spol (muški/ženski), n (%)	16 (39) /25(61)	13 (32,5) / 27 (67,5)	0,54
PS po ECOG-u* (< 2 / ≥ 2), n (%)	34 (83) / 7 (17)	28 (70) / 12 (30)	0,17

IPI† (≤ 2 / > 2), n (%)	30 (73,2) / 11 (26,8)	16 (40) / 24 (60)	0,003
LDH‡ (u referentnim vrijednostima / >241 UI), n (%)	31 (75,6) / 10 (24,4)	13 (32,5) / 27 (67,5)	<0,001
B simptomi (NE / DA), n (%)	23 (56) / 18 (44)	14 (35) / 26 (65)	0,057
Ann Arbor klinički stadij (I i II / III i IV), n (%)	20 (48,8) / 21 (51,2)	9 (22,5) / 31 (77,5)	0,014
Infiltracija koštane srži§ (NE / DA), n (%)	26 (63,4) / 15 (36,6)	25 (64,1)/14 (36,9)	0,817
Komorbiditeti, n (%)			
Šećerna bolest	3 (7,3)	3 (7,5)	>0,999
Arterijska hipertenzija	10 (24,4)	12 (30)	0,61
Srčanožilne bolesti	7 (17,1)	5 (12.5)	0,565
Kronična bolest pluća	0 (0)	1 (4)	0,42
Kronična jetrena bolest	1 (2,4)	0 (0)	0,812
Maligniteti	2 (4,9)	2 (5)	>0,999
Krvarenja	1 (2,4)	1 (5)	0,757
E‖ ($x10^{12}$/l) (aritmetička sredina ± SD¶)	4,46 ± 0,58	4,04 ± 0,64	0,002
Hgb** (g/l) (aritmetička sredina ± SD¶)	128 ± 17	112 ± 19	<0,001
MCV†† (fl) (aritmetička sredina ± SD¶)	86,81 ± 6,17	84,72 ± 6,13	0,13
L‡‡ ($x10^9$/l) (aritmetička sredina ± SD¶)	7,43 ± 2,75	6,92 ± 2,5	0,387
Limfociti ($x10^9$/l) (aritmetička sredina ± SD¶)	1,9 ± 0,76	1,29 ± 0,52	<0,001
Trb§§ ($x10^9$/l) (aritmetička sredina ± SD¶)	203 ± 70	323 ± 138	<0,001
CRP ‖ ‖ (mg/l) (medijan /min. - max./)	5,7 (0,5 - 124,9)	15,65 (1 - 179,6)	<0,001
Albumin (g/l) (aritmetička sredina ± SD¶)	43,71 ± 5,6	38,28 ± 6,22	<0,001
Fe¶¶ (µmol/l) (medijan /min. - max./)	12 (2,1 - 24,4)	8,2 (1,3 - 47,1)	<0,001

Feritin (µg/l) (medijan /min. - max./)	81,3 (7,8 - 1288,7)	128,4 (5,8 - 1262)	0,128
NLR*** (medijan /min. - max./)	2.21 (0,56 - 11,29)	3,62 (1,26 - 17,8)	<0,001
RDW††† (%) (aritmetička sredina ± SD¶)	13,73 ± 1,6	15,17 ± 1,8	<0,001
GPS‡‡‡ (0 /1 / 2), n (%)	29 (70,7) / 10 (24,4) / 2 (4,9)	14 (35) / 17 (42,5) /9 (22,5)	0,003
Odgovor na terapiju (DA/NE), n (%)	35 (85,4) / 6 (14,6)	30 (76,9) / 9 (23,1)	0,334

*PS ECOG - opće stanje bolesnika; †IPI - Međunarodni prognostički indeks; ‡LDH - laktat dehidrogenaza; §- za jednog bolesnika nije bilo podataka o infiltraciji koštane srži; IIE - eritrociti; ¶SD - standardna devijacija; **Hgb - hemoglobin; ††MCV - prosječni volumen eritrocita, od engl. *mean cell volumen*; ‡‡L - leukociti; §§Trb - trombociti; IIIICRP - C-reaktivni protein; Fe¶¶ - željezo, od lat. ferrum; ***NLR - omjer neutrofila i limfocita, od engl. *neutrophil to lymphocyte ratio*; †††RDW - širina distribucije eritrocita, od engl. *red blood cell distibution width*; ‡‡‡GPS - Glasgowski prognostički bodovni sustav, od engl. *Glasgow prognostic score*.

Nije utvrđena statistički značajna razlika u OS ni EFS obzirom na vrijednosti PLR-a (≤ 158,65 /> 158,65) (log rank test, *P* = 0,228) (log rank test, *P* = 0,305) (Slika 5.12.).



Slika 5.12. Ukupno preživljenje (OS, od engl. *overall survival*) i preživljenje bez događaja (EFS, od engl. *event free survival*) svih bolesnika s B-velikostaničnim limfomom u odnosu na medijan vrijednosti omjera trombocita i limfocita (PLR, od engl. *platelet to lymphocyte ratio*) (N=81)

5.4 Glasgowski prognostički bodovni sustav

Od ukupnog broja bolesnika, njih 43 imalo je vrijednost GPS-a 0, 27 vrijednost 1 te 11 vrijednost 2. Utvrđena je pozitivna korelacija između vrijednosti GPS-a i leukocita, trombocita, feritina, NLR-a, PLR-a, RDW-a, IPI-ja, ECOG statusa i kliničkog stadija (r_S = 0,874, P < 0,001; r_S = 0,346, P = 0,002; r_S = 0,235, P = 0,035; r_S = 0,37, P = 0,001; r_S = 0,37, P = 0,001; r_S = 0,34, P = 0,002; r_S = 0,422, P < 0,001; r_S = 0,554, P < 0,001; r_S = 0,385, P < 0,001; r_S = 0,266, P = 0,017; respektivno), a negativna korelacija između vrijednosti E, Hgb i Fe (r_S = -0.35, P = 0,001; r_S = -0,428, P < 0,001; r_S = -0,437, P < 0,001; r_S = -0,765, P<0.001; respektivno). Nismo našli korelaciju između GPS-a i vrijednosti limfocita i MCV-a.

Bolesnici s višim vrijednostima GPS-a bili su lošijeg općeg stanja, većeg kliničkog stadija po Ann Arboru, češće su imali izražene B simptome, viši IPI, infiltriranu koštanu srž, viši CRP, NLR, PLR, LDH, RDW, višu vrijednost L, nižu srumsku koncentraciju E, manji Hgb, Fe, višu serumsku koncentraciju feritina, nižu albuminemiju i lošiji odgovor na terapiju. Komorbiditeti se nisu statistički značajno razlikovali između skupina (Tablica 5.5.).

Tablica 5.4. Početna obilježja (demografska, klinička, laboratorijska) i odgovor na terapiju u bolesnika s B-velikostaničnim limfomom, podijeljenih u skupine prema Glasgowskom prognostičkom bodovnom sustavu (GPS, od engl. *Glasgow prognostic score*) (N = 81)

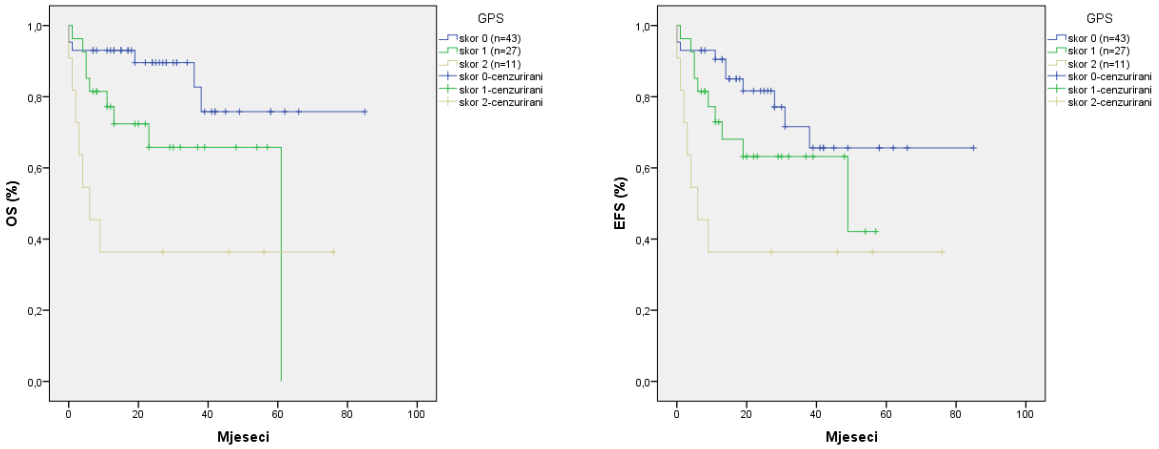
Obilježje	GPS = 0 (n=43)	GPS = 1 (n=27)	GPS = 2 (n=11)	*P*
Dob (≤ 60godina/>60godina), n (%)	17 (39,5) / 26 (60,5)	12 (44,4) / 15 (55,6)	2 (18,2) / 9 (81,8)	0,31
Spol (muški/ženski), n (%)	14 (32,6) / 29 (67,4)	10 (37) / 17 (63)	5 (45,5) / 6 (54,5)	0,719
PS po ECOG-u* (< 2 / ≥ 2), n (%)	39 (90,7) / 4 (9,3)	18 (66,7) / 9 (33,3)	5 (45,5) / 6 (54,5)	0,002
IPI† (≤ 2 / > 2), n (%)	35 (81,4) / 8 (18,6)	11 (40,7) / 16 (59,3)	0 (0) / 11 (100)	<0,001
LDH‡ (u referentnim vrijednostima / > 241 UI), n (%)	35 (81,4) / 8 (18,6)	9 (33,3) / 18 (66,7)	0 (0) / 11 (100)	<0,001
B simptomi (NE / DA), n (%)	33 (76,7) / 10 (23,3)	4 (14,8) / 23 (85,2)	0 (0) / 11 (100)	<0,001
Ann Arbor klinički stadij (I i II / III i IV), n (%)	21 (44,8) / 22 (51,2)	5 (18,5) / 22 (81,5)	3 (27,3) / 8 (72,7)	0,03
Infiltracija koštane srži§ (NE / DA), n (%)	33 (76,7) / 10 (23,3)	12 (44,4) / 15 (55,6)	6 (60) / 4 (40)	0,023

Komorbiditeti, n (%)				
Šećerna bolest	2 (4,7)	3 (1,1)	1 (9,1)	0,452
Arterijska hipertenzija	5 (11,6)	6 (22,2)	1 (9,1)	0,324
Srčanožilne bolesti	12 (27,9)	8 (29,6)	2 (18,2)	0,579
Kronična bolest pluća	0 (0)	1 (3,7)	0 (0)	0,857
Kronična jetrena bolest	1 (2,3)	0 (0)	0 (0)	0,914
Maligniteti	2 (4,7)	1 (3,7)	1 (9,1)	0,874
Krvarenje	0 (0)	1 (3,7)	1 (9,1)	0,699
E [II] ($x10^{12}$/l) (aritmetička sredina ± SD[¶])	4,42 ± 0,59	4,23 ± 0,52	3,66 ± 0,79	0,001
Hgb[**] (g/l) (aritmetička sredina ± SD[¶])	127 ± 17	117 ± 18	105 ± 22	0,001
MCV[††] (fl) (aritmetička sredina ± SD[¶])	85,89 ± 5,8	84,6 ± 7,1	88,21 ± 4,98	0,266
L[‡‡] ($x10^9$/l) (aritmetička sredina ± SD[¶])	6,37 ± 1,81	7,6 ± 3	9,32 ± 3,14	0,002
Limfociti ($x10^9$/l), (aritmetička sredina ± SD[¶])	1,65 ± 0,58	1,56 ± 0,67	1,51 ± 1,22	0,773
Trb[§§] ($x10^9$/l) (aritmetička sredina ± SD[¶])	237 ± 84	275 ± 147	332 ± 170	0,061
CRP[IIII] (mg/l) (medijan /min. - max./)	4,1 (0,5 - 9,7)	23,8 (9,9 - 124,4)	66,2 (25,1 - 179,6)	<0,001
Albumin (g/l) (aritmetička sredina ± SD[¶])	45,07 ± 4,27	38,94 ± 3,7	30,31 ± 2,98	<0,001
Fe[¶¶] (µmol/l) (aritmetička sredina ± SD[¶])	12,65 ± 6,86	7,57 ± 3,85	8,85 ± 8,97	0,005
Feritin (µg/l) (medijan /min. - max./)	83,35 (5,8 - 1262)	140 (22 - 1288,7)	343 (15 - 639,8)	0,003
NLR[***] (medijan /min. - max./)	2,27 (0,56 11,29)	3,05 (0,62 - 14,17)	4,41 (1,44 – 17,8)	0,001
PLR[†††] (medijan /min. - max./)	131,87 (66,59 – 393,42)	173,13 (37,68 - 412,28)	320,59 (13,05 – 608,93)	0,007

RDW[‡‡‡] (%) (aritmetička sredina ± SD[¶])	13,8 ± 1,5	14,84 ± 1,54	15,96 ± 2,6	0,001
Odgovor na terapiju (DA / NE), n (%)	40 (93) / 3 (7)	21 (77,8) / 6 (22,2)	4 (40) / 6 (60)	<0,001

[*]PS ECOG - opće stanje bolesnika; [†]IPI - Međunarodni prognostički indeks; [‡]LDH - laktat dehidrogenaza; [§]- za jednog bolesnika nije bilo podataka o infiltraciji koštane srži; [II]E - eritrociti; [¶]SD - standardna devijacija; [**]Hgb - hemoglobin; [††]MCV - prosječni volumen eritrocita, od engl. *mean cell volumen*; [‡‡]L - leukociti; [§§]Trb - trombociti; [IIII]CRP - C-reaktivni protein; Fe[¶¶] - željezo, od lat. ferrum; [***]NLR - omjer neutrofila i limfocita, od engl. *neutrophil to lymphocyte ratio*; [†††]PLR - omjer trombocita i limfocita, od engl. *platelet to lymphocyte ratio*; [‡‡‡]RDW - širina distribucije eritrocita, od engl. *red blood cell distibution width*.

Dvogodišnji OS za pacijente s GPS = 0, GPS = 1 i GPS = 2 je 89,6 %, 65,8 % i 36,4 % (*P* = 0,002, log-rank test). Dvogodišnji EFS je 81,6 % za pacijente s GPS = 0, 63,2% za one s GPS = 1 i 36,4 % za pacijente s GPS = 2 (*P*= 0,014, log-rank test).



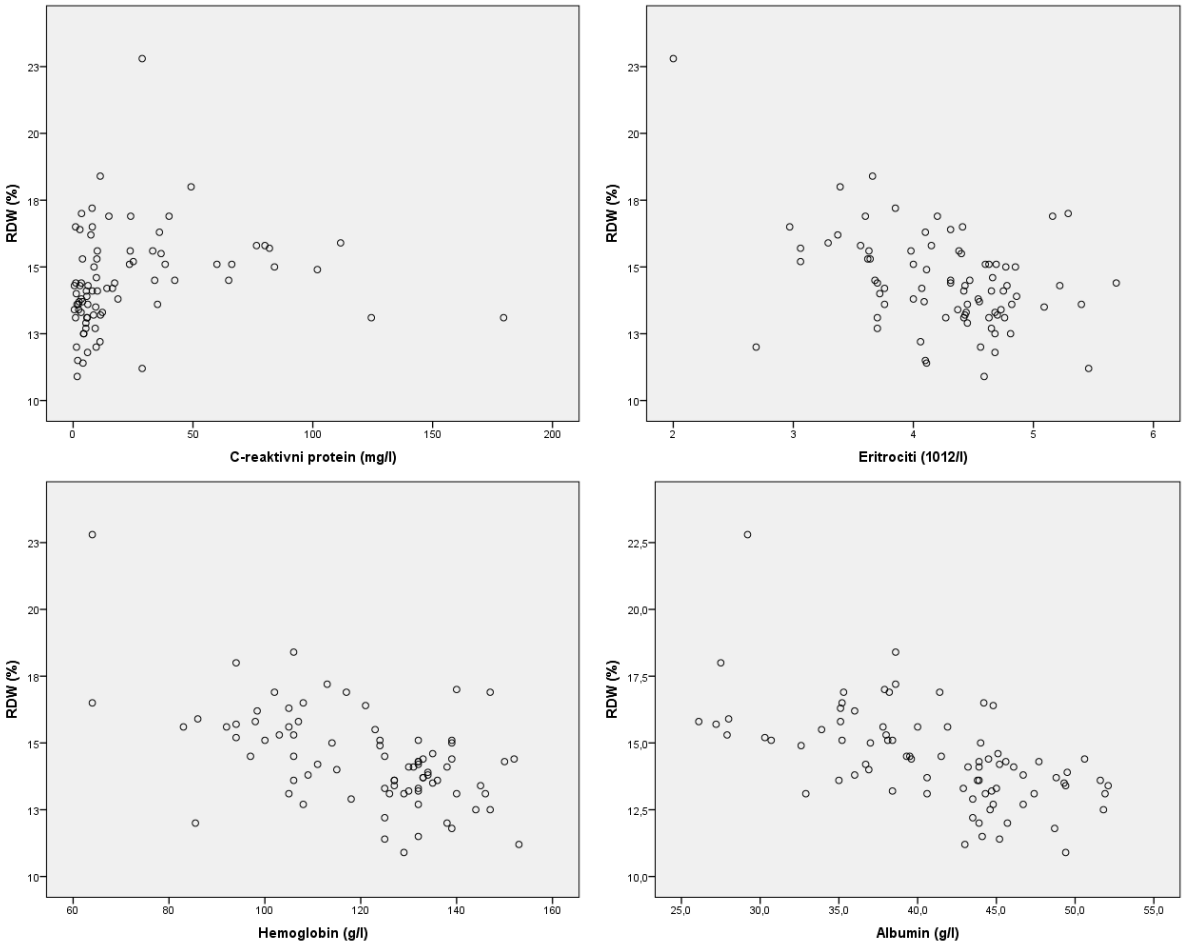
Slika 5.13. Ukupno preživljenje (OS, od engl. *overall survival*) i preživljenje bez događaja (EFS, od engl. *event free survival*) svih bolesnika s B-velikostaničnim limfomom u odnosu na Glasgowski prognostički bodovni sustav (GPS, od engl.*Glasgow prognostic score*) (N=81)

U univarijatnoj Coxovoj regresijskoj analizi vrijednost GPS 2 statistički je prognostički značajna za OS (HR 6,052, 95 % CI 2,019 - 18,142, *P* = 0,001) i EFS (HR 3,908, 95 % CI 1,477 - 10,344, *P* = 0,006). U multivarijatnoj Coxovoj regresijskoj analizi, u koju su kao mogući prognostički čimbenici uvršteni dob bolesnika, PS ECOG, LDH, spol (za OS) i klinički stadij te GPS kao kategorijska varijabla (≤1 / =2) i koji su u univarijatnoj analizi bili

prognostički značajni, GPS nije bio statistički prognostički značajan za OS (P = 0,33) ni za EFS (P = 0,715).

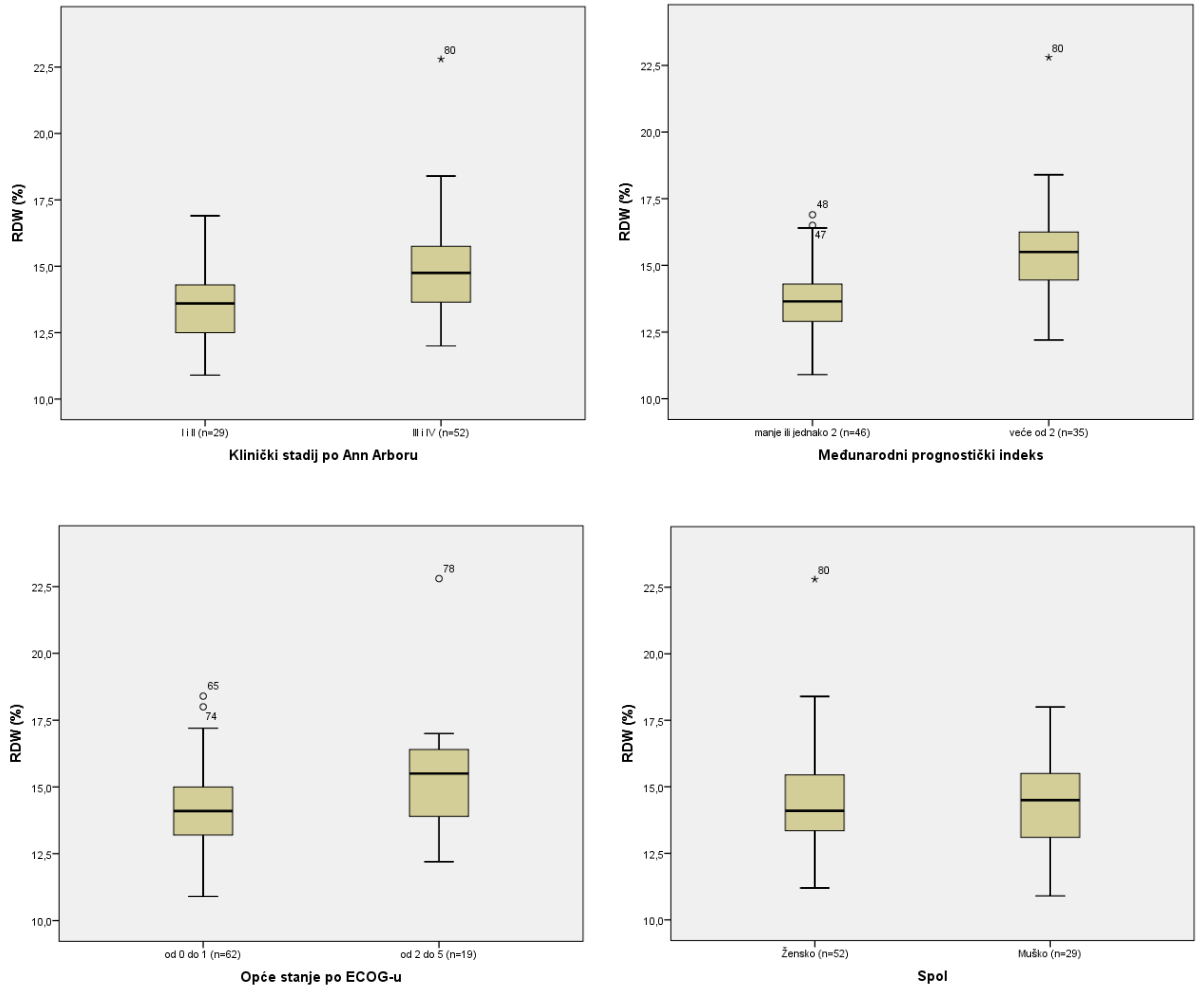
5.5 Širina distribucije eritrocita

Vrijednost RDW-a bolesnika uključenih u istraživanje iznosila je 14,44 ± 1,84 %, s rasponom od 10,9 do 22,8. Utvrđena je pozitivna korelacija između vrijednosti RDW-a i vrijednosti CRP-a, NLR-a, PLR-a, GPS-a, IPI-ja, ECOG statusa i kliničkog stadija (r_S = 0,388, P < 0,001; r_S = 0,272, P = 0,014; r_S = 0,388, P < 0,001; r_S = 0,422, P < 0,001; r_S = 0,551, P < 0,001; r_S = 0.284, P = 0,01; r_S = 0,384, P = 0,001), a negativna korelacija između vrijednosti E, Hgb, Fe i koncentracije albumina (r = -0,433, P < 0,001; r = -0,540, P < 0,001; r = -0,259, P = 0,02; r = -0,583, P < 0.001) (Slika 5.14.). Nismo našli korelaciju između RDW-a i vrijednosti L limfocita, Trb, MCV-a i feritina.



Slika 5.14. Vrijednost širine distribucije eritrocita (RDW, od engl. *red blood cell distribution width*) u korelaciji s C-reaktivnim proteinom, eritrocitima, hemoglobinom i albuminom (N = 81)

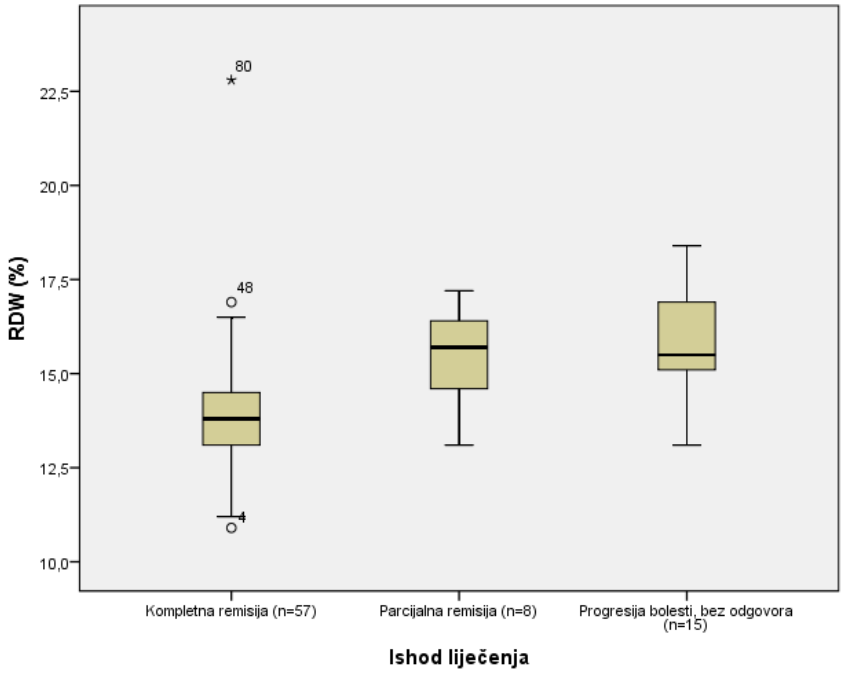
Vrijednost RDW-a bila je viša u bolesnika s proširenom bolesti (stadij III i IV) nego u onih s lokaliziranom bolesti (stadij I i II) (14,94 ± 1,82 % *vs* 13,55 ± 1,54 %, Studentov t test, *P* = 0,001) kao i u bolesnika s IPI-jem > 2 (15,54± 1,88 % *vs* 13,65 ± 1,31 %, Studentov t test, *P* < 0,001) i ECOG PS ≥ 2 (15,47 ± 2,31 % *vs* 14,13 ± 1,56 %, Studentov t test, *P* = 0,005). Nije bilo razlike u vrijednosti RDW-a prema spolu (Slika 5.15.).



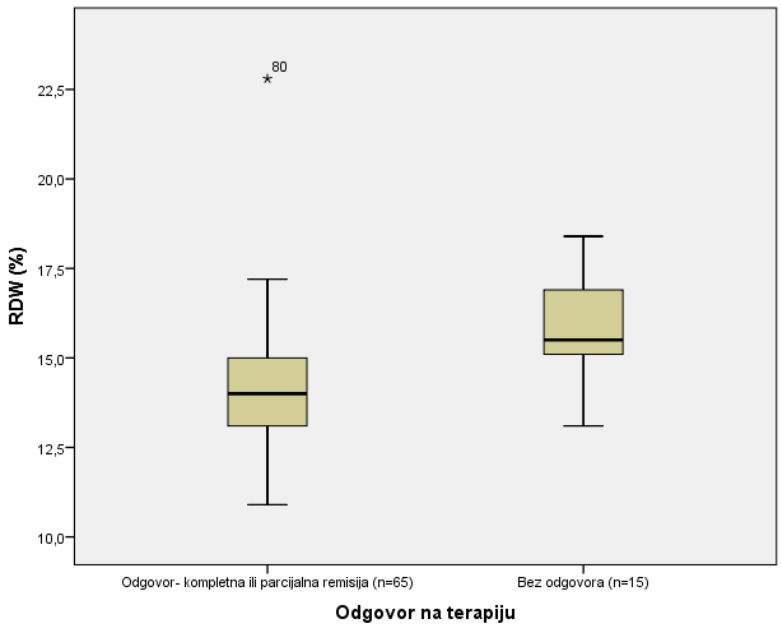
Slika 5.15. Vrijednost širine distribucije eritrocita (RDW, od engl. *red blood cell distribution width*), prema kliničkom stadiju bolesti po Ann Arbor, međunarodnom prognostičkom indeksu, općem stanju po ECOG-u (od engl. *Eastern Cooperative Oncology Group*) i spolu (N=81)

Utvrdili smo povezanost između ishoda liječenja (kompletna remisija, parcijalna remisija, nema odgovora - progresija) i RDW-a (13,93 ± 1,78 % *vs* 15,46 ± 1,34 % *vs* 15,77 ± 1,47 %, $P < 0{,}001$, ANOVA) (Slika 5.16A.). Bolesnici koji su odgovorili na terapiju imali su manju vrijednost RDW-a od onih koji nisu odgovorili na terapiju (14,94 ± 1,82 % *vs* 13,55 ± 1,54 %, $P = 0{,}001$, Studentov t-test) (Slika 5.16B.).

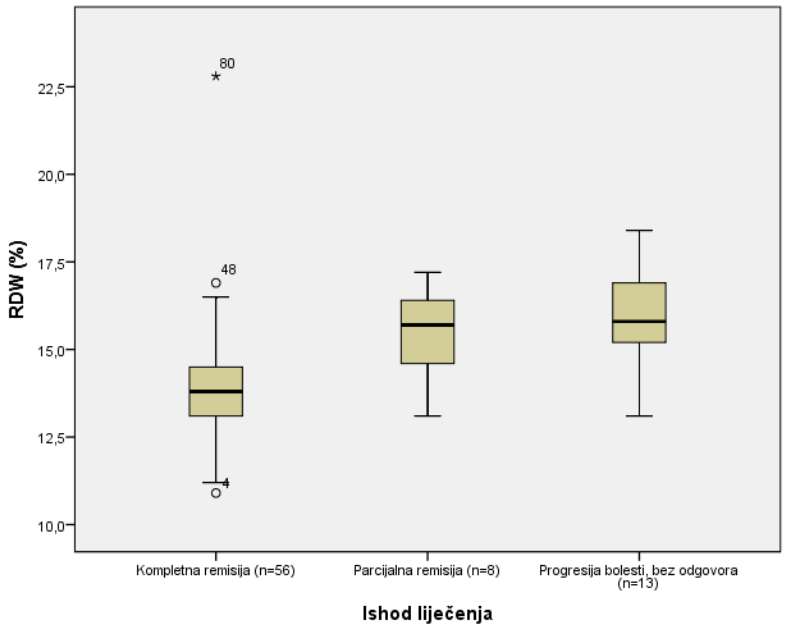
Kada smo analizirali skupinu bolesnika (n = 77) koja je bila liječena imunokemoterapijom, također smo utvrdili povezanost između ishoda liječenja (kompletna remisija, parcijalna remisija, nema odgovora - progresija) i RDW-a (13,95 ± 1,79 % *vs* 15,46 ± 1,34 % *vs* 15,98 ± 1,44 %, $P < 0{,}001$, ANOVA) (Slika 5.16C.).



Slika 5.16A. Širina distribucije eritrocita (RDW, od engl. *red blood cell distribution width*) pri dijagnozi u bolesnika s B-velikostaničnim limfomom (N=80) u skupini bolesnika prema ishodu liječenja.



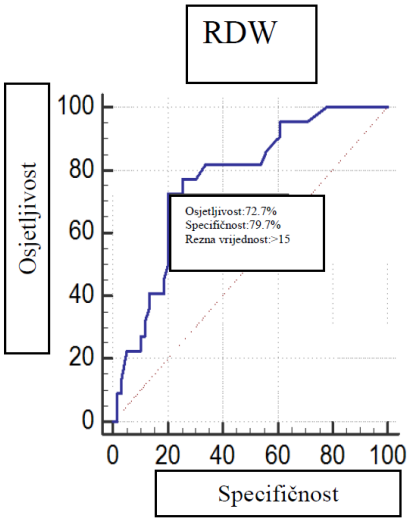
Slika 5.16B. Širina distribucije eritrocita (RDW, od engl. *red blood cell distribution width*) pri dijagnozi u bolesnika s B-velikostaničnim limfomom (N = 80) i odgovor na terapiju.



Slika 5.16C. Širina distribucije eritrocita (RDW, od engl. *red blood cell distribution width*) pri dijagnozi u bolesnika s B-velikostaničnim limfomom (N=77) liječenih imunokemoterapijom u skupini bolesnika prema ishodu liječenja

Učinjena je ROC analiza. Prema ROC analizi, vrijednost RDW-a statistički je značajna za OS. AUC za RDW je 0,768, 95 % CI 0,661 - 0,855, Z = 4,724; optimalna rezna vrijednost je 15 %, s 72,7 % osjetljivosti i 79,7 % specifičnosti, $P < 0{,}001$ (Slika 5.17.). Referentna

vrijednost RDW-a u našem laboratoriju je od 9 do 15 %. Povišenu vrijednost RDW-a definirali smo kao vrijednost >15% i upravo ta vrijednost odgovara dobivenoj reznoj vrijednosti RDW-a prema ROC analizi.



Slika 5.17. Prognostička vrijednost širine distribucije eritrocita (RDW, od engl. *red blood cell distribution width*) za ukupno preživljenje bolesnika s B-velikostaničnim limfomom, mjerena površinom ispod ROC krivulje (N = 81)

Potom smo bolesnike podijelili u dvije skupine, ovisno o reznoj vrijednosti RDW-a (≤ 15 % / > 15 %). 53 bolesnika imala su urednu vrijednost RDW-a (≤ 15 %), a 28 povišenu (> 15 %). Bolesnici s povišenim vrijednostima RDW-a bili su stariji, lošijeg općeg stanja, većeg kliničkog stadija po Ann Arboru, češće su imali izražene B simptome, viši IPI, infiltriranu koštanu srž, viši CRP, NLR, PLR, LDH, veći GPS, izraženiju limfopeniju, nižu serumsku koncentraciju E, manju serumsku koncentraciju Hgb, veću serumsku koncentraciju feritina, nižu albuminemiju i lošiji odgovor na terapiju. Komorbiditeti se nisu statistički značajno razlikovali između skupina (Tablica 5.6.)

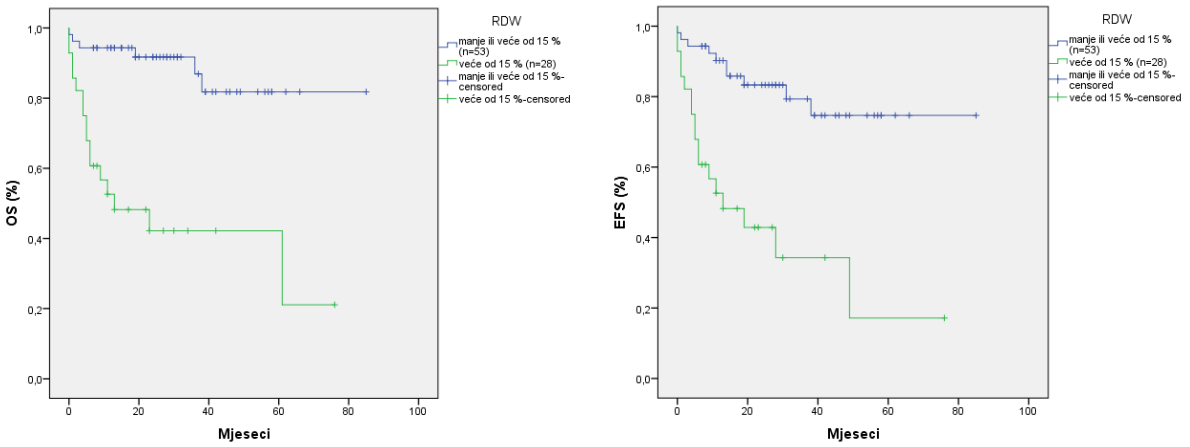
Tablica 5.6. Početna obilježja (demografska, klinička, laboratorijska) i odgovor na terapiju u bolesnika s B-velikostaničnim limfomom, podijeljenih u skupine prema reznoj vrijednosti širine distribucije eritrocita (RDW, od engl. *red blood cell distribution width*) (N=81)

Obilježje	RDW ≤ 15 (n = 53)	RDW > 15 (n = 28)	*P*
Dob (≤ 60godina / > 60godina), n (%)	25 (47,2) / 28 52,8)	6 (21,4) / 22 (78,6)	0,023
Spol (muški/ženski), n (%)	18 (34) / 35 (66)	11 (39,3)/17 (60,7)	0,635
PS po ECOG-u* (< 2 / ≥ 2), n (%)	47 (88,7) / 6 (11,3)	15 (53,6) / 13 (46,4)	<0,001
IPI† (≤ 2 / > 2), n (%)	41 (77,4) / 12 (22,6)	5 (17,9) / 23 (82,1)	<0,001
LDH‡ (u referentnim vrijednostima/>241 UI), n (%)	38 (71,7) / 15 (28,3)	6 (24,4) / 22 (78,6)	<0,001
B simptomi (NE/DA), n (%)	32 (60,4) / 21 (39,6)	5 (17,9) / 23 (82,1)	<0,001
Ann Arbor klinički stadij (I i II / III i IV), n (%)	25 (47,2) / 28 (52,8)	4 (14,3) / 24 (85,7)	0,004
Infiltracija koštane srži§ (NE/DA), n (%)	39 (73,6) / 14 (26,4)	12 (44,4) / 15 (55,6)	0,01
Komorbiditeti, n (%)			
Šećerna bolest	5 (9,4)	1 (3,6)	0,659
Arterijska hipertenzija	16 (30,2)	6 (21,4)	0,399
Srčanožilne bolesti	7 (13,2)	5 (17,9)	0,575
Kronična bolest pluća	0 (0)	1 (3,6)	0,346
Kronična jetrena bolest	1 (1,9)	0 (0)	>0,999
Maligniteti	2 (3,8)	2 (7,1)	0,606
Krvarenja	0 (0)	2 (7,1)	0,117
E II ($x10^{12}$) (aritmetička sredina ± SD¶)	4,44 ± 0,52	3,89 ± 0,71	0,001
Hgb** (g/l) (aritmetička sredina ± SD¶)	129 ± 14	106 ± 20	<0,001
MCV†† (fl) (aritmetička sredina ± SD¶)	86,23 ± 6,27	84,93 ± 6,09	0,373
L‡‡ ($x10^9$/l) (aritmetička sredina ± SD¶)	6,95 ± 2,38	7,61 ± 3,04	0,325
Limfociti ($x10^9$/l) (aritmetička sredina ± SD¶)	1,7 ± 0,7	1,42 ± 0,73	0,099

Trb[§§] (x10^9/l) (aritmetička sredina ± SD[¶])	247 ± 118	292 ± 131	0,118
CRP [IIII] (mg/l) (medijan /min.- max./)	6 (0,5 – 179,6)	24,55 (1 – 111,6)	0,001
Albumin (g/l) (aritmetička sredina ± SD[¶])	44,01 ± 4,77	35,38 ± 5,25	<0,001
Fe[¶¶] (µmol/l) (aritmetička sredina ± SD[¶])	11,73 ± 6,68	7,96 ± 6,2	0,016
Feritin (µg/l) (medijan /min.- max./)	85,85 (7,8 – 686,9)	134,2 (5,8 – 1288,7)	0,05
NLR[***](medijan /min.- max./)	2,76 (0,83 – 11,29)	3,5 (0,56 – 17,8)	0,038
PLR[†††] (medijan /min.- max./)	133,4 (66,59 – 345,81)	188,06 (13,05 – 608,93)	0,002
GPS[‡‡‡] (0 / 1 / 2), n (%)	36 (67,9) / 14 (26,4)/ 3 (5,7)	7 (25) / 13 (46,4)/8 (28,6)	<0,001
Odgovor na terapiju (DA/NE), n (%)	50 (94,3) / 3 (5,7)	15 (55,6) / 12 (44,4)	<0,001

[*]PS ECOG - opće stanje bolesnika; [†]IPI - Međunarodni prognostički indeks; [‡]LDH - laktat dehidrogenaza; [§]- za jednog bolesnika nije bilo podataka o infiltraciji koštane srži; [II]E - eritrociti; [¶]SD - standardna devijacija; [**]Hgb – hemoglobin; [††]MCV - prosječni volumen eritrocita, od engl. *mean cell volumen*; [‡‡]L - leukociti; [§§]Trb - trombociti; [IIII]CRP – C-reaktivni protein; Fe[¶¶] - željezo, od lat. ferrum; [***]NLR- omjer neutrofila i limfocita, od engl. *neutrophil to lymphocyte ratio*; [†††]PLR - omjer trombocita i limfocita, od engl. *platelet to lymphocyte ratio*; [‡‡‡]GPS - Glasgowski prognostički bodovni sustav, od engl. *Glasgow prognostic score*.

Dvogodišnji OS i dvogodišnji EFS bio je signifikantno lošiji u bolesnika s RDW > 15 % (42,2 % *vs* 91,7 % za dvogodišnji OS, $P < 0,001$, log-rank test; 42,9% *vs* 83,3% za dvogodišnji EFS, $P < 0,001$, log-rank test) (Slika 5.18.).



Slika 5.18. Ukupno preživljenje (OS, od engl. *overall survival*) i preživljenje bez događaja (EFS, od engl. *event free survival*) svih bolesnika s B-velikostaničnim limfomom u odnosu na ROC reznu vrijednosti širine distribucije eritrocita (RDW, od engl. *red blood cell distribution width* (N=81)

U univarijatnoj Coxovoj regresijskoj analizi inicijalna vrijednost RDW-a statistički je prognostički značajna za OS (HR 1,28, 95 % CI 1,101 - 1,487, *P* = 0,001). Inicijalna vrijednost RDW-a statistički je prognostički značajna i za EFS (HR 1,256, 95 % CI 1,092 - 1,444, *P* = 0,001) prema univarijatnoj analizi. U multivarijatnoj Coxovoj regresijskoj analizi, u koju su kao mogući prognostički čimbenici uvršteni dob bolesnika, PS ECOG, IPI, LDH, spol i klinički stadij te RDW kao kategorijska varijabla (≤ 15 % / > 15 %) i koji su u univarijatnoj analizi bili prognostički značajni, RDW je ispao statistički prognostički značajan za OS. Bolesnici s RDW-om > 15 % pri dijagnozi su imali veći rizik smrti, s HR-om 4,759 (95 % CI 1,419 do 15,963, *P* = 0,012) u odnosu na bolesnike s RDW-om ≤ 15 %. Za lošiji status ECOG-a također je utvrđeno da je neovisan prognostički čimbenik za OS (HR 4,138, 95 % CI 1,537 - 11,14, *P* = 0,005). U multivarijatnoj analizi za EFS također smo utvrdili da je RDW neovisan prognostički čimbenik za EFS, bolesnici s RDW-om > 15 % su pri dijagnozi imali veći rizik za događaj, s HR-om 2,87 (95 % CI 1,114 - 7,394, *P* = 0,029) u odnosu na bolesnike s RDW-om ≤ 15 %.

5.6 Multivarijatna Coxova regresijska analiza svih utvrđenih prognostičkih čimbenika za ukupno preživljenje i preživljenje bez događaja

U multivarijatnoj Coxovoj regresijskoj analizi, u koju su kao mogući prognostički čimbenici uvršteni NLR, PLR, RDW, GPS kao kategorijske varijable, dob bolesnika, PS ECOG, LDH, spol (za OS) i klinički stadij koji su u univarijatnoj analizi bili prognostički značajni.

Multivarijatna Coxova regresijska analiza utvrdila je da je vrijednost RDW > 15 % neovisan prognostički čimbenik za OS (HR 6,4, 95 % CI 1,559 - 26,272, *P* = 0,01) i EFS (HR 5,755, 95 % CI 1,733-19,11, P = 0,04), dok je NLR statistički prognostički značajan samo za EFS (HR 5,973, 95 % CI 1,832-19,481, *P* = 0,003) (Tablica 5.7).

Tablica 5.7. Multivarijatna analiza I za ukupno preživljenje (OS, od engl. *overall survival*) i preživljenje bez događaja (EFS, od engl.*event free survival*) u bolesnika s B-velikostaničnim limfomom (N=81)

	OS			EFS		
	Hazard ratio	95 % confidence interval	*P*	Hazard ratio	95 % confidence interval	*P*
NLR[*] (> 2,63)	-	-	0,056	5.973	1,832-19,481	0,003
PLR[†] (> 158,65)	-	-	0,06	-	-	0,053
RDW[‡] (> 15 %)	8,873	2,065 – 38,132	0,003	5,755	1,733-19,11	0,004
GPS[§] (= 2)	-	-	0,639	-	-	0,261
Dob (> 60 godina)	-	-	0,557	-	-	0,112
Spol (muški)	-	-	0,066	-	-	-
ECOG PS[II] (≥ 2)	4,97	1,661-14,873	0,004	2,988	1,115-8.008	0,03
LDH[¶] (> 241 UI)	-	-	0,866	-	-	0,683
Klinički stadij AA[**] (III i IV)	-	-	0,402	-	-	0,979

[*]NLR - omjer neutrofila i limfocita, od engl. *neutrophil to lymphocyte ratio*; [†]PLR - omjer trombocita i limfocita, od engl. *platelet to lymphocyte ratio*; [‡]RDW - širina distribucije

eritrocita, od engl. *red blood cell distribution width*; [§]GPS - Glasgowski prognostički bodovni sustav, od engl. *Glasgow prognostic score*;[II]PS ECOG - opće stanje bolesnika; [¶]LDH - laktat dehidrogenaza; [**]AA – Ann Arbor.

U drugoj multivarijatnoj analizi su umjesto pojedinačnih faktora IPI-ija uvršteni sam IPI i proučavani prognostički čimbenici. Potvrđeno je da je RDW > 15% neovisni čimbenik za OS i EFS, dok je NLR statistički značajan samo za EFS (Tablica 5.8).

Tablica 5.8. Multivarijatna analiza II za ukupno preživljenje (OS, od engl. *overall survival*) i preživljenje bez događaja (EFS, od engl.*event free survival*) u bolesnika s B-velikostaničnim limfomom (N=81)

	OS			EFS		
	Hazard ratio	95 % confidence interval	*P*	Hazard ratio	95 % confidence interval	*P*
NLR[*] (> 2,63)	-	-	0,073	6,59	2,029-21,405	0,002
PLR[†] (> 158,65)	-	-	0,06	-	-	0,055
RDW[‡] (> 15 %)	5,55	1,538 – 20,018	0,009	4,378	1,478-12,966	0,008
GPS[§] (= 2)	-	-	0,675	-	-	0,608
IPI[II] (> 2)	-	-	0,053	3,544	1,123-11,181	0,031

[*]NLR - omjer neutrofila i limfocita, od engl. *neutrophil to lymphocyte ratio*; [†]PLR - omjer trombocita i limfocita, od engl. *platelet to lymphocyte ratio*; [‡]RDW - širina distribucije eritrocita, od engl. *red blood cell distribution width*; [§]GPS - Glasgowski prognostički bodovni sustav, od engl. *Glasgow prognostic score*;[II]IPI - međunarodni prognostički sustav, od engl. *international prognostic system*;

6. RASPRAVA

6.1. Osvrt na rezultate liječenja i kriterij odabira bolesnika

Ovo je istraživanje učinjeno na uzorku od 81 bolesnika s L-BCL-om kojih je 90 % liječeno standardnom imunokemoterapijom rituksimabom, ciklofosfamidom, doksorubicinom, vinkristinom i prednisonom (protokolom R-CHOP), tri DA-R-EPOCHom (infuzijski R-CHOP i etopozid), dva R-CNOPom (mitoksantron umjesto doksorubicina), a tri samo kemoterapijom (CEOP), ciklofosfamidom, etopozidom, vinkristinom i prednisonom. U istraživanje smo uključili sve bolesnike s dijagnozom L-BCL-a u kojih je bilo planirano liječenje jer smo željeli utvrditi prognostičku vrijednost ispitanih parametara. S obzirom na zadovoljavajuću homogenu skupinu s obzirom na način liječenja, rezultati liječenja (70,4 % postiglo KR; dvogodišnji EFS 69,5 %; dvogodišnji OS 74,8 %) slični su ili nešto lošiji od rezultata drugih istraživačkih skupina slične populacije bolesnika (100, 101). Broj bolesnika je bio razmjerno mali, no dovoljan za planirane statističke analize. Medijan praćenja od 22 mjeseca zadovoljavajući je obzirom na činjenicu da se relaps bolesti obično javlja u prve dvije godine nakon provedenog liječenja. Isključivanjem iz analize bolesnika na terapiji glukokortikoidima, s infekcijom ili krvarenjem, izbjegnut je utjecaj čimbenika nevezanih uz bolest koji bi mogli utjecati na vrijednosti ispitivanih prognostičkih parametara i tako otežati ili onemogućiti interpretaciju rezultata.

6.2. Omjer neutrofila i limfocita

NLR je pozitivno korelirao sa serumskim koncentracijama CRP-a, LDH-a i feritina, a negativno s albuminemijom. Ovi rezultati potvrđuju da je povišen NLR u B-LCL biljeg kronične upale, a moguće i slabije uhranjenosti bolesnika (53). NLR je bio veći u bolesnika s proširenom bolesti, B simptomima, lošijim općim stanjem i višim IPI-jem. To su redom čimbenici biološke agresivnosti bolesti. Dobiveni rezultati slični su rezultatima istraživanja Porrata i suradnika (59). ROC analizom smo utvrdili da je u našoj skupini bolesnika rezna vrijednost NLR-a za smrtnost veća od 2,63. Dobivena rezna vrijednost, koja je manja od prethodno objavljene moguće, posljedica je manjeg broja bolesnika, razlike u populaciji bolesnika, a i heterogene skupine bolesnika s obzirom na način liječenja. U istraživanju Porrata i suradnika u analizi su uzeti u obzir samo bolesnici liječeni kemoterapijskim protokolom R-CHOP-om. Upala je identificirana kao kritična sastavnica napredovanja tumora, gdje su upalne stanice sudionik u neoplastičnom procesu, poticanju širenja, opstanku i migraciji tumorskih stanica (44). Utvrđeno je da je sustavni upalni odgovor udružen sa

slabim ishodom u različitim bolestima. Za različite solidne tumore, kao i limfome, upalna obilježja, kao što su leukociti, neutrofili, limfociti i CRP, povezana su s većim stopama smrtnosti (47 - 53). NLR odražava upalni odgovor domaćina (neutrofili) na tumor i domaćinov imunološki odgovora (limfociti). U našem istraživanju potvrđeno je da je i vrijednost NLR-a udružena s lošijim ishodom liječenja. U multivarijatnoj analizi rezna vrijednost NLR-a prognostički je značajna samo za EFS, a za OS nije. Ovi rezultati nisu sukladni rezultatima Porrata i suradnika, što se opet može objasniti manjom skupinom bolesnika, kraćim vremenom praćenja i heterogenom skupinom bolesnika s obzirom na način liječenja. Vrijednost NLR-a trebala bi odražavati sustavni upalni odgovor koji prati kronične bolesti, ali može također biti pod utjecajem različitih čimbenika, uključujući sustavne infekcije, aterosklerozu, povišen krvni tlaka, kronične bubrežne bolesti i šećernu bolest, a može biti čak i pod utjecajem rizičnih čimbenika ateroskleroze i terapije lijekovima (102 - 107). U našem istraživanju nije bilo statističke značajne razlike u pojavi komorbiditeta između dviju skupina s obzirom na reznu vrijednost NLR-a. Potrebna su daljnja istraživanja s većim brojem uključenih bolesnika za potvrdu prognostičke uloge NLR u B-LCL.

6.3 Omjer trombocita i limfocita

PLR je povezan s prognozom u mnogim tipovima karcinoma, uključujući karcinom debelog crijeva, pluća i hepatocelularni karcinom. Međutim, specifični mehanizam ovog odnosa nije potpuno razjašnjen (108). Trombociti mogu potaknuti rast tumora ubrzavanjem angiogeneze preko citokina vaskularnog endotelnog čimbenika (VEGF, od engl. *vascular endothelial growth factor*) (109). Do sada nije istraživana prognostička vrijednost PLR-a u oboljelih od B-LCL-a. Naše istraživanje utvrdilo je pozitivnu povezanost PLR-a s CRP-om, feritinom i IPI-jem i negativnu povezanost PLR-a sa serumskim albuminom. PLR se nije razlikovao u bolesnika koji su odgovorili na liječenje i onih koji nisu niti je utjecao na OS ili EFS. Prema dobivenim rezultatima, u našoj skupini bolesnika vrijednost PLR-a nije imala prognostičko značenje. NLR i RDW su bili superiorniji kao prognostički čimbenici u odnosu na PLR, što je slično rezultatima u oboljelih od karcinoma dojke, kolorektalnog karcinoma, karcinoma pluća nemalih stanica i malignog mezotelioma (94, 110 - 112).

6.5 Glasgowski prognostički bodovni sustav

Našim istraživanjem utvrdili smo da je GPS prognostički čimbenik za OS i EFS. Bolesnici s većim vrijednostima (GPS = 2) imaju kraći OS i EFS. Bolesnici s većim vrijednostima GPS-a, bili su lošijeg općeg stanja, većeg kliničkog stadija po AA, češće su imali izražene B

simptome, viši IPI, infiltriranu koštanu srž, viši CRP i lošiji odgovor na terapiju. Ovi rezultati potvrđuju da su veće vrijednosti GPS-a odraz kronične upale, a možda i lošeg nutritivnog stanja u bolesnika s B-LCL-om kao i invazivnog potencijala tumora (B).

Naši su rezultati u velikom dijelu sukladni nedavno objavljenim rezultatima Lija X i sur. koji su utvrdili da je GPS dobar prediktor kliničkog ishoda u bolesnika s DLBCL-om liječenih kemoterapijskim protokolom R-CHOP (76). Oni su istraživali prognostičku vrijednost GPS-a u bolesnika s DLBCL-om, liječenima R-CHOP-om u Kini. Utvrdili su da bolesnici s manjim vrijednostima GPS-a imaju bolji ishod (dulji OS i PFS). U multivarijatnoj analizi potvrdili su da je GPS neovisan prediktor za OS, dok u našem istraživanju nismo dobili tu potvrdu. Moguće je da je razlika u rezultatima posljedica naše heterogene skupine bolesnika s obzirom na način liječenja te različite populacije bolesnika (bijelici/Azijati).

6.4 Širina distribucije eritrocita

Ovim istraživanjem prvi je put utvrđeno da je vrijednost RDW-a pri dijagnozi povezana s lošijom prognozom u bolesnika s B-LCL-om. Evaluirana je prognostička vrijednost RDW-a u bolesnika s B-LCL-om. Utvrdili smo da je RDW neovisan prognostički čimbenik OS-a i EFS-a. Kada smo bolesnike podijelili u dvije skupine s obzirom na reznu vrijednost RDW-a, utvrđeno je da bolesnici s povišenim vrijednostima RDW-a (> 15 %) imaju kraći OS i EFS.

Lošije opće stanje, prošireni klinički stadij po Ann Arboru, veći CRP i niža albuminemija, bili su povezani s većim RDW-om. Ovi rezultati podupiru ideju da su visoke vrijednosti RDW-a moguć odraz kronične upale i agresivnosti bolesti, a možda i lošeg nutritivnog statusa u bolesnika s B-LCL-om. Buduća su istraživanja potrebna kako bi razjasnila objašnjava li to barem djelomično prirodu povezanosti između smrtnosti i povećanog RDW-a u bolesnika s B-LCL. Prethodna su istraživanja otkrila povezanost RDW-a i različitih upalnih biljega, kao što su CRP, sedimentacija eritrocita, IL-6, topljivi transferin receptora, topljivi receptor I za TNF i topljivi receptor II za TNF (113). U našem istraživanju vrijednost RDW-a nije bila u korelaciji s koncentracijom feritina. Bolesnici s vrijednostima RDW-a > 15 % nisu imali znatno veću vrijednost feritina. To je neočekivano otkriće jer je feritin jedan od biljega upale. Međutim, u nekih bolesnika s oštećenom funkcijom jetre feritin ne mora biti pozitivan biljeg upale. Osim koncentracije albumina u serumu, mi nismo analizirali sintetičku jetrenu funkciju. Slično tome, u bolesnika na kroničnoj hemodijalizi pronađena je statistički značajna povezanost CRP-a i albumina s RDW-om, ali nije nađena značajna korelacija RDW-a i feritina (114).

Mehanizam kojim se može objasniti povezanost vrijednosti RDW-a s preživljenjem i aktivnošću bolesti nije rasvijetljen, ali se smatra da su visoke vrijednosti RDW-a izazvane kroničnom upalom, slabim nutritivnim statusom, oksidativnim stresom te bolestima povezanim s dobi koje dovode do promjena u eritropoezi (80, 97 - 98). I naši rezultati podupiru ideju da upala i malnutricija imaju ulogu u napredovanju tumora. Mehanizam kojim upala utječe na vrijednosti RDW-a je nepoznat, ali potencijalni mehanizam je da utječe preko poremećenog metabolizma željeza, inhibicijom odgovora eritropoetina i skraćivanjem života crvenih krvnih stanica proizvodnjom proupalnih biljega (115, 116).

Bolesnici s povišenim RDW-om imali su slab odgovor na terapiju. Kronična upala dovodi do nepovoljnog odgovora na kemoterapiju (117, 118). Loše preživljavanje u bolesnika s povećanim RDW-om može biti zbog same kronične upale, odnosno nedostatka odgovora na kemoterapiju. Više je istraživanja potrebno da se objasne odnosi RDW-a s upalom i odgovorom na liječenje.

Unatoč tomu što postoji sve veći broj dokaza o prognostičkoj vrijednosti RDW-a u bolesnika s upalnim bolestima, mali je broj istraživanja RDW-a u području onkologije. Nedavno je objavljeno nekoliko članaka koji govore o RDW-u kao tumorskom biomarkeru. Istraživanjem Seretisa i sur. utvrđeno je da su vrijednosti RDW-a bile veće u bolesnica s karcinomom dojke u odnosu na pacijentice s fibroadenomom dojke (88). Beyazit i sur. su u bolesnika s bilijarnom opstrukcijom utvrdili da bi povećane vrijednosti RDW-a mogle biti koristan prediktor u diferencijaciji malignog uzroka bilijarne opstrukcije (89). Istraživanjem Abakaya i sur. utvrđeno je da je vrijednost RDW-a značajan prediktivni prognostički čimbenik u oboljelih od malignog mesotelioma (94). Albayrak i sur. utvrdili su da RDW u kombinaciji s ostalim biljezima može pomoći u prognozi oboljelih od karcinoma prostate (96). Koma i sur. utvrdili su da su povećane vrijednosti RDW-a udružene s kliničkim stupnjem i prognozom u bolesnika s karcinomom pluća (93). Lee i sur. su u svom istraživanju utvrdili da su povećane vrijednosti RDW-a u bolesnika sa simptomatskim multiplim mijelomom bile udružene s proširenim stupnjem bolesti i lošijom prognozom (95). Dakle, naši su rezultati suglasni s rezultatima drugih ispitivanih malignih bolesti. Moguće je da je RDW opći prognostički čimbenik, uobičajen u različitim bolestima.

Naše istraživanje nije bez ograničenja. Ovo je retrospektivno istraživanje jednog kliničkog središta te bi dobivene rezne vrijednosti trebale biti vanjski validirane u neovisnoj kohorti bolesnika i poželjno uz pomoć prospektivnog istraživanja. Načini liječenja u našoj

analiziranoj skupini bili su heterogeni. To je također ograničenje, ali kad smo iz analize isključili pacijente koji su bili liječeni samo kemoterapijom, potvrdili smo da je RDW imao prognostičko značenje za ishod liječenja u bolesnika s B-LCL-om.

Međutim, unatoč ograničenjima, ovo je prva dokumentacija prognostičke vrijednosti RDW-a u bolesnika s B-LCL-om s dugim razdobljem praćenja.

7. ZAKLJUČCI

- NLR je pozitivno korelirao sa serumskim koncentracijama CRP-a, LDH-a i feritina, a negativno s albuminemijom. NLR je bio veći u bolesnika s proširenom bolesti, B simptomima, lošijim općim stanjem i višim IPI-jem.
- Bolesnici s većim NLR slabije odgovaraju na liječenje i imaju lošije OS i EFS. NLR je neovisan prognostički čimbenik za EFS.
- PLR nije bio neovisan prognostički čimbenik ni za OS niti za EFS.
- Bolesnici s većim vrijednostima GPS-a bili su lošijeg općeg stanja, većeg kliničkog stadija po AA, češće su imali izražene B simptome, veći IPI, infiltriranu koštanu srž, veći CRP
- Bolesnici s većim vrijednostima GPS-a (= 2) lošije odgovaraju na liječenje i imaju kraći OS i EFS. GPS nije neovisan prognostički čimbenik ni za OS niti za EFS.
- Viši RDW-a pri dijagnozi je povezan s kliničkim stadijem, B simptomima, lošijim PS, nižim serumskim koncentracijama hemoglobina i albumina i većim CRP. Bolesnici s visokim vrijednostima RDW-a (15 %) imali su lošiji odgovor na terapiju, lošiji OS i EFS. RDW je bio neovisni prognostički čimbenik za OS i EFS.
- RDW bi mogao biti lako dostupan, jeftin prognostički biljeg za stratifikaciju bolesnika u rizične skupine.

8. SAŽETAK

Uvod: B-velikostanični limfom (B-LCL, od engl. *B large cells lymphoma*) najčešći je ne-Hodgkinov limfom. Prognoza ovisi o kliničkim značajkama, sažetima u tzv. međunarodnom prognostičkom indeksu (IPI, od engl. *international prognostic index*). Molekulski i imunohistokemijski prognostički biljezi su ili nepouzdani ili njihova cijena i tehnička ograničenja čine rutinsku primjenu nepraktičnom. Stoga je pronalaženje surogatnih biljega, koji mogu poslužiti kao prognostički čimbenik, važan doprinos procjeni individualnog rizika. **Cilj istraživanja:** odrediti prognostički značaj upalnih prognostičkih bodovnih sustava i širine distribucije eritrocita (RDW, od engl. *red blood cell distribution width*) u bolesnika s B-LCL-om.

Bolesnici i metode: Retrospektivno smo analizirali podatke 81 bolesnika s B-LCL-om koji su dijagnosticirani u razdoblju od 2006. do 2013. godine u KBC-u Osijek. Promatrani su ishodi, ukupno preživljenje (OS, od engl. *overall survival*) i preživljenje bez događaja (EFS, od engl. *event free survival*). Korištena je univarijatna i multivarijatna (Coxova regresijska) statistička analiza.

Rezultati: Medijan dobi bolesnika bio je 64 godine, 29 ispitanika bili su muškarci (36 %). Vrijednost NLR-a (od engl. *neutrophil lymphocyte ratio* – omjer neutrofila i limfocita) bila je veća u bolesnika s proširenom bolesti (stadij III i IV) nego u onih s lokaliziranom bolesti (stadij I i II) (medijan [raspon] 3,12 [0,62 - 17,8] *vs* 2,38 [0,56 - 7,5], P = 0,037) i u onih bolesnika koji nisu odgovorili na terapiju (2,64 [0,56 - 11,29] *vs* 4 [0,62 - 14,17], P = 0,011). Vrijednost PLR-a (od engl. *platelet lymphocyte ratio* - omjer trombocita i limfocita) bila je veća u bolesnika s proširenom bolesti (stadij III i IV) nego u onih s lokaliziranom bolesti (stadij I i II) (181,18 [13,05 - 608,93] *vs* 132,24 [67,44 - 521,37], P = 0,023), a nije bilo statistički značajne razlike u vrijednosti PLR-a između bolesnika koji su odgovorili na terapiju i onih koji nisu (P=0,151). Bolesnici s višim vrijednostima GPS-a bili su lošijeg općeg stanja (P = 0.002), većeg kliničkog stadija po Ann Arboru (P = 0.03) i imali su lošiji odgovor na terapiju (P < 0.001). Veće vrijednosti RDW-a (%) imali su pacijenti s proširenom bolešću ($14,94 \pm 1,82$ *vs* $13,55 \pm 1,54$, $P = 0,001$) i oni s lošim odgovorom na terapiju ($14,94 \pm 1,82$ *vs* $13,55 \pm 1,54$, P = 0,001). Dvogodišnji OS i dvogodišnji EFS bili su značajno lošiji u bolesnika s NLR > 2,63 (rezna vrijednost izračunata ROC, od engl. *receiver operating characteristic*, analizom) (65,8 % *vs* 86,6 % za dvogodišnji OS, P = 0,007; 58,2 % *vs* 86,6 % za dvogodišnji EFS, P = 0,001) i u bolesnika s RDW > 15 % (rezna vrijednost izračunata

ROC analizom) (42,2 % *vs* 91,7 % za dvogodišnji OS, $P < 0,001$; 42,9 % *vs* 83,3 % za dvogodišnji EFS, $P < 0,001$), dok PLR nije bio značajan za preživljenje. Dvogodišnji OS za pacijente s GPS-om (od engl. *Glasgow prognostic score* – Glasgowski prognostički bodovni sustav) = 0, GPS = 1 i GPS = 2 bila je 89,6 %, 65,8 % i 36,4 % ($P = 0,002$). Dvogodišnji EFS bio je 81,6 % za pacijente s GPS = 0, 63,2 % za one s GPS = 1 i 36,4 % za pacijente s GPS = 2 ($P = 0,014$). Multivarijatna analiza utvrdila je da je RDW > 15 % bio neovisan prognostički čimbenik za OS (HR, od engl. *hasard ratio* - omjer rizika, 8,873, 95 % CI, od engl. *confidence interval* - interval pouzdanosti, 2,065-38,132, $P = 0,003$) i EFS (HR 5,755, 95 % CI 1,733-19,11, $P = 0.004$), dok je NLR bio prognostički značajan samo za EFS (HR 5,973, 95 % CI 1,832-19,481, $P = 0,003$).

Zaključak: U bolesnika s B-LCL-om naše je istraživanje potvrdilo NLR kao koristan prognostički biljeg, dok PLR i GPS nisu pokazali neovisnu prognostičku vrijednost za preživljenje. Visoka početna vrijednost RDW-a bila je povezana s lošijim ishodom. RDW bi mogao biti lako dostupan, jeftin prognostički biljeg za stratifikaciju bolesnika u rizične skupine.

Ključne riječi: B-velikostanični limfom; prognoza; preživljenje; upalni prognostički bodovni sustavi; širina distribucije eritrocita

9. SUMMARY

Title: Prognostic value of the inflammation-based prognostic scores and the red cell distribution width in patients with B large cell lymphoma

Background: B-large cell lymphoma (B-LCL) is the most common non-Hodgkin's lymphoma. The prognosis depends primarily on clinical features, summarized in the so-called International Prognostic Index (IPI). There are certain molecular and immunohistochemical prognostic markers in patients with B-LCL, but their cost and technical constraints make such an application in routine impractical and expensive. Therefore, finding surrogate markers that may serve as a prognostic factor is an important contribution to the establishment of individual risk assessment.

Objectives: The aim of this study was to analyze the prognostic significance of inflammation based prognostic scores and red blood cell distribution width (RDW) in B-LCL patients.

Patients and methods: We retrospectively analyzed data from 81 B-LCL patients diagnosed from 2006 to 2013 at the University Hospital Center Osijek, Osijek, Croatia. We evaluated disease outcome, overall survival (OS) and event-free survival (EFS), and demographic, clinical and laboratory factors affecting outcome. Univariate analysis and Cox regression analysis were used.

Results: The median age of patients was 64 years, 29 were men (35.8 %). Higher neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) was found in patients with an advanced disase (median [range] 3.12 [0.62 - 17.8] *vs* 2.38 [0.56 - 7.5], *P* = 0.037 and a poorer response to therapy (median [range] 2.64 [0.56 - 11.29] *vs* 4 [0.62 - 14.17], *P* = 0.011). Higher platelet to lymphocyte ratio (PLR) was found in patients with an advanced disase (median [range] 181,18 [13,05 - 608,93] *vs* 132,24 [67,44 - 521,37], P = 0,023), values of PLR were not significant for response to treatment. Patients with higher GPS were in poorer general condition (P = 0.002), advanced disease stage (P = 0.03), and a poorer response to therapy (P < 0.001). Higher RDW levels (%) were found in patients with advanced Ann Arbor clinical stage (14.94 ± 1.82 *vs* 13.55 ± 1.54, $P = 0.001$) and in those with poor response to therapy (14.94 ± 1.82 *vs* 13.55 ± 1.54, $P = 0.001$). Patients with NLR values of > 2.63 (cutoff value calculated by receiver-operating characteristic) had a significantly worse two-year OS (65.8 % *vs* 86.6 %, *P* = 0.007) and two-year EFS (58.2 % *vs* 86.6 %, *P* = 0.001). PLR values were not significant for survival. The two-year OS rates for patients with Glasgow prognostic score (GPS) = 0,

GPS = 1, and GPS = 2 were 89.6 %, 65.8 % and 36.4 % (*P* = 0.002) and EFS rates were 81.6 %, 63.2 %, and 36.4 %, respectively (*P* = 0.014). Patients with RDW>15 % (cut-off was calculated by receiver operating characteristics) had a significantly worse two-year OS (42.2 % *vs* 91.7 %, *P* < 0.001) and two-year EFS (42.9 % *vs* 83.3 %, *P* < 0.001). Cox regression analysis showed that RDW > 15 % was an independent prognostic factor for OS (hazard ratio [HR] 8.873, 95 % confidence interval [CI] 2.065-38.132, *P* = 0.003) and EFS (HR 5.755, 95 % CI 1.733-19.11, *P* = 0.004) while NLR values of > 2.63 were an independent prognostic factor only for EFS (HR 5.973, 95 % CI 1.832-19.481, *P* = 0.003)

Conclusion: Our research confirmed NLR as a useful independent prognostic marker for survival. PLR and GPS did not show an independent prognostic value. High baseline RDW is an independent prognostic marker of poor outcome in patients with DLBCL. RDW could be an easily available and inexpensive marker for the risk stratification in patients with B-LCL.

Key words: Lymphoma, Large B-Cell; prognosis; survival; inflammation-based prognostic scores; red cell distribution width

10. LITERATURA:

1. Hodgkin T. On some morbid appearances of the absorbent glands and spleen. Medico-Chirurgical Transactions, London, 1832; 17:68-114.

2. Louis Rosenfeld. Thomas Hodgkin : Morbid Anatomist & Social Activist. Madison Books, Lanaham; 1993.

3. Jakić-Razumović J, Aurer I. The World Health Organization Classification of lymphomas. Croat Med J. 2002; 43:527-534.

4. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R i sur. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms.Blood. 2016. 19;127(20):2375-90.

5. Morton LM, Wang SS, Devesa SS, Hartge P, Weisenburger DD, Linet MS Lymphoma incidence patterns by WHO subtype in the United States, 1992-2001.Blood. 2006;107(1):265.

6. Van Leeuwen MT, Turner JJ, Joske DJ, Falster MO, Srasuebkul P, Meagher NS i sur. Lymphoid neoplasm incidence by WHO subtype in Australia 1982-2006.Int J Cancer. 2014;135(9):2146-56.

7. Smith A, Howell D, Patmore R, Jack A, Roman E. Incidence of haematological malignancy by sub-type: a report from the Haematological Malignancy Research Network. Br J Cancer. 2011;105(11):1684-92.

8. Sant M, Allemani C, Tereanu C, De Angelis R, Capocaccia R, Visser O i sur. HAEMACARE Working Group. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project. Blood. 2010;116(19):3724.

9. Shenoy PJ, Malik N, Nooka A, Sinha R, Ward KC, Brawley OW i sur. Racial differences in the presentation and outcomes of diffuse large B-cell lymphoma in the United States. Cancer. 2011;117(11):2530.

10. Incidencija raka u Hrvatskoj 2011, Bilten br. 36. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Zagreb; 2013.

11. Labar B, Hauptmann E, ur. Hematologija. Školska knjiga, Zagreb; 2007.

12. Armitage JO, Weisenburger DD. New approach to classifying non-Hodgkin's lymphomas: clinical features of the major histologic subtypes. Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. J Clin Oncol. 1998;16(8):2780.

13. A clinical evaluation of the International Lymphoma Study Group classification of non-Hodgkin's lymphoma. The Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. Blood. 1997;89(11):3909.

14. Sehn LH, Scott DW, Chhanabhai M, Berry B, Ruskova A, Berkahn L i sur. Impact of concordant and discordant bone marrow involvement on outcome in diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. J Clin Oncol. 2011;29(11):1452.

15. Møller MB, Pedersen NT, Christensen BE. Diffuse large B-cell lymphoma: clinical implications of extranodal versus nodal presentation--a population-based study of 1575 cases. Br J Haematol. 2004;124(2):151.

16. Stein H, Lennert K, Feller AC, Mason DY. Immunohistological analysis of human lymphoma: correlation of histological and immunological categories. Adv Cancer Res. 1984;42:67.

17. Doggett RS, Wood GS, Horning S, Levy R, Dorfman RF, Bindl J i sur. The immunologic characterization of 95 nodal and extranodal diffuse large cell lymphomas in 89 patients. Am J Pathol. 1984;115(2):245.

18. Katzenberger T, Lohr A, Schwarz S, Dreyling M, Schoof J, Nickenig C i sur. Genetic analysis of de novo CD5+ diffuse large B-cell lymphomas suggests an origin from a somatically mutated CD5+ progenitor B cell. Blood. 2003;101(2):699.

19. Hu S, Xu-Monette ZY, Balasubramanyam A, Manyam GC, Visco C, Tzankov A i sur. CD30 expression defines a novel subgroup of diffuse large B-cell lymphoma with favorable prognosis and distinct gene expression signature: a report from the International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study. Blood. 2013;121(14):2715-24.

20. Yamaguchi M, Seto M, Okamoto M, Ichinohasama R, Nakamura N, Yoshino T i sur. De novo CD5+ diffuse large B-cell lymphoma: a clinicopathologic study of 109 patients. Blood. 2002;99(3):815.

21. Gascoyne RD, Adomat SA, Krajewski S, Krajewska M, Horsman DE, Tolcher AW i sur. Prognostic significance of Bcl-2 protein expression and Bcl-2 gene rearrangement in diffuse aggressive non-Hodgkin's lymphoma. Blood. 1997;90(1):244.

22. Kramer MH, Hermans J, Parker J, Krol AD, Kluin-Nelemans JC, Haak HL i sur. Clinical significance of bcl2 and p53 protein expression in diffuse large B-cell lymphoma: a population-based study. J Clin Oncol. 1996;14(7):2131.

23. Sanchez E, Chacon I, Plaza MM, Muñoz E, Cruz MA, Martinez B i sur. Clinical outcome in diffuse large B-cell lymphoma is dependent on the relationship between different cell-cycle regulator proteins. J Clin Oncol. 1998;16(5):1931.

24. Skinnider BF, Horsman DE, Dupuis B, Gascoyne RD. Bcl-6 and Bcl-2 protein expression in diffuse large B-cell lymphoma and follicular lymphoma: correlation with 3q27 and 18q21 chromosomal abnormalities. Hum Pathol. 1999;30(7):803.

25. De Leval L, Ferry JA, Falini B, Shipp M, Harris NL. Expression of bcl-6 and CD10 in primary mediastinal large B-cell lymphoma: evidence for derivation from germinal center B cells? Am J Surg Pathol. 2001;25(10):1277.

26. Colomo L, López-Guillermo A, Perales M, Rives S, Martínez A, Bosch F i sur. Clinical impact of the differentiation profile assessed by immunophenotyping in patients with diffuse large B-cell lymphoma. Blood. 2003;101(1):78.

27. Feugier P, Van Hoof A, Sebban C, Solal-Celigny P, Bouabdallah R, Ferme C i sur. Long-term results of the R-CHOP study in the treatment of elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma: a study by the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. J Clin Oncol. 2005; 23:4117-26.

28. Pfreundschuh M, Trumper L, Osterborg A, Rettengell R, Trneny M, Imrie K i sur. CHOP-like chemotherapy plus rituximab versus CHOP-like chemotherapy alone in young patients with good-prognosis diffuse large-B cell lymphoma: a randomized controlled trial by the MabThera International Trial (MInT) Group. Lancet Oncol. 2006;7:379-91.

29. Coiffier B,Gisselbrecht C, Bosly A, Herbrecht R,Bouabdallah R,Morel P i sur. 10 years follow-up of the GELA LNH98.5 study, first randomized study comparing R-CHOP to CHOP chemotherapy in patients with diffuse large B-cell lymphoma. Blood (ASH Annual Meeting Abstracts). 2009;114(22):374.

30. Friedberg JW.New strategies in diffuse large B-cell lymphoma:translating findings from gene expression analyses into clinical practice.Clin Cancer Res. 2011;17(19): 6112–17.

31. Shipp MA i sur. on behalf of The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. N Engl J Med. 1993;329:987-94.

32. Sehn LH, Berry B, Chhanabhai M, Fitzgerald C, Gill K, Hoskins P i sur.The revised International Prognostic Index (R-IPI) is a better predictor of outcome than the standard IPI for patients with diffuse large B-celllymphoma treated with R-CHOP. Blood. 2007;109(5):1857–61.

33. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, Ma C, Lossos IS, Rosenwald A i sur. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. Nature. 2000; 403:503-11.

34. Rosenwald A, Wright G, Chan WC, Connors JM, Campo E, Fisher RI i sur. Lymphoma/Leukemia Molecular Profiling Project. The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for large B-cell lymphoma. New Eng J Med. 2002; 346:1937-47.

35. Shipp MA, Ross KN, Tamayo P, Weng AP, Kutok JL, Aguiar RC i sur. Diffuse large B-cell lymphoma outcome prediction by gene-expression profiling and supervised machine learning. Nat Med. 2002;8(1):68-74.

36. Rosenwald A, Staudt LM**.** Gene expression profiling of diffuse large B-cell lymphoma. Leuk Lymphoma. 2003;44 Suppl 3:S41-7.

37. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, Gascoyne RD, Delabie J, Ott G i sur. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. Blood. 2004;103:275-82.

38. Chang CC, McClintock S, Clevelend RP, Trzpuc T, Vesole DH, Logan B i sur. Immunohistochemical expression patterns of germinal center and activation B-cell markers correlate with prognosis in diffuse large B-cell lymphoma. Am J Surg Pathol. 2004; 28:464-70.

39. Muris JJ, Meijer CJ, Vos W, van Krieken JH, Jiwa NM, Ossenkoppele GJ i sur. Immunohistochemical profiling based on bcl-2, CD10 and MUM1 expression improves risk stratification in patients with primary nodal diffuse large B-cell lymphoma. J Pathol. 2006; 208:714-23.

40. Berglund M, Thunberg U, Amini RM, Book M, Roos G, Erlanson M i sur. Evaluation of immunophenotype in diffuse large B-cell lymphoma and its impact on prognosis. Mod Pathol. 2005;18:1113-20.

41. Alacacioglu I, Ozcan MA, Ozkal S, Piskin O, Turgut N, Demirkan F i sur. Prognostic significance of immunohistocemical classification of diffuse large B-cell lymphoma. Hematology. 2009;14(2):84-9.

42. Ilić I, Mitrović Z. Aurer I, Basić-Kinda S, Radman I, Ajduković R i sur. Lack of prognostic significance of the germinal-center phenotype in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with CHOP-like chemotherapy with and without rituximab. Int J Hematol. 2009;90(1):74-80.

43. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. Nature. 2008;454:436-44

44. Coussens LM, Werb Z.Inflammation and cancer. Nature. 2002;420: 860–67.

45. Esper DH, Harb WA.The cancer cachexia syndrome: a review of metabolic and clinical manifestations.Nutr Clin Pract. 2005;20:369–76.

46. Moore MM, Chua W, Charles KA, Clarke SJ.Inflammation and cancer: causes and consequences. Clin Pharmacol Ther. 2010;87:504–8.

47. Cao Y, Shi YX, Chen JO, Tan YT, Cai YC, Luo HY i sur.Serum C- reactive protein as an important prognostic variablein patients with diffuse large B cell lymphoma.Tumour Biol. 2012;33(4):1039–44.

48. Mohri Y, Tanaka K, Ohi M, Yokoe T, Miki C, Kusunoki M. Prognostic significance of host- and tumor-related factors in patients with gastric cancer.World J Surg. 2010;34(2):285–90.

49. Cox MC, Nofroni I, Laverde G, Ferrari A, Amodeo R, Tatarelli C i sur. Absolute lymphocyte count is a prognostic factor for diffuse large B-cell lymphoma. Br J Haematol. 2008;191:265–68.

50. Cox MC, Nofroni I, Ruco L, Amodeo R, Ferrari A, La Verde G i sur. Low absolute lymphocyte count is a poor prognostic factor in diffuse large B-cell lymphoma. Leuk Lymph. 2008;49:745–51.

51. Oki Y, Yamamoto K, Kato H, Kuwatsuka Y, Taji H, Kagami Yi sur.Low absolute lymphocyte count is a poor prognostic marker in patients with diffuse large B-cell lymphoma and suggests patients survival benefit from rituximab.Eur J Haemato. 2008;81:448–53.

52. Kim DH, Baek JH, Chae YS, Kim YK, Kim HJ, Park YH i sur. Absolute lymphocyte count predicts response to chemotherapy and survival in diffuse large B-cell lymphoma. Leukemia. 2007;21:2227–30.

53. Porrata LF, Ristow K, Habermann TM, Witzig TE, Inwards DJ, Markovic SN.Absolute lymphocyte count at the time of first relapse predicts survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma. Am J Hematol. 2009;84:93–7.

54. De Martino M, Pantuck AJ, Hofbauer S, Waldert M, Shariat SF, Belldegrun AS i sur. Prognostic impact of preoperative neutrophil-to-lymphocyte ratio in localized nonclear cell renal cell carcinoma. J Urol. 2013;190(6):1999-2004.

55. Walsh SR, Cook EJ, Goulder F, Justin TA, Keeling NJ.Neutrophil lymphocyte ratio as a prognostic factor in colorectal cancer. J Surg oncol. 2005;91(3):181–84.

56. Yamanaka T, Matsumoto S, Teramukai S, Ishiwata R, Nagai Y, Fukushima M.The baseline ratio of neutrophils to lymphocytes is associated with patient prognosis in advanced gastric cancer.Oncology. 2007;73:215–20.

57. Zhang DS, Wang DS, Wang ZQ, Wang FH, Luo HY, Qiu MZ i sur.Comparison of the prognostic values of various inflammation based factors in patients with pancreatic cancer. Med Oncol. 2012;29(5):3092–100.

58. Szkandera J, Absenger G, Liegl-Atzwanger B, Pichler M, Stotz M, Samonigg H i sur. Elevated preoperative neutrophil/lymphocyte ratio is associated with poor prognosis in soft-tissue sarcoma patients. Br J Cancer. 2013;108(8):1677–83.

59. Porrata LF, Ristow K, Habermann T, Inwards DJ, Micallef IN, Markovic SN.Predicting survival for diffuse large B-cell lymphoma patients using baseline neutrophil/lymphocyte ratio. Am J Hematol. 2010;85(11):896–99.

60. Smith RA, Bosonnet L, Raraty M, Sutton R, Neoptolemos JP, Campbell F i sur. Preoperative platelet-lymphocyte ratio is an independent significant prognostic marker in resected pancreatic ductal adenocarcinoma.Am J Surg. 2009;197:466–72.

61. Asher V, Lee J, Innamaa A, Bali A. Preoperative platelet lymphocyte ratio as an independent prognostic marker in ovarian cancer. Clin Transl Oncol. 2011;13:499–503.

62. Wang DS, Ren C, Qiu MZ, Luo HY, Wang ZQ, Zhang DS i sur. Comparison of the prognostic value of various preoperative inflammation-based factors in patients with stage III gastric cancer. Tumour Biol. 2012;33:749–56.

63. Liu H, Wu Y, Wang Z, Yao Y, Chen F, Zhang H i sur. Pretreatment platelet-to-lymphocyte ratio (PLR) as a predictor of response to first-line platinum-based chemotherapy and prognosis for patients with non-small cell lung cancer J Thorac Dis. 2013;5(6):783–89.

64. Unal D, Eroglu C, Kurtul N, Oguz A, Tasdemir A. Are neutrophil/lymphocyte and platelet/lymphocyte rates in patients with non-small cell lung cancer associated with treatment response and prognosis. Asian Pac J Cancer Prev. 2013;14(9):5237-42.

65. Forrest LM, McMillan DC, McArdle CS, Angerson WJ, Dunlop DJ. Evaluation of cumulative prognostic scores based on the systemic inflammatory response in patients with inoperable non-small-cell lung cancer. Br J Cancer. 2003;89:102.

66. McMillan DC. The systemic inflammation-based Glasgow Prognostic Score: a decade of experience in patients with cancer.Cancer Treat Rev. 2013;39(5):534-40.

67. McMillan DC, Crozier JE, Canna K, Angerson WJ, McArdle CS. Evaluation of an inflammation-based prognostic score (GPS) in patients undergoing resection for colon and rectal cancer. Int J Colorectal Dis. 2007;22(8):881–86.

68. Ishizuka M, Nagata H, Takagi K, Horie T, Kubota K. Inflammation-based prognostic score is a novel predictor of postoperative outcome in patients with colorectal cancer. Ann Surg. 2007;246(6):1047–51.

69. Forrest LM, McMillan DC, McArdle CS, Angerson WJ, Dunlop DJ. Comparison of an inflammation-based prognostic score (GPS) with performance status (ECOG) in patients receiving platinum-based chemotherapy for inoperable non-small-cell lung cancer. Br J Cancer. 2004;90(9):1704–06.

70. Kobayashi T, Teruya M, Kishiki T, Endo D, Takenaka Y, Tanaka H i sur. Inflammation-based prognostic score, prior to neoadjuvant chemoradiotherapy, predicts postoperative outcome in patients with esophageal squamous cell carcinoma.Surgery. 2008;144(5):729–35.

71. Crumley AB, McMillan DC, McKernan M, McDonald AC, Stuart RC. Evaluation of an inflammation-based prognostic score in patients with inoperable gastro-oesophageal cancer. Br J Cancer. 2006;94(5):637–41.

72. Glen P, Jamieson NB, McMillan DC, Carter R, Imrie CW, McKay CJ. Evaluation of an inflammation-based prognostic score in patients with inoperable pancreatic cancer. Pancreatology. 2006;6(5):450–53.

73. Ishizuka M, Kubota K, Kita J, Shimoda M, Kato M, Sawada T. Impact of an inflammation-based prognostic system on patients undergoing surgery for hepatocellular carcinoma: a retrospective study of 398 Japanese patients. Am J Surg. 2012;203:101–106.

74. Kinoshita A ,Onoda H, Imai N, Iwaku A, Oishi M, Tanaka K i sur. The Glasgow Prognostic Score, an inflammation based prognostic score, predicts survival in patients with hepatocellular carcinoma.BMC Cancer. 2013;13:52.

75. Li YJ, Jiang WQ, Huang JJ, Xia ZJ, Huang HQ, Li ZM. The Glasgow Prognostic Score (GPS) as a novel and significant predictor of extranodal natural killer/T-cell lymphoma, nasal type. Am J Hematol. 2013;88(5):394-9.

76. Li X, Zhang Y, Zhao W, Liu Z, Shen Y, Li J i sur. The Glasgow Prognostic Score as a significant predictor of diffuse large B cell lymphoma treated with R-CHOP in China. Annals of hematology. 2015;94(1):57-63.

77. Van Kimmenade RR, Mohammed AA, Uthamalingam S, van der Meer P, Felker GM, Januzzi JL Jr. Red blood cell distribution width and 1-year mortality in acute heart failure. Eur J Heart Fail. 2010;12:129-36.

78. Evans TC, Jehle D. The red blood cell distribution width. J Emerg Med. 1991;9:71–4.

79. Patel KV, Ferrucci L, Ershler WB, Longo DL, Guralnik JM.Red blood cell distribution width and the risk of death in middle-aged and older adults. Arch Intern Med. 2009;169:515-23.

80. Patel KV, Semba RD, Ferrucci L, Newman AB, Fried LP,Wallace RB i sur.Red cell distribution width and mortality in older adults: a meta-analysis. J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2010;65:258-65.

81. Förhécz Z, Gombos T, Borgulya G, Pozsonyi Z, Prohászka Z, Jánoskuti L.Red cell distribution width in heart failure: prediction of clinical events and relationship with markers of ineffective erythropoiesis, inflammation, renal function, and nutritional state. Am Heart J. 2009;158:659-66.

82. Felker GM, Allen LA, Pocock SJ, Shaw LK, McMurray JJ, Pfeffer MA i sur.Red cell distribution width as a novel prognostic marker in heart failure: data from the CHARM Program and the Duke Databank. J Am Coll Cardiol. 2007;50:40-7.

83. Jo YH, Kim K, Lee JH, Kang C, Kim T, Park HM i sur. Red cell distribution width is a prognostic factor in severe sepsis and septic shock. Am J Emerg Med. 2013;31:545-48.

84. Oh HJ, Park JT, Kim JK, Yoo DE, Kim SJ, Han SH i sur. Red blood cell distribution width is an independent predictor of mortality in acute kidney injury patients treated with continuous renal replacement therapy.Nephrol Dial Transplant. 2012 ;27(2):589-94.

85. Seyhan EC, Ozgül MA, Tutar N, Omür I, Uysal A, Altin S. Red Blood Cell Distribution and Survival in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. COPD. 2013; 10(4):416-24.

86. Lou Y, Wang M, Mao W.Clinical usefulness of measuring red blood cell distribution width in patients with hepatitis B. PLOS. 2012;7:e37644.

87. Sičaja M, Pehar M, Đerek L, Starčević B, Vuletić V, Romić Ž i sur. Red blood cell distribution width as a prognostic marker of mortality in patients on chronic dialysis: a single center, prospective longitudinal study.Croat Med J. 2013;54(1):25–32.

88. Seretis C, Seretis F, Lagoudianakis E, Gemenetzis G, Salemis NS. Is red cell distribution width a novel biomarker of breast cancer activity? Data from a pilot study. Clin Med Res. 2013;5:121-26.

89. Beyazit Y, Kekilli M, Ibis M, Kurt M, Sayilir A Onal IK i sur.Can red cell distribution width help to discriminate benign from malignant biliary obstruction? A retrospective single center analysis. Hepatogastroenterology. 2012; 59:1469–73.

90. Baicus C, Caraiola S, Rimbas M, Patrascu R, Baicus A.Utility of routine hematological and inflammation parameters for the diagnosis of cancer in involuntary weight loss. J Investig Med. 2011; 59: 951–55.

91. Ozkalemkas F, Ali R, Ozkocaman V, Ozcelik T, Ozan U,Ozturk H i sur.The bone marrow aspirate and biopsy in the diagnosis of unsuspected nonhematologic malignancy: a clinical study of 19 cases. BMC Cancer. 2005;5:144.

92. Spell DW, Jones DV Jr, Harper WF, David Bessman J .The value of a complete blood count in predicting cancer of the colon. Cancer Detect Prev. 2004;28:37–42.

93. Koma Y, Onishi A, Matsuoka H, Oda N, Yokota N, Matsumoto Y i sur. Increased red blood cell distribution width associates with cancer stage and prognosis in patients with lung cancer. PLoS One. 2013;8(11):e80240.

94. Abakay O, Tanrikulu AC, Palanci Y, Abakay A.The value of inflammatory parameters in the prognosis of malignant mesothelioma. J Int Med Res. 2014;42(2):554-65.

95. Hyewon L, Sun-Yong K, Ji Yeon S, Hyoeun S, Hye Sun Y, Sangeun L i sur. Elevated Red blood cell distribution width as a simple prognostic factor in patients with symptomatic multiple myeloma. BioMed Res Int. 2014;2014: 145619

96. Albayrak S, Zengin K, Tanik S, Bakirtas H, Imamoglu A, Gurdal M. Red cell distribution width as a predictor of prostate cancer progression. Asian Pac J Cancer Prev. 2014;15(18):7781-4.

97. Douglas SW, Adamson JW .The anemia of chronic disorders: studies of marrow regulation and iron metabolism. Blood. 1975;45:55-65.

98. Ferrucci L, Guralnik JM, Woodman RC, Bandinelli S, Lauretani F Corsi AM i sur. Proinflammatory state and circulating erythropoietin in persons with and without anemia. Am J Med. 2005;118:1288.

99. Cheson B, Pfistner B, Juweid M, Gascoyne R, Specht L, Horning S i sur. International Harmonization Project on Lymphoma. Revised response criteria for malignant lymphoma. Journal of Clinical Oncology. 2007;25(5):579-86.

100. Nyman H, Adde M, Karjalainen-Lindsberg ML, Taskinen M, Berglund M, Amini RM i sur. Prognostic impact of immunohistochemically defined germinal center phenotype in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with immunochemotherapy. Blood. 2007; 109:4930-5.

101. Fu K, Weisenburger DD, Choi WW, Perry KD, Smith LM, Shi X i sur. Addition of rituximab to standard chemotherapy improves the survival of both the germinal center B-cell-like and non-germinal center B-cell-like subtypes of diffuse large B-cell lymphoma. J Clin Oncol. 2008; 26:4587-94.

102. Szkandera J, Pichler M, Gerger A, Leithner A. Reply: comment on 'Elevated preoperative neutrophil/lymphocyte ratio is associated with poor prognosis in soft-tissue sarcoma patients. Br J Cancer. 2013; 108(12): 2627.

103. Buyukkaya E, Karakas MF, Karakas E, Akçay AB, Kurt M, Tanboga IH i sur. Correlation of neutrophil to lymphocyte ratio with the presence and severity of metabolic syndrome. Clin Appl Thromb Hemost. 2014;20(2):159-63.

104. Kaya H, Ertas F, Islamoglu Y, Kaya Z, Atilgan ZA, Cil H i sur. Association between neutrophil to lymphocyte ratio and severity of coronary artery disease.Clin Appl Thromb Hemost; 2014;20(2):221.

105. Lee GK, Lee LC, Chong E, Lee CH, Teo SG, Chia BL i sur. The long-term predictive value of the neutrophil-to-lymphocyte ratio in Type 2 diabetic patients presenting with acute myocardial infarction. QJM. 2012;105: 1075-1082.

106. Okyay GU, Inal S, Oneç K, Er RE, Paşaoğlu O, Paşaoğlu H i sur. Neutrophil to lymphocyte ratio in evaluation of inflammation in patients with chronic kidney disease. Ren Fail. 2013;35: 29-36.

107. Demir M. The Relationship Between Neutrophil Lymphocyte Ratio and Non-dipper Hypertension. Clin Exp Hypertens. 2013;35(8):570-3.

108. Shimada H, Takiguchi N, Kainuma O, Soda H, Ikeda A, Cho A i sur. High preoperative neutrophil-lymphocyte ratio predicts poor survival in patients with gastric cancer. Gastric Cancer. 2010;13(3):170-6.

109. Zhou X, Du Y, Huang Z, Xu J, Qiu T, Wang J i sur. Prognostic value of PLR in various cancers: a meta-analysis. PLoS One. 2014;9(6):e101119

110. Azab B, Shah N, Radbel J, Tan P, Bhatt V, Vonfrolio S i sur.Pretreatment neutrophil/lymphocyte ratio is superior to platelet/lymphocyte ratio as a predictor of long-term mortality in breast cancer patients. Medical Oncology. 2013;30 (1):432.

111. He W, Yin C, Guo G, Jiang C, Wang F, Qui H i sur. Initial neutrophil lymphocyte ratio is superior to platelet lymphocyte ratio as an adverse prognostic and predictive factor in metastatic colorectal cancer. Medical Oncology. 2013;30(1):439.

112. Zhang T, Jiang Y, Qu X, Shen H, Liu Q, Du J.Evaluation of Preoperative Hematologic Markers as Prognostic Factors and Establishment of Novel Risk Stratification in Resected pN0 Non-Small-Cell Lung Cancer. PLoS One. 2014;31;9(10)

113. Lippi G, Targher G, Montagnana M, Salvagno GL, Zoppini G, Guidi GC. Relation between red blood cell distribution width and inflammatory biomarkers in a large cohort of unselected outpatients. Arch Pathol Lab Med. 2009;133:628–32.

114. Tekce H, Tekce B, Aktos G, Tarisev M, Sit M. The evaluation of red cell distribution width in chronic hemodialysis patients. Int J Nephrol. 2014 doi: 10.1155/2014/754370.

115. Weiss G, Goodnough LT. Anemia of chronic disease. The New England journal of medicine. 2005;352(10):1011-23.

116. De Gonzalo-Calvo D, de Luxan-Delgado B, Rodriguez-Gonzalez S, Garcia-Macia M, Suarez FM, Solano JJ i sur. Interleukin 6, soluble tumor necrosis factor receptor I and red blood cell distribution width as biological markers of functional dependence in an elderly population: a translational approach. Cytokine. 2012;58(2):193-8.

117. Ho SY, Guo HK, Chen HH, Peng CJ. Nutruitional predictors of survival in terminally ill cancer patients. J Formos Med Assoc. 2003;102:544–50.

118. Gibbs J, Cull W, Henderson W, Daley J, Hur K, Khuri SF. Preoperative serum albumin as a predictor of operative mortality and morbidity: results from the National VA Surgical Risk Study. Arch Surg. 1999;134:36–42.

11. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 4. veljače 1982. godine u Osijeku. Završila sam Osnovnu školu „Grigor Vitez“, potom III. gimnaziju (Prirodoslovno-matematičku) i Medicinski fakultet u Osijeku. Godine 2006. sam među 10 % najuspješnijih studenata u svojoj generaciji. Iste sam godine dobila rektorovu nagradu. Od 2007. do 2011. godine specijalizant sam interne medicine pri Klinici za unutarnje bolesti KBC-a Osijek, a od 2011. specijalist interne medicine na Odjelu za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti KBC-a Osijek. Od 2016. godine sam subspecijalist hematolog. Redovni sam član Krohema (Hrvatskog društva hematologa) od 2011. godine.
Poslijediplomski doktorski studij Biomedicina i zdravstvo Medicinskog fakulteta u Osijeku upisala sam 2007. godine. Od 2014. godine naslovni sam asistent na Katedri za Patofiziologiju Medicinskog fakulteta u Osijeku. Udana sam i majka dvoje djece.