

Grażyna Kasprzak

Ocena wybranych wskaźników zapalnych morfologii krwi u chorych na nowotwory złośliwe

Rozprawa na stopień naukowy doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne

Promotor: dr hab. n. med. Ewa Wysocka

Katedra i Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej



Kolegium Nauk Medycznych
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Poznań, 2022

Tytuł angielski: Assessment of selected inflammatory indices derived from complete blood count in patients with malignant neoplasms

Słowa kluczowe: neutrocyty, limfocyty, monocyty, płytki krwi, rak piersi, rak jelita grubego

Key words: neutrocytes, lymphocytes, monocytes, platelets, breast cancer, colorectal cancer

Projekt badawczy został sfinansowany z funduszy statutowych Katedry i Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

*Serdecznie dziękuję mojej Promotor
Pani dr hab. n. med. Ewie Wysockiej
za nieocenioną pomoc merytoryczną,
poświęcony czas oraz ogromną życzliwość
podczas realizacji niniejszej pracy*

*Dziękuję moim Najbliższym
za cierpliwość, zrozumienie
i wsparcie podczas pracy naukowej*

Spis treści

Spis rycin.....	8
Spis tabel.....	9
Wykaz skrótów	11
1.1. Stan zapalny	15
1.2. Komórki krwi.....	18
1.3. Badanie morfologii krwi	25
1.4. Leukocyty i trombocyty w chorobie nowotworowej	27
1.5. Zachorowalność i umieralność na nowotwory złośliwe	28
1.6. Kancerogeneza	31
1.7. Interakcje komórek nowotworowych z mikrośrodowiskiem	31
1.8. Diagnostyka chorób nowotworowych.....	33
1.9. Rak piersi	34
1.10. Rak jelita grubego	38
1.11. Rola badań laboratoryjnych w diagnostyce nowotworów	40
2. Założenia i cel pracy	44
3. Materiał i metody	45
3.1. Populacja badana.....	45
3.2. Metody badawcze	46
3.2.1. Metodyka badania morfologii krwi.....	47
3.2.2. Metodyki oznaczeń parametrów biochemiczno-immunochemicznych	51
3.2.3. Analiza statystyczna.....	55
4. Wyniki.....	57
4.1. Ocena populacji porównawczej z uwzględnieniem płci	57
4.1.1. Charakterystyka opisowa populacji porównawczej, z uwzględnieniem płci	57
4.1.2. Porównanie krwinkowych wskaźników zapalnych w grupie kobiet i mężczyzn populacji porównawczej.....	59
4.1.3. Analiza korelacji wskaźników NLR, MLR i PLR w całej populacji porównawczej oraz z uwzględnieniem płci.....	59
4.2. Ocena populacji chorych na raka piersi	61
4.2.1. Porównanie między pacjentkami z rakiem piersi i grupą porównawczą kobiet	61
4.2.2. Analiza korelacji wskaźników NLR, MLR i PLR w grupie pacjentek z rakiem piersi	63
4.3. Ocena populacji chorych na raka jelita grubego	64
4.3.1. Charakterystyka pacjentów chorych na raka jelita grubego oraz porównanie między kobietami i mężczyznami.....	64
4.3.2. Analiza korelacji wskaźników NLR, MLR, PLR w grupie pacjentów z rakiem jelita grubego, z uwzględnieniem płci	66

4.3.3. Porównanie między pacjentami z rakiem jelita grubego i całą populacją porównawczą	67
4.3.4. Porównanie między pacjentami z rakiem jelita grubego i grupą porównawczą dostosowaną z uwagi na wiek	68
4.3.5. Porównanie między grupą mężczyzn z rakiem jelita grubego i grupą porównawczą mężczyzn dostosowaną z uwagi na wiek	70
4.3.6. Porównanie między grupą kobiet z rakiem jelita grubego i grupą porównawczą kobiet dostosowaną z uwagi na wiek	71
4.3.7. Analiza korelacji wskaźników NLR, MLR, PLR w populacji porównawczej dostosowanej z uwagi na wiek, z uwzględnieniem płci	72
4.4. Porównanie krwinkowych wskaźników zapalnych między badanymi grupami	73
4.4.1. Analiza porównawcza NLR, MLR, PLR między: grupą porównawczą, pacjentkami z rakiem piersi i wszystkimi pacjentami z rakiem jelita grubego	73
4.4.2. Analiza porównawcza NLR, MLR, PLR między grupami kobiet: porównawczą, z rakiem piersi i rakiem jelita grubego	74
4.4.3. Analiza porównawcza NLR, MLR, PLR u kobiet z rakiem piersi w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego TNM	76
4.4.4. Analiza porównawcza NLR, MLR, PLR u wszystkich pacjentów z rakiem jelita grubego w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego TNM	78
4.4.5. Analiza porównawcza NLR, MLR, PLR między: pacjentami z rakiem jelita grubego i grupą porównawczą dostosowaną z uwagi na wiek	79
4.4.6. Analiza porównawcza NLR, MLR, PLR między mężczyznami chorymi na raka jelita grubego i grupą porównawczą mężczyzn dostosowaną z uwagi na wiek	80
4.4.7. Analiza porównawcza NLR, MLR, PLR u kobiet, między kobietami chorymi na raka jelita grubego i grupą porównawczą kobiet dostosowaną z uwagi na wiek	81
4.5. Analiza krzywych ROC dla krwinkowych wskaźników zapalnych	82
4.5.1. Znaczenie diagnostyczne NLR, MLR, PLR u chorych na raka piersi	82
4.5.2. Znaczenie diagnostyczne NLR, MLR, PLR u chorych z rakiem jelita grubego	85
4.5.3. Znaczenie diagnostyczne NLR, MLR, PLR u pacjentów z nowotworem złośliwym, z uwzględnieniem płci	88
4.6. Podsumowanie wyników	93
5. Dyskusja	95
6. Wnioski	105
7. Streszczenie	106
8. Summary	108
9. Bibliografia	110
10. Opinia Komisji Bioetycznej	118

Spis rycin

Rycina 1. Struktura zachorowań mężczyzn na nowotwory złośliwe w Polsce w 2019 roku.....	30
Rycina 2. Struktura zgonów mężczyzn na nowotwory złośliwe w Polsce w 2019 roku	30
Rycina 3. Struktura zachorowań kobiet na nowotwory złośliwe w Polsce w 2019 roku.....	30
Rycina 4. Struktura zgonów kobiet na nowotwory złośliwe w Polsce w 2019 roku	30
Rycina 5. Cytogram leukocytów w kanale „Baso”	48
Rycina 6. Cytogram leukocytów w kanale „Perox”	49
Rycina 7. Analiza porównawcza cytogramów „Perox” (A) z „Baso” (B).....	50
Rycina 8. Porównanie NLR, MLR, PLR między: grupą porównawczą, pacjentkami z rakiem piersi i pacjentami z rakiem jelita grubego	74
Rycina 9. Porównanie NLR, MLR, PLR między grupami kobiet: porównawczą, z rakiem piersi i rakiem jelita grubego	75
Rycina 10. Porównanie Lym, HGB, HCT i MCH u kobiet z rakiem piersi, w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego TNM.....	76
Rycina 11. Porównanie CA 15-3 u kobiet z rakiem piersi, w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego TNM.	77
Rycina 12. Porównanie NLR, MLR, PLR u kobiet z rakiem piersi, w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego TNM.	78
Rycina 13. Porównanie NLR, MLR, PLR u wszystkich pacjentów z rakiem jelita grubego, w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego TNM.	79
Rycina 14. Porównanie NLR, MLR, PLR między: grupą porównawczą dostosowaną z uwagi na wiek i pacjentami z rakiem jelita grubego.	80
Rycina 15. Porównanie NLR, MLR, PLR między mężczyznami chorymi na raka jelita grubego i grupą porównawczą mężczyzn dostosowaną z uwagi na wiek.....	81
Rycina 16. Porównanie NLR, MLR, PLR między kobietami chorymi na raka jelita grubego i grupą porównawczą kobiet dostosowaną z uwagi na wiek.....	82
Rycina 17. Porównanie atrybutów analizy ROC dla różnicowania grupy porównawczej kobiet i pacjentek z rakiem piersi.....	83
Rycina 18. Porównanie atrybutów analizy ROC dla różnicowania grupy porównawczej i chorych z rakiem jelita grubego.....	85
Rycina 19. Porównanie krzywych ROC w różnicowaniu wszystkich pacjentów z chorobą nowotworową i grupy porównawczej.	88
Rycina 20. Porównanie krzywych ROC w różnicowaniu pacjentek z chorobą nowotworową i kobiet z grupy porównawczej.	89
Rycina 21. Porównanie krzywych ROC w różnicowaniu mężczyzn z chorobą nowotworową i mężczyzn z grupy porównawczej.	90

Spis tabel

Tabela 1. Wybrane mediatory trombocytarne w odpowiedzi immunologicznej	24
Tabela 2. Wartości referencyjne dla morfologii krwi u dorosłych kobiet i mężczyzn	25
Tabela 3. Przyczyny zaburzeń ilościowych neutrocytów, limfocytów, monocytów, eozynocytów, bazocytów	26
Tabela 4. Przyczyny zaburzeń ilościowych płytek krwi.	27
Tabela 5. Klasyfikacja histologiczna raka piersi.....	34
Tabela 6. Podział molekularny podtypów raka piersi.	35
Tabela 7. Klasyfikacja pTNM raka piersi	36
Tabela 8. Klasyfikacja stopnia zaawansowania raka piersi wg klasyfikacji TNM	37
Tabela 9. Klasyfikacja pTNM raka jelita grubego.....	39
Tabela 10. Stopnie zaawansowania wg TNM- rak jelita grubego.	40
Tabela 11. Przydatność kliniczna wybranych markerów nowotworowych w monitorowaniu choroby.....	41
Tabela 12. Zakresy wartości referencyjnych parametrów morfologii krwi z analizatora Advia 2120i	51
Tabela 13. Charakterystyka opisowa populacji porównawczej oraz porównanie między kobietami i mężczyznami.....	58
Tabela 14. Wskaźniki NLR, MLR, PLR w populacji porównawczej oraz porównanie grup kobiet i mężczyzn.....	59
Tabela 15. Korelacja wskaźników NLR, MLR, PLR z wykładnikami laboratoryjnymi w populacji porównawczej z uwzględnieniem płci.....	60
Tabela 16. Porównanie między grupą porównawczą kobiet i pacjentkami z rakiem piersi.....	62
Tabela 17. Korelacja wskaźników NLR, MLR, PLR z wykładnikami laboratoryjnymi w populacji porównawczej kobiet z kobietami z rakiem piersi.	64
Tabela 18. Charakterystyka opisowa populacji z rakiem jelita grubego i porównanie chorych kobiet i mężczyzn.....	65
Tabela 19. Korelacje wskaźników w grupie pacjentów z rakiem jelita grubego, z uwzględnieniem płci.	66
Tabela 20. Porównanie między całą populacją porównawczą i pacjentami z rakiem jelita grubego.....	68
Tabela 21. Porównanie między grupą chorych na raka jelita grubego i grupą porównawczą dostosowaną z uwagi na wiek	69
Tabela 22. Porównanie między grupą porównawczą mężczyzn dostosowaną z uwagi na wiek i grupą mężczyzn z rakiem jelita grubego.....	70

Tabela 23. Porównanie między grupą porównawczą kobiet dostosowaną z uwagi na wiek i grupą kobiet z rakiem jelita grubego.....	71
Tabela 24. Korelacje wskaźników w populacji porównawczej dostosowanej z uwagi na wiek, z uwzględnieniem płci.	72
Tabela 25. Podsumowanie wyników analizy krzywych ROC dla wskaźników NLR, MLR i PLR. Porównanie między badanymi podgrupami z uwzględnieniem stopnia zaawansowania klinicznego TNM u chorych na raka piersi.....	84
Tabela 26. Podsumowanie wyników analizy krzywych ROC dla wskaźników NLR, MLR i PLR dla badanych grup i podgrup z uwzględnieniem rozpoznania raka jelita grubego,	86
Tabela 27. Podsumowanie wyników analizy krzywych ROC dla wskaźników NLR, MLR i PLR. Porównanie między badanymi podgrupami z uwzględnieniem stopnia zaawansowania klinicznego TNM raka jelita grubego.	87
Tabela 28. Podsumowanie analizy krzywych ROC dla wskaźników NLR, MLR, PLR, w różnicowaniu grup i podgrup pacjentów onkologicznych i populacji porównawczej	91

Wykaz skrótów

ACD	niedokrwistość chorób przewlekłych (ang. <i>anemia of chronic diseases</i>)
ADP	adenozynodifosforan, (ang. <i>adenosine diphosphate</i>)
AFP	alfa-fetoproteina, (ang. <i>alfa-fetoprotein</i>)
AIDS	zespół nabytego niedoboru odporności, (ang. <i>acquired immunodeficiency syndrome</i>)
AJCC	Amerykański Komitet ds. Raka, (ang. <i>American Joint Committee on Cancer</i>)
APC	komórki prezentujące antygen, (ang. <i>antigen presenting cells</i>)
AUC	pole pod krzywą (ang. <i>area under curve</i>)
BASO	bazocyty
BFU-E	komórka tworząca duże kolonie linii erytrocytovej (ang. <i>burst forming unit-erythroid</i>)
β-HCG	podjednostka beta gonadotropiny kosmówkowej, (ang. <i>beta subunit of human chorionic gonadotrophin</i>)
CA 15.3	antygen 15.3, (ang. <i>cancer antigen 15.3</i>)
CA 19.9	antygen 19.9, (ang. <i>cancer antigen 19.9</i>)
CD	antygen różnicowania komórkowego, (ang. <i>cluster of differentiation</i>)
CEA	antygen karcynoembrionalny, (ang. <i>carcino-embryonic antigen</i>)
CI	przedział ufności (ang. <i>confidence interval</i>)
CRP	białko C-reaktywne, (ang. <i>C-reactive protein</i>)
CTLA-4	antygen typu 4. limfocytów cytotoksycznych, (ang. <i>cytotoxic T- lymphocyte-associated antigen-4</i>)
DC	komórki dendrytyczne, (ang. <i>dendritic cells</i>)
DCIS	przedinwazyjny przewodowy rak, (ang. <i>ductal carcinoma in situ</i>)
DNA	kwask deoksyrybonukleinowy, (ang. <i>deoxyribonucleic acid</i>)
ECP	eozynofilowe białko kationowe, (ang. <i>eosinophil cationic protein</i>)
ED	stadium choroby rozsianej, (ang. <i>extensive disease</i>)
EDN	neurotoksyna eozynofilowa, (ang. <i>eosinophil derived neurotoxin</i>)
EDTA-K2	sól dwupotasowa kwasu etylenodiaminotetraoctowego, (ang. <i>dipotassium ethylenediaminetetra acetic</i>).
EOS	eozynofile
EPO	eozynofilowa peroksydaza, (ang. <i>eosinophil peroxidase</i>)
ER	receptor estrogenowy, (ang. <i>estrogen receptor</i>)
FAP	rodzinna polipowatość gruczolakowata (ang. <i>familial adenomatous polyposis</i>)
FGF	czynnik wzrostu fibroblastów, (ang. <i>fibroblast growth factor</i>)
fIMP	formylowane peptydy bakteryjne
G-CSF	czynnik stymulujący rozwój kolonii granulocytarnych, (ang. <i>granulocyte colony stimulating factor</i>)
GLOBOCAN	(ang. <i>Global Cancer Observatory</i>)

GM-CS	czynnik stymulujący rozwój kolonii granulocytarno-makrofagowych, (ang. <i>granulocyte-macrophage colony stimulating factor</i>)
HCT	hematokryt
HDN	neutrocyty o wysokiej gęstości, (ang. <i>high density neutrophils</i>)
HE-4	nabłonkowopodobny antygen HE-4, (ang. <i>human epididymis protein 4</i>)
HER-2	receptor naskórkowego czynnika wzrostu typu 2, (ang. <i>human epidermal growth factor receptor type 2</i>)
HGB	hemoglobina
HIF-1	czynnik indukowany hipoksją-1, (ang. <i>hypoxia inducible factor-1</i>)
HIV	ludzki wirus niedoboru odporności, (ang. <i>human immunodeficiency virus</i>)
HNPCC	dziedziczny rak jelita grubego bez polipowatości, (ang. <i>hereditary nonpolyposis colorectal cancer</i>)
HSC	hematopoetyczna komórka macierzysta, (ang. <i>hematopoietic stem cell</i>)
IARC	Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem, (ang. <i>International Agency for Research on Cancer</i>)
ICAM	cząsteczka adhezji międzykomórkowej, (ang. <i>intercellular adhesion molecule</i>)
IFCC	Międzynarodowa Federacja Chemii Klinicznej i Medycyny Laboratoryjnej (ang. <i>International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine</i>)
IHC	immunohistochemia, (ang. <i>immunohistochemistry</i>)
IL-1	interleukina 1, (ang. <i>interleukin 1</i>)
IL-5	interleukina 5, (ang. <i>interleukin 5</i>)
IL-8	interleukina 8, (ang. <i>interleukin 8</i>)
IL-10	interleukina 10, (ang. <i>interleukin 10</i>)
IL-11	interleukina 11, (ang. <i>interleukin 11</i>)
IL-18	interleukina 18, (ang. <i>interleukin 18</i>)
INF- γ	interferon gamma, (ang. <i>interferon gamma</i>)
Ki 67	wskaźnik proliferacji
LD	stadium choroby ograniczonej, (ang. <i>limited disease</i>)
LDH	dehydrogenaza mleczanowa
LDN	neutrocyty o małej gęstości, (ang. <i>low density neutrophils</i>)
LCIS	przedinwazyjny zrazikowy rak, (ang. <i>lobular carcinoma in situ</i>)
LPS	lipopolisacharyd bakteryjny
LTC4	leukotrien C4
LYM	limfocyty
MAMPs	wzorce molekularne związane z mikroorganizmami, (ang. <i>microbial-associated molecular patterns</i>)
MBP	główne białko zasadowe, (ang. <i>major basic protein</i>)
MCH	średnia masa hemoglobiny w erytrocycie
MCHC	średnie stężenie hemoglobiny w erytrocycie
MCV	średnia objętość erytrocytu

M-CSF	czynnik stymulujący rozwój kolonii makrofagowych (ang. <i>macrophage colony stimulating factor</i>)
MDSC	komórki supresyjne pochodzące z linii mieloidalnej, (ang. <i>myeloid-derived supressor cells</i>)
MHC	główny układ zgodności tkankowej, (ang. <i>major histocompatibility complex</i>)
MIP-1 α	makrofagowe białko zapalne 1 α (ang. <i>macrophage inflammatory protein-1α</i>),
MLR	stosunek bezwzględnej liczby monocytów do bezwzględnej liczby limfocytów (<i>Monocyte to Lymphocyte Ratio</i>)
MONO	monocyty
MPV	średnia objętość płytki, (ang. <i>mean platelet volume</i>)
NAD	utleniona forma dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego
NADH	zredukowana forma dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego
NEU	neutrocyty
NET	zwnatrzkomórkowe sieci neutrofilowe, (ang. <i>neutrophil extracellular traps</i>)
NK	naturalne komórki cytotoksyczne, (ang. <i>natural killer</i>)
NLR	stosunek bezwzględnej liczby neutrofili do bezwzględnej liczby limfocytów (<i>Neutrophil to Lymphocyte Ratio</i>)
NSE	neuro swoista enolaza
NST	o nieustalonym typie (ang. <i>no special type</i>)
PAF	czynnik aktywujący płytki, (ang. <i>platelet activating factor</i>)
PD-1	receptor programowanej śmierci komórki (ang. <i>programmed death</i>)
PDGF	płytkopochodny czynnik wzrostu, (ang. <i>platelet-derived growth factor</i>)
PF4	czynnik płytkowy 4, (ang. <i>platelet factor 4</i>)
PGE2	prostaglandyna
PgR	receptor progesteronowy, (ang. <i>progesterone receptor</i>)
PLR	stosunek liczby płytek do bezwzględnej liczby limfocytów (ang. <i>Platelet to Lymphocyte Ratio</i>)
PLT	płytki krwi
Pro GRP	prekursor peptydu uwalniającego gastrynę (ang. <i>pro-gastrin-releasing peptide</i>)
PRRs	receptory rozpoznające patogeny, (ang. <i>pathogen recognition receptors</i>)
PSA	swoisty antygen sterczowy, (ang. <i>prostate specific antygen</i>)
RANTES	(ang. <i>regulated upon activation and normal T cell expressed and secreted</i>)
RBC	erytrocyty, ang. (<i>red blood cells</i>)
ROS	reaktywne formy tlenu, (ang. <i>reactive oxygen species</i>)
RDW	rozpiętość rozkładu objętości erytrocytów, (ang. <i>red cell volume distribution width</i>)
SCC-Ag	antygen raka płaskonabłonkowego, (ang. <i>squamous cell carcinoma antigen</i>)
SDF-1	zrębowy czynnik wzrostu 1, (ang. <i>stromal derived factor-1</i>)

TAA	antygeny związane z nowotworem, (ang. <i>tumor associated antigens</i>)
TAM	makrofagi związane z nowotworami, (ang. <i>tumor-associated macrophage</i>)
TAN	neutrofile związane z nowotworami, (ang. <i>tumor associated neutrophils</i>)
TCR	receptor limfocyta T, (ang. <i>T-cell receptor</i>)
TGF- β	transformujący czynnik wzrostu beta, (ang. <i>transforming growth factor beta</i>)
TLRs	receptory toll-podobne, (ang. <i>toll like receptors</i>)
TNF α	czynnik martwicy nowotworów alfa, (ang. <i>tumor necrosis factor alpha</i>)
TNM	guz(pierwotny)-węzeł(chłonny)-przerzuty(odległe), klasyfikacja zaawansowania choroby nowotworowej, (ang. <i>tumour-node-metastasis</i>)
TPS	specyficzny antygen tkankowy, (ang. <i>tissue polypeptide-specific antigen</i>)
TEM	monocyty z ekspresją receptora dla angiopoetyny Tie-2 (ang. <i>Tie-2-expressing monocytes</i>)
UICC	Międzynarodowa Unia ds. Nowotworów, (ang. <i>Union for International Cancer Control</i>)
VCAM	cząsteczka adhezji komórkowej naczyń, (ang. <i>vascular adhesion cell molecule</i>)
VEGF	czynnik wzrostu śródbłónka naczyniowego, (ang. <i>vascular endothelial growth factor</i>)
WBC	krwinki białe, (ang. <i>white blood cells</i>)
WHO	Światowa Organizacja Zdrowia, (ang. <i>World Health Organization</i>)

1. Wstęp

1.1. Stan zapalny

Stan zapalny jest odpowiedzią organizmu rozwijającą się pod wpływem czynnika uszkodzającego. Celem reakcji zapalnej jest obrona gospodarza przed patogenami oraz naprawa tkanek uszkodzonych pod wpływem bodźców fizycznych i chemicznych. Stan zapalny zalicza się do mechanizmów odporności wrodzonej. Jest pierwotną, nieswoistą reakcją organizmu na infekcję lub uszkodzenie. Zachodzi przed uruchomieniem znacznie dłużej trwających mechanizmów odpowiedzi swoistej.¹⁻³

Mechanizm odporności wrodzonej obejmuje m.in. współdziałanie makrofagów, komórek tucznych, komórek dendrytycznych, komórek NK (ang. *natural killer*) i granulocytów (neutrocyty, eozynocyty, bazocyty), gromadzących się w miejscu uszkodzenia⁴. Makrofagi pochłaniają patogeny, komórki tuczne uwalniają histaminę, granulocyty produkują cytokiny i chemokiny prozapalne. Komórki dendrytyczne (ang. *dendritic cells*, DC) prezentują antygen patogena komórkom T w węzłach chłonnych dla rozwinięcia nabytej (swoistej) odpowiedzi immunologicznej, prowadzącej do zniszczenia uszkodzonych komórek gospodarza.⁴

Reakcja organizmu na rozwijający się nowotwór ma wiele podobieństw do stanu zapalnego i gojenia ran (uszkodzeń). W warunkach fizjologicznych stan zapalny powinien prowadzić do spowolnienia rozprzestrzeniania się patogenów w organizmie, miejscowej i ogólnoustrojowej mobilizacji obrony immunologicznej, naprawy uszkodzeń, samoograniczenia oraz do przywrócenia pełnej równowagi organizmu (homeostazy). Najpierw dochodzi do zwiększonej proliferacji komórek, która ustępuje po zakończeniu odbudowy tkanek. Natomiast w stanach nowotworowych proliferacja jest podtrzymywana, komórki które uległy transformacji stanowią czynnik urazowy wywołujący stan zapalny i towarzyszący mu rozwój reakcji ostrej fazy.⁵ Przedłużające się w czasie działanie czynnika urazowego oraz nasilenie reakcji ostrej fazy mogą się przyczyniać do zmiany charakteru obronnej odpowiedzi zapalnej. Podczas reakcji ostrej fazy dochodzi do wytwarzania m.in. reaktywnych form tlenu, czynnika martwicy nowotworu (ang. *Tumor Necrosis Factor*, TNF α), czynnika jądrowego kB, interleukin 1, 8, 18 (IL-1, IL-8, IL-18), cyklooksygenazy 2, czynnika indukowanego hipoksją HIF- 1 α (ang. *hypoxia inducible factor alpha*), metaloproteinazy 2 i 9 oraz chemokin. Czynniki te mogą wpływać promująco na wydłużenie czasu życia komórek,

ich proliferację, inwazyjność, neoangiogenezę oraz rozwój chemio- i radiooporności nowotworu.^{2,4}

Już Rudolf Ludwig Karl Virchow (1821-1902) uważał, że proces zapalny wywodzi się ze zwiększonej aktywności komórek. Zaobserwował obecność leukocytów w tkance zmienionej nowotworowo i wymienił przewlekłą reakcję zapalną jako jedną z kilku przyczyn powstawania raka.³

Do grupy leukocytów biorących udział w odporności wrodzonej zaliczamy: granulocyty obojętnochłonne, monocyty i makrofagi. Limfocyty B oraz limfocyty T zaliczane są do komórek odporności nabytej. Komórki NK i komórki dendrytyczne uczestniczą w obu rodzajach odporności, wrodzonej i nabytej.⁴

Pierwszymi komórkami, które dokonują identyfikacji patogenu w miejscu powstania stanu zapalnego są obecne w tkankach leukocyty osiadłe, głównie makrofagi i mastocyty. Dzięki tzw. „receptorom rozpoznającym cząsteczki patogenu” (ang. *pattern recognition receptors*, PRRs) komórki odporności wrodzonej posiadają zdolność do odróżniania własnych antygenów od obcych. Wśród PRRs wyróżnia się receptory Toll- podobne (ang. *Toll-like receptors*, TLRs), są one obecne na różnych komórkach układu odpornościowego, m.in. na makrofagach, komórkach dendrytycznych, limfocytach B, określonych subpopulacjach limfocytów T. Komórki za pomocą receptorów PRRs rozpoznają struktury mikroorganizmów, tzw. wzorce molekularne związane z mikroorganizmami (ang. *microbial-associated molecular patterns*, MAMPs). Cząsteczki MAMPs inicjują molekularne mechanizmy, które prowadzą do aktywacji czynników transkrypcyjnych odpowiedzialnych za ekspresję genów mediatorów zapalnych.⁴

Komórki te, po aktywacji, rozpoczynają produkcję i wydzielanie mediatorów zapalnych. W pierwszej kolejności są to mediatory aktywne naczyniowo, aminy biogenne (histaminy i serotonina), mediatory lipidowe (prostaglandyny i leukotrieny), czynnik aktywujący płytki PAF (ang. *platelet activating factor*). Oddziałują one na śródbłonek lokalnych naczyń krwionośnych, powodując zwiększenie ich przepuszczalności i wysięk osocza do ogniska zapalenia. Następnie osiadłe leukocyty produkują i uwalniają cytokiny prozapalne (np. interleukiny 1 β) i chemokiny (np. IL-8), które aktywują kolejne leukocyty i pobudzają ich migrację w kierunku tkanek objętych zapaleniem. Wydzielanie chemokin przez śródbłonek naczyń jest indukowane przez czynniki procesu zapalnego takie jak IL-1 czy czynnik martwicy nowotworu TNF- α .^{6,7}

Migracja leukocytów jest procesem wieloetapowym. Wymaga uczestnictwa molekuł adhezyjnych z grupy integryn $\beta 1$ i $\beta 2$ oraz selektyny L na komórkach krwi, a na komórkach śródbłónka - molekuł adhezyjnych typu ICAM-1 i VCAM a także selektyn E i P.⁸ Pierwszy etap to interakcja między leukocytem a śródbłonkiem zwana *rolling*, czyli toczenie się leukocyta po śródbłonku.⁶ Następnie dochodzi do polaryzacji leukocyta, w dalszej kolejności następuje silne przyleganie (ang. *adhesia*) leukocyta do śródbłónka, transmigracja (ang. *diapedeza*) przez śródbłonek do substancji pozakomórkowej i tkanek położonych głębiej.^{6,9}

Migracja neutrofilów przez substancję pozakomórkową jest ostatnim etapem ich wędrówki do miejsc zapalnych. Neutrofile są pierwszymi leukocytami docierającymi do ogniska zapalenia. Eliminują patogeny poprzez fagocytozę, niszcząc je poprzez mechanizmy tlenowe i/lub beztlenowe oraz wykorzystując tzw. neutrofilowe sieci zewnątrzkomórkowe. Neutrofile oprócz roli prozapalnej biorą również udział w prawidłowym wygaszaniu zapalenia. Po zniszczeniu patogenów neutrofile mogą zmienić swój fenotyp na przeciwzapalny, a wydzielane w tym stanie mediatory (np. lipoksyny) przyczyniają się do ustąpienia objawów zapalenia. Neutrofile kończą swój udział w zapaleniu i giną na drodze apoptozy. Następnie ulegają eliminacji przez makrofagi. Sfagocytowane neutrocyty i ich fragmenty modyfikują metabolizm makrofagów kierując w efekcie komórkę do działań ograniczających/eliminujących stan zapalny – makrofagi o fenotypie M2. Podtrzymywanie procesu zapalnego może zakłócać tę pożądaną transformację makrofagów.¹⁰ Może to sprzyjać rozwojowi nowotworów poprzez utratę kontroli nad regeneracją tkanki podczas ustępowania przewlekłego procesu zapalnego. Przewlekłe reakcje zapalne sprzyjają gromadzeniu się makrofagów inicjujących i podtrzymujących procesy zapalne – tzw. makrofagi o fenotypie M1. Te klasycznie aktywowane makrofagi M1 wytwarzają cytokiny prozapalne, m.in. TNF- α , IL-12 oraz są miejscem produkcji i uwalniania reaktywnych form tlenu i azotu.¹¹ Zaburzenie równowagi pomiędzy fenotypem M1 i M2 oraz miejscowe oddziaływanie makrofagów z pozostałymi komórkami ułatwia powstawanie „mikrośrodowiska sprzyjającego transformacji nowotworowej”. To pojęcie obejmuje również nasilony i zmieniony metabolizm (w tym beztlenowy) komórek uczestniczących w procesie zapalnym. Produkty nasilonego i zmienionego metabolizmu mogą doprowadzić do uszkodzenia DNA komórek gospodarza, co sprzyja transformacji nowotworowej.^{11,12}

1.2. Komórki krwi

Wszystkie komórki znajdujące się we krwi (erytrocyty, leukocyty, płytki krwi) powstają w procesie hematopoezy z komórek macierzystych szpiku.

Erytrocyty oraz krwinki płytkowe po uwolnieniu ze szpiku do krwi przebywają w niej całe swoje życie i tutaj wykonują swoje funkcje. Neutrocyty, eozynocyty, bazocyty, monocyty to komórki, które pełnią swoje funkcje głównie poza łożyskiem naczyniowym - z krwią docierają do tkanek obwodowych. Część limfocytów recyrkuluje z krwi do tkanek i z tkanek naczyniami chłonnymi powraca do krwi. Plazmocyty, to krwinki dla których podstawowym umiejscowieniem są tkanki.

Pula hematopoetycznych komórek macierzystych (ang. *hematopoietic stem cell*, HSC) posiada zdolność do samoodnowy, różnicowania i dojrzewania. Za prawidłowe krwiotworzenie odpowiedzialne są między innymi cytokiny (wydzielane przez limfocyty i komórki podścieliska szpiku) oraz chemokiny (chemokina *SDF-1*, *stromal derived factor-1*).¹³ W procesie różnicowania powstają komórki wielopotencjalne, a następnie komórki ukierunkowane dla mielo- oraz limfopoezy typu B i T. Ukierunkowane prekursorzy dzielą się i dojrzewają, w wyniku czego powstają komórki morfologicznie rozpoznawalne a z nich erytrocyty, granulocyty, monocyty, płytki krwi i limfocyty.¹³

Erytrocyty

Erytrocyt to okrągła komórka pozbawiona jądra o kształcie dwuwklęsłego dysku, o średnicy 6-9 μm i objętości 80-100 fl. We wnętrzu erytrocyta znajduje się hemoglobina, dzięki niej komórka transportuje tlen z płuc do tkanek i komórek.¹³ Kształt krwinki czerwonej i gradient stężeń elektrolitów, ważne determinanty jej fizjologicznej sprawności, są utrzymywane dzięki energii uzyskiwanej z przemiany glukozy w 90% - beztlenowej i w 10% - tlenowej.¹⁴ Dojrzała krwinka czerwona przebywa we krwi średnio 120 dni.^{13,14} Utrata zdolności do pełnienia funkcji jest sygnałem dla układu siateczkowo-śródbłonkowego, przede wszystkim śledziony, do wychwytywania i eliminowania wadliwych erytrocytów.¹⁴

Leukocyty

Wśród leukocytów wyróżnia się pięć subpopulacji: granulocyty obojętnochłonne (neutrocyty), granulocyty kwasochłonne (eozynocyty), granulocyty zasadochłonne (bazocyty), limfocyty i monocyty. Granulocyty obojętnochłonne stanowią najliczniejszą grupę wśród leukocytów (45-70% u osób dorosłych). Prawidłowy, dojrzały neutrofil

ma średnicę 15-20 μm . Jego jądro jest płątowate, liczba płatów w jądrze może wynosić od 2 do 3, maksymalnie 5. Taki granulocyt obojętnochłonny nazywamy granulocytom segmentowanym. Do 5% wśród neutrocytów stanowią neutrocyty z jądrem pałeczkowatym, czyli niepodzielonym na płaty, a ewentualne przewężenie jest większe od 1/3 średnicy jądra.^{13,15}

Jeżeli we krwi stwierdza się obecność form pałeczkowatych neutrofilów w odsetku większym niż 5% lub pojawiają się postacie młodsze szeregu rozwojowego (metamielocyty, mielocyty, promielocyty, mieloblasty), zjawisko to określamy pojęciem „przesunięcia w lewo”. W reakcji na infekcję bakteryjną zwykle występuje przesunięcie do szeregu mielocyta. W zespołach mieloproliferacyjnych, w reakcjach odczynowych szpiku na proces nowotworowy obecne mogą być także postaci młodsze. Z kolei stwierdzenie obecności we krwi neutrocytów z nadmiernie segmentowanym jądrem, z liczbą płatów powyżej pięciu, określamy mianem „przesunięcia w prawo” (np. w niedokrwistości megaloblastycznej, w zespołach mieloproliferacyjnych, rzadko w przewlekłych zakażeniach i chorobach wątroby).¹⁵ W cytoplazmie granulocytów obojętnochłonnych występują trzy typy ziarnistości. Ziarnistości pierwotne – azurofilne, zawierające białka o aktywności przeciwbakteryjnej, przeciwwirusowej i przeciwgrzybiczej oraz liczne enzymy (np. mieloperoksydazę, defenzyny, lizozym), są uwalniane do fagosomów wewnątrzkomórkowo. Drugi typ to ziarnistości wtórne - swoiste, występują tylko w neutrofilach, zawierają m.in. lizozym, kolagenazę, laktoferynę. Mogą one uwalniać swoją zawartość zarówno do endosomów, jak i na zewnątrz komórki. Ziarnistości trzeciorzędowe żelatynazowe zawierają fosfatazę alkaliczną i żelatynazę, zawartość uwalniają zewnątrzkomórkowo.¹⁴

Około 51% dojrzałych neutrocytów przebywających w krwioobiegu przylega do ściany naczyń obwodowych (tzw. pula marginalna) a pozostała część neutrocytów stale krąży we krwi (tzw. pula krążąca).¹⁶ Organizm dysponuje również rezerwową pulą dojrzałych neutrocytów (o jądrze pałeczkowatym) w szpiku, gotowych do uruchomienia pod wpływem hormonów stresu.

Potwierdzono występowanie w krążeniu dwóch subpopulacji neutrofilów. Dojrzałych, o małej objętości i wysokiej gęstości (HDN; ang. *High Density Neutrophils*), wykazujących aktywność przeciwnowotworową – fenotyp N1, oraz neutrofilów o dużej objętości i małej gęstości fenotyp N2 (LDN; ang. *Low Density Neutrophils*). Fizjologicznie około 95% populacji stanowią neutrofile o wysokiej gęstości. W chorobach nowotworowych frakcją dominującą mogą stać się LDN.^{17,18}

Pod wpływem bodźców zapalnych neutrocyty natychmiast migrują z naczyń krwionośnych do ogniska zapalnego (miejsca zakażenia bądź uszkodzenia tkanek). Czynnikiem stymulującym migrację mogą być: czynniki pochodzenia bakteryjnego np. formylowane peptydy bakteryjne (fLMP) oraz czynniki wydzielane z uszkodzonych tkanek komórek biorących udział w reakcji zapalnej.⁴ Neutrocyty po dotarciu do ogniska zapalenia niszczą drobnoustroje chorobotwórcze na drodze fagocytozy. W fagolizosomie drobnoustroje są unieszkodliwiane w sposób zależny od tlenu (powstawania reaktywnych form tlenu - *reactive oxygen species*, ROS - podczas wybuchu tlenowego) lub niezależny od tlenu (z wykorzystaniem enzymów i białek o aktywności przeciwbakteryjnej, przeciwwirusowej i przeciwgrzybiczej, obecnych w ziarnistościach). Neutrofile mogą również unieszkodliwiać drobnoustroje poprzez ograniczanie im dostępu do jonów żelaza (dzięki laktoferynie) i cynku (kalprotektyna). Neutrocyty wykorzystują do zwalczania patogenów tzw. zewnątrzkomórkowe sieci neutrofilowe (NET, ang. *neutrophil extracellular traps*).¹⁹

W warunkach fizjologicznych neutrocyty migrujące do miejsca zapalenia, do tkanek obwodowych, po apoptozie podlegają fagocytozie przez makrofagi. Powoduje to zmniejszenie wydzielania IL-23 przez makrofagi, a w następstwie - zmniejszenie stężenia IL-17 oraz czynnika stymulującego tworzenie kolonii granulocytów (G-CSF), zmniejszając przez to granulopoezę. W przypadku zakłócenia tego procesu dochodzi do wzrostu liczby neutrocytów w miejscu zapalenia i podtrzymywania przewlekłego stanu zapalnego.²⁰ W nowotworach lokalna reakcja zapalna w mikrośrodowisku, wraz ze wzrostem guza, ulega uogólnieniu i dochodzi m.in. do wzrostu liczby neutrofilów w krążeniu.²¹ Neutrofile, które uległy apoptozie przyczyniają się do przemiany makrofagów w fenotyp M2, sprzyjający ustępowaniu stanu zapalnego.¹⁰

Eozynofile (granulocyty kwasochłonne) to duże komórki o średnicy około 15- 25µm.¹³ We krwi przebywają krótko, wędrują do narządów i tkanek mających kontakt ze środowiskiem zewnętrznym. Ich jądro jest najczęściej dwupłatowe a cytoplazma w znacznym stopniu, bądź całkowicie, przesłonięta licznymi, grubymi swoistymi ziarnistościami kwasochłonnymi.¹⁴ Ziarnistości te zawierają: główne białko zasadowe (MBP, ang. *major basic protein*), eozynofilowe białko kationowe (ECP, ang. *eosinophil cationic protein*), eozynofilowe białko X, neurotoksynę eozynofilową (EDN, ang. *eosinophil derived neurotoxin*), eozynofilową peroksydazę (EPO, ang. *eosinophil peroxidase*).²² Obecne w ziarnistościach MBP jest toksyczne dla pasożytów, natomiast ECP jest toksyczne dla pasożytów i działa bakteriobójczo.¹⁴ W reakcjach zapalnych

dochodzi do uwalniania ze struktur błonowych eozynofila metabolitów kwasu arachidonowego (prostaglandyna PGE₂, leukotrien LTC₄), cytokin (IL-3, IL-4, IL-5, IL-8, INF- γ , czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów - GM-CSF), czynnika aktywującego płytki (PAF, ang. *platelet activating factor*).²² Na powierzchni błony komórkowej eozynofila znajdują się receptory dla cytokin (m.in. dla IL-3, IL-5, TNF- α , histaminy, składowych dopełniacza C3a, C3b, C5a). Receptory dla interleukin odgrywają ważną rolę w powstawaniu, dojrzewaniu i migracji eozynofila.²²

Granulocyty zasadochłonne (bazofile) stanowią najmniej liczną grupę leukocytów we krwi. Są to najmniejsze komórki wśród granulocytów, o średnicy 12-18 μ m. Ich jądro ma kształt nieregularny, jego płaty są niesymetryczne, a ziarnistości swoiste (od pojedynczych do bardzo licznych), wypełniają komórkę.^{13,15} Granulocyty zasadochłonne odgrywają rolę w reakcjach uczuleniowych, a także w odporności wrodzonej i nabytej. W procesie degranulacji głównymi substancjami wydzielanymi przez bazofile są: histamina, leukotrieny oraz interleukina 4 (IL-4).²³

Monocyty stanowią 5-10% krwinek białych we krwi. Mają kształt okrągły lub nieregularny o średnicy 15-30 μ m. Cytoplazma wybarwia się na niebiesko lub sinoniebiesko, może zawierać kilka drobnych wodniczek oraz nieliczne ziarnistości azurochłonne. Jądro przyjmuje nieregularne kształty, może być delikatne lub z bardziej skondensowaną chromatyną, bez jądererek.¹³

We krwi monocyty pozostają kilka dni, następnie migrują do tkanek i stają się długożyjącymi makrofagami.¹⁴ Monocyty biorą udział w odpowiedzi immunologicznej, prezentują antygen limfocytom T, limfocytom B. Są komórkami prekursorowymi dla makrofagów oraz komórek dendrytycznych (najważniejszych komórek prezentujących antygen). Z reguły, czynniki zakaźne oraz martwe komórki są eliminowane przez makrofagi na drodze fagocytozy. W szczególnych przypadkach komórki uruchamiają mechanizmy tzw. egzofagocytozy – eksponując fagolizosomy poza komórkę.¹¹ Uczestnicząc w procesach zapalnych, monocyty wytwarzają cytokiny prozapalne np. IL-1, IL-6, TNF- α , interferon α (INF- α), interferon β (INF- β) a także przeciwzapalnie działające metaloproteiny.¹¹ Około 2-7% monocytów krwi zdrowych ludzi stanowią monocyty proangiogenne, odznaczające się ekspresją dla angiopoetyny Tie-2, tzw. TEM (ang. *Tie-2-expressing monocytes*). U osób z nowotworami ich liczba może wzrastać do 20% całkowitej puli monocytów we krwi.¹¹

W zależności od rodzaju cytokin i czynników wzrostu, w środowisku tkankowym, stymulowanym różnymi wirusami lub bakteriami, dochodzi do przyspieszenia transmigracji i różnicowania monocytów w makrofagi typu M1 – makrofagi klasyczne, „prozapalne” (w obecności interferonu γ , LPS, TNF- α , czynnika wzrostu dla granulocytów i makrofagów GM-CSF) lub w makrofagi typu M2 - immunomodulujące (w obecności IL-4, IL-10, IL-13 i czynnika wzrostu makrofagów M-CSF, kortykosteroidów).²⁴ Makrofagi stanowią ważny element wrodzonej odpowiedzi immunologicznej ze względu na ich wyjątkową zdolność rozpoznawania, pochłaniania i niszczenia „obcych patogenów”. Obok monocytów i komórek dendrytycznych należą do głównej puli komórek reprezentujących antygen (APC). Różnicowanie monocytów w komórki dendrytyczne związane jest zwykle z rozwojem stanu zapalnego oraz obecnością wielu cytokin (np. GM-CSF, TNF α , IL-4).²⁵ Proces zachodzi w narządach nielimfoidalnych np. w jelitach, płucach.²⁶

Limfocyty stanowią 20-45% leukocytów krwi u osób dorosłych. Mają okrągły lub owalny kształt, ich średnica wynosi 10-15 μm .¹³ Cytoplazma może być w ogóle niewidoczna, uboga, a w niektórych limfocytach - obfita, bładoniebieska do ciemnoniebieskiej. Z reguły brak w niej ziarnistości. Część limfocytów może posiadać drobne, azurochłonne ziarna.^{13,15} Jądro jest okrągłe lub owalne z homogeną chromatyną. Jąderka z reguły są nieobecne, mogą pojawić się z heterogeną chromatyną w limfocytach odczynowych.¹³

W procesie limfopoemy z komórki macierzystej powstaje limfoidalna komórka prekursorowa, a z niej limfocyty T, limfocyty B i komórki NK. Głównym narządem limfopoetycznym jest szpik. Limfocyty B po opuszczeniu szpiku dostają się do obwodowych narządów limfatycznych (migdałki, węzły chłonne, śledziona). Wskutek stymulacji limfocytów B poprzez antygen mogą powstawać plazmocyty produkujące immunoglobuliny.¹³ Natomiast limfocyty T ze szpiku kostnego dostają się do grasicy, gdzie nabywają swoich funkcji. Dalej recyrkulują pomiędzy węzłami chłonnymi, wraz z chłonką trafiają do krwi.¹³ Wśród limfocytów T wyróżniamy limfocyty pomocnicze (ang. *helper*), limfocyty cytotoksyczne, regulatorowe oraz komórki pamięci.²⁷ Komórki NK są heterogeną populacją limfocytów cytotoksycznych, ale w przeciwieństwie do cytotoksycznych limfocytów T nie posiadają receptora komórek T (TCR).²⁸ Stanowią około 10% wszystkich limfocytów krwi obwodowej.²⁹

Podstawowe badania laboratoryjne, takie jak badanie morfologii czy rozmaz krwi, nie pozwalają rozróżnić poszczególnych subpopulacji limfocytów. Różnicowania

subpopulacji dokonuje się przy pomocy immunofenotypowania metodą cytometrii przepływowej i identyfikacji specyficznych antygenów różnicowania (CD, ang. *cluster of differentiation*) - jest to przydatne w diagnostyce hematologicznej i zespołów niedoboru odporności.

Płytki krwi

Płytki krwi (trombocyty) są pozbawionymi jądra komórkowego fragmentami cytoplazmy megakariocyta. Komórka ma kształt okrągły, jej brzeg może być postrzępiony. Rozmiary wynoszą między 1 a 4 μm . Trombocyty zawierają wiele struktur wewnętrznych (ziarnistości α , ziarnistości gęste, lizosomy, peroksosomy, układ kanalików gęstych), magazynujących substancje biologicznie czynne.

Powstawanie płytek krwi regulowane jest przez cytokiny: interleukiny (m.in. IL-1b, IL-6, IL-11) a głównie przez czynnik wzrostowy - trombopoetynę. Czas przeżycia trombocytów we krwi wynosi około 10 dni. Następnie są usuwane z krwioobiegu głównie w śledzionie oraz wątrobie poprzez układ siateczkowo-śródbłonkowy.

Około 30% krwinek płytkowych w ustroju zmagazynowanych jest w śledzionie (tzw. pula śledzionowa). Podstawową funkcją płytek jest udział w procesach hemostazy naczyniowej. Przypisuje się im również udział w procesach zapalnych, związanych z aktywnością wrodzonego układu odpornościowego.^{30,31}

Podczas aktywacji trombocytów następuje uwalnianie z ich struktur wewnętrznych chemokin i innych cytokin biorących udział nie tylko w hemostazie, ale również w procesie rekrutacji leukocytów do uszkodzonej tkanki. W tabeli 1 przedstawiono wybrane substancje wydzielane przez płytki krwi oraz ich udział w poszczególnych etapach odpowiedzi immunologicznej.

Na powierzchni płytek krwi występują liczne receptory rozpoznające patogeny (PRRs), biorące udział w mechanizmach nieswoistej odpowiedzi immunologicznej organizmu.³²⁻³⁴ Do grupy takich receptorów należy receptor TLR, który może być pobudzany przez lipopolisacharyd bakteryjny (LPS). Receptory TLR pozwalają na rozpoznanie zagrożenia ze strony drobnoustrojów oraz biorą udział w inicjacji odpowiedzi immunologicznej. Znajdują się one także na innych komórkach biorących udział w odpowiedzi zapalnej, m.in. na makrofagach, komórkach tucznych, komórkach dendrytycznych, limfocytach, neutrofilach, eozynofilach, a także śródbłonku naczyniowym, komórkach nabłonkowych, kardiomiocytach, adipocytach.³⁴

Tabela 1. Wybrane mediatory trombocytarne w odpowiedzi immunologicznej (na podstawie^{35,36}).

Mediator	Docelowy proces odpowiedzi immunologicznej
β -tromboglobulina	rekrutacja i aktywacja neutrofili, aktywacja fagocytozy w makrofagach
PF4	rekrutacja monocytów, neutrofili, limfocytów T
RANTES	chemotaksja monocytów, neutrofili, limfocytów T
TGF- β	proliferyacja komórkowa, różnicowanie limfocytów B, makrofagów
PDGF	różnicowanie monocytów i makrofagów
MIP-1 α	aktywacja neutrofili, eozynofili, wpływ na produkcję immunoglobulin przez limfocyty B
P-selektyna	adhezja leukocytów, aktywacja składników dopełniacza
Trombospondyna-1	apoptoza, procesy zapalne komórek śródbłónka, agregacja płytkowo-makrofagowa
Serotonina	aktywacja limfocytów T, różnicowanie monocytów do komórek dendrytycznych
Histamina	reaktywność naczyniowa, aktywacja monocytów i limfocytów T
ADP	aktywacja trombocytów, leukocytów, pobudzenie endotelium
Metaloproteinazy	remodeling macierzy pozakomórkowej, agregacja trombocytów, interakcje leukocytów z trombocytami

PF4(ang. *platelet factor 4*, czynnik płytkowy-4), RANTES (ang. *regulated upon activation and normal T cell expressed and secreted*), TGF- β (ang. *transforming growth factor*), PDGF (ang. *platelet-derived growth factor*, płytkowy czynnik wzrostu i różnicowania monocytów), MIP-1 α (ang. *macrophage inflammatory protein-1 α*), ADP (ang. *adenosine diphosphate*, dwufosforan adenozyne).

W badaniach eksperymentalnych wykazano, że płytki krwi mogą aktywnie wiązać krążące bakterie i prezentować je neutrofilom oraz komórkom układu siateczkowo-śródbłonkowego. Dodatkowo płytki krwi w interakcji z neutrofilami mogą brać udział w tworzeniu zewnątrzkomórkowych chromatynowych fibryli zawierających jądrowe DNA, które ułatwiają usuwanie („chwytanie”, ang. *traps*) drobnoustrojów z organizmu.^{34,37}

Płytki krwi biorą udział w proliferacji komórek nowotworowych, w powstawaniu przerzutów oraz angiogenezie. Powstające agregaty z komórek nowotworowych oraz płytek krwi chronią je przed komórkami nadzoru immunologicznego.^{38–40}

1.3. Badanie morfologii krwi

Krew to zawiesina elementów morfotycznych (erytrocytów, leukocytów, krwinek płytkowych) w osoczu. Badanie morfologii krwi jest podstawowym badaniem laboratoryjnym określającym: liczbę krwinek czerwonych, krwinek białych, płytek krwi, wartość hematokrytu, stężenie hemoglobiny i jej zawartość w krwinkach czerwonych, objętość erytrocytów, objętość płytek. Wartości referencyjne dla wyników oceny morfologii krwi przedstawia tabela 2.

Tabela 2. Wartości referencyjne dla morfologii krwi u dorosłych kobiet i mężczyzn (na podstawie⁴¹⁻⁴⁴).

Parametr	Wartość liczbową	Jednostka
WBC	4 - 10	10 ⁹ /l
% NEU	45 - 70	%
% LYM	20 - 45	%
% MONO	4 - 8	%
% EOS	2 - 4	%
% BASO	0 - 1	%
NEU	1,8 - 8,0	10 ⁹ /l
LYM	1,0 - 5,0	10 ⁹ /l
MONO	0,03 - 0,80	10 ⁹ /l
EOS	0,05 - 0,40	10 ⁹ /l
BASO	0,01 - 0,30	10 ⁹ /l
RBC	K: 4,0-5,0 M: 4,5-5,5	10 ¹² /l
HGB	K: 7,45-10,0 M: 8,0-11,0	mmol/l
HCT	K: 36-47 M: 40-54	%
MCV	80 - 100	fl
MCH	1,64 – 2,08	mmol/l
MCHC	20 - 22	mmol/l
RDW	11,5– 14,5	%
PLT	130 - 390	10 ⁹ /l
MPV	7,05– 10,5	fl

WBC-leukocyty, NEU-neutrofile, LYM-limfocyty, MONO-monocyty, EOS-eozynocyty, BASO-bazocyty, RBC-erytrocyty, HGB-hemoglobina, HCT-hematokryt, MCV-średnia objętość erytrocytu, MCH-średnia masa hemoglobiny w erytrocycie, MCHC-średnie stężenie hemoglobiny w erytrocycie, RDW-rozpiętość rozkładu objętości erytrocytów, PLT-płytki krwi, MPV-średnia objętość płytki, M-mężczyźni, K-kobiety.

Należy zaznaczyć ograniczoną swoistość podstawowych elementów morfologii krwi, ponieważ zmiany ich wartości obserwowane są w wielu chorobach o różnej etiologii.

Zwiększenie lub zmniejszenie liczby krwinek może być spowodowane zarówno przyczynami hematologicznymi jak i pozahematologicznymi.

Przyczyny zmian liczby neutrocytów, limfocytów, monocytów, eozynocytów, bazocytów przedstawiono w tabeli 3.

Tabela 3. Przyczyny zaburzeń ilościowych neutrocytów, limfocytów, monocytów, eozynocytów, bazocytów (na podstawie⁴²⁻⁴⁴).

NEUTROCYTOZA ($> 8,0 \times 10^9/l$)	NEUTROPENIA ($<1,5 \times 10^9/l$)
• ostre i przewlekłe zakażenia bakteryjne, • białaczki szpikowe, • mocznica, • kwasica cukrzycowa, • śpiączka wątrobową, • urazy tkanek, • zawały tkanek, • nadmiar kortykosteroidów • zespół Cushinga, • choroby nowotworowe	• niedokrwistość aplastyczna, • ostre białaczki, • zespoły mielodysplastyczne, • zakażenia wirusowe (np. grypa, HIV, wirusowe zapalenie wątroby), • układowe choroby tkanki łącznej, • leki (cytostatyki, tyreostatyczne, przeciwpadaczkowe), • radioterapia
LIMFOCYTOZA ($>5,0 \times 10^9/l$)	LIMFOPENIA ($<1,0 \times 10^9/l$)
• zakażenia wirusowe (np. mononukleozą zakaźną, świnka, odra), • przewlekłe zakażenia bakteryjne, • wirusowe zapalenie wątroby, • przewlekłe białaczki limfoidalne	• układowe choroby tkanki łącznej, • sepsa, • zakażenia wirusowe (np. HIV), • niewydolność nerek, wątroby, • sarkoidoza, • kolagenozy, • zespół Cushinga, • nadmiar kortykosteroidów, • po chemioterapii, po radioterapii, • nowotwory limfoproliferacyjne, • wrodzone niedobory odporności
MONOCYTOZA ($>0,8 \times 10^9/l$)	MONOCYTOPENIA ($<0,2 \times 10^9/l$)
• zakażenia bakteryjne (np. gruźlica, kiła, zapalenie wsierdza), • zakażenia wirusowe (np. cytomegalia, ospa wietrzna, półpasiec, opryszczka zwykła), • malaria, • zakażenia grzybicze, • choroba Leśniowskiego-Crohna, • choroby tkanki łącznej, • faza zdrowienia po ostrym zakażeniu	• układowe choroby tkanki łącznej, • białaczka włochatokomórkowa, • po leczeniu kortykosteroidami, cytostatykami
EOZYNOCYTOZA ($>0,5 \times 10^9/l$)	EOZYNOPIA ($<0,05 \times 10^9/l$)
• inwazje pasożytnicze (głównie robaczyce), reakcje alergiczne, • chłoniak Hodgkina, • chłoniaki z obwodowych komórek T, • przewlekłe choroby zapalne jelit, • alergiczna aspergiloza oskrzelowo-płucna	• stres (wysiłek fizyczny, urazy, oparzenia), • po leczeniu kortykosteroidami
BAZOCYTOZA ($>0,3 \times 10^9/l$)	BAZOPENIA ($<0,1 \times 10^9/l$)
• przewlekła białaczka szpikowa, • przewlekła białaczka mielomonocytowa, • czerwienica prawdziwa	• nadczynność tarczycy, • zespół Cushinga, • po leczeniu kortykosteroidami

Przyczyną obniżenia liczby erytrocytów i wartości hematokrytu mogą być: niedokrwistości, przewodnienie, ciąża. Zwiększona liczba erytrocytów oraz zwiększenie hematokrytu mogą być spowodowane czerwienicą prawdziwą, czerwienicą wtórną lub czerwienicą rzekomą.^{42,43}

Zaburzenia liczby płytek krwi dzielimy na małopłytkowości (trombocytopenie) oraz nadpłytkowości (trombocytozy). Przyczyny tych zaburzeń przedstawiono w tabeli 4.

Tabela 4. Przyczyny zaburzeń ilościowych płytek krwi (na podstawie^{42,43}).

MAŁOPŁYTKOWOŚCI (<150 x10 ⁹ /l)	NADPŁYTKOWOŚCI (>400 x 10 ⁹ /l)
• zmniejszenie liczby megakariocytów w szpiku lub niedostateczne wytwarzanie płytek (małopłytkowości centralne), • nadmiernie szybkie usuwanie płytek z krążenia (małopłytkowości obwodowe, immunologiczne lub nieimmunologiczne), nieprawidłowy rozdział (sekwestracja) płytek w ustroju, z rozcięcia	• nadpłytkowość samoistna, • nadpłytkowość towarzysząca (np. w czerwienicy prawdziwej), • nadpłytkowość odczynowa (w przebiegu nowotworów litych, w niedokrwistości z niedoboru żelaza, w przewlekłych chorobach zapalnych i infekcyjnych)

Zmniejszenie liczby płytek krwi oraz i wartości MPV (ang. *mean platelet volume*, średnia objętość płytki) świadczy o upośledzonej trombopoecie (małopłytkowości centralne). Obniżona liczba trombocytów wraz ze zwiększoną wartością MPV wskazuje na utratę bądź destrukcję płytek (małopłytkowość obwodowa).^{42,43}

1.4. Leukocyty i trombocyty w chorobie nowotworowej

W chorobach nowotworowych komórki układu immunologicznego gospodarza, m.in. makrofagi, komórki NK, limfocyty T cytotoksyczne biorą udział w odpowiedzi przeciwnowotworowej. Zdarza się, że system odpornościowy gospodarza nie jest w stanie wyeliminować komórek nowotworowych. Dochodzi do upośledzenia funkcji układu immunologicznego. Ucieczka nowotworu spod nadzoru immunologicznego związana jest ze zmianami w ekspresji antygenów i cząsteczek ko-stymulujących. Następuje też bezpośrednia supresja funkcji komórek dendrytycznych i limfocytów T przez wytwarzane cytokiny. Dochodzi do indukcji limfocytów T regulatorowych, hamujących odpowiedź układu immunologicznego.⁴⁵ W niektórych nowotworach (np. w raku płuc, piersi, nerki) dochodzi do aktywacji komórek supresyjnych pochodzących z linii mieloidalnej (MDSC, ang. *myloid-derived suppressor cells*). MDSC to heterogenna populacja komórek (niedojrzałe makrofagi, granulocyty, komórki dendrytyczne) o silnym działaniu immunosupresyjnym. Komórki te hamują odpowiedź immunologiczną na antygeny związane z nowotworem (TAA, ang. *tumor associated antigens*), hamują proliferację limfocytów T, indukują akumulację supresyjnych limfocytów T regulatorowych. Akumulacja komórek MDSC ma miejsce w stanach

przewlekłego zapalenia (infekcje bakteryjne, pasożytnicze) w urazach, w chorobie przeszczep przeciwko gospodarzowi po transplantacji komórek hematopoetycznych.⁴⁶

W ogólnoustrojowej odpowiedzi zapalnej może dochodzić do osłabienia odporności komórkowej, obniżania się liczby limfocytów T pomocniczych CD4+ i wzrostu liczby limfocytów supresorowych. Osłabienie funkcji komórek T może wpłynąć na osłabienie odpowiedzi specyficznej na nowotwór.⁴⁷ Bezwzględna liczba limfocytów w krążeniu u chorych na nowotwory wykazuje tendencję spadkową.²¹

Wraz ze wzrostem guza, pierwotnie lokalna reakcja zapalna w mikrośrodowisku ulega uogólnieniu, co może przejawiać się wzrostem liczby neutrocytów w krążeniu. Neutrofile w środowisku guza mogą ulegać transformacji fenotypowej (TAN; ang. *tumor associated neutrophils*). W zależności od sygnału z komórek nowotworowych, oprócz działania przeciwnowotworowego, mogą one wykazywać aktywność pronowotworową.⁴⁸

U chorych na nowotwory stwierdza się również nadpłytkowość. Występuje ona np. u około 22% chorych na raka drobnokomórkowego, u 39-57% chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca oraz u 20-56% chorych z raka jajnika w zależności od zaawansowania procesu nowotworowego.⁴⁹⁻⁵¹ Wzrost liczby płytek krwi może być efektem wzmożonego wydzielania przez komórki nowotworowe szeregu cytokin, indukujących trombopoezę.⁵¹

1.5. Zachorowalność i umieralność na nowotwory złośliwe

Nowotwory złośliwe, głównie w krajach wysoko rozwiniętych, stały się drugą na świecie przyczyną zgonów, po chorobach układu krążenia.⁵²

Przyczyny zgonów różnią się w zależności od rejonu świata. Według WHO w 2016 roku główne przyczyny zgonów w zależności od rejonu świata przedstawiały się następująco: w obszarze Zachodniego Pacyfiku na pierwszym miejscu znajdował się rak, na drugim udary, dalej choroba niedokrwienna serca; w obu Amerykach - rak, choroba niedokrwienna serca, udary; w Południowo-Wschodniej Azji: choroby niedokrwienne serca, rak, udary; w Europie – choroba niedokrwienna serca, rak, udar; we Wschodniej części Śródziemnomorskiej - choroba niedokrwienna serca, rak, udary; w Afryce na pierwszym miejscu wśród przyczyn zgonów znajdowały się infekcje dolnych dróg

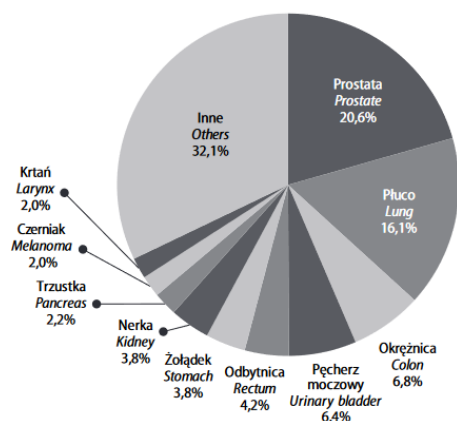
oddechowych, dalej HIV/AIDS (ludzki wirus niedoboru odporności/zespół nabytego niedoboru odporności), na trzecim miejscu, nowotwory.⁵²

Według prognoz WHO w 2060 roku rak stanie się pierwszą przyczyną zgonów na świecie. Liczba zachorowań na nowotwory złośliwe, niezależnie od różnic między regionami świata wykazuje systematyczną tendencję wzrostową. W 2000 roku zachorowało na raka około 10 milionów ludzi na całym świecie, w 2018 roku około 18 milionów.⁵² Według najnowszych danych opublikowanych przez WHO w rejestrze Global Cancer Obserwatory (GLOBOCAN) w 2020 roku liczba zachorowań na raka przekroczyła 19 milionów.⁵³ Najczęstszym na świecie nowotworem złośliwym był rak piersi i kolejno: rak płuc, rak jelita grubego, prostaty.⁵³

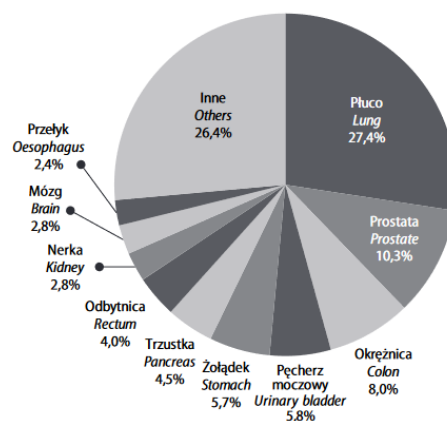
W grupie mężczyzn zachorowalność wyniosła 9,3 mln, odnotowano najwięcej przypadków raka płuca (15,4%), dalej prostaty (15,1%), jelita grubego (11,4%), żołądka (7,7%). Z powodu raka zmarło 5,4 mln mężczyzn, najwięcej z powodu raka płuc (21,6%), wątroby (10,5), jelita grubego (9,4%), żołądka (9,2%).⁵³

Wśród kobiet zarejestrowano 8,8 mln nowych zachorowań, najwięcej na raka piersi (25,8%), raka jelita grubego (9,9%), rak płuc (8,8%). Z powodu raka zmarło 4,4 mln kobiet. Na pierwszym miejscu z powodu raka piersi (15,6%), dalej raka płuc (13,8%) i jelita grubego (9,5%).⁵³

Z danych opublikowanych w Krajowym Rejestrze Nowotworów, w Polsce w 2019 roku zarejestrowano 171,1 tys. nowych zachorowań na nowotwory oraz 100,3 tys. zgonów z ich powodu. W grupie mężczyzn odnotowano 85,6 tys. zachorowań oraz 54,7 tys. zgonów. W grupie kobiet odnotowano 85,7 tys. zachorowań i 46 tys. zgonów. Na rycinie 1 przedstawiono strukturę zachorowań, a na rycinie 2 - strukturę zgonów na nowotwory złośliwe u mężczyzn w Polsce w 2019 roku. Mężczyźni najczęściej zapadają na nowotwór gruczołu krokowego (20,6%), płuca (16,1%), jelita grubego (okrężnica i odbytnica - 11,0%), a umierają najczęściej z powodu raka płuc (27,4%), raka jelita grubego (okrężnica i odbytnica - 12%), raka gruczołu krokowego (10,3%).⁵⁴

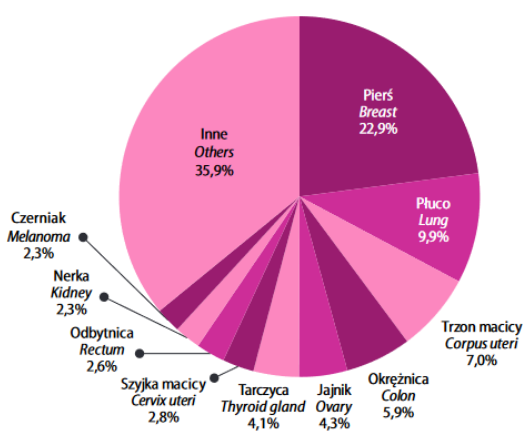


Rycina 1. Struktura zachorowań mężczyzn na nowotwory złośliwe w Polsce w 2019 roku.⁵⁴

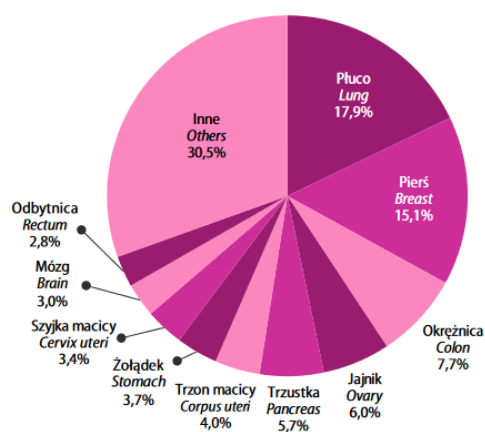


Rycina 2. Struktura zgonów mężczyzn na nowotwory złośliwe w Polsce w 2019 roku.⁵⁴

Na rycinie 3 przedstawiono strukturę zachorowań, a na rycinie 4 - strukturę zgonów kobiet na nowotwory złośliwe w 2019 roku, w Polsce. W populacji kobiet najczęstszym nowotworem jest rak piersi (22,9%), dalej rak płuc (9,9%) i rak jelita grubego (łącznie okrężnica i odbytnica – 8,5%). Wśród nowotworowych przyczyn zgonów na pierwszym miejscu znajduje się rak płuc (17,9%), dalej rak piersi (15,1%), jelito grube (okrężnica z odbytnicą - 10,5%).⁵⁴



Rycina 3. Struktura zachorowań kobiet na nowotwory złośliwe w Polsce w 2019 roku.⁵⁴



Rycina 4. Struktura zgonów kobiet na nowotwory złośliwe w Polsce w 2019 roku.⁵⁴

1.6. Kancerogeneza

Transformacja nowotworowa (kancerogeneza), czyli przekształcenie się komórki prawidłowej w nowotworową, jest bardzo złożonym procesem. Podstawą onkogenezy są mutacje różnych klas genów, co powoduje zmiany w najważniejszych procesach komórkowych. Transformacja dotyczy głównie genów mutatorowych (regulują naprawę uszkodzonego DNA), genów supresorowych (hamują proliferację komórek), protoonkogenów (kodują czynniki wzrostu, receptory błonowe, kinazy i inne białka regulujące wzrost, proliferację, różnicowanie i apoptozę).⁵⁵ W wyniku działania mutagennych czynników środowiskowych, czynników pochodzenia infekcyjnego oraz pod wpływem reaktywnych form tlenu będących końcowym produktem metabolizmu komórkowego i/lub wydzielanych przez komórki zapalne, dochodzi do uszkodzeń kwasu dezoksyrybonukleinowego (DNA), powodujących zmiany funkcjonowania genów.⁴

W uproszczeniu, nowotworzenie przebiega w trzech złożonych fazach: inicjacja, promocja i progresja choroby. Inicjacja jest związana z nagromadzeniem mutacji w DNA (mutacja punktowa, delecja, amplifikacja), metylacji lub rearanżacji genów lub chromosomów, które nie mogą być naprawione i prowadzą do przyspieszenia wzrostu komórkowego.⁵⁶ Inicjacja może też być indukowana przez genotoksyczne czynniki rakotwórcze uszkadzające DNA. Podczas fazy promocji następuje klonalny wzrost komórki zmienionej w fazie inicjacji. Dochodzi do powstania zmiany przedrakowej (*carcinoma in situ*), a dalszy wzrost guza może zachodzić w wyniku unaczynienia, poprzez dostarczenie substancji odżywczych i tlenu. Podczas progresji zachodzą kolejne zmiany w materiale genetycznym. Dochodzi do inwazji miejscowej komórek nowotworowych, a drogą naczyń krwionośnych mogą powstać przerzuty odległe. Na tym etapie powstaje kliniczna postać raka.^{1,57}

1.7. Interakcje komórek nowotworowych z mikrośrodowiskiem

Komórki nowotworowe wzrastają w mikrośrodowisku, w skład którego wchodzi komórki stromalne, fibroblasty, naczynia a także komórki układu immunologicznego. Wszystkie elementy mikrośrodowiska wzajemnie ze sobą oddziałują. W obrębie mikrośrodowiska komórki nowotworowe posiadają zdolność do indukowania tworzenia nowych naczyń. Ważną rolę w procesie tym odgrywają wydzielanie przez komórki nowotworowe czynniki wzrostu takie jak: czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego

(VEGF, ang. *vascular endothelial growth factor*), czynnik wzrostu fibroblastów (FGF, ang. *fibroblast growth factor*), płytkopochodny czynnik wzrostu (PDGF, ang. *platelet-derived growth factor*) oraz inne komórki podścieliska (makrofagi, neutrofile, fibroblasty). Bardzo ważnym elementem wzajemnych oddziaływań między nowotworem a komórkami mikrośrodowiska są oddziaływania komórek nowotworowych z komórkami układu odpornościowego. Komórki odpornościowe gospodarza w początkowej fazie rozpoznają komórki nowotworowe i próbują je eliminować.⁴ Komórka nowotworowa najpierw jest prezentowana limfocytowi T przez cząsteczki głównego układu zgodności tkankowej klasy I (MHC, ang. *major histocompatibility complex I*). Dochodzi do związania antygeny komórki nowotworowej przez receptor komórki T (TCR, ang. *T-cell receptor*), który rozpoznając obcą komórkę wyzwala sygnał wewnątrzkomórkowy, aktywując limfocyty T do uwolnienia enzymów litycznych i w następstwie do spowodowania śmierci komórki. Niestety komórki nowotworowe wymykają się kontroli immunologicznej poprzez aktywację m.in. antygeny typu 4. limfocytów cytotoksycznych na powierzchni aktywowanego limfocyty T (CTLA-4, ang. *cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen-4*), białka PD-1 (ang. *programmed death-1*). Białka CTLA-4 oraz PD-1 są negatywnymi regulatorami odpowiedzi immunologicznej, tzw. punktami kontrolnymi odpowiedzi immunologicznej (ang. *immunological check-point*), które hamują działanie układu odpornościowego.⁵⁸ Komórki nowotworowe posiadają także zdolność do wydzielania substancji działających bezpośrednio immunosupresyjnie: czynnik transformujący beta (TGF- β , ang. *transforming growth factor beta*), galektyna 1, arginaza. Komórki nowotworowe mogą mieć również wpływ na różnicowanie oraz rekrutację do mikrośrodowiska komórek o działaniu immunosupresyjnym takich jak limfocyty T regulatorowe czy alternatywnie aktywowane makrofagi. Z kolei obecne w mikrośrodowisku limfocyty T regulatorowe, produkując TGF- β oraz interleukinę 10 (IL-10), hamują aktywność efektorowych limfocytów T, przez co komórki nowotworowe unikają eliminacji immunologicznej.⁴

1.8. Diagnostyka chorób nowotworowych

Diagnostyka chorób nowotworowych, oprócz badania podmiotowego i przedmiotowego, opiera się na badaniach obrazowych i endoskopowych (przy użyciu różnych technik) oraz na ocenie histopatologicznej i immunohistochemicznej materiału tkankowego.

W diagnostyce chorób nowotworowych bardzo ważnym elementem jest ustalenie rozpoznania obejmującego lokalizację guza pierwotnego, jego wielkość, typ histologiczny, obecność, liczbę i położenie przerzutów. Po ustaleniu rozpoznania nowotworu następnym etapem, przed podjęciem leczenia, jest ocena zaawansowania choroby nowotworowej. Najdokładniejszym i najbardziej wiarygodnym sposobem określenia zaawansowania nowotworu jest ocena patomorfologiczna pTNM (ang. *tumor-node-metastasis*, guz-węzły chłonne-przerzuty), dokonywana na podstawie badania makroskopowego oraz mikroskopowego. Aktualnie obowiązuje VIII edycja klasyfikacji TNM wg AJCC/UICC (AJCC, ang. *American Joint Committee on Cancer*, Amerykański Komitet ds. Raka, UICC ang. *Union for International Cancer Control*, Międzynarodowa Unia ds. Nowotworów) opublikowana pod koniec 2016 r.⁵⁹ W zależności od zestawienia poszczególnych cech T,N,M ustala się ogólny stopień zaawansowania klinicznego (stadium): 0, I, II, III lub IV. Określenie stopnia zaawansowania 0 dotyczy zmian nieinwazyjnych, natomiast stopień IV z reguły oznacza obecność przerzutów odległych. Innym powszechnie wykorzystywanym patomorfologicznym czynnikiem prognostycznym jest ocena mikroskopowa stopnia złośliwości histologicznej G (ang. *grading*). W większości przypadków stosuje się klasyfikację trójstopniową (G1,G2,G3). Stopień G1 oznacza nowotwór o potencjalnie najmniejszej złośliwości (ang. *low grade*; nowotwór wysokozróżnicowany) a stopień G3 – o największej złośliwości (ang. *high grade*; nowotwór niskozróżnicowany). Niekiedy stosuje się dodatkowo stopień G4 – nowotwór niezróżnicowany oraz Gx – oznacza brak możliwości oznaczenia stopnia złośliwości histologicznej.⁶⁰ W niektórych nowotworach nie stosuje się klasyfikacji TNM, lecz używa się klasyfikacji kliniczno-patologicznych lub innych uproszczonych.

1.9. Rak piersi

Rak piersi to nowotwór wywodzący się z nabłonka przewodów lub zrazików gruczołu sutkowego.⁴³ Obecnie, w większości krajów świata, rak piersi jest najczęstszym nowotworem złośliwym u kobiet. Na świecie, zarówno zachorowalność jak i umieralność wykazują stałą tendencję wzrostową.⁵⁴ Rak piersi jest najczęściej występującym nowotworem złośliwym u kobiet w Polsce. W 2018 roku w grupie kobiet odnotowano 18,9 tys. (22,5%) a w 2019 roku 19,6 tys. (22,9%) zachorowań na raka piersi. U mężczyzn rak piersi występuje rzadko, stanowi około 1 % wszystkich rozpoznań raka piersi. Od 2007 roku rak piersi stanowi drugą, po raku płuc, przyczynę śmierci spowodowaną przez nowotwory złośliwe u kobiet w Polsce.⁵⁴

Do najbardziej istotnych czynników zwiększających ryzyko zachorowania na raka piersi należą: starszy wiek, czynniki genetyczne (mutacje genów BRCA1, BRCA2, TP53), czynniki hormonalne (wczesna pierwsza miesiączka, późna menopauza, brak potomstwa, późne macierzyństwo, doustna antykoncepcja zawierająca estrogeny, hormonalna terapia zastępcza), ekspozycja na działanie promieniowania jonizującego. Również niewłaściwy styl życia i związane z nim: otyłość, mała aktywność fizyczna, spożywanie alkoholu stanowią czynniki ryzyka.⁶⁰

Rozpoznanie raka piersi dokonuje się na podstawie mikroskopowego badania tkanek guza. Materiał do badania uzyskuje się z biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej, biopsji gruboigłowej, mammotomicznej lub poprzez pobranie wycinka tkankowego podczas zabiegu operacyjnego.⁶⁰

W tabeli 5 przedstawiono podział raków piersi według klasyfikacji histologicznej.

Tabela 5. Klasyfikacja histologiczna raka piersi (na podstawie⁶⁰).

Rak piersi przedinwazyjny (nienaciekający) - około 20%	Rak piersi inwazyjny (naciekający)- około 80%
• przewodowy (DCIS, ang. <i>ductal carcinoma in situ</i>) • zrazikowy (LCIS, ang. <i>lobular carcinoma in situ</i>)	• NST (<i>no special type</i>) „rak naciekający o nieustalonym typie”- 70-80% • zrazikowy – ok.10% • inne rzadsze podtypy: cewkowy, śluzowy, rdzeniasty, sitowy, apokrynowy, gruczołowo-torbielowaty

Na podstawie badań immunohistochemicznych (IHC, ang. *immunohistochemistry*) materiału tkankowego guza określa się ekspresję receptora estrogenowego (ER, ang. *estrogen receptor*) i progesteronowego (PgR, ang. *progesterone receptor*),

stan receptora naskórkowego czynnika wzrostu typu 2 (HER2, ang. *human epidermal growth factor receptor type 2*) oraz wskaźnik proliferacji Ki-67.⁶⁰ W tabeli 6 przedstawiono podział molekularny podtypów raka piersi na podstawie oceny immunohistochemicznej.

Tabela 6. Podział molekularny podtypów raka piersi ⁶⁰.

Podtyp	ER	PgR	Ki-67	HER2
Luminalny A	+	≥ 20%	< 20%	-
Luminalny B z HER2	+	+	Dowolne	+
Luminalny B bez HER2	+	< 20%	≥ 20%	-
HER2(+) nieluminalny	-	-	Dowolne	+
Rak trójujemny	-	-	Dowolne	-

ER (ang. *estrogen receptor*), PgR (ang. *progesterone receptor*), Ki-67 -marker proliferacji, HER2 (ang. *human epidermal growth factor receptor type 2*)

Raki piersi, które wykazują ekspresję receptorów steroidowych nazywamy luminalnymi. Wykazujące ekspresję receptora HER2 nazywamy HER-2 dodatnimi. „Potrójnie ujemnymi” nazywamy raki piersi, które nie wykazują ekspresji receptorów steroidowych ani receptora HER2. Mają one szczególnie agresywny przebieg.⁶⁰

W tabeli 7 przedstawiono klasyfikację pTNM raka piersi według VIII edycji klasyfikacji AJCC/UICC (AJCC, ang. *American Joint Committee on Cancer*, Amerykański Komitet ds. Raka; UICC ang. *Union for International Cancer Control*, Międzynarodowa Unia ds. Nowotworów).^{60,61} Zgodnie z VIII edycją klasyfikacji AJCC istnieją dwa sposoby oceny stopnia zaawansowania klinicznego raka piersi. Pierwszy – przedstawiony w tabeli 8, określany jako anatomiczny, zalecany w krajach, w których nie ma możliwości oceny czynników predykcyjnych (ER, PgR, HER2). Z kolei w krajach rozwiniętych, zaleca się ocenę prognostycznego stopnia zaawansowania klinicznego wzbogaconego o wyniki oceny stopnia złośliwości (G) i stan receptorów ER, PgR i HER2.⁶⁰

Tabela 7. Klasyfikacja pTNM raka piersi.^{60,61}

pT		
Tx		Nie można ocenić guza
T0		Brak guza
Tis		Rak <i>in situ</i>
	Tis (DCIS)	Rak przewodowy <i>in situ</i>
	Tis (Paget)	Rak Pageta (bez raka naciekającego ani <i>in situ</i> w piersi)
T1		Rak naciekający ≤ 20 mm
	T1mi	Rak mikronaciekający ≤ 1 mm
	T1a	Rak naciekający > 1 mm i ≤ 5 mm
	T1b	Rak naciekający > 5 mm i ≤ 10 mm
	T1c	Rak naciekający > 10 mm i ≤ 20 mm
T2		Rak naciekający > 20 mm i ≤ 50 mm
T3		Rak naciekający > 50 mm
T4		Rak naciekający każdej wielkości z inwazją ciany klatki piersiowej i skóry (owrzodzenie lub guzki satelitarne, ale naciekanie wyłącznie skóry właściwej)
	T4a	Naciekanie ściany klatki piersiowej (ale nie mięśni piersiowych)
	T4b	Owrzodzenie, guzki satelitarne, obrzęk skóry, który nie spełnia kryteriów raka zapalnego
	T4c	T4a + T4b
	T4d	Rak zapalny
pN		
Nx		Nie można ocenić węzłów
N0		Nie ma przerzutów do regionalnych węzłów chłonnych
	N0(i-)	Nie ma przerzutów do regionalnych węzłów chłonnych w badaniu HE i IHC
	N0(i+)	Wykryto izolowane komórki raka (HE lub IHC) ≤ 0,2 mm lub < 200 komórek
	N0(mol-)	Nie ma przerzutów do regionalnych węzłów chłonnych (również techniki biologii molekularnej)
	N0(mol+)	Wykryto molekularne cechy przerzutu przy negatywnym obrazie HE i IHC
N1		Przerzuty w 1-3 regionalnych węzłach chłonnych
	N1mi	Mikroprzerzuty > 0,2 mm lub > 200 komórek w 1-3 węzłach chłonnych
	N1a	Przerzuty w 1-3 regionalnych węzłach chłonnych (w tym co najmniej jednym > 2 mm)
	N1b	Przerzuty (lub mikroprzerzuty) w węzłach chłonnych piersiowych wewnętrznych (SLNB)
	N1c	N1a + N1b
N2		Przerzuty w 4-9 regionalnych węzłach chłonnych
	N2a	Przerzuty w 4-9 regionalnych węzłach chłonnych (w tym w co najmniej jednym > 2 mm)
	N2b	Przerzuty (lub mikroprzerzuty) w węzłach chłonnych piersiowych wewnętrznych przy braku przerzutów w pachowych węzłach chłonnych
N3		Przerzuty w ≥ 10 regionalnych węzłach chłonnych (pachowych) lub w węźle podobojczykowym (III piętro jamy pachowej)
	N3a	Przerzuty w ≥ 10 regionalnych węzłach chłonnych (pachowych) lub w węźle podobojczykowym (III piętro jamy pachowej)
	N3b	Pachowe(> 3) i piersiowe wewnętrzne
	N3c	Przerzut w węźle nadobojczykowym
pM		
M0		Bez przerzutów
M0(i+)		Komórki raka wykryte mikroskopowo bądź technikami biologii molekularnej we krwi lub w innych tkankach, z wyłączeniem regionalnych węzłów chłonnych ≤ 0,2 mm (lub ≤ 200 komórek), przy braku innych objawów przerzutów
M1		Przerzuty do odległych narządów (stwierdzenie klinicznie lub patomorfologicznie)

Objaśnienia: T – guz (ang. *tumor*); N – węzły chłonne (ang. *nodes*); M – przerzuty odległe (ang. *metastases*); DCIS – rak przewodowy *in situ* (ang. *ductal carcinoma in situ*); IHC – badania immunohistochemiczne; HE – barwienie hematoksyliną i eozyną.

Tabela 8. Klasyfikacja stopnia zaawansowania raka piersi wg klasyfikacji TNM^{60,61}

Stopień	T	N	M
0	Tis	N0	M0
IA	T1	N0	M0
IB	T0	N1mi	M0
	T1	N1mi	M0
IIA	T0	N1	M0
	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
IIIA	T0	N2	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
	T3	N2	M0
IIIB	T4	N0	M0
	T4	N1	M0
	T4	N2	M0
IIIC	Każde T	N3	M0
IV	Każde T	Każde N	M1

Objaśnienia: T – guz (ang. *tumor*); N – węzły chłonne (ang. *nodes*); M – przerzuty odległe (ang. *metastases*).

1.10. Rak jelita grubego

Rak jelita grubego jest nowotworem powstającym z nabłonka jelita, występuje w okrężnicy, zgięciu esiczo-odbytniczym oraz w odbytnicy.⁶² Rak okrężnicy i rak zgięcia esiczo-odbytniczego występują niemal dwukrotnie częściej niż rak odbytnicy.

W Polsce w 2019 roku, trzecią najczęstszą przyczynę zgonów na nowotwory złośliwe u kobiet i mężczyzn, stanowiły raki jelita grubego. Zapadalność oraz umieralność na ten nowotwór stale rosną.⁵⁴

Do najważniejszych czynników warunkujących powstawanie i rozwój raka jelita grubego należą czynniki genetyczne i środowiskowe. Wśród czynników środowiskowych znaczącą rolę odgrywają złe nawyki żywieniowe. Zbyt kaloryczna dieta, bogata w czerwone mięso oraz tłuszcze nasycone zwiększają ryzyko zachorowania. Nadużywanie alkoholu, palenie tytoniu, mała aktywność fizyczna, otyłość, cukrzyca sprzyjają zachorowaniu.⁶² Osoby chorujące na wrzodziejące zapalenie jelita grubego, chorobę Leśniowskiego-Crohna oraz z rozpoznanymi polipami jelita grubego mają większe ryzyko zachorowania na raka jelita grubego.

W 5-6% przypadków raków jelita grubego występuje rak dziedziczny. Najczęściej występuje dziedziczny rak jelita grubego bez polipowatości (HNPCC, ang. *hereditary nonpolyposis colorectal cancer* – zespół Lyncha I i II), spowodowany germinalnymi mutacjami genów naprawy DNA oraz rodzinna polipowatość gruczolakowata (FAP, ang. *familial adenomatous polyposis*) rozwijająca się na skutek mutacji germinalnej genu supresorowego APC.^{62,63} Poza zespołami dziedzicznymi, u około 20-30% pacjentów udaje się udowodnić rodzinne występowanie raka jelita grubego, pomimo nie wykrycia mutacji predysponującej do jego rozwoju. Ponad 70% przypadków raka jelita grubego ma charakter sporadyczny, wywołany mutacjami somatycznymi.^{62,63}

Podstawowym badaniem diagnostycznym w raku jelita grubego jest kolonoskopia. Rozpoznanie następuje na podstawie badania histopatologicznego i immunohistochemicznego w powiązaniu z wynikami badań endoskopowych i obrazowych.⁶³

Najczęstszym typem histologicznym raka jelita grubego jest gruczolakorak (około 90% przypadków). Znacznie rzadziej rozpoznaje się raka gruczolowego śluzowego, śluzowo-komórkowego. Jeszcze rzadziej występuje rak drobnokomórkowy, rak

gruczołowo-płaskonabłonkowy, rak płaskonabłonkowy, rak rdzeniasty, rak niezróżnicowany.^{62,63}

W tabeli 9 przedstawiono klasyfikację pTNM raka jelita grubego wg VIII edycji klasyfikacji TNM/AJCC (ang. *American Joint Committee on Cancer*, Amerykański Komitet ds. Raka).⁶³

Tabela 9. Klasyfikacja pTNM raka jelita grubego.⁶³

Cecha	Zaawansowanie
T	Guz pierwotny
TX	Pierwotny guz nie był zbadany
T0	Nie stwierdzono guza pierwotnego
Tis	<i>Carcinoma in situ, intramucosal carcinoma</i> – zajęcie blaszki właściwej błony śluzowej bez przekroczenia blaszki mięśniowej śluzówki (<i>muscularis mucosae</i>)
T1	Naciek raka ograniczony do błony podśluzowej
T2	Naciek raka w mięśniówce właściwej
T3	Naciek raka przekracza mięśniówkę właściwą i wnika do tkanki tłuszczowej przedsurowicówkowej
T4	Naciek zajmuje otrzewną trzewną lub nacieka przylegające narządy lub struktury
a	Rak nacieka otrzewną (surowicówkę)
b	Rak przez ciągłość naciera przylegające tkanki i narządy
N	Regionalne węzły chłonne
NX	Regionalne węzły chłonne nie były zbadane
N0	Brak przerzutów w regionalnych węzłach chłonnych
N1	Przerzuty obecne w 1-3 węzłach lub każda liczba depozytów komórkowych przy nieobecności przerzutów w węzłach chłonnych
a	Przerzuty w 1 węźle chłonnym
b	Przerzuty w 2-3 węzłach chłonnych
c	Węzły chłonne bez przerzutów, obecne depozyty komórkowe w tkance przedsurowicówkowej, krezce, tkance okołojelitowej niepokrytej surowicówką
N2	4 lub więcej węzłów chłonnych z przerzutami
a	Przerzuty w 4-6 regionalnych węzłach chłonnych
b	Przerzuty w 7 lub więcej regionalnych węzłach chłonnych
M	Przerzuty odległe
MX	Przerzuty odległe nie były zbadane
M0	Przerzuty odległe nieobecne
M1	Przerzuty odległe obecne
a	Przerzuty odległe w jednym narządzie i bez przerzutów do otrzewnej
b	Przerzuty odległe w więcej niż jednym narządzie i bez przerzutów do otrzewnej
c	Przerzuty odległe do otrzewnej bez lub z przerzutami do innych narządów

AJCC(ang. *American Joint Committee on Cancer*, Amerykańskie Towarzystwo do Walki z Rakiem); T- guz (ang. *tumor*); N-węzły chłonne (ang. *nodes*); M-przerzuty odległe (ang. *metastases*).

Stopnie zaawansowania według TNM dla raka jelita grubego wg VIII edycji klasyfikacji AJCC z 2017 r. przedstawiono w tabeli 10.

Tabela 10. Stopnie zaawansowania wg TNM- rak jelita grubego.⁶³

Cecha		Tis	T1	T2	T3	T4a	T4b	
N0 M0		0	I		IIA	IIB	IIC	
N1 M0	N1a	IIIA			IIIB		IIIC	
	N1b							
	N1c							
N2 M0	N2a	IIA		IIIB		IIC		
	N2b	IIIB			IIIC			
M1	M1a	IVA						
	M1b	IVB						
	M1c	IVC						

Objaśnienia: T – guz (ang. *tumor*); N – węzły chłonne (ang. *nodes*); M – przerzuty odległe (ang. *metastases*);

1.11. Rola badań laboratoryjnych w diagnostyce nowotworów

Badania laboratoryjne w diagnostyce onkologicznej pełnią rolę pomocniczą. Ważne miejsce wśród badań laboratoryjnych zajmują markery nowotworowe. Można je zdefiniować jako substancje wielkocząsteczkowe, najczęściej o budowie białkowej z komponentą lipidową, węglowodanową. Mogą być produkowane przez komórki nowotworowe jak również przez komórki prawidłowe.^{64,65} Jednak ze względu na ograniczoną czułość diagnostyczną (prawdopodobieństwo uzyskania wyniku dodatniego u chorego na raka), swoistość diagnostyczną (prawdopodobieństwo uzyskania prawidłowego wyniku u osoby zdrowej) oraz swoistość narządową, ich użyteczność diagnostyczna jest ograniczona.⁶⁴ W tabeli 11 przedstawiono przydatność kliniczną wybranych markerów nowotworowych w monitorowaniu przebiegu choroby.

Tabela 11. Przydatność kliniczna wybranych markerów nowotworowych w monitorowaniu choroby (opracowanie na podstawie^{64,65}).

Marker podstawowy	Rodzaj nowotworu
CEA (antygen karcynoembrionalny)	Rak jelita grubego, odbytu, odbytnicy,
AFP (alfa-fetoproteina)	Pierwotny rak wątroby, nowotwory z komórek rozrodczych - nasieniaki
CA-19.9 (antygen rakowy 19.9)	Rak trzustki, pęcherzyka żółciowego, nowotwory przewodu pokarmowego
CA 72-4 (antygen rakowy 72.4)	Rak żołądka
CA 125 (antygen rakowy 125)	Rak jajnika, endometrium, przewodu pokarmowego
CA 15.3 (antygen rakowy 15.3)	Rak piersi, rak jajnika, nowotwory przewodu pokarmowego
HE4 (antygen 4. ludzkiego białka najądrza)	Rak jajnika
β-hCG (podjednostka beta gonadotropiny kosmówkowej)	Rak jądra, nabłoniak kosmówkowy
NSE (specyficzna enolaza neuronowa)	Rak oskrzela drobnokomórkowy, neuroblastoma
PSA (swoisty antygen sterczowy)	Rak gruczołu sterczowego
CYFRA 21-1 (fragment cytokeratyny 19)	Rak oskrzela niedrobnokomórkowy, rak płuca płaskonabłonkowy, rak piersi, jajnika, trzustki, żołądka
SCC-Ag (antygen raka płaskonabłonkowego)	Rak szyjki macicy, rak płaskonabłonkowy oskrzeli, głowy, szyi, przełyku
Kalcytonina	Rak rdzeniasty tarczycy
TPS (specyficzny polipeptydowy antygen tkankowy)	Rak piersi, płuca, przewodu pokarmowego
Pro-GRP (prekursor peptydu uwalniającego gastrynę)	Rak drobnokomórkowy płuca

Oznaczanie stężeń markerów nowotworowych w surowicy może służyć monitorowaniu przebiegu choroby: ocenie skuteczności leczenia onkologicznego, wykryciu wznowy, zwłaszcza u pacjentów z wyjściowo podwyższonymi stężeniami markerów.^{66,67}

W raku jelita grubego powszechnie stosowanym markerem jest antygen karcynoembrionalny (CEA). Ważne jest oznaczenie stężenia tego markera przed rozpoczęciem leczenia, w celu monitorowania leczenia, wykrycia wznowy i/lub odległych przerzutów.⁶⁷ Należy podkreślić, że marker ten nie jest wystarczająco czuły i swoisty, wzrost jego stężenia obserwujemy w stanach zapalnych przewodu pokarmowego oraz zmianach nowotworowych i nienowotworowych innych narządów. Zastosowanie w monitorowaniu chorych na raka jelita grubego ma również antygen

CA 19-9.⁶⁴ Wzrost jego stężenia obserwowany jest także w innych nowotworach przewodu pokarmowego.⁶⁸

Markerem oznaczanym w raku piersi jest antygen CA15-3. Nie jest to marker swoisty dla raka piersi, jego podwyższony poziom obserwuje m.in. się u chorych na raka jajnika, oskrzeli, trzustki, wątroby, żołądka, jelita grubego. CA 15-3 może być pomocny u chorych na zaawansowanego raka gruczołu piersiowego, do monitorowania leczenia oraz rozpoznawania wznowy.⁶⁸

W raku płuc markery mają ograniczoną przydatność, mogą być pomocne w monitorowaniu leczenia i ocenie efektywności stosowanej terapii. U chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca oznacza się stężenie antygeny CEA (ang. *carcinoembryonic antigen*, antygen karcynoembrionalny), antygeny SCC (ang. *squamous cell carcinoma antigen*, antygen raka płaskonabłonkowego) oraz fragmentów cytokeratyn: TPA (ang. *tissue polypeptide antigen*, tkankowy antygen polipeptydowy), TPS (ang. *tissue polypeptide specific antigen*, specyficzny polipeptydowy antygen tkankowy), CYFRA 21-1 (ang. *serum cytokeratin 19 fragment*, fragment cytokeratyny 19).⁶⁹ U chorych na raka drobnokomórkowego płuc - NSE (ang. *neuron specific enolase*, specyficzna enolaza neuronalna) oraz ProGRP (ang. *pro-gastrin-releasing peptide*, prekursor peptydu uwalniającego gastrynę).⁷⁰ Markerem z wyboru w raku płaskonabłonkowym płuc jest antygen CYFRA 21-1.⁷¹

Badania laboratoryjne w procesie diagnostyki nowotworów dostarczają dodatkowych informacji przydatnych w ocenie ogólnego stanu zdrowia chorych. Wykrywają nieswoiste następstwa choroby nowotworowej jak na przykład niedokrwistość (niedokrwistość chorób przewlekłych - ACD, ang. *anemia of chronic disease*)⁷², zaburzenia metaboliczne, w tym wodno-elektrolitowe, zaburzenia składu białek osocza. Służą do oceny nasilenia stanu zapalnego (białka ostrej fazy). Uznany markerem stosowanym do oceny nasilenia ogólnoustrojowej odpowiedzi zapalnej jest białko C-reaktywne.

W ostatnich latach bada się użyteczność parametrów morfologii krwi przedstawianych jako wskaźniki stanu zapalnego: wskaźnik neutrofile:limfocyty NLR (ang. *Neutrophil to Lymphocyte Ratio*), wskaźnik monocytu:limfocyty MLR (ang. *Monocyte to Lymphocyte Ratio*), wskaźnik płytki krwi:limfocyty PLR (ang. *Platelet to Lymphocyte Ratio*).⁷³⁻⁷⁶

Zmiany liczby poszczególnych populacji krwinek białych i płytek krwi oraz ich wzajemne oddziaływania w związku z rozwojem nowotworu, kierują naszą uwagę

ku ocenie morfologii krwi. To podstawowe badanie laboratoryjne może być źródłem dodatkowych, cennych informacji z zakresu procesu zapalnego w przebiegu choroby nowotworowej. Szczegółowa analiza uzyskanych wartości krwinkowych wskaźników zapalnych, u osób zdrowych i chorych na nowotwór, przez wielu badaczy w różnych sytuacjach klinicznych, pozwoli ustalić znaczenie NLR, MLR i PLR w onkologii.

2. Założenia i cel pracy

Choroba nowotworowa stanowi istotny problem medyczny oraz społeczny na całym świecie. Proces zapalny stanowi uznany element rozwoju choroby nowotworowej. Na każdym etapie opieki nad pacjentem onkologicznym (w diagnostyce różnicowej, w monitorowaniu przebiegu choroby) badanie morfologii krwi jest szeroko stosowane. Ocena wskaźników zapalnych wyliczanych z parametrów morfologii krwi: wskaźnik neutrocyty:limfocyty, wskaźnik monocyty:limfocyty, wskaźnik płytki krwi:limfocyty, zarówno u osób zdrowych jak i u pacjentów z różnymi chorobami nowotworowymi, przyczyni się do ustalenia ich znaczenia diagnostycznego. Wyniki analizy użyteczności klinicznej wyżej wymienionych wskaźników mogą pozwolić na pełniejsze wykorzystanie badania morfologii krwi w ocenie rozwoju choroby nowotworowej.

Celem głównym pracy jest:

ocena użyteczności klinicznej wskaźników stanu zapalnego wyliczonych na podstawie bezwzględnej liczby wybranych komórek w ocenie morfologii krwi: neutrocyty:limfocyty, monocyty:limfocyty i płytki krwi:limfocyty u dorosłych chorych na raka piersi i raka jelita grubego.

Celami szczegółowymi są:

1. Ocena krwinkowych wskaźników: neutrocyty:limfocyty, monocyty:limfocyty, płytki krwi:limfocyty u zdrowych dorosłych osób, z uwzględnieniem płci.
2. Ocena krwinkowych wskaźników: neutrocyty:limfocyty, monocyty:limfocyty, płytki krwi:limfocyty u chorych na raka piersi i raka jelita grubego, w odniesieniu do wybranych laboratoryjnych wykładników choroby nowotworowej: podstawowych markerów nowotworowych dla monitorowania raka piersi i raka jelita grubego, białka C-reaktywnego, pozostałych parametrów oceny morfologii krwi.
3. Ocena krwinkowych wskaźników: neutrocyty:limfocyty, monocyty:limfocyty, płytki krwi:limfocyty u chorych na raka piersi i raka jelita grubego, z uwzględnieniem klasyfikacji klinicznej nowotworu (*tumor-node-metastasis*).

3. Materiał i metody

Projekt badawczy nie jest eksperymentem medycznym i nie wymagał zgody Komisji Bioetycznej (stosowną Opinię wydała Komisja Bioetyczna UMP – skan dołączono do rozprawy).

Praca została wykonana w Katedrze i Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego im Karola Marcinkowskiego w Poznaniu na podstawie analizy dokumentacji medycznej pacjentów Szpitala Klinicznego Przemienienia Pańskiego UM w Poznaniu (SKPP-UMP) w latach 2016-2019.

3.1. Populacja badana

Grupę badaną stanowili pacjenci Poradni Chemioterapii, Poradni Chirurgii Onkologicznej, Oddziału Chemioterapii, Oddziału Chirurgii Onkologicznej Szpitala Klinicznego *Przemienienia Pańskiego* Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (SKPP-UMP) z rozpoznany rakiem piersi (BC, ang. *breast cancer*) i rakiem jelita grubego (CC, ang. *colon cancer*). Po przeanalizowaniu dokumentacji medycznej, do badań zakwalifikowano pacjentów z rozpoznaną chorobą nowotworową, przed rozpoczęciem leczenia, z wykluczeniem ostrego stanu zapalnego i niewydolności narządowej, z wykluczeniem zażywania leków przeciwzapalnych i immunosupresyjnych. Grupa pacjentów z rakiem piersi (BC) obejmowała 93 kobiety w wieku od 25 do 70 lat. Grupa pacjentów z rakiem jelita grubego (CC) liczyła 89 osób w wieku 25 do 85 lat, w tym 28 kobiet (CC-K) w wieku 35 do 80 lat oraz 61 mężczyzn (CC-M) w wieku 25 do 85 lat.

Grupę porównawczą stanowiły osoby zdrowe, pracownicy SKPP-UMP w trakcie badań okresowych przeprowadzonych przez lekarza medycyny pracy w Poradni Badań Okresowych (PBO). Stan zapalny wykluczono na podstawie oceny stężenia białka C-reaktywnego (CRP, ang. *C-reactive protein*) <10 mg/l. Ostatecznie, po przeanalizowaniu dokumentacji medycznej, zakwalifikowano 186 osób w wieku od 24 do 69 lat, w tym 93 kobiety w wieku od 23 do 69 lat i 93 mężczyzn w wieku od 23 do 69 lat. Analizie poddano wyniki morfologii krwi i stężenia białka C-reaktywnego.

Materiałem do badania morfologii krwi była krew żylna pełna, pobrana rano na czczo, do próbek S-Monovette firmy Sarstedt, zawierających jako antykoagulant

wersenian dipotasowy (EDTA-K₂, sól dwupotasowa kwasu etylenodiaminotetraoctowego, ang. *dipotassium ethylenediaminetetra acetic*). Badania biochemiczne wykonano w surowicy uzyskanej po odwirowaniu krwi pobranej do probówek z aktywatorem krzepnięcia. Krew do badań laboratoryjnych była pobierana zgodnie z obowiązującymi standardami przygotowania pacjenta i pobierania krwi.

Dla wszystkich osób, zarówno z grupy porównawczej (PBO) jak i badanej (BC,CC), na podstawie parametrów morfologii krwi wyliczono krwinkowe wskaźniki zapalne:

NLR (ang. *Neutrophil to Lymphocyte Ratio*) – stosunek bezwzględnej liczby neutrofilek do bezwzględnej liczby limfocytów: wskaźnik neutrofilek:limfocyty

MLR (ang. *Monocyte to Lymphocyte Ratio*) – stosunek bezwzględnej liczby monocytów do bezwzględnej liczby limfocytów: wskaźnik monocyty:limfocyty

PLR (ang. *Platelet to Lymphocyte Ratio*) - stosunek liczby płytek do bezwzględnej liczby limfocytów: wskaźnik płytki krwi:limfocyty.

Dane kliniczne z historii choroby pacjentów uzyskano dzięki współpracy z jednostkami klinicznymi SKPP-UMP (Poradnia Badań Okresowych, Katedra i Klinika Onkologii).

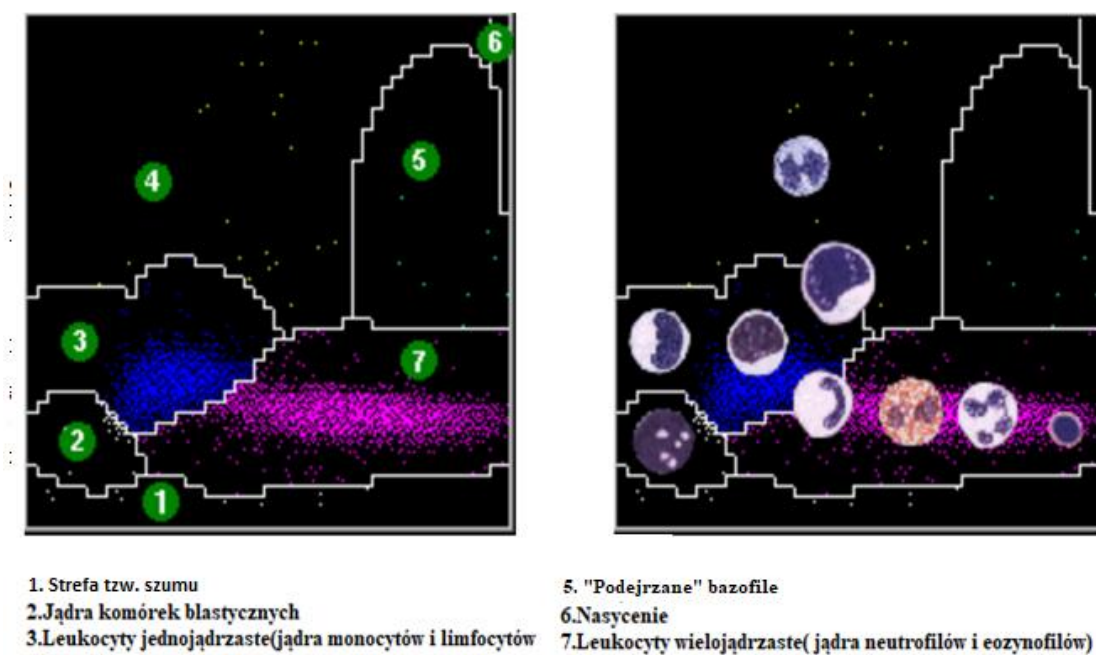
3.2. Metody badawcze

Badania laboratoryjne wykonano w Laboratorium Nr 2 SKPP-UMP: wyniki oceny morfologii krwi żyłnej pochodzą z analizatora hematologicznego ADVIA 2120i (Siemens, USA), wyniki badań biochemiczno-immunochemicznych z analizatorów Dimension EXL i Advia Centaur XP (Siemens, USA). Wszystkie badania podlegały codziennej wewnątrzlaboratoryjnej kontroli jakości przy użyciu odpowiednich materiałów kontrolnych o znanych zawartościach badanego analitu. Laboratorium bierze również regularny udział w obowiązkowej kontroli zewnątrzlaboratoryjnej organizowanej przez Centralny Ośrodek Badań Jakości w Diagnostyce Laboratoryjnej (COBJwDL) w Łodzi – uzyskując zaświadczenia dla programu hematologicznego, chemii klinicznej, immunochemii poszerzonej oraz wprowadzone od roku 2018, świadectwa dla programu chemii klinicznej. Laboratorium uczestniczy również w kontroli międzynarodowej RIQAS (ang. *Randox International Quality Assessment Scheme*) prowadzonej przez firmę Randox.

3.2.1. Metodyka badania morfologii krwi

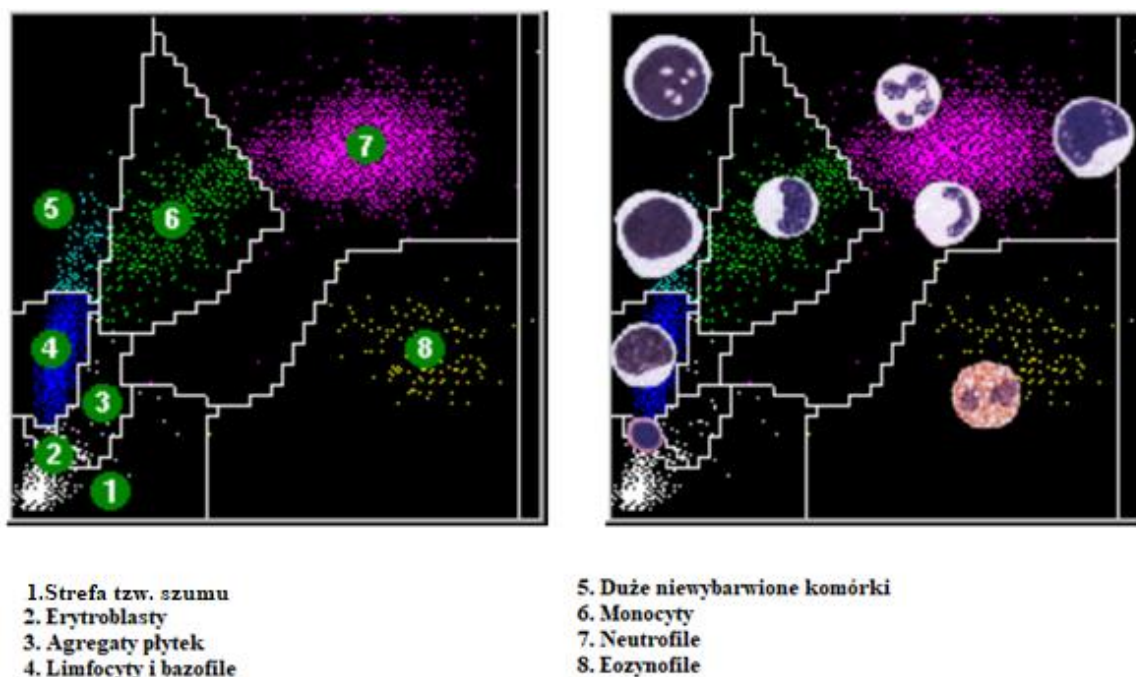
Analizator hematologiczny ADVIA 2120i dokonuje pomiaru liczby leukocytów oraz różnicowania krwinek białych na pięć populacji przy użyciu optycznej technologii pomiarowej, w dwóch odrębnych kanałach pomiarowych (kanał „Baso” i kanał „Perox”), wykorzystując pomiar światła rozproszonego oraz reakcje cytochemiczne.

W kanale „Baso” pod wpływem odczynnika lizującego rozpadowi ulegają erytrocyty oraz płytki krwi. Następnie po zadziałaniu odczynnika „baso” oraz wysokiej temperatury leukocyty z wyjątkiem bazofilów, zostają pozbawione błony komórkowej oraz cytoplazmy. Tak przygotowana zawiesina komórek z komory reakcyjnej przechodzi do komory przepływowej, gdzie następuje pomiar rozproszenia światła pod niskim ($2-3^\circ$) oraz wysokim ($5-15^\circ$) kątem podczas przechodzenia każdego leukocyty przez światło lasera. Różnicowanie krwinek białych odbywa się w oparciu o wielkość komórki, wielkość oraz kształt jądra komórkowego i gęstość chromatyny. Leukocyty zostają przyporządkowane do trzech populacji: polimorfonukleary (komórki z jądrem wielopłętowym tj. neutrofile i eozynofile) oraz mononukleary (leukocyty z jądrem jednopłętowym tj. limfocyty i monocyty) oraz bazofile. Na rycinie 5 przedstawiono cytogram leukocytów w kanale „Baso” z widocznymi skupieniami lub populacjami komórek. Na osi X odkładane są wartości rozpraszania światła pod wysokim kątem (konfiguracja jąder), na osi Y wartości rozpraszania światła pod niskim kątem (wielkość komórki).⁷⁷



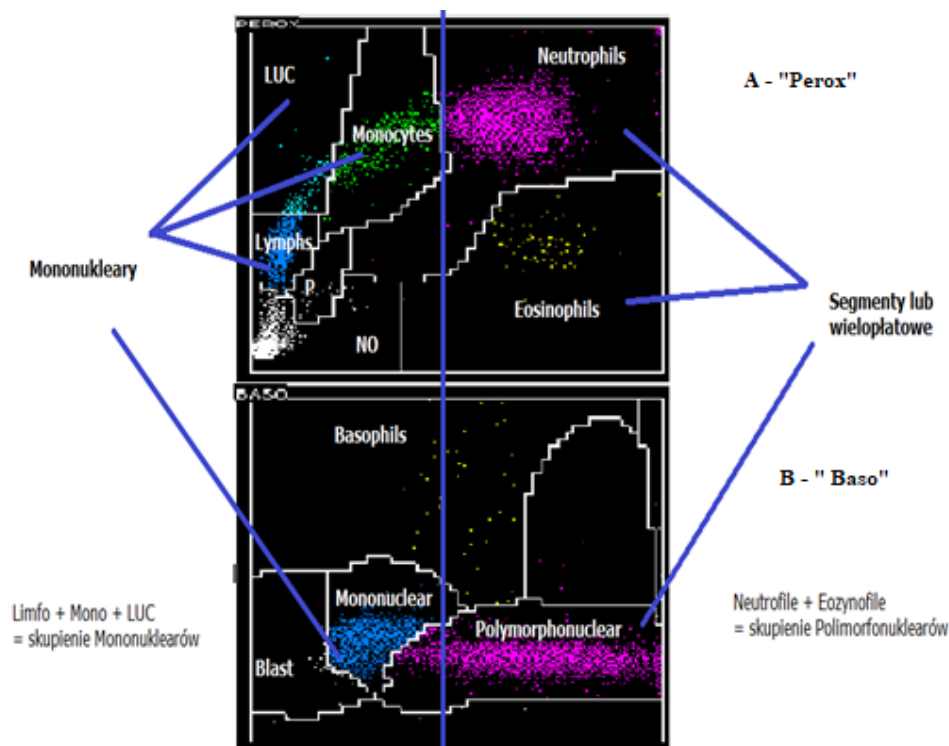
Rycina 5. Cytogram leukocytów w kanale „Baso”.⁷⁷

Pod wpływem odczynnika „Perox 1,2,3” następuje wybarwienie komórek zawierających enzym – peroksydazę. Neutrocyty, eozynocyty i monocyty barwią się w zależności od prezentowanej aktywności peroksydazy. Limfocyty i bazofile pozostają niewybarwione ze względu na brak peroksydazy. Dodatkową populację stanowią tzw. duże niewybarwione komórki (LUC, ang. *Large Unstained Cells*). W pierwszym etapie reakcji odczynnik „Perox 1” powoduje lizę erytrocytów pod wpływem działania surfaktantów i wysokiej temperatury oraz utrwalenie leukocytów przez formaldehyd. Następnie substraty zawarte w odczynnikach „Perox 2” (4-chloro-1-naftol) i „Perox 3” (nadtlenek wodoru) pod wpływem peroksydazy komórkowej powodują zabarwienie leukocytów zawierających aktywną peroksydazę (powstaje ciemny osad w komórkach). Na rycinie 6 przedstawiono cytogramy „Perox”. Na osi X odkładane są wartości absorpcji światła zależne od aktywności peroksydazy (poziom aktywności enzymu), a na osi Y wartości rozpraszania światła (wielkość komórki).⁷⁷



Rycina 6. Cytogram leukocytów w kanale „Perox”.⁷⁷

Analizator przed przedstawieniem wyniku liczby leukocytów oraz ich zróżnicowania na populacje porównuje cytogramy z obu kanałów. Na rycinie 7 przedstawiono analizę porównawczą cytogramów „Perox” (A) i „Baso” (B). W przypadku wykrycia w próbce krwi neutrocytów z nieprawidłową aktywnością mieloperoksydazy cytogram „Baso” będzie prawidłowy. Natomiast w cytogramie „Perox” neutrofile z obniżoną aktywnością mieloperoksydazy zostaną przesunięte do populacji monocytów a neutrocyty z brakiem aktywności tego enzymu do populacji LUC z równoczesną pseudoneutropenią. Analizator porównując wyniki uzyskane przy udziale dwóch metod, wykrywa różnice i załącza do wyniku flagę „MPOD” (ang. *myeloperoxidase deficiency*).⁷⁷ Należy wówczas zweryfikować nieprawidłowości referencyjną metodą manualną – dokonać oceny rozmazu ręcznego krwi pod mikroskopem. Z grupy badanej oraz porównawczej wykluczono osoby z niedoborem mieloperoksydazy neutrocytów.



Rycina 7. Analiza porównawcza cytogramów „Pero” (A) z „Baso” (B)⁷⁷.

Eryocyty oraz płytki krwi pod wpływem odczynnika (laurylosiarczan sodowy i aldehyd glutarowy) przybierają kształt kulisty, przechodząc przez komorę przepływową odbywa się pomiar rozpraszania światła pod niskim (od 2° do 3°) oraz wysokim (od 5° do 15°) kątem. Wartość pomiaru rozpraszania światła pod niskim kątem jest konwertowana do objętości komórki. Na podstawie analizy histogramu objętości krwinek czerwonych analizator oblicza średnia objętość krwinki czerwonej (MCV, ang. *mean corpuscular volume*) oraz wskaźnik anizocytozy krwinek czerwonych (RDW, ang. *red cell distribution width*).⁷⁷

Stężenie hemoglobiny analizator oznacza metodą kolorymetryczną, bezcyjankową.

Hematokryt jest parametrem wyliczanym matematycznie poprzez pomnożenie liczby erytrocytów przez ich objętość. Średnią masę hemoglobiny w krwince czerwonej (MCH, ang. *mean corpuscular haemoglobin*) obliczamy ze stężenia hemoglobiny oraz liczby erytrocytów. Średnie stężenie hemoglobiny w krwinkach czerwonych (MCHC, ang. *mean corpuscular haemoglobin concentration*) ze stężenia hemoglobiny i hematokrytu.⁷⁷

Współczynniki zmienności międzyseryjnej (CV%) dla parametrów morfologii przedstawiały się następująco: WBC - 2,7%, RBC - 1,0%, HGB - 0,8%, MCV - 0,4%,

RDW - 0,6%, PLT - 2,7%, MPV – 1,4%, %NEUT - 1,6%, %LYMPH - 2,9%, %MON - 6,9%, %EOS - 8,8%, %BASO - 20%, %LUC - 16,0%.

Zakresy pomiarowe wynosiły: dla WBC 0,02-400 x10⁹/l; RBC 0,0-7,0 x10¹²/l;

PLT-5- 3500 x10⁹/l; HGB 0 – 13,96 mmol/l.

Zakresy wartości referencyjnych dla parametrów morfologii krwi z analizatora Advia 2120i (Siemens, USA) przedstawiono w tabeli 12.

Tabela 12. Zakresy wartości referencyjnych parametrów morfologii krwi z analizatora Advia 2120i

Parametr	Wartość liczbową	Jednostka
WBC	4 - 10	10 ⁹ /l
% NEU	45 - 70	%
% LYM	20 - 45	%
% MONO	0 - 9	%
% EOS	0 - 5	%
% BASO	0 -1,5	%
% LUC	0 - 4	%
NEU	1,8 - 7,0	10 ⁹ /l
LYM	0,8 - 4,5	10 ⁹ /l
MONO	0 - 0,9	10 ⁹ /l
EOS	0 - 0,5	10 ⁹ /l
BASO	0 - 0,15	10 ⁹ /l
LUC	0 – 0,4	10 ⁹ /l
RBC	K: 4,0-5,0 M: 4,5-5,5	10 ¹² /l
HGB	K: 7,45-10,0 M: 8,0-11,0	mmol/l
HCT	K: 0,36-0,47 M: 0,40-0,54	l/l
MCV	82 - 97	fl
MCH	1,64 – 2,08	mmol/l
MCHC	20 - 22	mmol/l
RDW	11 – 15	%
PLT	130 - 390	10 ⁹ /l
MPV	7 – 11	fl

Objaśnienia: WBC-leukocyty, NEU-neutrofile, LYM-limfocyty, MONO-monocyty, EOS-eozynocyty, BASO-bazocyty, RBC-erytrocyty, HGB-hemoglobina, HCT-hematokryt, MCV-średnia objętość erytrocytu, MCH-średnia masa hemoglobiny w erytrocycie, MCHC-średnie stężenie hemoglobiny w erytrocycie, RDW-rozpiętość rozkładu objętości erytrocytów, PLT-płytki krwi, MPV-średnia objętość płytki, M-mężczyźni, K-kobiety.

3.2.2. Metodyki oznaczeń parametrów biochemiczno-immunochemicznych

Oznaczenia parametrów biochemiczno-immunochemicznych przeprowadzono w Laboratorium Nr 2 SKPP w Pracowni Biochemii i Immunochemii przy użyciu analizatorów: Dimension EXL, Siemens USA (CRP, LDH, glukoza, AlAT, AspAT, kreatynina, bilirubina, mocznik, cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, TG) oraz Advia Centaur® XP, Siemens USA (CEA, CA19.9, CA15.3).

Metoda oznaczania stężenia białka C-reaktywnego

Stężenie białka C-reaktywnego w surowicy oznaczano wysokoczułą metodą immunologiczną przy użyciu techniki turbidymetrycznej. Czułość analityczna testu: 0,5 mg/l. Zakres pomiaru analitycznego: 0,5–250 mg/l. Wartości referencyjne ≤ 3 mg/l. Współczynnik zmienności wewnątrzseryjnej wyniósł 2,3% a zmienności wewnątrzseryjnej 2,8%.

Metoda oznaczania aktywności LDH

Aktywność dehydrogenazy mleczanowej (LDH) oznaczano w surowicy krwi metodą kinetyczną. LDH katalizuje przemianę mleczanu w pirogronian w obecności dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NAD). Zakres pomiaru analitycznego: 6 - 1000 U/l. Wartości referencyjne: mężczyźni 85-227 U/l, kobiety 81-234 U/l. Współczynnik zmienności wewnątrzseryjnej wyniósł 1,0%, zmienności międzyseryjnej 2,4%.

Metoda oznaczania stężenia glukozy

Stężenie glukozy w surowicy krwi oznaczano metodą enzymatyczną z użyciem heksokinazy. Zakres pomiaru analitycznego: 0–27,8 mmol/l (0–500 mg/dl), czułość analityczna: 0,056 mmol/l (1 mg/dl) Wartości referencyjne: 4,1–5,9 mmol/l (74–106 mg/dl). Współczynnik zmienności wewnątrzseryjnej metody wyniósł 0,7%, zmienności międzyseryjnej 1,4%.

Metoda oznaczania ALAT

Aktywność aminotransferazy alaninowej oznaczano metodą kinetyczną z użyciem NADH, buforu Tris i fosforanu pirydoksalu (wg IFCC, ang. *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*). Zakres pomiaru analitycznego: 6-1000 U/l. Czułość analityczna: 6 U/l. Wartości referencyjne: 10-45 U/l. Współczynnik zmienności wewnątrzseryjnej metody wyniósł 1,33%, a zmienności międzyseryjnej 3,40%.

Metoda oznaczania AspAT

Aktywność aminotransferazy asparaginianowej oznaczano metodą kinetyczną przy użyciu NADH, buforu Tris i fosforanu pirydoksalu (wg IFCC). Zakres pomiaru analitycznego: 0-1000 U/l. Czułość analityczna: 5 U/l. Wartości referencyjne 15-37 U/l. Współczynnik zmienności wewnątrzseryjnej metody wyniósł 4,35%, a zmienności międzyseryjnej 5,67%.

Metoda oznaczania kreatyniny

Stężenie kreatyniny oznaczano metodą kolorymetryczną, kinetyczną z użyciem alkalicznego pikrynianu. Zakres pomiaru analitycznego: 13-1768 $\mu\text{mol/l}$. Czułość analityczna testu: 13 $\mu\text{mol/l}$. Wartości referencyjne: dla kobiet 49-90 $\mu\text{mol/l}$, dla mężczyzn 62-115 $\mu\text{mol/l}$. Współczynnik zmienności wewnątrzseryjnej metody wyniósł 2,0%, a zmienności międzyseryjnej 6,7%.

Metoda oznaczania bilirubiny

Stężenie bilirubiny oznaczano metodą kolorymetryczną z użyciem diazowanego kwasu sulfanilowego i kofeiny (metoda Jendrasika-Groffa). Zakres pomiaru analitycznego: 2- 428 $\mu\text{mol/l}$. Czułość analityczna: 2 $\mu\text{mol/l}$. Wartości referencyjne: 3- 17 $\mu\text{mol/l}$. Współczynnik zmienności wewnątrzseryjnej metody wyniósł 0,66%, zmienności międzyseryjnej 1,28%.

Metoda oznaczania mocznika

Stężenie mocznika oznaczano metodą enzymatyczną przy użyciu ureazy i dehydrogenazy glutaminowej. Zakres pomiaru analitycznego: 0-53,5 mmol/l (0-150 mg/dl). Czułość analityczna: 0,36 mmol/l (1mg/dl). Wartości referencyjne: 2,5-6,4 mmol/l (7-18 mg/dl). Współczynnik zmienności wewnątrzseryjnej metody wyniósł 2,55%, zmienności międzyseryjnej 4,4%.

Metoda oznaczania cholesterolu całkowitego

Stężenie cholesterolu całkowitego oznaczano metodą enzymatyczną z esterazą i oksydazą cholesterolową. Zakres pomiaru analitycznego: 1,3-15,5 mmol/l. Czułość analityczna: 1,3 mmol/l. Wartości pożądane <5,2 mmol/l. Współczynnik zmienności wewnątrzseryjnej metody wyniósł 0,88%, zmienności międzyseryjnej 1,55%.

Metoda oznaczania cholesterolu frakcji LDL

Stężenie cholesterolu frakcji LDL oznaczano bezpośrednią metodą enzymatyczną. Zakres pomiaru analitycznego: 0,13-7,8 mmol/l. Czułość analityczna: 0,13 mmol/l. Wartości pożądane w populacji ogólnej osób dorosłych <3,3 mmol/l. Współczynnik zmienności wewnątrzseryjnej metody wyniósł 1,13%, zmienności międzyseryjnej 2,42%.

Metoda oznaczania cholesterolu frakcji HDL

Stężenie cholesterolu frakcji HDL oznaczano bezpośrednią metodą enzymatyczną. Zakres pomiaru analitycznego: 0,08-3,89 mmol/l. Czułość analityczna: 0,08 mmol/l. Wartości referencyjne: dla kobiet $\geq 1,2$ mmol/l, dla mężczyzn $\geq 1,0$ mmol/l. Współczynnik zmienności wewnątrzseryjnej metody wyniósł 1,84%, zmienności międzyseryjnej 2,04%.

Metoda oznaczania triglicerydów

Stężenie triglicerydów oznaczano metodą enzymatyczną. Zakres pomiaru analitycznego: 0,17-11,3 mmol/l. Czułość analityczna: 0,17 mmol/l. Wartości referencyjne: 0,30-1,70 mmol/l. Współczynnik zmienności wewnątrzseryjnej metody wyniósł 0,42%, zmienności międzyseryjnej 0,95%.

Metoda oznaczania stężenia antygenu karcinoembrionalnego (CEA)

Stężenie CEA oznaczano przy użyciu metody immunologicznej opartej na technice chemiluminescencji bezpośredniej. Zakres pomiarowy: 0,5-100 ng/ml, czułość analityczna testu wynosi < 0,50 ng/ml. Zakres wartości referencyjnych <2,5 ng/ml, a dla osób palących <10 ng/ml. Współczynnik zmienności wewnątrzseryjnej metody wyniósł 2,08% a zmienności międzyseryjnej 3,51%.

Metoda oznaczania stężenia CA 19.9

Stężenie CA 19.9 oznaczano testem immunologicznym opartym na technice chemiluminescencji bezpośredniej. Zakres pomiarowy: 1,2-700 U/ml, czułość analityczna testu: 1,2 U/ml, zakres wartości referencyjnych < 37 U/ml. Współczynnik zmienności wewnątrzseryjnej wyniósł 5,05% a zmienności międzyseryjnej 2,96%.

Metoda oznaczania stężenia CA 15.3

Stężenie CA 15.3 oznaczano testem immunologicznym opartym na technice chemiluminescencji bezpośredniej. Zakres pomiarowy: 0,5-200 U/ml, czułość analityczna testu: 0,5 U/ml, zakres wartości referencyjnych < 32,4 U/ml. Współczynnik zmienności wewnątrzseryjnej metody wyniósł 2,05% a międzyseryjnej 4,10%.

3.2.3. Analiza statystyczna

Analizę statystyczną wyników uzyskanych w całej populacji porównawczej oraz w grupach porównawczych, w populacji badanej oraz w grupach badanych przeprowadzono przy użyciu programu Statistica v.13.3 (StatSoft Inc., USA). Za pomocą testu Shapiro-Wilka dokonano weryfikacji czy wyniki badanych zmiennych prezentują rozkład normalny.

Ze względu na brak rozkładu normalnego zastosowano w dalszej analizie testy nieparametryczne. Wyniki statystyki opisowej w całej populacji porównawczej i w podgrupach oraz w grupach i podgrupach badanych przedstawiono za pomocą mediany i zakresu międzykwartylowego. Przy pomocy testu U Manna-Whitneya zbadano istotność różnic między dwoma grupami. Testem Kruskala-Wallisa z analizą *post hoc* porównań wielokrotnych, dokonano porównania wielu grup. Za pomocą współczynnika R Spearmana oceniano korelację między badanymi zmiennymi. Siłę związku klasyfikowano jako nikłą ($0 < R < 0,1$), słabą ($0,1 \leq R < 0,3$), przeciętną ($0,3 \leq R < 0,5$), wysoką ($0,5 \leq R < 0,7$), bardzo wysoką ($0,7 \leq R < 0,9$) i prawie pełną ($0,9 \leq R < 1$)⁷⁸. Za istotne statystycznie uznano wyniki, gdy $p < 0,05$.

Przy zastosowaniu programu Med. Calc v. 20.110 (Med. Calc Software Ltd, Belgia) przeprowadzono ocenę statystyczną znaczenia dyskryminującego wskaźników NLR, MLR, PLR przy różnicowaniu dwóch grup: porównawczej i badanej. Program statystyczny zapewnia wykreślenie krzywych ROC, a następnie obliczenie pola pod krzywą (AUC, ang. *area under curve*) oraz wyznaczenie czułości i swoistości diagnostycznej wraz z wartością graniczną (odcięcia), umożliwiającą odróżnienie dwóch analizowanych grup. 100-procentowa zdolność różnicująca jest wynikiem uzyskania AUC o wartości 1. Jeżeli pole pod krzywą wynosi 0,5, tzn. zajmuje połowę pola całkowitego, oznacza to brak mocy dyskryminacyjnej danego parametru – po 50% szans na rozpoznanie i wykluczenie patologii. Analiza porównawcza krzywych ROC

dla ocenianych w pracy wskaźników NLR, MLR, PLR proponuje parametr cechujący się najwyższą czułością i swoistością oraz mocą dyskryminacyjną, przy zestawieniu dwóch analizowanych grup.

4. Wyniki

Analizę statystyczną przeprowadzono dla całej populacji porównawczej - grupa PBO (n=186), z uwzględnieniem mężczyzn - PBO-M (n=93) i kobiet - PBO-K (n=93), w populacji kobiet z rakiem piersi - BC (n=93), w populacji chorych z rakiem jelita grubego – CC (n=88), z uwzględnieniem mężczyzn - CC-M (n=60) i kobiet - CC-K (n=28).

4.1. Ocena populacji porównawczej z uwzględnieniem płci

4.1.1. Charakterystyka opisowa populacji porównawczej, z uwzględnieniem płci

W tabeli 13. przedstawiono charakterystykę opisową całej populacji porównawczej – grupa PBO (n=186) oraz oddzielnie: kobiet PBO-K (n=93) i mężczyzn PBO-M (n=93) w zakresie wieku, podstawowych parametrów laboratoryjnych (m.in. ocena morfologii krwi, ALAT, AspAT, bilirubina, glukoza) oraz krwinkowych wskaźników zapalnych (NLR, MLR, PLR). Stwierdzono, wynikające z różnic fizjologicznych płci, odmienności dla parametrów: RBC, HGB, HCT, MCH, MCHC, HDL-cholesterol, kreatynina. Ponadto w grupie PBO-M zaobserwowano wyższe aktywności enzymów ALAT i AspAT, oraz nieco wyższe stężenia glukozy, LDL- cholesterolu, wyższe wartości MPV oraz wyższą liczbę LUC.

Tabela 13. Charakterystyka opisowa populacji porównawczej oraz porównanie między kobietami i mężczyznami

	Wszyscy PBO n=186	Kobiety PBO-K n=93	Mężczyźni PBO-M n=93	* p
Wiek [lata]	47,0(34,0-57,0)	48,0 (36,0-56,0)	47,0 (33,0-59,0)	ns
RBC [x10¹²/l]	4,77 (40,45-5,03)	4,47 (4,29-4,71)	5,00 (4,79-5,21)	< 0,0001
HGB [mmol/l]	9,00 (8,30-9,60)	8,40 (7,30-9,60)	9,60 (9,20-9,90)	< 0,0001
HCT [l/l]	0,42 (0,40-0,45)	0,40 (0,38-0,42)	0,45 (0,43-0,47)	< 0,0001
MCV [fl]	89,00 (87,00-91,00)	89,00 (87,00-91,00)	89,00 (87,00-92,00)	ns
RDW [%]	13,20 (12,70-13,50)	13,10 (12,60-13,50)	13,20 (12,90-13,50)	ns
MCH [fmol]	1,89 (1,84-1,94)	1,88 (1,82-1,92)	1,90 (1,87-1,95)	0,0089
MCHC[mmol/l]	21,26 (20,74-21,71)	21,09 (20,58-21,52)	21,44 (21,02-21,86)	0,0002
PLT [x10⁹/l]	251,0 (219,0-281,0)	257,0 (223,0-292,0)	246,0 (211,0-277,0)	ns
MPV[fl]	7,90 (7,50-8,40)	8,10 (7,60-8,50)	7,70 (7,40-8,40)	0,0130
WBC [x10⁹/l]	6,24 (5,21-7,45)	6,23 (5,23-7,21)	6,25 (5,19-7,48)	ns
Neu [x10⁹/l]	3,35 (2,72-4,07)	3,34 (2,72-4,10)	3,40 (2,63-4,05)	ns
Lym [10⁹/l]	2,06 (1,68-2,45)	2,07 (1,65-2,41)	2,04 (1,71-2,54)	ns
Mono [x10⁹/l]	0,36 (0,30-0,44)	0,35 (0,28-0,42)	0,37 (0,32-0,45)	ns
Eos [x10⁹/l]	0,17 (0,12-0,25)	0,15 (0,12-0,24)	0,18 (0,13-0,27)	ns
Baso [x10⁹/l]	0,04 (0,03-0,05)	0,03 (0,03-0,05)	0,04 (0,03-0,05)	ns
LUC [x10⁹/l]	0,14 (0,11-0,18)	0,13 (0,11-0,16)	0,15 (0,13-0,19)	0,0013
AlAT [U/l]	30,00 (22,00-40,00)	24,00 (18,00-31,00)	38,00 (28,50-52,00)	< 0,0001
AspAT [U/l]	21,00 (18,00-26,00)	20,00 (17,00-23,00)	23,00 (20,00-28,00)	0,0027
Bilirubina [μmol/l]	10,30 (7,80-13,50)	9,80 (7,00-14,00)	10,80 (8,80-13,20)	ns
Glukoza [mmol/l]	5,40 (5,06-5,79)	5,30 (4,90-5,70)	5,50 (5,19-5,93)	0,0085
Kreatynina[μmol/l]	75,00 (64,00-85,00)	64,00 (57,80-73,00)	84,50 (78,00-93,70)	< 0,0001
Mocznik [mmol/l]	5,10 (4,30-5,90)	5,00 (4,00-5,90)	5,25 (4,40-6,05)	ns
T-C [mmol/l]	5,11 (4,50-5,97)	5,13 (4,55-5,87)	5,07 (4,49-6,06)	ns
HDL-C [mmol/l]	1,55 (1,22-1,81)	1,69 (1,39-1,95)	1,32 (1,09-1,65)	<0,0001
LDL-C [mmol/l]	3,12 (2,60-3,80)	2,92 (2,45-3,53)	3,35 (2,80-3,95)	0,0057
TG [mmol/l]	1,06 (0,78-1,52)	0,93 (0,75-1,43)	1,15 (0,81-1,74)	ns
CRP [mg/l]	2,00 (1,00-4,00)	2,20 (1,10-4,00)	1,4 (0,90-2,60)	ns
NLR	1,64 (1,28-2,11)	1,65 (1,28-2,13)	1,62 (1,28-2,04)	ns
MLR	0,18 (0,17-0,22)	0,18 (0,13-0,21)	0,18 (0,16-0,23)	ns
PLR	120,03 (99,50-153,64)	120,61 (100,51-164,67)	113,07 (97,71-143,45)	ns

Objaśnienia: PBO – populacja porównawcza; PBO-K – kobiety z populacji porównawczej; PBO-M – mężczyźni z populacji porównawczej; n – liczebność grupy; ns – nieistotne statystycznie; RBC – erytrocyty; HGB – hemoglobina; HCT – hematokryt; MCV – średnia objętość erytrocytu; RDW – rozpiętość rozkładu objętości erytrocytów; MCH – średnia masa hemoglobiny w erytrocytach; MCHC – średnie stężenie hemoglobiny w erytrocytach; PLT – płytki krwi; MPV – średnia objętość płytki krwi; WBC – leukocyty; Neu – neutrocyty; Lym – limfocyty; Mono – monocyty; Eos – eozynocyty; Baso – bazocyty; LUC – duże nie barwiące się komórki; AlAT – aminotransferaza alaninowa; AspAT – aminotransferaza asparaginowa; T-C – cholesterol całkowity; HDL-C – cholesterol frakcji HDL; LDL-C – cholesterol frakcji LDL; TG – triglicerydy; NLR – wskaźnik neutrocyty:limfocyty, MLR – wskaźnik monocyty:limfocyty; PLR – wskaźnik płytki krwi:limfocyty.

4.1.2. Porównanie krwinkowych wskaźników zapalnych w grupie kobiet i mężczyzn populacji porównawczej

W tabeli 14. przedstawiono statystykę opisową krwinkowych wskaźników zapalnych NLR, MLR, PLR dla całej populacji porównawczej (PBO) oraz wyniki porównania między grupą kobiet (PBO-K) i mężczyzn (PBO-M). Nie wykazano różnicy dla badanych wskaźników.

Tabela 14. Wskaźniki NLR, MLR, PLR w populacji porównawczej oraz porównanie grup kobiet i mężczyzn.

		Wszyscy (PBO) n=186	Kobiety (PBO-K) * n=93	Mężczyźni (PBO-M) * n=93	*p
NLR	Śr ±SD (min-max)	1,80 ± 0,76 (0,64-4,70)	1,89±0,89 (0,76-4,70)	1,71 ± 0,59 (0,64-3,59)	ns
	Me (d.kw;g.kw)	1,64 (1,28 ; 2,11)	1,65 (12,28 ; 2,13	1,62 (1,28 ; 2,04)	
MLR	Śr ±SD (min-max)	0,19 ±0,07 (0,05-0,46)	0,19±0,07 (0,08-0,46)	0,19 ± 0,07 (0,05-0,40)	ns
	Me (d.kw;g.kw)	0,18 (0,17 ; 0,22)	0,18 (0,13 ; 0,21)	0,18 (0,16 ; 0,23)	
PLR	Śr ±SD (min-max)	129,7±44,9 (62,0-300,0)	136,6±50,0 (63,9-300,0)	122,8±38,1 (62,0-268,8)	ns
	Me (d.kw;g.kw)	120,0 (99,5;153,6)	120,6 (100,5 ; 164,7)	113,1 (97,7 ; 143,5)	

Objaśnienia: PBO – populacja porównawcza; PBO-K – kobiety z populacji porównawczej; PBO-M – mężczyźni z populacji porównawczej; n – liczebność grupy; ns – nieistotne statystycznie; NLR – wskaźnik neutrocyty:limfocyty, MLR – wskaźnik monocyty:limfocyty; PLR – wskaźnik Płytki krwi:limfocyty; Śr – średnia wartość; SD – odchylenie standardowe; d.kw – dolny kwartył; g.kw – górny kwartył; Me – mediana; min-max – wartość minimalna-maksymalna.

4.1.3. Analiza korelacji wskaźników NLR, MLR i PLR w całej populacji porównawczej oraz z uwzględnieniem płci

W tabeli 15 przedstawiono wyniki analizy korelacji krwinkowych wskaźników zapalnych z pozostałymi parametrami, w całej populacji porównawczej (PBO), w grupie kobiet (PBO-K) i mężczyzn (PBO-M). Analizie poddano wiek i wszystkie oznaczane parametry, a w tabeli umieszczono tylko korelacje istotne statystycznie ($p < 0,05$).

W całej populacji PBO oraz grupach PBO-K i PBO-M wskaźniki NLR, MLR, PLR nie korelowały z wiekiem. Spośród badań laboratoryjnych, rutynowo oznaczanych u Pracowników z Poradni Badań Okresowych, z ocenianymi wskaźnikami zapalnymi korelowały niektóre parametry morfologii krwi. Zgodnie z definicją wszystkie wskaźniki korelowały ujemnie z bezwzględną liczbą limfocytów (Lym) oraz dodatkowo, odpowiednio z Neu, Mono i PLT w zależności od wskaźnika. Najczęściej powtarzały się korelacje

z liczbą leukocytów (WBC) – dodatnie w przypadku wskaźnika NLR oraz ujemne dla MLR i PLR.

Tabela 15. Korelacja wskaźników NLR, MLR, PLR z wykładnikami laboratoryjnymi w populacji porównawczej z uwzględnieniem płci.

Wskazano związki istotne statystycznie, przedstawiając współczynnik Spearmana R i wartość p (R ; p).

		Wszyscy (PBO) n=186	Kobiety (PBO-K) n=93	Mężczyźni (PBO-M) n=93
NLR	WBC	WBC (R=0,23 ; p=0,0013)	WBC (R=0,21 ; p=0,0408)	WBC (R=0,26 ; p=0,0114)
	Neu	Neu (R=0,65 ; p=0,0000)	Neu (R=0,67 ; p=0,0000)	Neu (R=0,62 ; p=0,0000)
	Lym	Lym (R=-0,57 ; p=0,0000)	Lym (R=-0,65 ; p=0,0000)	Lym (R=-0,50 ; p=0,0000)
	Mono	Mono (R=0,14 ; p=0,0498)	--	Mono (R=0,21 ; p=0,0421)
	Eos	--	Eos (R=-0,28 ; p=0,0068)	--
	MCV	--	--	MCV (R=0,26 ; p=0,0113)
	MLR	MLR (R=0,58 ; p=0,0000)	MLR (R=0,68 ; p=0,0000)	MLR (R=0,52 ; p=0,0000)
	PLR	PLR (R=0,53 ; p=0,0000)	PLR (R=0,57 ; p=0,0000)	PLR (R=0,49 ; p=0,0000)
MLR	WBC	WBC (R=-0,18 ; p=0,0169)	--	WBC (R=-0,31 ; p=0,0021)
	Neu	--	Neu (R=0,32 ; p=0,0015)	--
	Lym	Lym (R=-0,66 ; p=0,0000)	Lym (R=-0,62 ; p=0,0000)	Lym (R=-0,71 ; p=0,0000)
	Mono	Mono (R=0,58 ; p=0,0000)	Mono (R=0,51 ; p=0,0000)	Mono (R=0,62 ; p=0,0000)
	Eos	Eos (R=-0,15 ; p=0,0459)	--	--
	MCV	--	--	MCV (R=0,23 ; p=0,0298)
	PLT	--	--	PLT (R=-0,21 ; p=0,0418)
	MPV	--	--	MPV (R=0,26 ; p=0,0103)
	PLR	PLR (R=0,51 ; p=0,0000)	PLR (R=0,53 ; p=0,0000)	PLR (R=0,51 ; p=0,0000)
PLR	WBC	WBC (R=-0,43 ; p=0,0000)	WBC (R=-0,43 ; p=0,0000)	WBC (R=-0,43 ; p=0,0000)
	Lym	Lym (R=-0,80 ; p=0,0000)	Lym (R=-0,83 ; p=0,0000)	Lym (R=-0,76 ; p=0,0000)
	Mono	Mono (R=-0,17 ; p=0,0184)	Mono (R=-0,25 ; p=0,0138)	--
	--	--	Eos (R=-0,27 ; p=0,0080)	--
	--	--	Baso (R=-0,31 ; p=0,0023)	--
	LUC	LUC (R=-0,35 ; p=0,0000)	LUC (R=-0,33 ; p=0,0013)	LUC (R=-0,31 ; p=0,0029)
	MCV	--	--	MCV (R=0,22 ; p=0,0337)
	PLT	PLT (R=0,44 ; p=0,0000)	PLT (R=0,42 ; p=0,0000)	PLT (R=0,44 ; p=0,0000)
	MPV	MPV (R=-0,15 ; p=0,0379)	--	--

Objaśnienia: n – liczebność grupy; RBC – erytrocyty; HGB – hemoglobina; MCV – średnia objętość erytrocytu; PLT – płytki krwi; MPV – średnia objętość płytki krwi; WBC – leukocyty; Neu – neutrocyty; Lym – limfocyty; Mono – monocyty; Eos – eozynocyty; Baso – bazocyty; LUC – duże nie barwiące się komórki; NLR – wskaźnik neutrocyty:limfocyty, MLR – wskaźnik monocyty:limfocyty; PLR – wskaźnik płytki:limfocyty; PBO – populacja porównawcza; PBO-K – kobiety z populacji porównawczej; PBO-M – mężczyźni z populacji porównawczej.

Wykazano słabą, dodatnią korelację NLR z WBC we wszystkich grupach. Dla MLR wykazano słabą, ujemną korelację z WBC w całej populacji PBO oraz przeciętną w grupie mężczyzn i brak korelacji w grupie kobiet. Dla PLR uzyskano przeciętną, ujemną korelację z WBC we wszystkich grupach.

MLR korelował z Neu tylko w grupie kobiet, korelację określono jako przeciętną. Nie stwierdzono korelacji wskaźnika PLR z liczbą neutrofilii.

Krwinkowe wskaźniki: NLR, MLR, PLR wykazały wzajemne dodatnie korelacje w całej populacji porównawczej oraz w grupie kobiet i mężczyzn. MLR wykazał dodatnią korelację z PLR.

Wszystkie krwinkowe wskaźniki zapalne korelowały słabo, dodatnio z parametrem MCV w grupie mężczyzn, przy czym u wszystkich mężczyzn z grupy PBO uzyskano prawidłową ocenę morfologii krwi. Nie obserwowano korelacji wskaźników NLR, MLR, PLR z pozostałymi parametrami oceny układu czerwokrwinkowego.

4.2. Ocena populacji chorych na raka piersi

4.2.1. Porównanie między pacjentkami z rakiem piersi i grupą porównawczą kobiet

W tabeli 16. zaprezentowano charakterystykę pacjentek z rakiem piersi (BC) i porównanie wyników badań laboratoryjnych między tymi pacjentkami i grupą PBO-K. Liczebność każdej grupy wynosiła po 93 osoby. Kobiety obu grup nie różniły się wiekiem oraz podstawowymi parametrami układu czerwokrwinkowego, liczbą płytek krwi, liczbą Baso i LUC oraz stężeniem kreatyniny, bilirubiny, aktywnością AspAT. U pacjentek z rakiem piersi zaobserwowano wyższe liczby WBC, Neu, Mono i wartości RDW, MPV oraz niższe liczby Eos, Lym i wartości MCHC. Stwierdzono także wyższe aktywności AlAT oraz stężenia glukozy. Wykazano wyższe wartości NLR, MLR oraz PLR w grupie kobiet z rakiem piersi w porównaniu z grupą PBO-K.

Tabela 16. Porównanie między grupą porównawczą kobiet i pacjentkami z rakiem piersi.

	kobiety z PBO (PBO-K) * n=93	Pacjentki z rakiem piersi (BC)* n=93	* p
Wiek [lata]	48,0 (36,0-56,0)	49,0 (39,0-61,0)	ns
RBC [$\times 10^{12}/l$]	4,47 (4,29-4,71)	4,52 (4,28-4,68)	ns
HGB [mmol/l]	8,40 (7,30-9,60)	8,30 (7,90-8,80)	ns
HCT [l/l]	0,40 (0,38-0,42)	0,40 (0,38-0,42)	ns
MCV [fl]	89,00 (87,00-91,00)	90,00 (87,00-92,00)	ns
RDW [%]	13,10 (12,60-13,50)	13,80 (13,10-14,30)	p< 0,0001
MCH [fmol]	1,88 (1,82-1,92)	1,87 (1,81-1,93)	ns
MCHC [mmol/l]	21,09 (20,58-21,52)	20,66 (20,39-21,16)	p=0,0007
PLT [$\times 10^9/l$]	257,0 (223,0-292,0)	276,0 (235,0-313,0)	ns
MPV [fl]	8,10 (7,60-8,50)	7,80 (7,50-8,20)	p=0,0455
WBC [$\times 10^9/l$]	6,23 (5,23-7,21)	7,01 (5,97-9,09)	p=0,0006
Neu [$\times 10^9/l$]	3,34 (2,72-4,10)	4,41 (3,59-6,59)	p<0,0001
Lym [$\times 10^9$]	2,07 (1,65-2,41)	1,65 (1,32-2,17)	p=0,0007
Mono [$\times 10^9$]	0,35 (0,28-0,42)	0,40 (0,31-0,48)	p=0,008
Eos [$\times 10^9/l$]	0,15 (0,12-0,24)	0,11 (0,07-0,16)	p<0,0001
Baso [$\times 10^9/l$]	0,03 (0,03-0,05)	0,03 (0,02-0,04)	ns
LUC [$\times 10^9/l$]	0,13 (0,11-0,16)	0,23 (0,10-0,16)	ns
AlAT [U/l]	24,00 (18,00-31,00)	27,00 (21,00-40,00)	p=0,0081
AspAT [U/l]	20,00 (17,00-23,00)	21,00 (16,00-26,00)	ns
Bilirubina [$\mu\text{mol/l}$]	9,80 (7,00-14,00)	8,30 (6,50-10,90)	ns
Glukoza [mmol/l]	5,30 (4,90-5,70)	5,62 (5,24-6,42)	p=0,0002
Kreatynina [$\mu\text{mol/l}$]	64,00 (57,80-73,00)	62,45 (57,00-71,90)	ns
NLR	1,65 (1,28-2,13)	2,79 (1,81-3,70)	p<0,0001
MLR	0,18 (0,13-0,21)	0,22 (0,17-0,29)	p<0,0001
PLR	120,61 (100,50-164,67)	169,57 (124,20-203,82)	p<0,0001

Objaśnienia: n – liczebność grupy; ns – nieistotne statystycznie; RBC – erytrocyty; HGB – hemoglobina; HCT – hematokryt; MCV – średnia objętość erytrocytu; RDW – rozpiętość rozkładu objętości erytrocytów; MCH – średnia masa hemoglobiny w erytrocycie; MCHC – średnie stężenie hemoglobiny w erytrocycie; PLT – płytki krwi; MPV – średnia objętość płytki krwi; WBC – leukocyty; Neu – neutrocyty; Lym – limfocyty; Mono – monocyty; Eos – eozynocyty; Baso – bazocyty; LUC – duże nie barwiące się komórki; AlAT – aminotransferaza alaninowa; AspAT – aminotransferaza asparaginowa; NLR – wskaźnik neutrocyty:limfocyty; MLR – wskaźnik monocyty:limfocyty; PLR – wskaźnik płytki krwi:limfocyty; PBO-K – kobiety z populacji porównawczej; BC- pacjentki z rakiem piersi.

4.2.2. Analiza korelacji wskaźników NLR, MLR i PLR w grupie pacjentek z rakiem piersi

W tabeli 17 przedstawiono wyniki korelacji krwinkowych wskaźników zapalnych z wynikami badań laboratoryjnych w grupie kobiet z rakiem piersi (BC). Analizie poddano wszystkie oznaczane parametry, a w tabeli umieszczono tylko korelacje istotne statystycznie ($p < 0,05$). W grupie kobiet z rakiem piersi (BC) krwinkowe wskaźniki zapalne NLR, MLR, PLR nie korelowały z wiekiem. Wszystkie wskaźniki wykazały ujemny związek z Lym oraz dodatni, odpowiednio z Neu, Mono i PLT – w zależności od definicji wskaźnika.

Wykazano przeciętną, dodatnią korelację NLR z WBC, słaby, dodatni związek MLR z WBC oraz brak związku PLR z WBC oraz brak związku PLR z WBC. Krwinkowe wskaźniki zapalne korelowały dodatnio z bezwzględną liczbą neutrocytów: NLR - bardzo silnie (z definicji), MLR – przeciętnie, PLR – słabo.

W odróżnieniu od kobiet z grupy PBO zaobserwowano związki krwinkowych wskaźników zapalnych z parametrami oceny układu czerwonokrwinkowego. Wskaźniki MLR, PLR korelowały ujemnie ze stężeniem hemoglobiny. Wszystkie krwinkowe wskaźniki zapalne korelowały z MCH i MCHC. Dodatkowo wykazano dodatni związek PLR z RDW.

Wskaźniki: NLR, MLR, PLR wykazały wzajemne dodatnie korelacje.

Dla żadnego z badanych wskaźników nie wykazano korelacji ze stężeniem markera CA 15.3 we krwi, aktywności ALAT i AspAT, stężenia bilirubiny, glukozy i kreatyniny.

Tabela 17. Korelacja wskaźników NLR, MLR, PLR z wykładnikami laboratoryjnymi w populacji porównawczej kobiet z kobietami z rakiem piersi.

Wskazano związki istotne statystycznie, przedstawiając współczynnik Spearmana R i wartość p (R;p).

		Kobiety (PBO-K) n=93	Kobiety (BC) n=93
NLR	WBC	WBC (R=0,21 ; p=0,0408)	WBC (R=0,43 ; p<0,0001)
	Neu	Neu (R=0,67 ; p<0,0001)	Neu (R=0,70 ; p<0,0001)
	Lym	Lym (R=-0,65 ; p<0,0001)	Lym (R= -0,67 ; p<0,0001)
	Mono	Mono--	Mono (R=0,33 ; p=0,0013)
	Eos	Eos (R=-0,28 ; p=0,0068)	Eos (R= -0,22 ; p=0,0329)
	LUC--	--	LUC (R= -0,21 ; p=0,0407)
	MCH	--	MCH (R= -0,22 ; p=0,0314)
	MCHC	--	MCHC (R= -0,27 ; p=0,0086)
	MLR	MLR (R=0,68 ; p<0,0001)	MLR (R=0,74 ; p<0,0001)
MLR	PLR	PLR (R=0,57 ; p<0,0001)	PLR (R=0,68 ; p<0,0001)
	WBC	--	WBC (R=0,21 ; p=0,0472)
	Neu	Neu (R=0,32 ; p=0,0015)	Neu (R=0,39 ; p=0,0001)
	Lym	Lym (R= -0,62 ; p<0,0001)	Lym (R= -0,67 ; p<0,0001)
	Mono	Mono (R=0,51 ; p<0,0001)	Mono (R=0,61 ; p<0,0001)
	HGB	--	HGB (R= -0,25 ; p=0,0153)
	MCH	--	MCH (R= -0,25 ; p=0,0139)
	MCHC	--	MCHC (R= -0,21 ; p=0,0428)
	PLT	PLT (R=0,53 ; P<0,0001)	PLT --
PLR	NLR	NLR (R=0,68 ; p<0,0001)	NLR (R=0,74 ; p<0,0001)
	PLR	PLR (R=0,53 ; p<0,0001)	PLR (R=0,71 ; p<0,0001)
	WBC	WBC (R=-0,43 ; p=0,0000)	WBC --
	Neu	Neu--	Neu (R=0,24 ; p=0,0224)
	Lym	Lym (R=-0,83 ; p=0,0000)	Lym (R= -0,78 ; p<0,0001)
	Mono	Mono (R= -0,25 ; p=0,0138)	--
	Eos	Eos (R=-0,27 ; p=0,0080)	--
	Baso	Bas(R= -0,31 ; p=0,0023)	Baso (R=0,34 ; p=0,0007)
	LUC	LUC (R= -0,33 ; p=0,0013)	LUC (R= -0,28 ; p=0,0059)
	HGB	--	HGB (R= -0,40 ; p=0,0001)
	MCH	--	MCH (R= -0,35 ; p=0,0005)
	MCHC	--	MCHC (R= -0,41 ; p<0,0001)
	RDW	--	RDW (R=0,26 ; p=0,0122)
	PLT	PLT (R=0,42 ; p<0,0001)	PLT (R=0,42 ; p<0,0001)
	NLR	NLR (R=0,57 ; p<0,0001)	NLR (R=0,68 ; p<0,0001)
	MLR	MLR (R=0,53 ; p<0,0001)	MLR (R=0,71 ; p<0,0001)

Objaśnienia: n – liczebność grupy; RBC – erytrocyty; HGB – hemoglobina; MCV – średnia objętość erytrocytu; PLT – płytki krwi; MPV – średnia objętość płytki krwi; WBC – leukocyty; Neu – neutrocyty; Lym – limfocyty; Mono – monocyty; Eos – eozynocyty; Baso – bazocyty; LUC – duże nie barwiące się komórki; NLR – wskaźnik neutrocyty:limfocyty; MLR – wskaźnik monocyty:limfocyty; PLR – wskaźnik Płytki krwi:limfocyty; PBO-K – kobiety z populacji porównawczej; BC- pacjentki z rakiem piersi.

4.3. Ocena populacji chorych na raka jelita grubego

4.3.1. Charakterystyka pacjentów chorych na raka jelita grubego oraz porównanie między kobietami i mężczyznami

W tabeli 18. przedstawiono charakterystykę opisową całej populacji pacjentów z rakiem jelita grubego (CC, n=88) oraz oddzielnie kobiet (CC-K, n=28) i mężczyzn (CC-M, n=60) w zakresie podstawowych parametrów laboratoryjnych oraz wskaźników NLR, MLR, PLR. Stwierdzono różnice tylko dla stężenia hemoglobiny (HGB)

oraz hematokrytu (HCT), odpowiadające różnicom fizjologicznym płci. Nie wykazano różnic dla badanych krwinkowych wskaźników zapalnych.

Tabela 18. Charakterystyka opisowa populacji z rakiem jelita grubego i porównanie chorych kobiet i mężczyzn

	Wszyscy z CC n=88	Kobiety CC-K* n=28	Mężczyźni CC-M* n=60	* p
Wiek [lata]	66,0 (59,0-71,0)	63,5 (57,0-70,0)	66,0 (59,0-72,0)	ns
RBC [$\times 10^{12}/l$]	4,37 (4,00-4,77)	4,27 (3,96-4,53)	4,47 (4,07-4,82)	ns
HGB [mmol/l]	7,80 (7,00-8,50)	7,25 (6,75-7,90)	8,05 (7,35-8,65)	0,0055
HCT [l/l]	0,375 (0,345-0,410)	0,350 (0,335-0,385)	0,390 (0,350-0,420)	0,0047
MCV [fl]	87,00 (81,50-90,5)	85,00 (79,5-91,0)	88,0 (82,5-90,0)	ns
RDW[%]	14,85 (13,80-16,15)	14,85 (13,85-16,60)	14,85 (13,60-16,15)	ns
MCH [fmol]	1,79 (1,63-1,90)	1,71 (1,62-1,88)	1,79 (1,69-1,91)	ns
MCHC[mmol/l]	20,44 (19,98-20,91)	20,26 (19,82-20,88)	20,53 (20,02-20,95)	ns
PLT [$\times 10^9/l$]	274,5 (239,0-391,5)	277,0 (239,0-407,0)	274,5 (237,5-382,0)	ns
MPV[fl]	7,90 (7,40-8,70)	7,90 (7,40-8,80)	7,90 (7,40-8,70)	ns
WBC [$\times 10^9/l$]	7,75 (6,07-9,19)	7,17 (6,16-8,96)	7,77 (5,98-9,24)	ns
Neu [$\times 10^9/l$]	4,91 (3,66-6,10)	4,82 (3,63-6,09)	5,14 (3,75-6,10)	ns
Lym [$10^9/l$]	1,52 (1,34-1,90)	1,68 (1,37-1,96)	1,49 (1,33-1,83)	ns
Mono [$\times 10^9/l$]	0,47 (0,38-0,57)	0,46 (0,40-0,57)	0,49 (0,11-0,25)	ns
Eos [$\times 10^9/l$]	0,17 (0,11-0,24)	0,16 (0,12-0,23)	0,18 (0,11-0,25)	ns
Baso [$\times 10^9/l$]	0,03 (0,02-0,05)	0,03 (0,02-0,05)	0,03 (0,02-0,05)	ns
LUC [$\times 10^9/l$]	0,14 (0,10-0,18)	0,15 (0,11-0,22)	0,13 (0,10-0,17)	ns
LDH [U/l]	202,5 (174,0-294,0)	20,6 (184,0-247,0)	200,0 (168,0-301,0)	ns
CEA [ng/ml]	8,45 (1,30-57,70)	14,75 (2,80-472,00)	6,30 (1,20-34,00)	ns
CA 19-9 [U/ml]	15,40 (7,90-46,80)	28,85 (5,00-198,0)	13,70 (8,00-44,00)	ns
CRP [mg/l]	9,00 (3,80-33,15)	8,70 (3,40-24,00)	9,00 (4,00-35,00)	ns
NLR	2,92 (2,15-4,36)	2,76 (2,10-3,92)	3,16 (2,15-4,97)	ns
MLR	0,30 (0,25-0,42)	0,28 (0,23-0,35)	0,30 (0,26-0,42)	ns
PLR	178,08(133,33-244,44)	183,74 (149,98-240,69)	168,92(132,60-270,32)	ns

Objaśnienia: n – liczebność grupy; ns – nieistotne statystycznie; RBC – erytrocyty; HGB – hemoglobina; HCT – hematokryt; MCV – średnia objętość erytrocytu; RDW – rozpiętość rozkładu objętości erytrocytów; MCH – średnia masa hemoglobiny w erytrocycie; MCHC – średnie stężenie hemoglobiny w erytrocycie; PLT – płytki krwi; MPV – średnia objętość płytki krwi; WBC – leukocyty; Neu – neutrocyty; Lym – limfocyty; Mono – monocyty; Eos – eozynocyty; Baso – bazocyty; LUC – duże nie barwiące się komórki; NLR – wskaźnik neutrocyty:limfocyty, MLR – wskaźnik monocyty:limfocyty; PLR – wskaźnik płytki krwi:limfocyty; CC-pacjenci z rakiem jelita grubego, CC-K-kobiety z rakiem jelita grubego, CC-M- mężczyźni z rakiem jelita grubego.

4.3.2. Analiza korelacji wskaźników NLR, MLR, PLR w grupie pacjentów z rakiem jelita grubego, z uwzględnieniem płci

Analizie poddano wszystkie oznaczone parametry, a w tabeli umieszczono tylko korelacje istotne statystycznie ($p < 0,05$).

Tabela 19. Korelacje wskaźników w grupie pacjentów z rakiem jelita grubego, z uwzględnieniem płci. Wskazano związki istotne statystycznie, przedstawiając współczynnik Spearmana R i wartość p (R ; p).

		Wszyscy z CC n=88	Kobiety CC-K n=28	Mężczyźni CC-M n=60
NLR	WBC	WBC (R=0,46 ; $p < 0,0001$)	WBC (R=0,55 ; $p = 0,0022$)	WBC (R=0,40 ; $p = 0,0013$)
	Neu	Neu (R=0,72 ; $p < 0,0001$)	Neu (R=0,84 ; $p < 0,0001$)	Neu (R=0,65 ; $p < 0,0001$)
	Lym	Lym (R= - 0,63 ; $p < 0,0001$)	Lym (R= - 0,38 ; $p = 0,0443$)	Lym (R= - 0,75 ; $p < 0,0001$)
	Eos	Eos (R= - 0,36 ; $p = 0,0005$)	--	Eos (R= - 0,37 ; $p = 0,0034$)
	LUC	LUC (R= - 0,27 ; $p = 0,0097$)	LUC (R= - 0,49 ; $p = 0,0086$)	--
	RBC	RBC (R= - 0,29 ; $p = 0,0061$)	--	RBC (R= - 0,39 ; $p = 0,0023$)
	HGB	HGB (R= - 0,30 ; $p = 0,0048$)	--	HGB (R= - 0,43 ; $p = 0,0005$)
	HCT	HCT (R= - 0,29 ; $p = 0,0055$)	--	HCT (R= - 0,40 ; $p = 0,0016$)
	MCHC	--	--	MCHC (R= - 0,33 ; $p = 0,0094$)
	RDW	--	--	RDW (R=0,40 ; $p = 0,0015$)
	PLT	PLT (R= 0,25 ; $p = 0,0187$)	--	PLT (R=0,31 ; $p = 0,0143$)
	MPV	MPV (R=0,30 ; $p = 0,0045$)	MPV (R=0,44 ; $p = 0,0190$)	--
	LDH	LDH (R=0,25 ; $p = 0,0240$)	--	--
	CRP	CRP (R=0,34 ; $p = 0,0025$)	CRP (R=0,48 ; $p = 0,0122$)	--
	MLR	MLR (R=0,66 ; $p < 0,0001$)	--	MLR (R=0,78 ; $p < 0,0001$)
	PLR	PLR (R=0,65 ; $p < 0,0001$)	--	PLR (R=0,78 ; $p < 0,0001$)
MLR	WBC	WBC (R=0,28 ; $p = 0,0093$)	--	WBC (R=0,42 ; $p = 0,0008$)
	Neu	Neu (R=0,39 ; $p = 0,0002$)	--	Neu (R=0,54 ; $p < 0,0001$)
	Lym	Lym (R= - 0,61 ; $p < 0,0001$)	Lym (R= - 0,73 ; $p < 0,0001$)	Lym (R= - 0,56 ; $p < 0,0001$)
	Mono	Mono (R=0,61 ; $p < 0,0001$)	Mono (R=0,60 ; $p = 0,0007$)	Mono (R=0,60 ; $p < 0,0001$)
	RBC	RBC (R= - 0,29 ; $p = 0,0064$)	--	RBC (R= - 0,35 ; $p = 0,0063$)
	HGB	HGB (R= - 0,2981 ; $p = 0,0048$)	--	HGB (R= - 0,41 ; $p = 0,0010$)
	HCT	HCT (R= - 0,30 ; $p = 0,0039$)	--	HCT (R= - 0,40 ; $p = 0,0015$)
	MCHC	--	--	MCHC (R= - 0,32 ; $p = 0,0127$)
	RDW	RDW (R= 0,30 ; $p = 0,0046$)	--	RDW (R=0,37 ; $p = 0,0032$)
	PLT	PLT (R=0,26 ; $p = 0,0135$)	--	PLT (R=0,34 ; $p = 0,0069$)
	MPV	MPV (R=0,34 ; $p = 0,0013$)	--	MPV (R=0,41 ; $p = 0,0011$)
	LDH	LDH (R=0,26 ; $p = 0,0202$)	--	LDH (R=0,29 ; $p = 0,0293$)
	CEA	CEA (R=0,25 ; $p = 0,0190$)	--	CEA (R=0,34 ; $p = 0,0080$)
	CRP	CRP (R=0,37 ; $p = 0,0009$)	CRP (R=0,46 ; $p = 0,0169$)	CRP (R=0,34 ; $p = 0,0117$)
	NLR	NLR (R=0,66 ; $p < 0,0001$)	--	NLR (R=0,78 ; $p < 0,0001$)
	PLR	PLR (R=0,67 ; $p < 0,0001$)	PLR (R=0,68 ; $p < 0,0001$)	PLR (R=0,69 ; $p < 0,0001$)
PLR	Neu	Neu (R=0,34 ; $p = 0,0014$)	--	Neu (R=0,42 ; $p = 0,0007$)
	Lym	Lym (R= - 0,61 ; $p < 0,0001$)	Lym (R= - 0,38 ; $p = 0,0484$)	Lym (R= - 0,69 ; $p < 0,0001$)
	Mono	Mono (R=0,23 ; $p = 0,0279$)	Mono (R=0,54 ; $p = 0,0032$)	--
	Eos	Eos (R= - 0,21 ; $p = 0,0451$)	--	--
	RBC	RBC (R= - 0,35 ; $p = 0,0008$)	--	RBC (R= - 0,43 ; $p = 0,0006$)
	HGB	HGB (R= - 0,43 ; $p < 0,0001$)	--	HGB (R= - 0,47 ; $p = 0,0001$)
	HCT	HCT (R= - 0,44 ; $p < 0,0001$)	--	HCT (R= - 0,49 ; $p < 0,0001$)
	MCH	MCH (R= - 0,25 ; $p = 0,0202$)	--	--
	MCHC	MCHC (R= - 0,25 ; $p = 0,0191$)	--	--
	RDW	RDW (R=0,35 ; $p = 0,0008$)	--	RDW (R=0,39 ; $p = 0,0022$)
	PLT	PLT (R=0,64 ; $p < 0,0001$)	PLT (R=0,68 ; $p < 0,0001$)	PLT (R=0,62 ; $p < 0,0001$)
	CRP	CRP (R=0,31 ; $p = 0,0060$)	--	CRP (R=0,33 ; $p = 0,0151$)
	NLR	NLR (R=0,65 ; $p < 0,0001$)	--	NLR (R=0,78 ; $p < 0,0001$)
	MLR	MLR (R=0,67 ; $p < 0,0001$)	MLR (R=0,68 ; $p < 0,0001$)	MLR (R= 0,69 ; $p < 0,0001$)

Objaśnienia: n – liczebność grupy; WBC – leukocyty; Neu – neutrocyty; Lym – limfocyty; Mono – monocyty;

Eos – eozynocyty; Baso – bazocyty; LUC – duże nie barwiące się komórki; RBC – erytrocyty; HGB – hemoglobina;

MCV – średnia objętość erytrocytu; MCH – średnia masa hemoglobiny w erytrocycie; PLT – płytki krwi; MPV – średnia objętość płytki krwi; LDH – dehydrogenaza mleczanowa; CEA – antygen karcynembrionalny; CRP – białko C-reaktywne; CC-grupa z rakiem jelita grubego; CC-K – kobiety z rakiem jelita grubego, CC-M – mężczyźni z rakiem jelita grubego; NLR – wskaźnik neutrocyty:limfocyty, MLR – wskaźnik monocyty:limfocyty; PLR – wskaźnik płytki krwi:limfocyty.

W grupie pacjentów z rakiem jelita grubego (CC), zarówno u kobiet (CC-K) jak i u mężczyzn (CC-M) wskaźniki NLR, MLR i PLR nie korelowały z wiekiem. Krwinkowe wskaźniki zapalne, zgodnie z definicją wskaźnika, korelowały ujemnie z bezwzględną liczbą limfocytów (Lym) oraz dodatnio z Neu, Mono i PLT.

Najwięcej korelacji zaobserwowano w grupie mężczyzn. Wszystkie wskaźniki korelowały dodatnio z Neu w grupie CC-M. Wskaźniki NLR, MLR i PLR wykazały ujemny związek z parametrami oceny układu czerwonych RBC, HGB, HCT i dodatnio z RDW. Wskaźniki NLR i MLR korelowały także ujemnie z MCHC. Dodatkowo MLR wykazał dodatni związek z CEA i LDH.

Zaobserwowano nieregularne korelacje krwinkowych wskaźników z CRP: NLR i MLR u kobiet oraz MLR i PLR u mężczyzn.

Dla MLR wykazano wysoką dodatnią korelację z Mono oraz z PLR we wszystkich grupach, a także wysoką z NLR w grupie CC i bardzo wysoką w grupie CC-M. Wskaźnik PLR korelował, z wysoką siłą, z PLT oraz z MLR we wszystkich badanych grupach. Nie wykazano korelacji badanych wskaźników w poszczególnych grupach z CA 19-9.

4.3.3. Porównanie między pacjentami z rakiem jelita grubego i całą populacją porównawczą

W tabeli 20 przedstawiono analizę porównawczą pomiędzy całą populacją PBO (n=186) a pacjentami z rakiem jelita grubego CC (n=88).

Grupa pacjentów z rakiem jelita grubego (CC) była starsza niż cała populacja porównawcza (PBO). Stwierdzono różnice dla parametrów morfologii krwi z wyjątkiem MPV, Eos i LUC. W grupie pacjentów z rakiem jelita grubego wykazano niższe wartości dla RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, Lym, Baso. Wyższe wartości uzyskano dla RDW, PLT, WBC, Neu, Mono, CRP oraz dla wszystkich badanych krwinkowych wskaźników zapalnych.

Tabela 20. Porównanie między całą populacją porównawczą i pacjentami z rakiem j. grubego).

	PBO n=186	CC n=88	p
Wiek [lata]	47,0(34,0-57,0)	66,0 (59,0-71,0)	<0,0001
RBC[x10¹²/l]	4,77 (4,05-5,03)	4,37 (4,00-4,77)	<0,0001
HGB [mmol/l]	9,00 (8,30-9,60)	7,80 (7,00-8,50)	<0,0001
HCT [l/l]	0,42 (0,40-0,45)	0,375 (0,345-0,410)	<0,0001
MCV [fl]	89,00 (87,00-91,00)	87,00 (81,50-90,5)	0,0007
RDW [%]	13,20 (12,70-13,50)	14,85 (13,80-16,15)	<0,0001
MCH [fmol]	1,89 (1,84-1,94)	1,79 (1,63-1,90)	<0,0001
MCHC [mmol/l]	21,26 (20,74-21,71)	20,44 (19,98-20,91)	<0,0001
PLT [x10⁹/l]	251,0 (219,0-281,0)	274,5 (239,0-391,5)	0,0002
MPV [fl]	7,90 (7,50-8,40)	7,90 (7,40-8,70)	ns
WBC [x10⁹/l]	6,24 (5,21-7,45)	7,75 (6,07-9,19)	<0,0001
Neu [x10⁹/l]	3,35 (2,72-4,07)	4,91 (3,66-6,10)	<0,0001
Lym [x10⁹]	2,06 (1,68-2,45)	1,52 (1,34-1,90)	<0,0001
Mono [x10⁹]	0,36 (0,30-0,44)	0,47 (0,38-0,57)	<0,0001
Eos [x10⁹/l]	0,17 (0,12-0,25)	0,17 (0,11-0,24)	ns
Baso [x10⁹/l]	0,04 (0,03-0,05)	0,03 (0,02-0,05)	0,0085
LUC [x10⁹/l]	0,14 (0,11-0,18)	0,14 (0,10-0,18)	ns
CRP [mg/l]	2,00 (1,00-4,00)	9,00 (3,80-33,15)	<0,0001
NLR	1,64 (1,28-2,11)	2,92 (2,15-4,36)	<0,0001
MLR	0,18 (0,17-0,22)	0,30 (0,25-0,42)	<0,0001
PLR	120,03 (99,50-153,64)	178,08 (133,33-244,44)	<0,0001

Objaśnienia: n – liczebność grupy; ns – nieistotne statystycznie; RBC – erytrocyty; HGB – hemoglobina; HCT – hematokryt; MCV – średnia objętość erytrocytu; RDW – rozpiętość rozkładu objętości erytrocytów; MCH – średnia masa hemoglobiny w erytrocycie; MCHC – średnie stężenie hemoglobiny w erytrocycie; PLT – płytki krwi; MPV – średnia objętość płytki krwi; WBC – leukocyty; Neu – neutrocyty; Lym – limfocyty; Mono – monocyty; Eos – eozynocyty; Baso – bazocyty; LUC – duże nie barwiące się komórki; ALAT – aminotransferaza alaninowa; AspAT – aminotransferaza asparaginowa; NLR – wskaźnik neutrocyty:limfocyty; MLR – wskaźnik monocyty:limfocyty; PLR – wskaźnik płytki:limfocyty; PBO-pacjenci z Poradni Badań Okresowych, CC-pacjenci z rakiem jelita grubego.

4.3.4. Porównanie między pacjentami z rakiem jelita grubego i grupą porównawczą dostosowaną z uwagi na wiek

Ze względu na stwierdzenie istotnych różnic w wieku pomiędzy całą populacją porównawczą (PBO) a grupą pacjentów z rakiem jelita grubego (CC), wyodrębniono grupę porównawczą z osobami w wieku powyżej 49 lat (n=88) tak, aby uzyskać do porównania zdrową populację w podobnym wieku. W tabeli 21 przedstawiono

porównanie między grupą porównawczą PBO dostosowaną ze względu na wiek (PBO- w>49, n=88) i grupą CC (n=88).

Stwierdzono różnice dla parametrów oceny morfologii krwi z wyjątkiem MPV, Eos, LUC. W grupie CC w porównaniu z grupą PBO-w>49, zaobserwowano wyższe wartości WBC, Neu, Mono, PLT, RDW, CRP oraz niższe wartości Lym, Baso ,RBC, HGB, HCT,MCV, MCH, MCHC. Pacjenci z rakiem jelita grubego wykazali wyższe wartości NLR, MLR, PLR niż dostosowana wiekiem grupa porównawcza PBO-w>49. Podobne różnice uzyskano dla tych samych parametrów w przypadku porównania grupy CC ze wszystkimi PBO (n=186).

Tabela 21. Porównanie między grupą chorych na raka jelita grubego i grupą porównawczą dostosowaną z uwagi na wiek.

	PBO-w>49 n=88	CC n=88	p
Wiek [lata]	58,0 (54,0-62,0)	66,0 (59,0-71,0)	ns
RBC[x10¹²/l]	4,76 (4,45-5,03)	4,37 (4,00-4,77)	<0,0001
HGB [mmol/l]	9,05 (8,40-9,70)	7,80 (7,00-8,50)	<0,0001
HCT [l/l]	0,430 (0,400-0,450)	0,375 (0,345-0,410)	<0,0001
MCV [fl]	90,0 (88,0-92,0)	87,00 (81,50-90,5)	<0,0001
RDW [%]	13,30 (12,90-13,55)	14,85 (13,80-16,15)	<0,0001
MCH [fmol]	1,90 (1,86-1,96)	1,79 (1,63-1,90)	<0,0001
MCHC [mmol/l]	21,15 (20,67-21,57)	20,44 (19,98-20,91)	<0,0001
PLT [x10⁹/l]	257,0 (219,0-291,5)	274,5 (239,0-391,5)	0,0040
MPV [fl]	7,85 (7,60-8,50)	7,90 (7,40-8,70)	ns
WBC [x10⁹/l]	6,41 (5,28-7,61)	7,75 (6,07-9,19)	0,0002
Neu [x10⁹/l]	3,43 (2,69-4,36)	4,91 (3,66-6,10)	<0,0001
Lym [x10⁹]	2,00 (1,67-2,53)	1,52 (1,34-1,90)	<0,0001
Mono [x10⁹]	0,37 (0,29-0,46)	0,47 (0,38-0,57)	<0,0001
Eos [x10⁹/l]	0,18 (0,13-0,27)	0,17 (0,11-0,24)	ns
Baso [x10⁹/l]	0,04 (0,03-0,05)	0,03 (0,02-0,05)	0,0019
LUC [x10⁹/l]	0,14 (0,11-0,18)	0,14 (0,10-0,18)	ns
CRP[mg/l]	2,00 (1,10-4,00)	9,00 (3,80-33,15)	<0,0001
NLR	1,724 (1,269-2,244)	2,92 (2,15-4,36)	<0,0001
MLR	0,184 (0,141-0,242)	0,30 (0,25-0,42)	<0,0001
PLR	120,3 (99,0-153,6)	178,08 (133,33-244,44)	<0,0001

Objaśnienia: n – liczebność grupy; ns – nieistotne statystycznie; RBC – erytrocyty; HGB – hemoglobina; HCT – hematokryt; MCV – średnia objętość erytrocytu; RDW – rozpiętość rozkładu objętości erytrocytów; MCH – średnia masa hemoglobiny w erytrocytach; MCHC – średnie stężenie hemoglobiny w erytrocytach; PLT – płytki krwi; MPV – średnia objętość płytki krwi; WBC – leukocyty; Neu – neutrocyty; Lym – limfocyty; Mono – monocyty; Eos – eozynocyty; Baso – bazocyty; LUC – duże nie barwiące się komórki; NLR – wskaźnik neutrocyty:limfocyty; MLR – wskaźnik monocyty:limfocyty; PLR – wskaźnik płytki:limfocyty; PBO-w>49 – pacjenci z Poradni Badań Okresowych w wieku powyżej 49 lat; CC-pacjenci z rakiem jelita grubego.

4.3.5. Porównanie między grupą mężczyzn z rakiem jelita grubego i grupą porównawczą mężczyzn dostosowaną z uwagi na wiek

W tabeli 22 przedstawiono charakterystykę mężczyzn w populacji porównawczej w wieku powyżej 49 lat (PBO-M-w>49, n=44) i mężczyzn z rakiem jelita grubego (CC- M, n=60).

Tabela 22. Porównanie między grupą porównawczą mężczyzn dostosowaną z uwagi na wiek i grupą mężczyzn z rakiem jelita grubego.

	PBO-M-w>49 n=44	CC-M n=60	p
Wiek [lata]	59,0 (54,0-63,0)	66,0 (59,0-72,0)	ns
RBC[x10¹²/l]	5,01 (4,78-5,29)	4,47 (4,07-4,82)	<0,0001
HGB [mmol/l]	9,70 (9,25-10,00)	8,05 (7,35-8,65)	<0,0001
HCT [l/l]	0,45 (0,44-0,47)	0,390 (0,350-0,420)	<0,0001
MCV [fl]	91,50 (88,50-92,50)	88,0 (82,5-90,0)	0,0003
RDW [%]	13,30 (13,00-13,50)	14,85 (13,60-16,15)	<0,0001
MCH [fmol]	1,920 (1,875-1,985)	1,79 (1,69-1,91)	<0,0001
MCHC [mmol/l]	21,37 (20,94-21,71)	20,53 (20,02-20,95)	<0,0001
PLT [x10⁹/l]	244,0 (206,0-267,5)	274,5 (237,5-382,0)	0,0040
MPV [fl]	7,80 (7,50-8,45)	7,90 (7,40-8,70)	ns
WBC [x10⁹/l]	6,52 (5,47-7,70)	7,77 (5,98-9,24)	0,0076
Neu [x10⁹/l]	3,74 (2,93-4,74)	5,14 (3,75-6,10)	<0,0001
Lym [x10⁹]	1,96 (1,70-2,42)	1,49 (1,33-1,83)	<0,0001
Mono [x10⁹]	0,395 (0,305-0,470)	0,49 (0,11-0,25)	0,0010
Eos [x10⁹/l]	0,195 (0,140-0,270)	0,18 (0,11-0,25)	ns
Baso [x10⁹/l]	0,040 (0,030-0,050)	0,03 (0,02-0,05)	0,0035
LUC [x10⁹/l]	0,155 (0,120-0,200)	0,13 (0,10-,017)	ns
CRP [mg/l]	1,50 (1,00-3,10)	9,00 (4,00-35,00)	<0,0001
NLR	1,85 (1,37-2,34)	3,16 (2,15-4,97)	<0,0001
MLR	0,197 (0,159-0,254)	0,30 (0,26-0,42)	<0,0001
PLR	116,2 (97,83-145,8)	168,92(132,60270,32)	<0,0001

Objaśnienia: n – liczebność grupy; ns – nieistotne statystycznie; RBC – erytrocyty; HGB – hemoglobina; HCT – hematokryt; MCV – średnia objętość erytrocytu; RDW – rozpiętość rozkładu objętości erytrocytów; MCH – średnia masa hemoglobiny w erytrocytach; MCHC – średnie stężenie hemoglobiny w erytrocytach; PLT – płytki krwi; MPV – średnia objętość płytki krwi; WBC – leukocyty; Neu – neutrocyty; Lym – limfocyty; Mono – monocyty; Eos – eozynocyty; Baso – bazofile; LUC – duże nie barwiące się komórki; NLR – wskaźnik neutrocyty:limfocyty; MLR – wskaźnik monocyty:limfocyty; PLR – wskaźnik płytki:limfocyty; PBO-M>49 – mężczyźni z Poradni Badań Okresowych powyżej 49 r.ż., CC-M - mężczyźni z rakiem jelita grubego.

Zaobserwowano istotne różnice między grupami dla parametrów morfologii krwi, z wyjątkiem MPV, Eos oraz LUC. W grupie CC-M, w porównaniu z PBO-M-w>49, zaobserwowano niższe wartości Lym, Baso, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC

oraz wyższe wartości WBC, Neu, Mono, PLT, RDW, CRP oraz dla krwinkowych wskaźników zapalnych. Podobne różnice uzyskano dla tych samych parametrów co w przypadku porównania populacji CC z PBO oraz CC z PBO-w>49.

4.3.6. Porównanie między grupą kobiet z rakiem jelita grubego i grupą porównawczą kobiet dostosowaną z uwagi na wiek

W tabeli 23. przedstawiono charakterystykę kobiet populacji porównawczej w wieku powyżej 49 lat (PBO-K-w>49, n=44) i kobiet z rakiem jelita grubego (CC-K, n=28).

Tabela 23. Porównanie między grupą porównawczą kobiet dostosowaną z uwagi na wiek i grupą kobiet z rakiem jelita grubego.

	PBO-K-w>49 n=44	CC-K n=28	p
Wiek [lata]	56,0 (55,0-60,0)	63,5 (57,0-70,0)	ns
RBC[x10¹²/l]	4,53 (4,32-4,70)	4,27 (3,96-4,53)	0,0013
HGB [mmol/l]	8,45 (8,20-8,90)	7,25 (6,75-7,90)	<0,0001
HCT [l/l]	0,400 (0,390-0,420)	0,350 (0,335-0,385)	<0,0001
MCV [fl]	90,00 (88,00-92,00)	85,00 (79,5-91,0)	0,0018
RDW [%]	13,30 (12,80-13,65)	14,85 (13,85-16,60)	<0,0001
MCH [fmol]	1,890 (1,840-1,920)	1,71 (1,62-1,88)	0,0001
MCHC [mmol/l]	20,88 (20,58-21,41)	20,26 (19,82-20,88)	0,0002
PLT [x10⁹/l]	266,5 (236,5-304,0)	277,0 (239,0-407,0)	ns
MPV [fl]	7,90 (7,60-8,65)	7,90 (7,40-8,80)	ns
WBC [x10⁹/l]	6,31 (5,22-7,13)	7,17 (6,16-8,96)	0,0153
Neu [x10⁹/l]	3,25 (2,62-4,08)	4,82 (3,63-6,09)	0,0005
Lym [x10⁹]	2,16 (1,64-2,53)	1,68 (1,37-1,96)	0,0027
Mono [x10⁹]	0,355 (0,285-0,430)	0,46 (0,40-0,57)	0,0002
Eos [x10⁹/l]	0,170 (0,120-0,265)	0,16 (0,12-0,23)	ns
Baso [x10⁹/l]	0,040 (0,030-0,055)	0,03 (0,02-0,05)	ns
LUC [x10⁹/l]	0,140 (0,110-0,170)	0,15 (0,11-0,22)	ns
CRP [mg/l]	2,20 (1,35 -4,00)	8,70 (3,40-24,00)	<0,0001
NLR	1,55 (1,19-2,08)	2,76 (2,10-3,92)	<0,0001
MLR	0,17 (0,13-0,22)	0,28 (0,23-0,35)	<0,0001
PLR	123,5 (102,4-165,4)	183,74 (149,98-240,69)	<0,0001

Objaśnienia: n – liczebność grupy; ns – nieistotne statystycznie; RBC – erytrocyty; HGB – hemoglobina; HCT – hematokryt; MCV – średnia objętość erytrocytu; RDW – rozpiętość rozkładu objętości erytrocytów; MCH – średnia masa hemoglobiny w erytrocycie; MCHC – średnie stężenie hemoglobiny w erytrocycie; PLT – płytki krwi; MPV – średnia objętość płytki krwi; WBC – leukocyty; Neu – neutrocyty; Lym – limfocyty; Mono – monocyty; Eos – eozynocyty; Baso – bazocyty; LUC – duże nie barwiące się komórki; NLR – wskaźnik neutrocyty:limfocyty; MLR – wskaźnik monocytów:limfocyty; PLR – wskaźnik płytki:limfocyty; PBO-K-w>49 - kobiety z Poradni Badań Okresowych w wieku powyżej 49 lat, CC-K- kobiety z rakiem jelita grubego.

Zaobserwowano istotne różnice dla parametrów morfologii krwi układu białokrwinkowego, (z wyjątkiem: Eos, Baso oraz LUC) oraz układu czerwokrwinkowego. Nie wykazano istotnych różnic PLT oraz MPV. W grupie kobiet z rakiem jelita grubego zaobserwowano niższe wartości: Lym, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC. Natomiast wyższe wartości, w porównaniu do grupy kobiet z PBO, stwierdzono dla WBC, Neu, Mono, RDW, CRP oraz dla krwinkowych wskaźników zapalnych.

4.3.7. Analiza korelacji wskaźników NLR, MLR, PLR w populacji porównawczej dostosowanej z uwagi na wiek, z uwzględnieniem płci

W tabeli 24. przedstawiono istotne korelacje krwinkowych wskaźników zapalnych w populacji porównawczej PBO z uwzględnieniem wieku powyżej 49 roku życia oraz płci.

Tabela 24. Korelacje wskaźników w populacji porównawczej dostosowanej z uwagi na wiek, z uwzględnieniem płci.

Wskazano związki istotne statycznie, przedstawiając współczynnik Spearmana R i wartość p (R ; p).

		PBO-w>49 n=88	PBO-K-w>49 n=44	PBO-M-w>49 n=44
NLR	WBC	WBC (R=0,27 ; p=0,0108)	--	WBC (R=0,36 ; p=0,0171)
	Neu	Neu (R=0,67 ; p<0,0001)	Neu (R=0,63 ; p<0,0001)	Neu (R=0,67 ; p<0,0001)
	Lym	Lym (R= -0,57 ; p<0,0001)	Lym (R= -0,65 ; p<0,0001)	Lym (R= -0,48 ; p=0,0011)
	Eos	Eos (R= -0,23 ; p=0,0300)	Eos (R= -0,37 ; p=0,0121)	--
	CRP	CRP (R=0,21 ; p=0,0456)	--	CRP (R=0,38 ; p=0,0096)
	MLR	MLR (R=0,56 ; p<0,0001)	MLR (R=0,73 ; p<0,0001)	MLR (R=0,48 ; p=0,0010)
MLR	PLR	PLR (R=0,45 ; p<0,0001)	PLR (R=0,60 ; p<0,0001)	PLR (R=0,37 ; p=0,0129)
	Neu	--	Neu (R=0,33 ; p=0,0302)	--
	Lym	Lym (R= -0,66 ; p<0,0001)	Lym (R= -0,63 ; p<0,0001)	Lym (R= -0,67 ; p<0,0001)
	Mono	Mono (R=0,59 ; p<0,0001)	Mono (R=0,46 ; p=0,0018)	Mono (R=0,65 ; p<0,0001)
	Eos	Eos (R= -0,25 ; p=0,0169)	--	Eos (R= -0,32 ; p=0,0337)
	PLT	--	--	PLT (R= -0,37 ; p=0,0123)
	MPV	--	--	MPV (R=0,34 ; p=0,0202)
	NLR	NLR (R=0,56 ; p<0,0001)	NLR (R=0,73 ; p<0,0001)	NLR (R=0,48 ; p=0,0010)
PLR	PLR	PLR (R=0,47 ; p<0,0001)	PLR (R=0,59 ; p<0,0001)	PLR (R=0,38 ; p=0,0119)
	WBC	WBC (R= -0,43 ; p<0,0001)	WBC (R= -0,46 ; p=0,0017)	WBC (R= -0,38 ; p=0,0101)
	Lym	Lym (R= -0,76 ; p<0,0001)	Lym (R= -0,86 ; p<0,0001)	Lym (R= -0,66 ; p<0,0001)
	Eos	--	Eos (R= -0,35 ; p=0,0180)	--
	Baso	Baso (R= -0,24 ; p= 0,0233)	Baso (R= -0,31 ; p=0,0391)	--
	LUC	LUC (R= -0,27 ; p=0,0125)	--	--
	HGB	HGB (R= -0,25 ; p=0,0173)	--	--
	HCT	HCT (R= -0,24 ; p=0,0222)	--	--
	PLT	PLT (R=0,40 ; p<0,0001)	PLT (R=0,37 ; p=0,0146)	PLT (R=0,40 ; p=0,0075)
	CRP	CRP (R=0,30 ; p=0,0040)	--	CRP (R=0,31 ; p=0,0379)
	NLR	NLR (R=0,45 ; p<0,0001)	NLR (R=0,60 ; p<0,0001)	NLR (R=0,37 ; p=0,0129)
	MLR	MLR (R=0,47 ; p<0,0001)	MLR (R=0,59 ; p<0,0001)	MLR (R= ; p=0,0119)

Objaśnienia: n – liczebność grupy; WBC – leukocyty; Neu – neutrocyty; Lym – limfocyty; Mono – monocyty; Eos – eozynocyty; Baso – bazocyty; LUC – duże nie barwiące się komórki; RBC – erytrocyty; HGB – hemoglobina; MCV – średnia objętość erytrocytu; MCH –średnia masa hemoglobiny w erytrocycie PLT – płytki krwi; MPV – średnia objętość płytki krwi; CRP – białko C-reaktywne; PBO-w>49-grupa porównawcza powyżej 49 r.ż.; PBO-K-w>49- kobiety z grupy porównawczej powyżej 49 r.ż.; PBO-M-w<49-mężczyźni z grupy porównawczej powyżej 49r.ż.; NLR – wskaźnik neutrocyty:limfocyty, MLR – wskaźnik monocyty:limfocyty; PLR – wskaźnik płytki:limfocyty.

Wszystkie badane wskaźniki NLR, MLR i PLR, zarówno w grupie porównawczej PBO-w>49 oraz w grupie kobiet i mężczyzn wykazały ujemne korelacje z liczbą limfocytów oraz dodatnie korelacje odpowiednio z Neu, Mono, PLT – zgodnie z definicją wskaźnika. Wszystkie krwinkowe wskaźniki zapalne korelowały dodatnio między sobą.

Ogólnie, większość korelacji została wcześniej wykazana podczas analizy statystycznej w całej populacji PBO (n=186) oraz w PBO-K (n=93) i PBO-M (n=93). Dodatkowo, zaobserwowano dodatnią korelację NLR i PLR z CRP w całej grupie PBO- w>49 oraz u mężczyzn w wieku powyżej 49 r.ż. (PBO-M-w>49).

4.4. Porównanie krwinkowych wskaźników zapalnych między badanymi grupami

4.4.1. Analiza porównawcza NLR, MLR, PLR między: grupą porównawczą, pacjentkami z rakiem piersi i wszystkimi pacjentami z rakiem jelita grubego

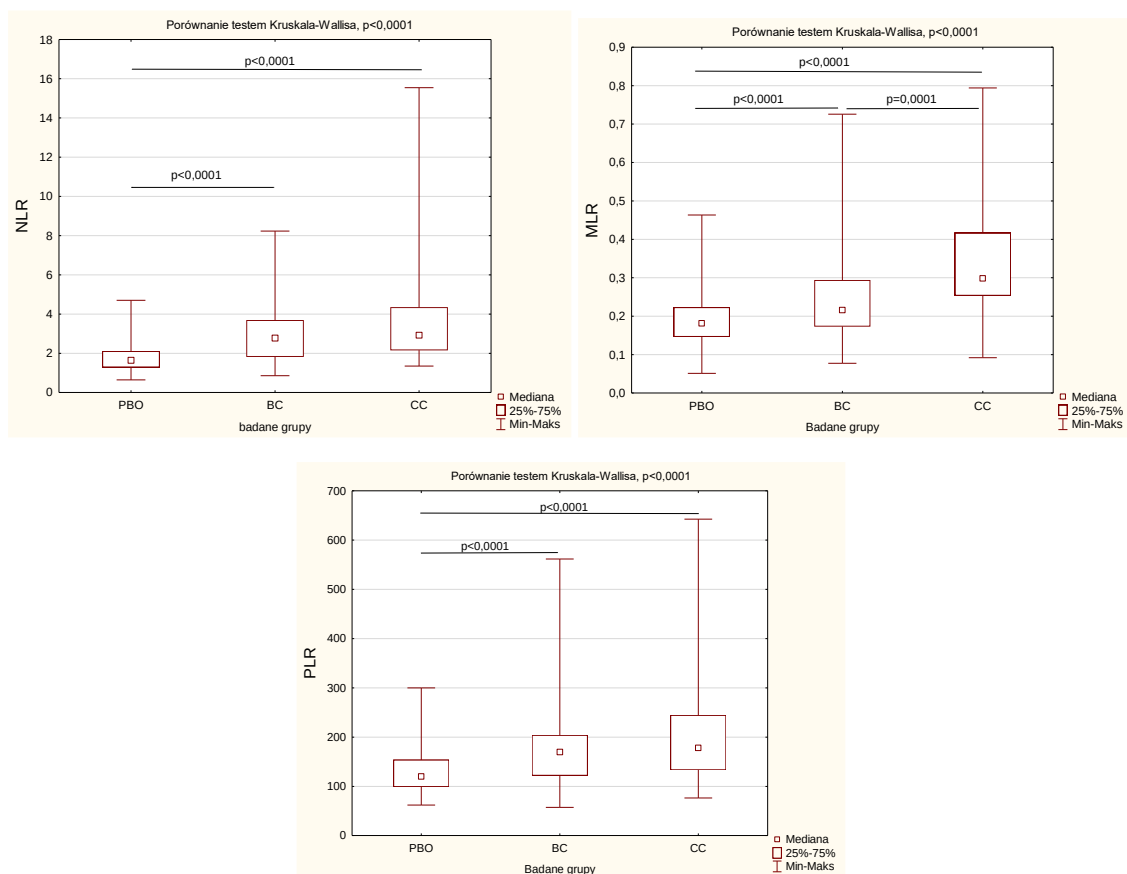
Na rycinie 8 przedstawiono porównanie wskaźników NLR, MLR, PLR między: grupą porównawczą (PBO, n=186), pacjentkami z rakiem piersi (BC, n=93) i pacjentami z rakiem jelita grubego (CC, n=88).

Wykazano, że badane trzy grupy różniły się między sobą wartościami każdego krwinkowego wskaźnika zapalnego. Zaobserwowano wyższe NLR, MLR, PLR u pacjentek z rakiem piersi i pacjentów z rakiem jelita grubego, w porównaniu z grupą PBO.

Dla wartości NLR wykazano różnice pomiędzy grupą PBO a grupami BC oraz CC. Nie wykazano natomiast takich różnic pomiędzy grupami BC a CC.

Dla wskaźnika MLR zaobserwowano wyższe wartości w grupie pacjentek z rakiem piersi oraz w grupie pacjentów z rakiem jelita grubego w porównaniu z osobami zdrowymi z PBO. Zaobserwowano również istotnie wyższe wartości wskaźnika MLR w grupie pacjentów CC w porównaniu z grupą kobiet BC.

Wartości wskaźnika PLR zarówno w grupie BC jak i grupie CC wykazują różnice w porównaniu z grupą PBO. Natomiast wartości tego wskaźnika nie różnią się między grupami BC i CC.

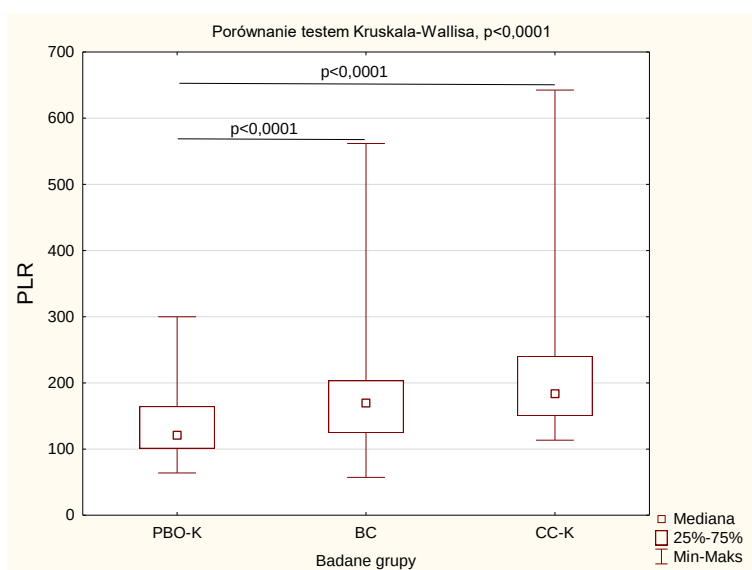
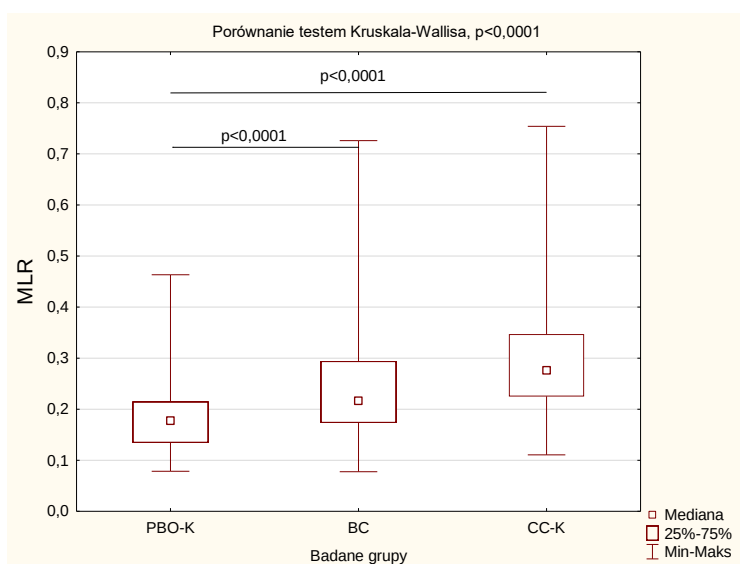
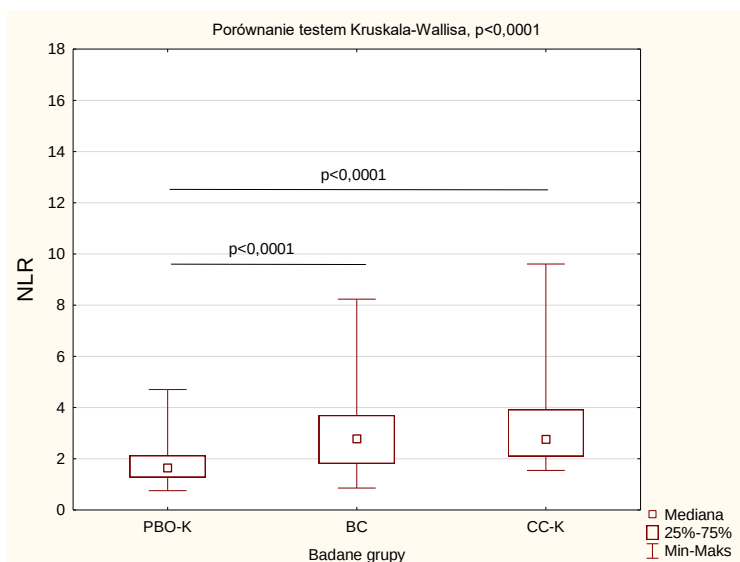


Rycina 8. Porównanie NLR, MLR, PLR między: grupą porównawczą (PBO, n=186), pacjentkami z rakiem piersi (BC, n=93) i pacjentkami z rakiem jelita grubego (CC, n=88)

4.4.2. Analiza porównawcza NLR, MLR, PLR między grupami kobiet: porównawczą, z rakiem piersi i rakiem jelita grubego

Na rycinie 9 przedstawiono porównanie NLR, MLR, PLR między grupami kobiet: porównawczą (PBO-K, n=93), a z rakiem piersi (BC, n=93) i rakiem jelita grubego (CC- K, n=28).

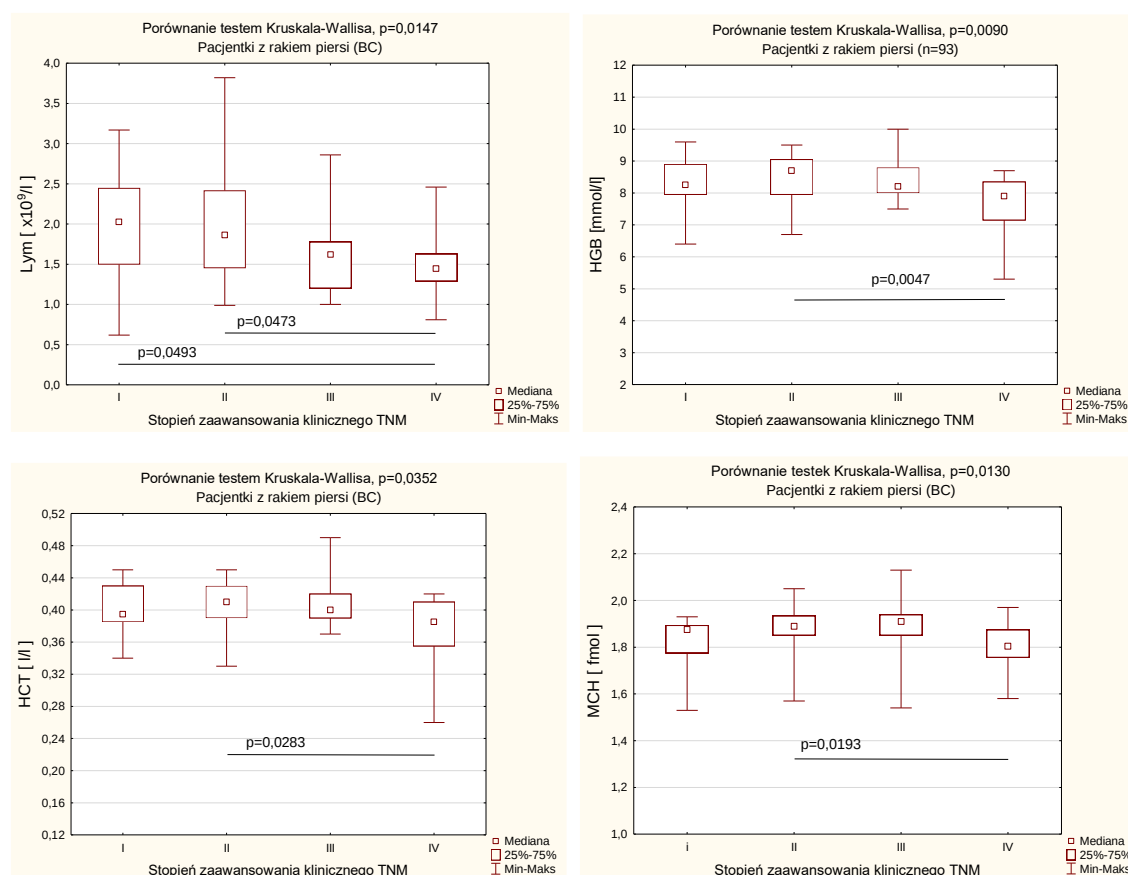
Wykazano wyższe wartości wszystkich wskaźników w badanych grupach kobiet z rakiem piersi oraz rakiem jelita grubego w porównaniu z populacją kobiet PBO-K. Wartości wskaźników nie różniły się między kobietami z rakiem piersi a kobietami z rakiem jelita grubego.



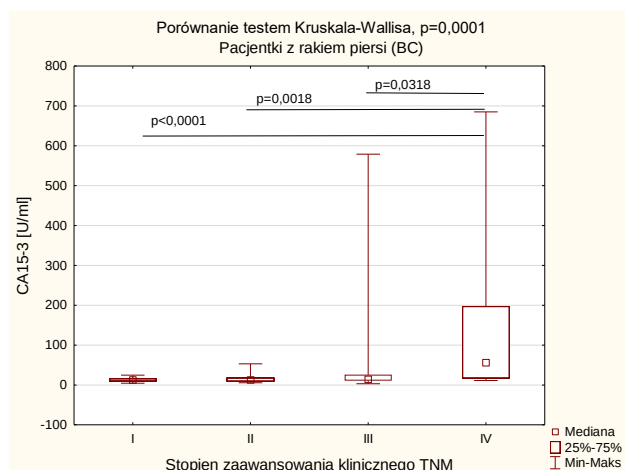
Rycina 9. Porównanie NLR, MLR, PLR między grupami kobiet: porównawczą (PBO-K n=93), z rakiem piersi (BC n=93) i rakiem jelita grubego (CC-K n=28)

4.4.3. Analiza porównawcza NLR, MLR, PLR u kobiet z rakiem piersi w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego TNM

Pacjentki z rakiem piersi (BC n=93), podzielone według klasyfikacji TNM na cztery stopnie zaawansowania klinicznego, I (n=16), II (n=40), III (n=17), IV (n=20), wykazały porównywalny wiek, WBC, Neu, RBC, PLT, CRP i LDH. Chore różniły się parametrami morfologii krwi: Lym, HGB, HCT, MCV, MCH oraz CA 15-3. We wszystkich przypadkach zaobserwowano porównywalne wartości w podgrupach I, II i III oraz odmienne wartości w podgrupie IV w porównaniu z podgrupą II - odpowiednio niższe dla Lym i HGB, HCT, MCH (Ryc.10) oraz wyższe dla CA 15-3 (Ryc.11).



Rycina 10. Porównanie Lym, HGB, HCT i MCH u kobiet z rakiem piersi (BC, n=93), w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego TNM.

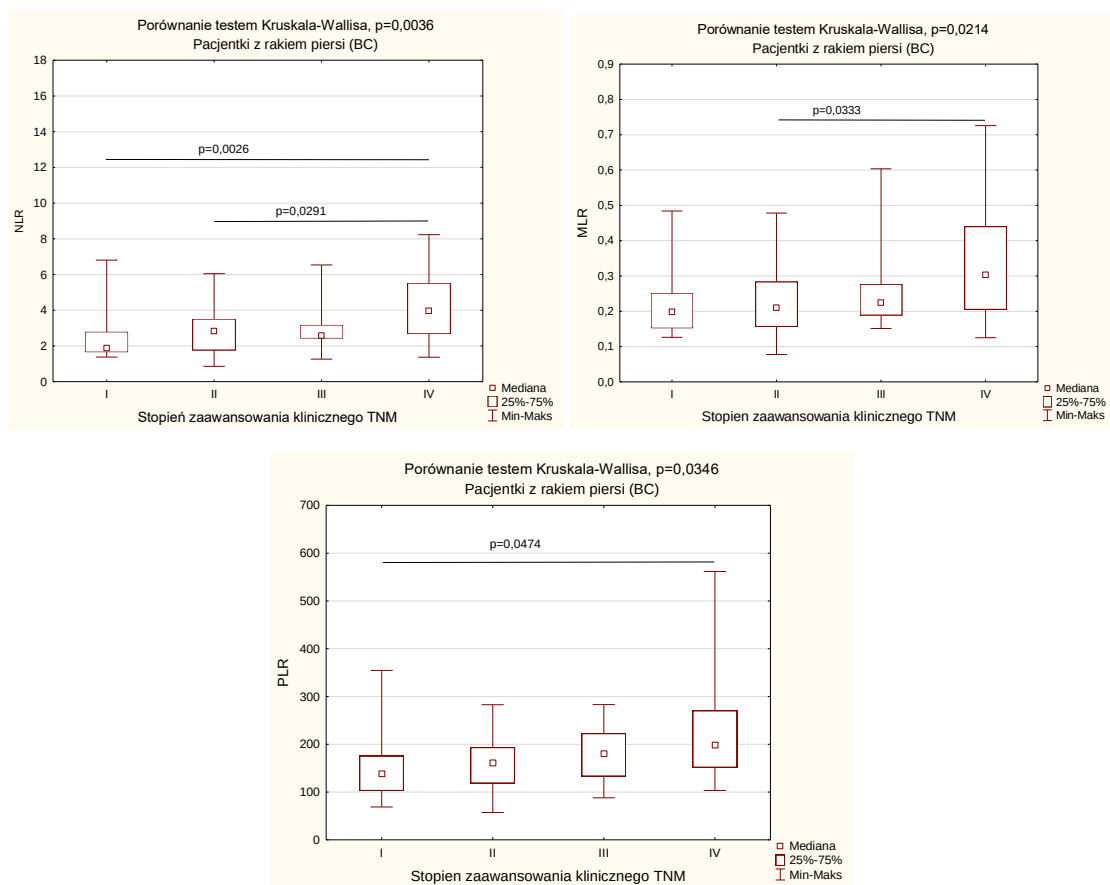


Rycina 11. Porównanie CA 15-3 u kobiet chorych na raka piersi, w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego TNM.

Na rycinie 12 przedstawiono badane wskaźniki u kobiet z rakiem piersi BC (n=93) w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego choroby TNM: I (n=16), II (n=40), III (n=17), IV (n=20). Wykazano istotne statystycznie różnice dla wartości wskaźnika NLR między I a IV stopniem klinicznego zaawansowania choroby, oraz między II a IV stopniem. Nie wykazano takich różnic pomiędzy I a II, I a III oraz II a III stopniem zaawansowania choroby.

Dla wskaźnika MLR różnice istotne statystycznie występują tylko pomiędzy II a IV stopniem zaawansowania klinicznego raka piersi. Wartości wskaźnika PLR różnią się znacząco pomiędzy I a IV stopniem klinicznego zaawansowania choroby.

Pacjentki z rakiem piersi (BC, n=93) podzielone według stopnia złośliwości histologicznej (*grading*: G1, G2, G3) nie wykazywały różnic w wartościach krwinkowych wskaźników zapalnych.

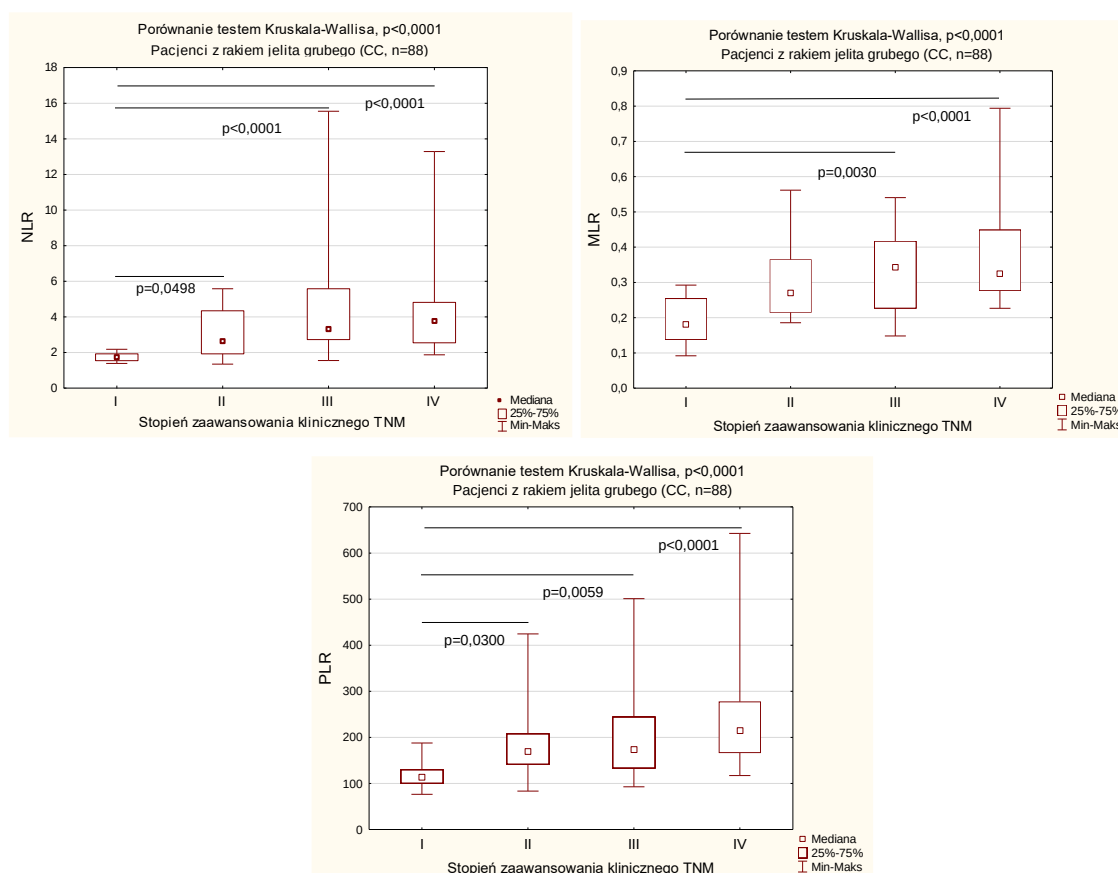


Rycina 12. Porównanie NLR, MLR, PLR u kobiet z rakiem piersi, w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego TNM.

4.4.4. Analiza porównawcza NLR, MLR, PLR u wszystkich pacjentów z rakiem jelita grubego w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego TNM

Pacjenci z rakiem jelita grubego, łącznie kobiety i mężczyźni (CC $n=88$), podzieleni według klasyfikacji TNM na cztery stopnie zaawansowania klinicznego, I ($n=13$), II ($n=15$), III ($n=18$), IV ($n=42$), nie różnili się wiekiem, parametrami morfologii krwi, CRP. Chorzy CC różnili się stężeniem CEA ($p=0,0010$), przy czym zaobserwowano porównywalne wartości w podgrupach I, II i III oraz wyższe wartości w podgrupie IV w porównaniu z podgrupą I ($p=0,0026$).

Wszyscy pacjenci z rakiem jelita grubego, w podgrupach od I do IV stopnia zaawansowania klinicznego TNM, różnili się wskaźnikami NLR, MLR i PLR, co przedstawiono na rycinie 13.

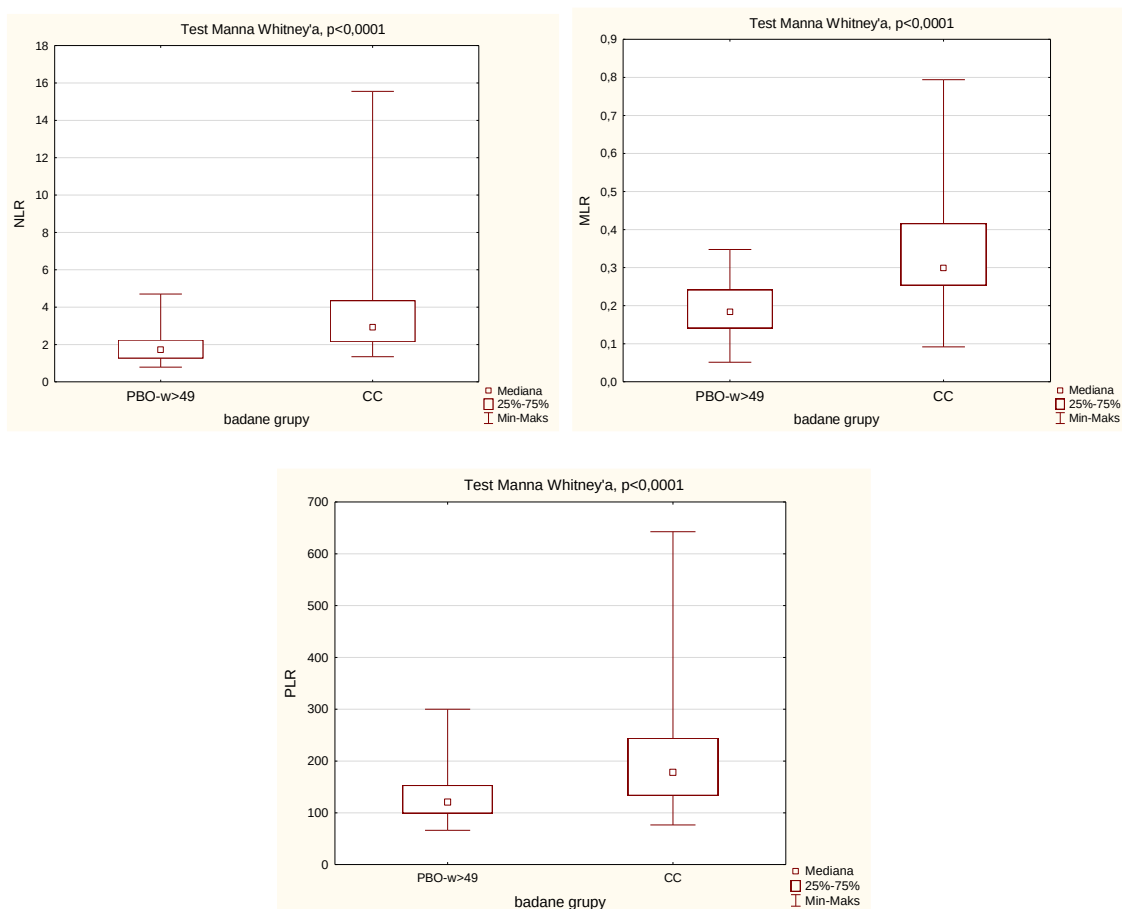


Rycina 13. Porównanie NLR, MLR, PLR u wszystkich pacjentów z rakiem jelita grubego, w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego TNM.

Zaobserwowano porównywalne wartości NLR w grupach II, III, IV oraz odmienne, wyższe od podgrupy I w porównaniu z podgrupami II, III, IV. Dla MLR wykazano porównywalne wartości w podgrupach II, III, IV oraz wyższe w podgrupie III i IV w porównaniu z podgrupą I. Dla PLR różnice są porównywalne w grupach II, III, IV a każda z nich jest wyższa niż w grupie I.

4.4.5. Analiza porównawcza NLR, MLR, PLR między: pacjentami z rakiem jelita grubego i grupą porównawczą dostosowaną z uwagi na wiek

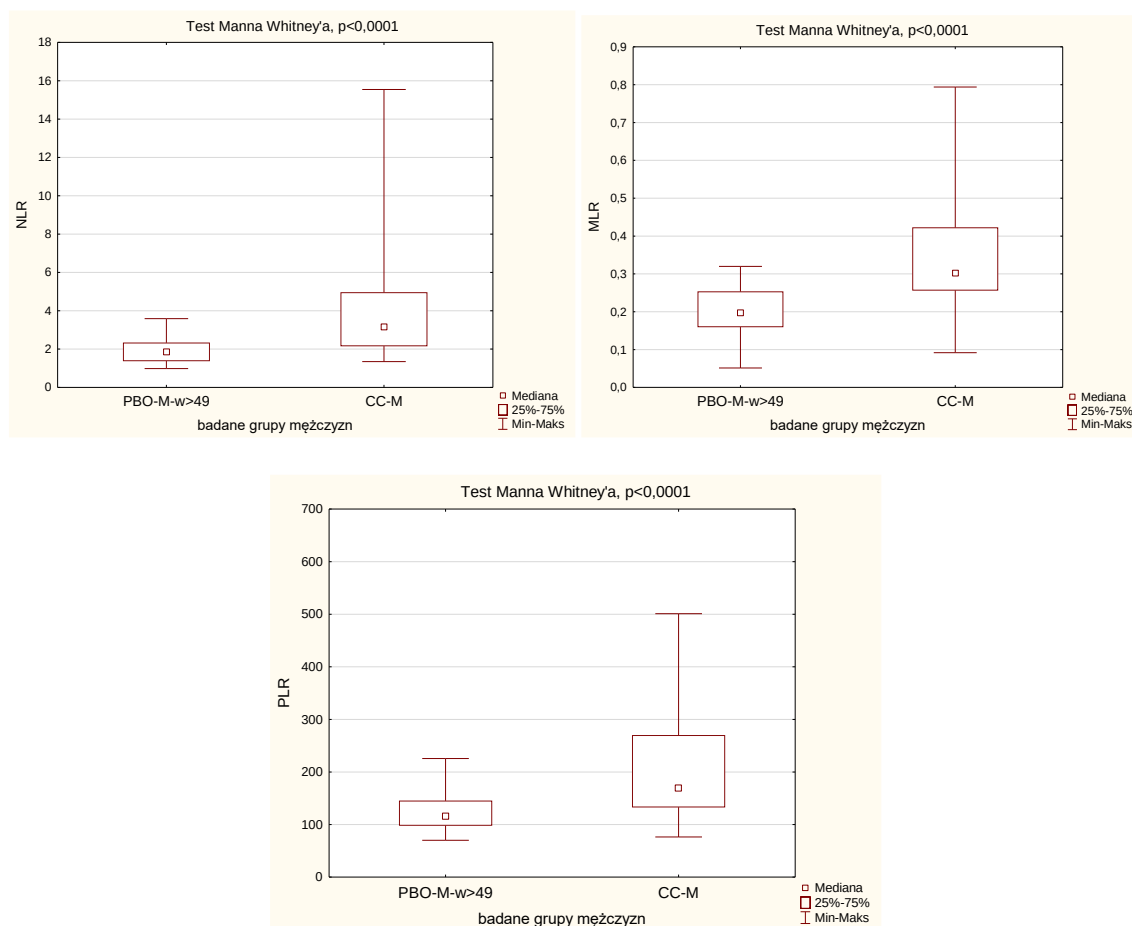
Porównania między dwiema grupami: PBO-w>49 (n=49) oraz CC (n=88) dokonano przy użyciu testu U Manna Whitney'a. Wyniki porównania przedstawiono na rycinie 14. Dla wszystkich badanych wskaźników w grupie CC wykazano istotnie wyższe wartości.



Rycina 14. Porównanie NLR, MLR, PLR między grupą porównawczą dostosowaną z uwagi na wiek i pacjentami z rakiem jelita grubego.

4.4.6. Analiza porównawcza NLR, MLR, PLR między mężczyznami chorymi na raka jelita grubego i grupą porównawczą mężczyzn dostosowaną z uwagi na wiek

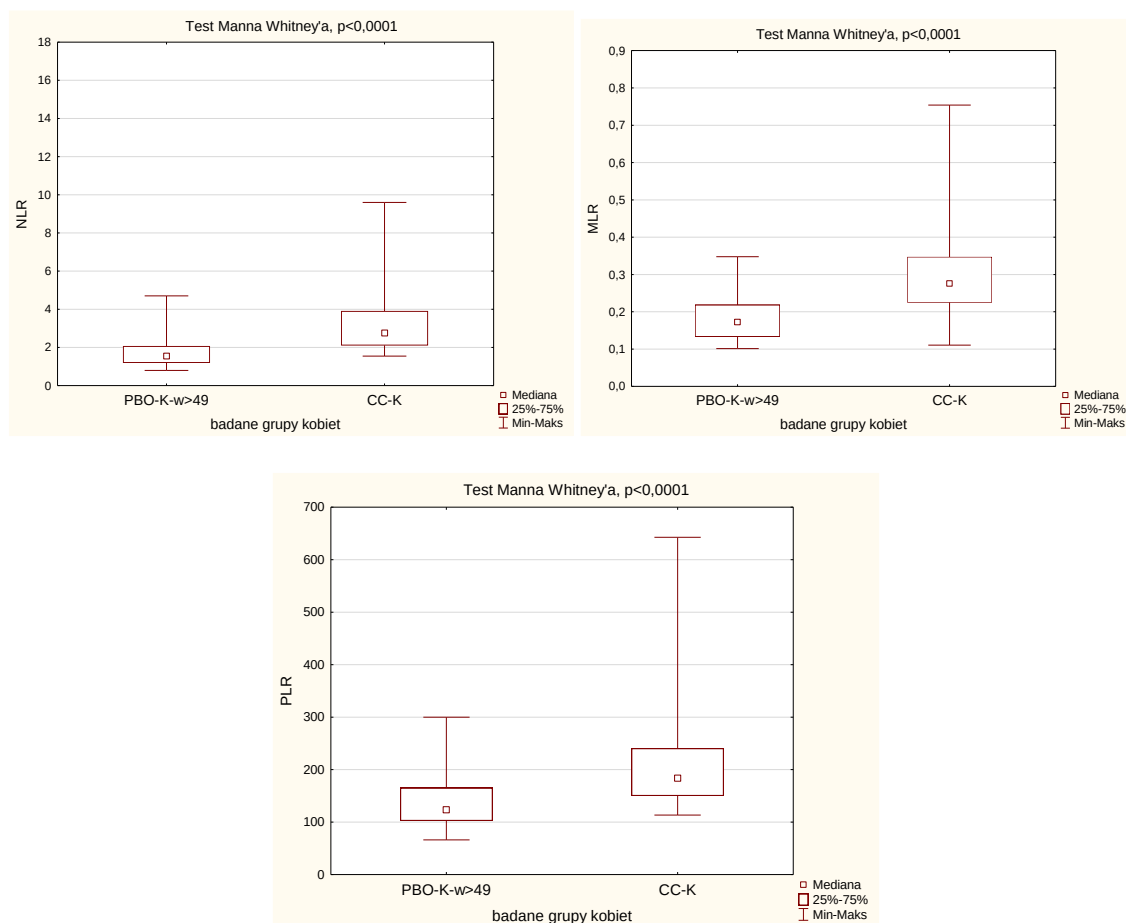
Na rycinie 15 przedstawiono wyniki porównania NLR, MLR, PLR między: mężczyznami z grupy porównawczej w wieku powyżej 49 r.ż. (PBO-M-w>49, n=44) oraz mężczyznami z rakiem jelita grubego (CC-M, n=60). Dla wszystkich wskaźników zaobserwowano istotnie wyższe wartości w grupie mężczyzn z rakiem jelita grubego w porównaniu z mężczyznami z grupy PBO-M-w>49.



Rycina 15. Porównanie NLR, MLR, PLR między mężczyznami chorymi na raka jelita grubego i grupą porównawczą mężczyzn dostosowaną z uwagi na wiek.

4.4.7. Analiza porównawcza NLR, MLR, PLR u kobiet, między kobietami chorymi na raka jelita grubego i grupą porównawczą kobiet dostosowaną z uwagi na wiek

Na rycinie 16 przedstawiono porównanie NLR, MLR, PLR między grupami kobiet, z uwzględnieniem wieku: porównawczą kobiet w wieku powyżej 49 r.ż. (PBO- K- w>49, n=44) i pacjentek z rakiem jelita grubego (CC-K, n=28). Zaobserwowano istotnie wyższe wartości wszystkich wskaźników w grupie CC-K w porównaniu z grupą PBO-K-w>49.

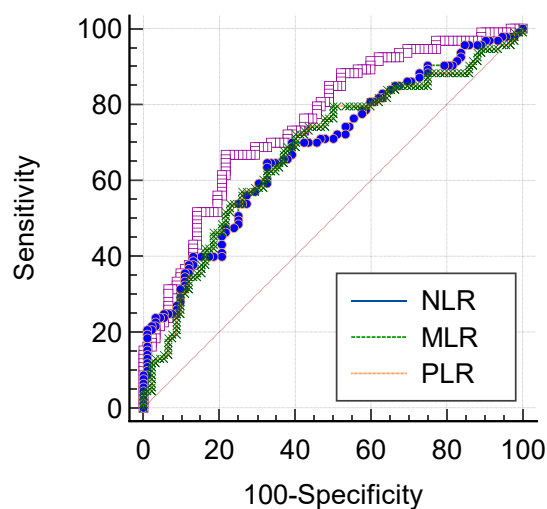


Rycina 16. Porównanie NLR, MLR, PLR między kobietami chorymi na raka jelita grubego i grupą porównawczą kobiet dostosowaną z uwagi na wiek.

4.5. Analiza krzywych ROC dla krwinkowych wskaźników zapalnych

4.5.1. Znaczenie diagnostyczne NLR, MLR, PLR u chorych na raka piersi

Wyniki analizy ROC dla rozróżnienia grupy porównawczej PBO-K (n=93) i chorych z rakiem piersi BC (n=93) przedstawiono, w formie wykresu i tabeli, na rycinie 17. Największą mocą wykazał się NLR (najwyższe AUC), który przyjmując wartości powyżej 2,228 z 66,7% czułością i 78,3% swoistością różnicował kobiety z rakiem piersi (BC) od kobiet z grupy porównawczej (PBO-K).



	Wartość graniczna	Czułość [%]	Swoistość [%]	AUC	95% CI
NLR	2,228	66,7	78,3	0,756	0,687 - 0,816
MLR	0,199	64,5	67,4	0,685	0,613 - 0,751
PLR	131,5	72,0	59,8	0,678	0,606 - 0,745

Objaśnienia: NLR – wskaźnik neutrocyty:limfocyty ; MLR – wskaźnik monocyty:limfocyty; PLR – wskaźnik płytki:limfocyty ; AUC – pole pod krzywą ; CI (ang. *confidence interval*) – przedział ufności.

Rycina 17. Porównanie atrybutów analizy ROC dla różnicowania grupy porównawczej kobiet i pacjentek z rakiem piersi.

Przeprowadzono analizę krzywych ROC dla podgrup, między którymi wykazano istotne różnice wartości wskaźników NLR, MLR, PLR w teście Kruskala-Wallisa (ryc.12). Wyniki analizy krzywych ROC dla wskaźników NLR, MLR i PLR oraz porównanie między badanymi grupami z uwzględnieniem stopnia zaawansowania klinicznego TNM raka piersi przedstawiono w tabeli 25.

Tabela 25. Podsumowanie wyników analizy krzywych ROC dla wskaźników NLR, MLR i PLR. Porównanie między badanymi podgrupami z uwzględnieniem stopnia zaawansowania klinicznego TNM u chorych na raka piersi.

Dane przedstawiono wg schematu: wartość odcięcia/czułość diagnostyczna; swoistość diagnostyczna/ AUC (95% CI).

	BC IV (n=20) vs BC I (n=16)	p	BC IV (n=20) vs BC II (n=40)	p	BC IV (n=20) vs BC I+II (n=56)	p
NLR	>2,036 /95,0 ; 62,5/ 0,825 (0,662-0,931)	<0,0001	>3,778 /55,0 ; 87,5/ 0,724 (0,594-0,832)	0,0016	>3,778 /55,0 ; 89,3/ 0,753 (0,609-0,820)	0,0014
MLR	>0,290 /50,0 ; 93,7/ 0,736 (0,563-0,868)	0,0054	>0,315 /50,0 ; 87,5/ 0,719 (0,588-0,827 0	0,0026	>0,315 /50,0 ; 89,3/ 0,724 (0,609-0,820)	0,0014
PLR	>180,6 /60,0 ; 87,5/ 0,741 (0,568-0,872)	0,0050	>194,6 /55,0 ; 77,5/ 0,680 (0,547-0,795)	0,0186	>194,6 /55,0 ; 80,4/ 0,697 (0,581-0,798)	0,0059

Objaśnienia: BC -pacjentki z rakiem piersi ; vs (łac. *versus*) - wobec; TNM I,II,III,IV- stopień klinicznego zaawansowania wg TNM ; NLR – wskaźnik neutrocyty:limfocyty ; MLR – wskaźnik monocyty:limfocyty; PLR – wskaźnik płytki krwi:limfocyty ; AUC – pole pod krzywą ; CI (ang. *confidence interval*) – przedział ufności.

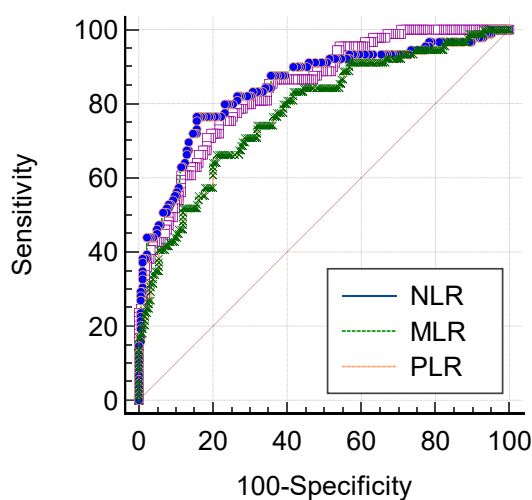
Dla rozróżnienia grupy kobiet z I stopniem i z IV stopniem klinicznego zaawansowania raka piersi, największą mocą (najwyższe AUC) wykazał się NLR, który przyjmując wartość >2,036 z 95% czułością i 62,5 % swoistością różnicował pacjentki.

Dla rozróżnienia grupy kobiet z rakiem piersi w II stopniu klinicznego zaawansowania od grupy w IV stopniu zaawansowania choroby, największą mocą wykazał się NLR, który przyjmując wartość >3,778 z 55% czułością i 87,5% swoistością różnicował pacjentki.

Dla rozróżnienia grupy kobiet z rakiem piersi w IV stopniu zaawansowania od kobiet w I lub II stopniu klinicznego zaawansowania największą mocą wykazał się NLR (najwyższe AUC), który przyjmując wartość powyżej 3,778 z 55% czułością i 89,3% swoistością różnicował wyżej wymienione pacjentki.

4.5.2. Znaczenie diagnostyczne NLR, MLR, PLR u chorych z rakiem jelita grubego

Wyniki analizy ROC dla rozróżnienia grupy porównawczej PBO (n=186) i chorych na raka jelita grubego CC (n=88) przedstawiono na rycinie 18. Największą mocą wykazał się MLR (najwyższe AUC), który przyjmując wartości powyżej 0,250 z 76,4% czułością i 84,3% swoistością różnicował chorych z rakiem jelita grubego od grupy porównawczej.



	Wartość graniczna	czułość	swoistość	AUC	95% CI
NLR	2,171	75,3	78,4	0,842	0,794 - 0,884
MLR	0,250	76,4	84,3	0,846	0,797 - 0,886
PLR	158,2	66,3	78,9	0,780	0,726 - 0,827

Objaśnienia: NLR – wskaźnik neutrocyty:limfocyty ; MLR – wskaźnik monocyty:limfocyty;
PLR – wskaźnik płytki:limfocyty ; AUC – pole pod krzywą ; CI (ang. *confidence interval*)
– przedział ufności.

Rycina 18. Porównanie atrybutów analizy ROC dla różnicowania grupy porównawczej i chorych z rakiem jelita grubego.

W tabeli 26 przedstawiono podsumowanie wyników analiz ROC dla wskaźników zapalnych, z uwzględnieniem wieku i płci badanych osób.

Dla rozróżnienia grupy porównawczej w wieku powyżej 49 r.ż. PBO-w>49 (n=88) i wszystkich pacjentów z rakiem jelita grubego CC (n=88) ujawniły, że największą mocą wykazał się MLR (najwyższa wartość AUC), który przyjmując wartości powyżej > 0,250 z 76,1 % czułością i 79,5 % swoistością różnicuje pacjentów z rakiem jelita grubego od grupy porównawczej w wieku powyżej 49 r.ż.

Dla rozróżnienia grupy porównawczej mężczyzn PBO-M-w>49 (n=44) i pacjentów z rakiem jelita grubego CC-M (n=60) największą mocą wykazał się MLR (najwyższa wartość AUC), który przyjmując wartości powyżej 0,250 z 80% czułością i 75% swoistością różnicuje mężczyzn chorych na raka jelita grubego od grupy porównawczej mężczyzn w wieku powyżej 49 r.ż.

Dla rozróżnienia grupy porównawczej kobiet PBO-K-w>49 (n=44) i pacjentek z rakiem jelita grubego CC-K (n=28) największą mocą wykazał się MLR (najwyższa wartość AUC), który przyjmując wartości powyżej 0,226 z 75% czułością i 79,5 % swoistością różnicuje pacjentki z rakiem jelita grubego od grupy porównawczej kobiet w wieku powyżej 49 r.ż.

Tabela 26. Podsumowanie wyników analizy krzywych ROC dla wskaźników NLR, MLR i PLR dla badanych grup i podgrup z uwzględnieniem rozpoznania raka jelita grubego,

p<0,0001 dla wszystkich analiz ROC. Dane przedstawiono wg schematu: wartość odcięcia/czułość diagnostyczna ; swoistość diagnostyczna/AUC (95% CI).

	CC (n=88) vs PBO (n=186)	CC (n=88) vs PBO-w>49 (n=88)	CC-M (n=60) vs PBO-M-w>49 (n=44)	CC-K (n=28) vs PBO-K-w>49 (n=44)
NLR	>2,171 /75,3 ; 78,4/ 0,842 (0,794-0,884)	>2,691 /60,2 ; 88,6/ 0,828 (0,764-0,881)	>2,965 /55,0 ; 95,5/ 0,825 (0,738-0,892)	>1,983 /78,6 ; 75,0/ 0,818 (0,710-0,899)
MLR	>0,250 /76,4 ; 84,3/ 0,846 (0,797-0,886)	>0,250 /76,1 ; 79,5/ 0,833 (0,769-0,885)	>0,250 /80,0 ; 75,0/ 0,827 (0,740-0,894)	>0,226 /75,0 ; 79,5/ 0,829 (0,722-0,907)
PLR	>158,2 /66,3 ; 78,9/ 0,780 (0,726-0,827)	>158,2 /65,9 ; 80,7/ 0,777 (0,709-0,837)	>159,4 /61,7 ; 90,9/ 0,791 (0,700-0,864)	>158,2 /75,0 ; 72,7/ 0,776 (0,662-0,866)

Objaśnienia: CC -pacjenci z rakiem jelita grubego ; CC-M – mężczyźni z rakiem jelita grubego ; CC-K – kobiety z rakiem jelita grubego ; PBO – pacjenci z Poradni Badań Okresowych ; PBO-w>49 – pacjenci z Poradni Badań Okresowych powyżej 49 r.ż. ; PBO-M-w>49 – mężczyźni z Poradni Badań Okresowych powyżej 49 r.ż. ; PBO-K-w>49 – kobiety z Poradni Badań Okresowych powyżej 49 r.ż. ; vs (łac. versus) - wobec; NLR – wskaźnik neutrofile do limfocytów ; MLR – wskaźnik monocyty do limfocytów ; PLR – wskaźnik płytki do limfocytów ; AUC – pole pod krzywą ; CI (ang. confidence interval) – przedział ufności.

Przeprowadzono analizę krzywych ROC dla podgrup, między którymi wykazano istotne różnice wartości wskaźników NLR, MLR, PLR w teście Kruskala-Wallisa (ryc.13). Wyniki analizy krzywych ROC dla badanych wskaźników oraz porównanie między badanymi grupami z uwzględnieniem stopnia zaawansowania klinicznego TNM raka jelita grubego przedstawiono w tabeli 27. Wyniki analizy ROC dla rozróżnienia grupy CC z I stopniem klinicznego zaawansowania choroby i z IV stopniem przedstawiają, że największą mocą wykazał się NLR (najwyższa wartość AUC), który przyjmując wartość >2,184 z prawie 91% czułością oraz 100% swoistością różnicuje obie grupy.

Dla rozróżnienia grupy CC z I stopniem klinicznego zaawansowania choroby od III wykazały, że największą mocą wykazał się NLR, który przyjmując wartość >2,053 z 94,4% czułością oraz 92,3% swoistością różnicuje te dwie grupy między sobą.

Analiza ROC dla rozróżnienia grupy CC w I stopniem klinicznego zaawansowania choroby od grupy CC w II stopniu przedstawiła, że najwyższą wartość AUC uzyskano dla PLR. Przyjmując wartości >131,9 z 80% czułością i prawie 85% swoistością różnicuje pacjentów w grupie CC z I oraz II stopniem klinicznego zaawansowania choroby.

Tabela 27. Podsumowanie wyników analizy krzywych ROC dla wskaźników NLR, MLR i PLR. Porównanie między badanymi podgrupami z uwzględnieniem stopnia zaawansowania klinicznego TNM raka jelita grubego.

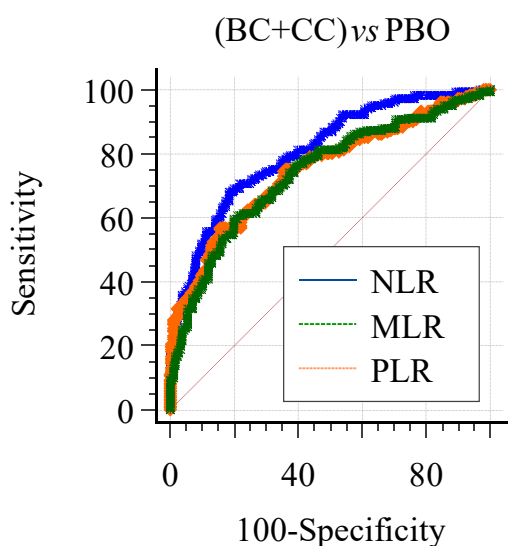
Dane przedstawiono wg schematu: wartość odcięcia / czułość diagnostyczna ; swoistość diagnostyczna / AUC (95% CI).

	IV (n=42) vs I (n=13)	P	III (n=18) vs I (n=13)	P	II (n=15) vs I (n=13)	P
NLR	>2,184 /90,5 ; 100,0/ 0,984 (0,906-1,000)	<0,0001	>2,053 /94,4 ; 92,3/ 0,953 (0,811-0,997)	<0,0001	>2,184 /66,7 ; 100,0/ 0,815 (0,624-0,936)	0,0003
MLR	>0,255 /92,9 ; 76,9/ 0,929 (0,827-0,981)	<0,0001	>0,292 /61,1 ; 100,0/ 0,859 (0,687-0,957)	<0,0001	>0,204 /86,7 ; 69,2/ 0,831 (0,642-0,945)	<0,0001
PLR	>131,9 /92,9 ; 84,6/ 0,936 (0,836-0,984)	<0,0001	>131,9 /77,8 ; 84,6/ 0,842 (0,66-0,947)	<0,0001	>131,9 /80,0 ; 84,6/ 0,856 (0,672-0,959)	<0,0001

Objaśnienia: CC – pacjenci z rakiem jelita grubego ; TNM I,II,III,IV – stopień klinicznego zaawansowania raka jelita grubego ; NLR – wskaźnik neutrocyty:limfocyty; MLR – wskaźnik monocyty:limfocyty ; PLR – wskaźnik płytki krwi:limfocyty ; AUC – pole pod krzywą ; CI (ang. *confidence interval*) – przedział ufności

4.5.3. Znaczenie diagnostyczne NLR, MLR, PLR u pacjentów z nowotworem złośliwym, z uwzględnieniem płci

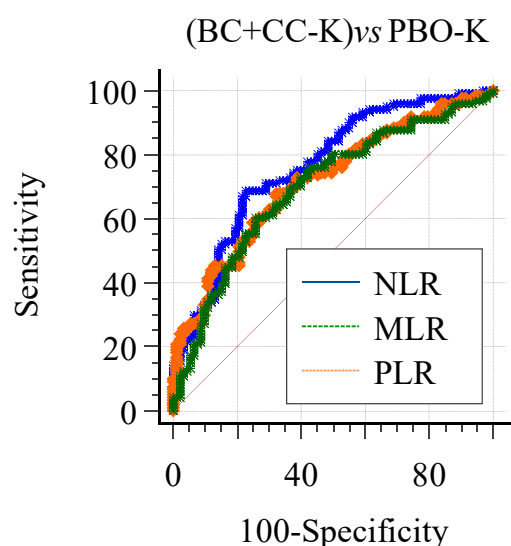
Na rycinie 19 oraz w tabeli 28 przedstawiono porównanie krzywych ROC w różnicowaniu wszystkich pacjentów z chorobą nowotworową (BC - pacjentki z rakiem piersi, n=93 oraz CC - pacjenci z rakiem jelita grubego, n=83) i grupy porównawczej (PBO -pacjenci z Poradni Badań Okresowych, n=186). Najwyższą moc (największa wartość AUC) wykazano dla NLR, który przyjmując wartości powyżej 2,297 z 68% czułością i 82% swoistością różnicuje pacjentów z nowotworem złośliwym od grupy porównawczej. Istotne statystycznie różnice wykazano między NLR i MLR oraz NLR i PLR. Natomiast nie wykazano takich różnic dla NLR i PLR, ich moc jest porównywalna.



BC- kobiety z rakiem piersi ; CC- pacjenci z rakiem jelita grubego ; PBO – grupa z Poradni Badań Okresowych ; NLR – wskaźnik neutrocyty:limfocyty ; MLR – wskaźnik monocyty:limfocyty; PLR – wskaźnik płytki krwi:limfocyty

Rycina 19. Porównanie krzywych ROC w różnicowaniu wszystkich pacjentów z chorobą nowotworową i grupy porównawczej.

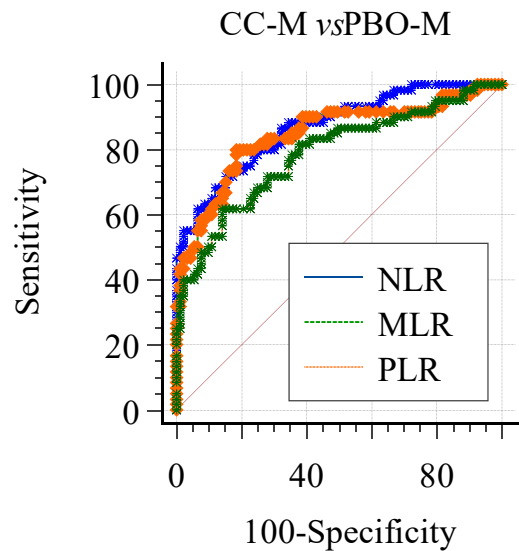
Na rycinie 20 oraz w tabeli 28 przedstawiono porównanie krzywych ROC w różnicowaniu kobiet z chorobą nowotworową (BC – chore na raka piersi, n=93 oraz CC-K – kobiety chore na raka jelita grubego, n=28) i grupy porównawczej kobiet (PBO- K – kobiety z Poradni Badań Okresowych, n=93). Najwyższą wartość AUC uzyskano dla NLR.



BC- kobiety chore raka piersi ; CC-K- kobiety chore na raka jelita grubego ; PBO-K – kobiety z Poradni Badań Okresowych ; NLR – wskaźnik neutrocyty:limfocyty ; MLR – wskaźnik monocyty:limfocyty; PLR – wskaźnik płytki krwi:limfocyty

Rycina 20. Porównanie krzywych ROC w różnicowaniu wszystkich kobiet z chorobą nowotworową i kobiet z grupy porównawczej.

Na rycinie 21 oraz tabeli 28 przedstawiono porównanie krzywych ROC w różnicowaniu mężczyzn z chorobą nowotworową (CC-M – mężczyźni z rakiem jelita grubego, n=60) i grupy porównawczej mężczyzn (PBO-M – mężczyźni z Poradni Badań Okresowych, n=93). Najwyższą moc wykazano dla NLR.



CC-M- mężczyźni chorzy na raka jelita grubego ; PBO-M – mężczyźni z Poradni Badań Okresowych ; NLR – wskaźnik neutrocyty:limfocyty ; MLR – wskaźnik monocyty:limfocyty; PLR – wskaźnik płytki krwi:limfocyty

Rycina 21. Porównanie krzywych ROC w różnicowaniu mężczyzn z chorobą nowotworową i mężczyzn z grupy porównawczej.

Tabela 28. Podsumowanie analizy krzywych ROC dla wskaźników NLR, MLR, PLR, w różnicowaniu grup i podgrup pacjentów onkologicznych i populacji porównawczej, przedstawionych na ryc. 19, 20, 21.

	BC+CC (n=181) vs PBO (n=186)	p	BC+CC-K (n=121) vs PBO-K (n=93)	p	CC-M (n=60) vs PBO-M (n=93)	p
NLR	>2,297 /68,0 ; 81,7/ 0,810 (0,766-0,849)	<0,0001	>2,171 /68,6 ; 77,4/ 0,765 (0,703-0,821)	<0,0001	>2,297 /71,1 ; 85,0/ 0,869 (0,805-0,918)	<0,0001
MLR	>0,250 /56,9 ; 84,4/ 0,750 (0,703-0,794)	<0,0001	>0,199 /67,8 ; 67,7/ 0,716 (0,650-0,775)	<0,0001	>0,250 /80,0 ; 81,7/ 0,846 (0,779-0,899)	<0,0001
PLR	>158,2 /60,8 ; 79,0/ 0,742 (0,694-0,786)	<0,0001	>158,2 /60,3 ; 74,2/ 0,699 (0,633-0,760)	<0,0001	>159,4 /61,7 ; 86,0/ 0,788 (0,714-0,849)	<0,0001
	NLR ~ MLR p=0,0047		NLR ~ MLR p=0,0791		NLR ~ MLR p=0,4232	
	NLR ~ PLR p=0,0022		NLR ~ PLR p=0,0271		NLR ~ PLR p=0,0227	
	MLR ~ PLR p=0,7060		MLR ~ PLR p=0,5887		MLR ~ PLR p=0,1112	

Objaśnienia: BC- pacjentki z rakiem piersi ; CC – pacjenci z rakiem jelita grubego ; CC-K -kobiety z rakiem jelita grubego ; CC-M – mężczyźni z rakiem jelita grubego, PBO – pacjenci z Poradni Badań Okresowych, PBO-K – kobiety z Poradni Badań Okresowych, PBO-M – mężczyźni z Poradni Badań Okresowych; NLR – wskaźnik neutrocyty:limfocyty ; MLR – wskaźnik monocyty:limfocyty ; PLR – wskaźnik płytki krwi:limfocyty ; AUC – pole pod krzywą ; CI (ang. *confidence interval*) – przedział ufności.

Wyniki analizy ROC dla rozróżnienia grupy pacjentów z chorobą nowotworową (BC – pacjentki z rakiem piersi, CC - pacjenci z rakiem jelita grubego, n=181) i grupy porównawczej (PBO – pacjenci z Poradni Badań Okresowych, n=186) przedstawiono w tabeli 21. Największą mocą wykazał się NLR (najwyższa wartość AUC), przyjmując wartości >2,297 z 68% czułością oraz 82% swoistością różnicuje pacjentów z nowotworem złośliwym od grupy porównawczej. Istotnie statystycznie różnice wykazano dla NLR z MLR oraz dla NLR z PLR. Natomiast nie wykazano takiej różnicy dla MLR z PLR, ich moc jest porównywalna.

Analiza ROC dla rozróżnienia kobiet z nowotworem złośliwym (BC – kobiety z rakiem piersi oraz CC-K – kobiety z rakiem jelita grubego, n=121) od kobiet z grupy porównawczej (PBO-K, n=93) wykazała największą moc dla NLR, który przyjmując wartości >2,171 z prawie 69% czułością i 77% swoistością różnicuje kobiety

z nowotworem złośliwym od kobiet zdrowych z grupy porównawczej. Wykazano również istotne statystycznie różnice pomiędzy NLR i PLR.

Analiza ROC dla rozróżnienia mężczyzn z nowotworem złośliwym (CC-M – mężczyźni z rakiem jelita grubego, n=66) od zdrowych mężczyzn z grupy porównawczej (PBO-M, n=93) wykazała największą moc dla NLR (najwyższa wartość AUC). NLR przyjmując wartości $>2,297$ z 71% czułością i 85% swoistością różnicuje mężczyzn z rakiem jelita grubego od zdrowych mężczyzn z grupy porównawczej.

4.6. Podsumowanie wyników

W populacji porównawczej (PBO) oraz w grupach z rakiem piersi i rakiem jelita grubego (BC, CC), nie zaobserwowano różnic wartości krwinkowych wskaźników zapalnych NLR, MLR, PLR między kobietami i mężczyznami oraz związku tych wskaźników z wiekiem badanych osób.

W populacji porównawczej, u kobiet i mężczyzn, najczęściej powtarzały się korelacje z liczbą leukocytów (WBC) – dodatnie dla NLR oraz ujemne dla MLR i PLR. Krwinkowe wskaźniki nie wykazały związku z elementami oceny układu czerwono krwinkowego (za wyjątkiem słabej dodatniej korelacji z MCV u mężczyzn). Wskaźniki NLR, MLR, PLR wykazały wzajemne, dodatnie korelacje zarówno u kobiet, jak i u mężczyzn.

U pacjentek z rakiem piersi (BC), w porównaniu z grupą PBO-K zaobserwowano wyższe NLR, MLR i PLR. Wskaźniki MLR i PLR korelowały ujemnie z HGB. Wszystkie badane wskaźniki korelowały ujemnie z MCH i MCHC oraz PLR korelował dodatnio z RDW. Wskaźniki NLR, MLR, PLR wykazały wzajemne, dodatnie korelacje. Żaden z nich nie korelował z CRP i CA 15.3.

U pacjentów z rakiem jelita grubego (CC), kobiet (CC-K) i mężczyzn (CC-M), wartości wskaźników NLR, MLR, PLR były wyższe w porównaniu z kobietami i mężczyznami z grupy porównawczej (PBO-K, PBO-M) oraz kobietami i mężczyznami po wyodrębnieniu grupy porównawczej w wieku powyżej 49 r.ż. Dla wskaźników NLR i PLR widoczne są różnice istotne statystycznie pomiędzy grupą PBO a grupami BC oraz CC, natomiast nie wykazano takich różnic pomiędzy grupami BC oraz CC. U chorych na raka jelita grubego, u kobiet i mężczyzn, wskaźniki NLR, MLR, PLR w większości korelowały dodatnio z CRP. U mężczyzn wzrost każdego ze wskaźników korelował z laboratoryjnymi wykładnikami niedokrwistości., a MLR dodatkowo ze wzrostem, CEA i LDH we krwi.

U pacjentek z rakiem piersi (BC), w zależności od stopnia klinicznego zaawansowania choroby, wykazano różnice wartości NLR między I a IV oraz między II a III stopniem klasyfikacji TNM. Dla MLR różnice takie występują pomiędzy II a IV stopniem zaawansowania klinicznego raka piersi. Natomiast PLR różni się pomiędzy I a IV stopniem zaawansowania choroby.

Pacjenci z rakiem jelita grubego, w zależności od stopnia klinicznego zaawansowania choroby, różnili się wartościami badanych wskaźników. Dla NLR oraz PLR zaobserwowano porównywalne wartości w grupach II, III, IV, a każdy był wyższy niż w grupie I. Dla MLR wykazano porównywalne wartości w podgrupach II, III, IV oraz wyższe w podgrupie III i IV w porównaniu z podgrupą I. Dla pacjentów z rakiem jelita grubego zarówno w całej populacji jak i z podziałem ze względu na płeć wykazano istotnie wyższe wartości NLR, MLR i PLR w porównaniu z grupą osób zdrowych (PBO).

Wyniki analizy krzywych ROC dla rozróżnienia chorych z rakiem piersi i grupy porównawczej (PBO-K) wykazały, że największą mocą charakteryzuje się NLR (najwyższa wartość AUC), który przyjmując wartości powyżej 2,228 z 66,7% czułością oraz 78,3% swoistością różnicował kobiety z rakiem piersi od kobiet z grupy porównawczej. Natomiast w przypadku pacjentów z rakiem jelita grubego, najwyższą mocą wykazał się MLR (najwyższa wartość AUC), który przyjmując wartość powyżej 0,250 z 76,4% czułością i 84,3% swoistością różnicował chorych z rakiem jelita grubego od grupy porównawczej.

5. Dyskusja

Stan zapalny odgrywa kluczową rolę w patofizjologii chorób nowotworowych.³ Jego udział w chorobie nowotworowej można rozpatrywać dwutorowo. Z jednej strony, poprzez aktywację różnych typów onkogenów (mutacje, rearanżacje lub amplifikację chromosomów) oraz inaktywację genów supresorowych, dochodzi do przekształcenia komórki prawidłowej w nowotworową. Przekształcona komórka wytwarza mediatory stanu zapalnego, tworząc w ten sposób mikrośrodowisko zapalne w guzach. Z drugiej strony, sam stan zapalny lub czynnik zakaźny może zwiększać ryzyko rozwoju nowotworu w pewnych lokalizacjach anatomicznych (takich jak okrężnica, prostata, trzustka). Oba mechanizmy prowadzą do aktywacji w komórkach nowotworowych czynników transkrypcyjnych.⁴⁵ Stan zapalny może indukować chorobę nowotworową a choroba nowotworowa może stać się przyczyną rozwoju stanu zapalnego.

Stan zapalny w organizmie gospodarza oraz odpowiedź immunologiczna w mikrośrodowisku guza mają wpływ na proliferację komórek nowotworowych, inwazję, angiogenezę, przerzutowanie.^{4,79} Istnieje coraz więcej dowodów na to, że zapalenie związane z nowotworem jest kluczowym czynnikiem determinującym rokowanie u pacjentów z rakiem.⁸⁰

Ocena morfologii krwi, z różnicowaniem leukocytów na subpopulacje, jest podstawowym badaniem laboratoryjnym uzyskiwanym przy pomocy analizatorów hematologicznych, pozwalającym ocenić stan zdrowia pacjenta. Zmiana liczby krwinek obwodowych może wskazywać na reakcję zapalną organizmu. Odpowiedź zapalna koreluje ze zmianami liczby leukocytów i ich subpopulacji we krwi. Wykazano, że wskaźniki obliczone z parametrów morfologii krwi: NLR, MLR i PLR, mogą prezentować potencjalną wartość prognostyczną dla różnych typów nowotworów.^{73–75}

Uważa się, że neutrocyty posiadają potencjał do promowania adhezji a także rozsiewu krążących komórek nowotworowych do odległych narządów, poprzez wydzielanie czynników wzrostu jak (*ang. vascular endothelial growth factor*, VEGF) oraz proteaz⁸¹. Badania nad markerami stanu zapalnego wykazały, że podwyższony wskaźnik neutrocyty:limfocyty – NLR jest istotnym, niekorzystnym predyktorem u chorych na raka^{80,82}. Uważa się, że wskaźnik ten odzwierciedla równowagę pomiędzy odpowiedzią immunologiczną wrodzoną (neutrocyty) a swoistą (limfocyty), a wskaźnik NLR jest związany ze zwiększonym stężeniem różnych cytokin prozapalnych, mogących

powodować uszkodzenie DNA^{80,83}. Wykazano, że podobną rolę jak NLR mogą również pełnić PLR i MLR: w guzach litych⁸⁴, raku płuc⁸⁵, raku piersi⁸⁶, raku jelita grubego.⁸⁷

Limfocyty uczestniczą w procesach cytotoksycznej śmierci komórek, hamowaniu proliferacji oraz migracji komórek nowotworowych^{88,89}. Limfopenia może spowodować ucieczkę komórek nowotworowych spod nadzoru układu odpornościowego.⁹⁰

W literaturze dostępnych jest niewiele danych dotyczących wartości referencyjnych dla krwinkowych wskaźników zapalnych. Wynika z nich, że wartości prawidłowe wskaźników zapalnych obliczanych z parametrów morfologii krwi mogą różnić się między grupami etnicznymi.^{83,91} Parametry morfologii krwi zależą od takich czynników jak wiek, płeć, rasa, odżywianie, środowisko powyżej średniego poziomu morza. Ważnym jest, abyśmy znali wartości referencyjne dla tych wskaźników w każdej populacji, by prowadzić ocenę ich użyteczności klinicznej.⁷⁶

Basem Azab i współautorzy podjęli próbę ustalenia średnich wartości dla wskaźnika neutrocyty:limfocyty, w populacji ogólnej na grupie 9427 mieszkańców Stanów Zjednoczonych Ameryki. Średnia wartość dla neutrocytów wyniosła 4,3 tys. komórek w μ l, dla limfocytów 2,1 tys. komórek w μ l, a średnia wartość NLR 2,15. Badania wykazały znacząco niższe średnie wartości wskaźnika NLR dla rasy niełatynoskiej czarnej i latynoskiej (1,76 i 2,08) w porównaniu do niełatynosów białych (2,24). Wyższe wartości NLR występowały u osób z cukrzycą, chorobami sercowo-naczyniowymi i u palących papierosy. Nie wykazano znaczących różnic pod względem płci, nawyków związanych z piciem alkoholu. U osób badanych rasy czarnej, tylko wysokie BMI (ang. *body mass index*) było, związane z podwyższonym NLR. W grupie rasy białej - wiek, palenie papierosów wiązały się z podwyższonym NLR.⁸³ Obserwowane różnice w związkach między niektórymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego a podwyższonym NLR, mogą wynikać z rasowych uwarunkowań odpowiedzi zapalnej na różne czynniki szkodliwe.⁸³

Badacze z Iranu dostarczyli wartości referencyjnych, obliczonych w grupie 2212 zdrowych osób, w grupie wiekowej $49,9 \pm 9,29$ lat, dla NLR (neutrocyty:limfocyty) $1,70 \pm 0,70$, dla LMR (limfocyty:monocyty) $11,15 \pm 3,14$; PLR (płytki krwi:limfocyty) $117,05 \pm 47,73$ w populacji irańskiej.⁷⁶ Średnia wartość LMR była znacząco wyższa u kobiet niż u mężczyzn i była wyższa wśród populacji miejskiej w stosunku do wiejskiej. Wyższe wartości obserwowano w grupie powyżej 40 r.ż. Wartości PLR były znacząco wyższe w grupie kobiet, nie było różnic między grupami wiekowymi.

Autorzy nie wykazali znaczących różnic dla wartości NLR w odniesieniu do płci, grupy wiekowej, miejsca zamieszkania.

Kweon i współbadacze przeanalizowali wyniki badania morfologii krwi 83740 zdrowych Koreańczyków, z bezobjawową neutropenią - średnia wartość NLR wyniosła 1,53; dla PLR 121,07. Badacze zaobserwowali odwrotną zależność między NLR a wiekiem, nie zaobserwowano różnic między kobietami i mężczyznami. Natomiast CRP, OB (*ang. erythrocyte sedimentation rate, ESR*), stężenie glukozy na czczo korelowały z NLR.⁹² Związek NLR ze stężeniem glukozy na czczo może sugerować, że ten wskaźnik zapalny może być użyteczny do oceny metabolizmu glukozy.⁹²

W niniejszej pracy u 186 zdrowych osób rasy kaukaskiej, w wieku od 24 do 69 lat uzyskano średnie wartości NLR $1,80 \pm 0,76$, MLR $0,19 \pm 0,07$, PLR $129 \pm 44,9$. Nie wykazano różnicy dla badanych wskaźników między kobietami i mężczyznami, ani korelacji z wiekiem. Krwinkowe wskaźniki zapalne mogą być kolejnymi, samodzielnymi parametrami w badaniu morfologii krwi, uzupełniającymi dotychczasowe znaczenie tego podstawowego badania laboratoryjnego w praktyce klinicznej. Wartości referencyjne wskaźników prawdopodobnie będą jednakowe dla dorosłych kobiet i mężczyzn.

W dostępnej literaturze nie znaleziono danych dotyczących znaczenia diagnostycznego NLR, MLR, PLR w chorobie nowotworowej, dlatego w niniejszej pracy skupiono się na przeanalizowaniu badanych wskaźników w takim aspekcie. W literaturze brakuje również danych na temat korelacji krwinkowych wskaźników zapalnych z rutynowymi laboratoryjnymi wykładnikami choroby nowotworowej. W niniejszej pracy wykazano, że pacjentki z rakiem piersi oraz pacjenci z rakiem jelita grubego prezentują wyższe wartości NLR, MLR, PLR niż populacja porównawcza PBO. Zarówno w grupie chorych z rakiem piersi jak i chorych z rakiem jelita grubego zaobserwowano zwiększanie wartości wskaźników równolegle z innymi elementami ogólnej odpowiedzi organizmu na rozwój choroby nowotworowej. Najwięcej korelacji krwinkowych wskaźników zapalnych NLR, MLR, PLR z markerami nieswoistej ogólnej odpowiedzi zaobserwowano u mężczyzn z rakiem jelita grubego (dodatnie korelacje z Neu, RDW, ujemne z RBC, HGB, HCT, dodatnia korelacja MLR z CEA i LDH).

Sun i wsp. na podstawie retrospektywnej analizy wyników u 110 kobiet z rakiem piersi wykazali, że średnie wartości RDW, MPV, NLR i PLR były istotnie wyższe u pacjentów z rakiem piersi w porównaniu do grupy kontrolnej. Poziom MPV wykazywał dodatnią korelację z przerzutami do węzłów chłonnych oraz wskaźnikiem

prolifracji Ki 67 u pacjentek przedoperacyjnych. Ponadto wykazano, że MPV było niezależnie związane z ryzykiem przerzutów do węzłów chłonnych. Natomiast MPV może odzwierciedlać wskaźnik proliferacji Ki 67 przed operacją i identyfikować pacjentów z dodatnimi przerzutami do węzłów chłonnych.⁸¹ W niniejszej pracy, w grupie pacjentek z rakiem piersi (CC) w porównaniu z grupą porównawczą kobiet (PBO-K) nie wykazano wyższych wartości RDW oraz MPV.

Podstawowe parametry hematologiczne, w rutynowym badaniu krwi, od dawna uważane są za markery ogólnoustrojowej odpowiedzi zapalnej. RDW oraz MPV, proste i łatwe do zmierzenia parametry morfologii krwi, należą do markerów zapalnych.^{93,94} Wiele badań sugeruje, że MPV i RDW mogą mieć związek z rokowaniem u chorych na raka.⁹⁵ RDW to parametr odzwierciedlający zmienność wielkości krążących erytrocytów, ostatnio wykazano, że jest on związany z przewlekłym stanem zapalnym, będącym wyznacznikiem progresji choroby i przeżycia w różnych nowotworach.^{79,81} Badania przeprowadzone przez Seretis i współpracowników wykazały, że podwyższony RDW może być użytecznym markerem do różnicowania łagodnych i złośliwych guzów piersi, a podwyższony RDW jest istotnie skorelowany z wielkością guza pierwotnego oraz bezwzględną liczbą naciekanych węzłów chłonnych pachowych. Badacze ci wykazali także statystycznie istotne różnice wartości tego parametru w odniesieniu do nadekspresji receptorów estrogenowych i progesteronowych oraz białka HER-2.⁹⁶ Inne badanie przeprowadzone przez Koma i współpracowników wykazało, że wysokie wartości RDW wiążą się ze słabą przeżywalnością w raku płuca.⁹⁷ Yao i współbadacze wykazali istotny związek pomiędzy wysokim RDW a złym rokowaniem u chorych na raka piersi, jako niezależny czynnik złego przeżycia.⁹⁵

W mojej pracy wykazano, że każdy z krwinkowych wskaźników zapalnych prezentował wyższe wartości u kobiet z rakiem piersi w porównaniu z kobietami PBO-K (grupa porównawcza). NLR z największą mocą dyskryminacyjną, przy wartościach powyżej 2,228 z 66,7% czułością i 78,3% swoistością wskazywał na chorobę nowotworową. Dodatkowo, u kobiet z rakiem piersi po uwzględnieniu stopnia zaawansowania klinicznego TNM, wskaźnik NLR przy wartości powyżej 2,036 z 95% czułością i 62,5% swoistością wskazywał pacjentki z IV stopniem zaawansowania klinicznego TNM. Również każdy z krwinkowych wskaźników zapalnych zaprezentował wyższe wartości u pacjentów z rakiem jelita grubego (CC), w porównaniu z populacją PBO. MLR z najwyższą mocą dyskryminacyjną, przy wartościach powyżej 0,250 z 76,4% czułością i 84,3% swoistością wskazywał na chorobę nowotworową. Podobne

wyniki uzyskano porównując grupę CC z PBO-w>49 (MLR wartość odcięcia 0,250 oraz 76,1% czułości i 79,5% swoistości) oraz różnicując CC-M i PBO-M-w>49 (MLR powyżej 0,250 oraz 80% czułości i 75% swoistości). W grupie kobiet analiza ROC i różnicowanie CC-K i PBO-K-w>49 wykazała największą wartość dyskryminacyjną dla wskaźnika MLR przy wartości powyżej 0,226 (75% czułość i 79,5% swoistość).

Próba wykorzystania analizy ROC dla wskaźników NLR, MLR, PLR, z uwzględnieniem klasyfikacji TNM w raku jelita grubego wykazała znaczenie NLR lub PLR, w zależności od różnicowanych stopni klinicznych.

Dla rozróżnienia wszystkich pacjentów z chorobą nowotworową (BC+CC, n=181) i populacji porównawczej (PBO, n=186), największą mocą dyskryminacyjną wykazał się NLR, w wartościach powyżej 2,297, z 68% czułością i 82% swoistością, przewyższając istotnie znaczenie różnicujące MLR i PLR. Podobnie w przypadku mężczyzn, wskaźnik NLR powyżej 2,297 różnicował grupę CC-M i grupę PBO-M z nieco wyższą czułością (71,1%) i swoistością (85,0%). Jego moc dyskryminacyjna była porównywalna z atrybutami wskaźnika MLR. W przypadku kobiet, analiza ROC wskazała na NLR, proponując niższą wartość odcięcia 2,171 (z 68,6% czułością i 77,4% swoistością). Niższą wartość odcięcia zaobserwowano także dla MLR: 0,199 (z 67,8% czułością i 67,7 swoistością).

Istnieje coraz więcej dowodów, że zapalenie związane z nowotworem jest kluczowym czynnikiem determinującym rokowanie u pacjentów z rakiem.⁸⁰ Guthrie i wsp. dokonali analizy ponad 60 badań z 10 krajów (m.in. z Wielkiej Brytanii, Japonii, Chin) obejmujących powyżej 37.000 pacjentów, z okresu między 2005 a 2012 rokiem, w celu oceny przydatności NLR dla przewidywania wyników leczenia pacjentów z różnymi nowotworami, w różnych stadiach zaawansowania choroby. Najwięcej prac odnosiło się do pacjentów z rakiem jelita grubego, żołądka, trzustki, płuca. Analiza wykazała, że wartości wskaźnika NLR są podwyższone u pacjentów z bardziej zaawansowaną lub agresywną chorobą i korelują z przeżyciem. Badacze zastosowali różne progi odcięcia dla NLR, najczęściej wartości >5,0 (w przypadku raka jelita grubego) ale również >4,0 lub >3,0 a nawet >2,5.⁸⁰

Z piśmiennictwa wynika, że NLR jest silnym predyktorem śmiertelności u chorych na raka jelita grubego, żołądka, trzustki, wątroby, płuca.⁷³ W swojej publikacji Azab i wsp. (USA-NY) na podstawie obserwacji oraz analizy bazy danych dla 316 pacjentek z rakiem piersi wykazali, że pacjentki z wyższą wartością wskaźnika NLR (>3,3) charakteryzowały się wyższym wskaźnikiem umieralności w porównaniu

z pacjentami z niższą wartością NLR ($<1,8$). Badacze wykazali w swojej pracy, że poziom wskaźnika NLR $>3,3$ jest niezależnym istotnym predyktorem śmiertelności.⁷³ Noh i wsp. na podstawie retrospektywnej analizy 442 pacjentek z pierwotnym rakiem piersi wykazali, że u pacjentek z wyższym NLR ($\geq 2,5$) odnotowano znacząco niższy wskaźnik przeżycia specyficznego dla choroby niż pacjentki z niższymi wartościami NLR. Wyższy NLR wraz z ujemnym statusem receptora estrogenowego i dodatnim statusem węzłów były niezależnie skorelowane ze złym rokowaniem.

Wysoki wskaźnik PLR odzwierciedla zwiększoną liczbę PLT i/lub zmniejszoną liczbę limfocytów. Przewlekłe stany zapalne związane są z trombocytozą reaktywną. Płytki krwi odgrywają rolę w progresji nowotworu. Wiele badań wykazało, że płytki krwi mogą wpływać na potencjał przerzutowy komórek nowotworowych, poprzez hamowanie odporności komórkowej dla usuwania tych komórek.^{98,99} Płytki krwi mogą wydzielać komórkowe czynniki wzrostu, w tym płytkowy czynnik wzrostu, czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego, transformujący czynnik wzrostu beta, czynnik płytkowy 4, które mogą stymulować angiogenezę i wzrost guza.¹⁰⁰ Płytki krwi mogą przyczyniać się do stabilnej adhezji komórek nowotworowych do śródbłonna a także transmigracji komórek nowotworowych z układu naczyniowego. Płytki mogą nasilać tworzenie podścieliska guza poprzez promowanie migracji komórek zapalnych.

W kilku badaniach zaobserwowano, że podwyższone wartości PLR były związane ze złym rokowaniem w raku jelita grubego.^{101,102} Inne badania wykazały, że podwyższone wartości PLR były dobrym predyktorem dla złego rokowania w raku żołądka i raku płuc.^{103–105} M. Zhang i współautorzy na podstawie metaanalizy 5542 przypadków pacjentów z rakiem piersi wykazali, że wysokie wartości wskaźnika PLR były związane ze złym rokowaniem, włączając przeżycie wolne od choroby (DFS, ang. *disease-free survival*) i całkowite przeżycie (OS, ang. *overall survival*) oraz związek pomiędzy PLR a kliniczno-patologiczną charakterystyką (zaawansowanie choroby, przerzuty do węzłów chłonnych, przerzuty odległe).¹⁰⁶ DFS było znacząco krótsze w raku piersi u pacjentek z wysokimi wartościami PLR w porównaniu z chorymi z niskim poziomem PLR. Ponadto, analiza podgrup pacjentek oparta na statusie receptora wykazała, że prognostyczny wpływ PLR na DFS był podobny wśród pacjentek z dodatnimi receptorami hormonalnymi (ER lub PR), HER2, lub w statusie potrójnie ujemnymi. Wysoki PLR miał tendencję do towarzyszenia słabszym związkom DFS z HER2 oraz z ujemnymi receptorami (ER⁻ i PR⁻). Na złe rokowanie, zwłaszcza całkowite przeżycie (OS), u pacjentek z rakiem piersi wskazywała wysoka wartość

PLR.¹⁰⁶ M. Zhang wykazał również częstsze występowanie wysokich PLR w grupie z II-IV stopniem w porównaniu z grupą z I stopniem zaawansowania choroby oraz w grupach z zajętymi węzłami chłonnymi w porównaniu do osób bez zajętych węzłów chłonnych, oraz w grupach z przerzutami wobec grupy bez przerzutów.¹⁰⁶ Nie wykazano związku wartości PLR ze stopniem zróżnicowania guza. Wystąpiła istotna różnica w częstości występowania wysokich wartości PLR wraz ze statusem HER2+ w przeciwieństwie do statusu HER2-, dotyczy to innych statusów, tj. ER+/ER-, PR+/PR-.

Jakubowska i wsp. dokonali analizy wyników badań 160 pacjentów z rakiem jelita grubego przed operacją i po operacji, w celu oceny wartości prognostycznej bezwzględnej liczby monocytów krwi żyłnej, wskaźnika MLR, ilorazu NLR:PLR oraz ilorazu PLT:NLR. Wymienione wskaźniki były oceniane w odniesieniu do typu nowotworu, wielkości guza, typu histologicznego, statusu TNM, stopnia złośliwości, stanu zajęcia węzłów chłonnych (wykładników klinicznych choroby) oraz przeżycia 5-letniego wolnego od choroby (DFS). Badacze wykazali, że stosunek PLT:NLR korelował z wielkością guza oraz obecnością inwazji okołonerwowej. Wysokie wartości stosunku NLR:PLR oraz PLT:NLR w próbkach krwi pobranej po operacji były dodatnio związane z typem histologicznym nowotworu oraz odsetkiem składnika śluzowego. Natomiast analiza 5-letniego przeżycia wolnego od choroby wykazała, że wskaźnik MLR obliczony z morfologii krwi pobranej po operacji, oraz stan przerzutów do węzłów chłonnych były niezależnymi czynnikami prognostycznymi u chorych na raka jelita grubego. Badacze wykazali, że pacjenci z rakiem jelita grubego z niskimi przedoperacyjnymi wartościami bezwzględnej liczby monocytów mają tendencje do dłuższych 3-letnich i 5-letnich przeżyć DFS.¹⁰⁷

Zmniejszona liczba limfocytów we krwi obwodowej stanowi niezależny czynnik prognostyczny dla przeżycia w różnych nowotworach. Dodatkowo, zwiększona przed leczeniem liczba monocytów we krwi obwodowej koreluje ze złym rokowaniem u pacjentów z różnymi nowotworami. Monocyty po zrekrutowaniu do tkanki guza ulegają zróżnicowaniu w makrofagi towarzyszące guzowi (TAM, *ang. tumor associated macrophages*).¹⁰⁸ TAM są kluczowym regulatorem między stanem zapalnym a rakiem. W mikrośrodoisku guza, komórki nowotworowe kształtują różnicowanie i orientację funkcjonalną TAM w fenotyp M2, wykazujący działania sprzyjające rozwojowi nowotworu. Te pronowotworowe działania makrofagów M2 to immunosupresja, indukcja angiogenezy, progresja i przerzutowanie.¹⁰⁹ Makrofagi M2 wydzielają

m.in. cytokiny IL-10 i TGF- β , stymulują immunosupresję oraz powodują napływ limfocytów T reg poprzez wydzielanie chemokiny CCL22.¹¹⁰

W ostatnim czasie badano wskaźnik MLR u pacjentów z guzami litymi i wykazano, że MLR może odzwierciedlać równowagę między korzystną rolą limfocytów a niekorzystnym wpływem monocytów na progresję nowotworu.¹⁰⁸ Xiang i wsp. wykazali, że wskaźnik MLR przedoperacyjny może być znaczącym predyktorem w zaawansowanych stadiach raka jajnika i przerzutach do węzłów chłonnych¹⁰⁸. Badania wykazały, że podwyższona liczba monocytów jest niezależnym czynnikiem prognostycznym.¹⁰⁸

Huszno i wsp. dokonali retrospektywnej analizy wyników 436 pacjentek z rakiem piersi (2005-2018). Wykazali, że 5-letnie przeżycie OS było krótsze dla pacjentek z wyższym NLR ($>2,65$) w porównaniu z pacjentkami z niższym NLR ($\leq 2,65$), a znacząco niższe w grupie z potrójnie negatywnym rakiem piersi (TNBC, *ang. triple-negative breast cancer*) oraz u pacjentek z negatywnym receptorem estrogenowym (ER-). Pięcioletnie przeżycie było krótsze w grupie z wyższym PLR ($>190,9$) w stosunku do niższego PLR ($\leq 190,9$). Niekorzystne przeżycie zaobserwowano u pacjentek z wyższym PLR w grupie potrójnie ujemnego raka piersi oraz u pacjentek z ujemnymi receptorami estrogenowym. Podwyższone wartości MLR ($>0,28$) nie były związane z czasem przeżycia. Badacze przedstawili, że wartości NLR i PLR były nieistotnymi negatywnymi czynnikami prognostycznymi, oprócz grupy z ujemnym receptorem estrogenowym, dla której podwyższone wartości NLR oraz PLR były niezależnym czynnikiem prognostycznym krótkiego przeżycia i wystąpienia przerzutów do węzłów chłonnych. Wyniki wykazały, że podwyższone NLR ($>2,65$) i PLR ($>190,9$) są powiązane z krótszym przeżyciem pacjentek z rakiem piersi. W grupie z ujemnym receptorem estrogenowym (ER-), podwyższone NLR i PLR były istotnymi niezależnymi czynnikami prognostycznymi. Wartość wskaźnika MLR nie miała wpływu na przeżycie.¹¹¹

Obecnie powszechnie uznaje się, że rokowanie u pacjentów z rakiem nie zależy wyłącznie od cech guza, kluczowe znaczenie mają cechy zależne od pacjenta.⁸⁰ Stan zapalny towarzyszący chorobie nowotworowej wpływa na progresję choroby oraz przeżycie pacjentów w większości nowotworów.⁷⁹ W wyniku odpowiedzi zapalnej organizmu dochodzi do zmian ogólnoustrojowych wywołanych przez krążące cytokiny i chemokiny. Następuje wzrost liczby neutrocytów, może dochodzić do wzrostu liczby płytek krwi, spadku liczby limfocytów.³ Wykazano także, że podwyższone wartości

RDW są powiązane ze złym rokowaniem ale tylko w przypadku podtypu potrójnie ujemnego raka piersi. Podwyższony NLR był powiązany ze złym rokowaniem nie tylko w przypadku raka piersi luminalnego A, ale również dla podtypu potrójnie negatywnego.⁹⁵ Engel i wsp. stwierdzili, że komórki potrójnie ujemnego raka piersi w porównaniu z komórkami ER-dodatniego raka piersi, stymulują znacznie silniejszą odpowiedź immunologiczną komórek NK oraz infiltrację immunosupresyjnych komórek T-regulatorowych (komórki T - CD4+, CD8+)¹¹². Rozpoznanie potrójnie ujemnego raka piersi wiąże się z niekorzystnym rokowaniem. Wykazano, że wysoka liczba limfocytów naciekających guz ma związek z dobrym rokowaniem u pacjentów z rakiem potrójnie ujemnym.¹¹³

Według ostatnich doniesień, wiele parametrów molekularnych (np. mutacje RAS/RAF lub białka uczestniczące w regulacji cyklu komórkowego, apoptozie i angiogenezie) może pełnić rolę prognostyczną u chorych na raka jelita grubego. Jednakże złożoność metod badawczych oraz stosunkowo wysokie koszty pomiaru tych parametrów ograniczają ich zastosowanie kliniczne. Nadal najważniejszym czynnikiem prognostycznym jest ocena kliniczno-patologiczna. Uważa się, że oprócz cech guza, odpowiedź zapalna ze strony gospodarza również odgrywa bardzo ważną rolę w progresji nowotworu. Coraz więcej dowodów wskazuje, że podwyższony NLR jest istotnie związany ze złym rokowaniem w różnych nowotworach.⁸⁰ Stotz i wsp. wykazali, że podwyższony wskaźnik NLR jest złym czynnikiem rokowniczym u pacjentów z pierwotnie operacyjnym oraz nieoperacyjnym rakiem trzustki.¹¹⁴

Timudom i wsp. na podstawie analizy przedoperacyjnych wskaźników zapalnych NLR, MLR i PLR, u 111 pacjentów z miejscowo zaawansowanym rakiem odbytu, poddanych neoadjuwantowej chemoradioterapii wykazali, że ich wartości były wyższe wraz z zaawansowaniem choroby, ale różnice nie były statystycznie znaczące. Ponadto zasugerowali (ze względu na niewielką liczbę pacjentów w jednym ośrodku), że wyższe wartości tych wskaźników zapalnych były związane z gorszą odpowiedzią na leczenie neoadjuwantowe (wysoki wynik NAR- *ang. neoadjuvant rectal score*).¹¹⁵

Limfocyty T odgrywają główną rolę w przeciwnowotworowej odpowiedzi immunologicznej. Ogólnoustrojowa odpowiedź zapalna jest powiązana z limfocytopenią oraz osłabioną funkcją limfocytów powodowaną przez uwalnianie wielu prozapalnych cytokin jak IL-10 czy TGF- β (*ang. transforming growth factor beta*). Obniżona bezwzględna liczba limfocytów w krwi obwodowej może wskazywać na słabą

odpowieź przeciwnowotworową limfocytów i może być przyczyną wysokich wartości wskaźników zapalnych obliczanych z morfologii krwi -NLR, PLR, MLR.¹¹⁵

Z danych literaturowych wynika, że ze względu na zwiększoną aktywność glikolizy w komórkach nowotworowych, aktywność LDH w surowicy jest dość powszechnie podwyższona u pacjentów z chorobą nowotworową.¹¹⁶ Aktywność LDH w surowicy jest pośrednim markerem niedotlenienia guza, neoangiogenezy, rozwoju przerzutów i złego rokowania w wielu nowotworach.¹¹⁷ Badania wykazały, że LDH jest niespecyficznym markerem nowotworowym.¹¹⁷ Podwyższona aktywność LDH występuje w surowicy chorych na nowotwory dróg moczowych, jajnika, prostaty, jelita grubego, trzustki, wątroby, przełyku¹¹⁸, piersi^{119–121}, płuca^{122–124}. W mojej pracy wykazałam jedynie dodatnią korelację wskaźnika MLR z LDH – tylko w grupie mężczyzn z rakiem jelita grubego CC-M.

Efekty niniejszej pracy wskazują na potrzebę kontynuowania badań nad krwinkowymi wskaźnikami zapalnymi w różnych nowotworach oraz ustalenia wartości referencyjnych dla wskaźników NLR, MLR, PLR. Potrzebujemy wyników badań naukowych i rzetelnych opracowań dotyczących wskaźników wyliczanych z parametrów oceny morfologii krwi, by to podstawowe badanie hematologiczne mogło być źródłem kolejnych, cennych informacji medycznych w obliczu systematycznie zwiększającej się zapadalności na nowotwory.

6. Wnioski

1. Ustalenie wartości referencyjnych wskaźników: neutrocyty:limfocyty, monocyty:limfocyty i płytki krwi:limfocyty dla osób dorosłych rasy kaukaskiej, mieszkańców Wielkopolski, najprawdopodobniej nie będzie wymagało uwzględnienia płci i wieku w badaniu morfologii krwi.
2. U pacjentek z rakiem piersi zwiększone wartości wskaźników: neutrocyty:limfocyty, monocyty:limfocyty i płytki krwi:limfocyty, niezależnie od białka C-reaktywnego i antygenu CA 15-3, mogą wskazywać na rozwój nowotworu. Wzrost wartości wskaźników: monocyty:limfocyty i płytki krwi:limfocyty może towarzyszyć obniżeniu stężenia hemoglobiny w ocenie morfologii krwi .
3. U chorych na raka jelita grubego, w momencie rozpoznania choroby, zwiększone wartości wskaźników: neutrocyty:limfocyty, monocyty:limfocyty i płytki krwi:limfocyty, w nieregularny sposób mogą być związane ze wzrostem białka C- reaktywnego u kobiet i mężczyzn. Jedynie u mężczyzn odczyn zapalny skojarzony ze wzrostem każdego ze wskaźników może być związany z wykładnikami niedokrwistości, a wskaźnika monocyty:limfocyty – ze zwiększeniem stężenia antygenu karcynoembrionalnego i aktywności dehydrogenazy mleczanowej we krwi.
4. Spośród ocenianych krwinkowych wskaźników zapalnych, przed rozpoczęciem leczenia przeciwnowotworowego, wskaźnik neutrocyty:limfocyty wykazał się największą mocą różnicującą pacjentki chore na raka piersi od kobiet z grupy porównawczej, a wskaźnik monocyty:limfocyty – największą mocą różnicującą chorych na raka jelita grubego od kobiet i mężczyzn z grupy porównawczej.
5. Badane krwinkowe wskaźniki zapalne w ograniczonym wymiarze mogą wskazywać pacjentów z wyższym stopniem zaawansowania klinicznego raka piersi i raka jelita grubego, zgodnie z klasyfikacją *tumor-node-metastasis*.
6. Wskaźniki: neutrocyty:limfocyty, monocyty:limfocyty i płytki krwi:limfocyty mogą być dodatkowymi parametrami uzyskanymi w rutynowym badaniu morfologii krwi, dla oceny rozwoju nowotworu (w tym raka piersi oraz raka jelita grubego) u osób dorosłych.

7. Streszczenie

Choroba nowotworowa stanowi istotny problem medyczny i społeczny na całym świecie. Proces zapalny stanowi uznany element rozwoju choroby nowotworowej. Guz nowotworowy, jako czynnik urazowy, wywołuje reakcję obronną organizmu. Stan zapalny może również indukować rozwój choroby nowotworowej. Systemowa odpowiedź zapalna organizmu gospodarza przebiega z udziałem i współdziałaniem układu immunologicznego i komórek krwi. Na każdym etapie opieki nad pacjentem onkologicznym (w diagnostyce różnicowej, w monitorowaniu przebiegu choroby) badanie morfologii krwi jest szeroko stosowane. Wskaźniki stanu zapalnego wyliczone z wybranych parametrów oceny morfologii krwi stwarzają szansę dodatkowego wykorzystania tego badania w praktyce onkologicznej.

Celem głównym jest ocena użyteczności klinicznej wskaźników stanu zapalnego wyliczonych na podstawie bezwzględnej liczby wybranych komórek w ocenie morfologii krwi: neutrocyty:limfocyty (*Neutrophil to Lymphocyte Ratio*, NLR), monocyty:limfocyty (*Monocyte to Lymphocyte Ratio*, MLR) i płytki krwi:limfocyty (*Platelet to Lymphocyte Ratio*, PLR) u dorosłych chorych na raka piersi (*breast cancer*, BC) i raka jelita grubego (*colon cancer*, CC). Celami szczegółowymi są oceny NLR, MLR, PLR u: 1. zdrowych dorosłych osób, z uwzględnieniem płci; 2. pacjentów z rakiem piersi (BC) i rakiem jelita grubego (CC), w odniesieniu do wybranych wykładników choroby nowotworowej: podstawowych markerów nowotworowych dla monitorowania raka piersi i raka jelita grubego, białka C-reaktywnego (CRP), pozostałych parametrów oceny morfologii krwi; 3. pacjentów z BC i CC, z uwzględnieniem klasyfikacji klinicznej nowotworu (*tumor-node-metastasis*, TNM).

Projekt badawczy nie wymagał zgody Komisji Bioetycznej. Przeprowadzono analizę dokumentacji medycznej pacjentów Szpitala Klinicznego *Przemienienia Pańskiego* Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (SKPP-UMP) w latach 2016-2019. Grupę badaną stanowili pacjenci poradni i oddziałów SKPP-UMP z rakiem piersi (BC) i rakiem jelita grubego (CC), przed rozpoczęciem leczenia, po wykluczeniu: ostrego stanu zapalnego, niewydolności narządowej, zażywania leków przeciwzapalnych i immunosupresyjnych. Grupę BC stanowiły 93 kobiety (25-70 r.ż). Grupę CC stanowiło 89 pacjentów (25-85 r.ż), w tym 28 kobiet CC-K (35-80 r.ż) i 61 mężczyzn CC-M (25-85 r.ż). Grupę porównawczą stanowiły osoby zdrowe, pracownicy SKPP-UMP po weryfikacji w Poradni Badań Okresowych (PBO), u których uzyskano stężenie CRP <10 mg/l - ostatecznie zakwalifikowano 186 osób (24-69 r.ż.):

93 kobiety (23-69 r.ż) i 93 mężczyzn (23-69 r.ż). Analizie poddano wyniki badań laboratoryjnych, w tym oceny morfologii krwi i analiz biochemicznych. Krew do badań była pobierana rano na czczo, zgodnie z obowiązującymi standardami dotyczącymi przygotowania pacjenta i pobierania krwi. Na podstawie wyników badania morfologii krwi, wyliczono wskaźniki: NLR, MLR, PLR. Analizę statystyczną wyników przeprowadzono przy użyciu programu Statistica v.13.3 (StatSoft Inc., USA) oraz MedCalc. Docelowo utworzono grupę porównawczą (PBO), w tym kobiet (PBO-K) i mężczyzn (PBO-M) oraz wyodrębniono grupę PBO powyżej 49 r.ż. (PBO-w>49), w tym kobiet (PBO-K-w>49) i mężczyzn (PBO-M-w>49).

W populacji porównawczej oraz u pacjentów z nowotworem (BC, CC), nie zaobserwowano różnic wartości badanych wskaźników między kobietami i mężczyznami oraz związku z wiekiem badanych osób. NLR, MLR i PLR wykazały wyższe wartości w grupach BC i CC. Uzyskano nieco odmienne korelacje badanych wskaźników u osób zdrowych oraz u pacjentów BC i w grupach CC. Przy zastosowaniu analizy ROC, oceniono użyteczność kliniczną NLR, MLR, PLR u ww. pacjentów.

Uzyskane wyniki pozwoliły na sformułowanie wniosków: 1.Ustalenie wartości referencyjnych NLR, MLR, PLR dla osób dorosłych rasy kaukaskiej, mieszkańców Wielkopolski, najprawdopodobniej nie będzie wymagało uwzględnienia płci i wieku w badaniu morfologii krwi. 2.U pacjentek z rakiem piersi zwiększone NLR, MLR, PLR, mogą wskazywać na rozwój nowotworu niezależnie od stężenia CRP i antygenu CA 15- 3. Wzrost NLR, MLR, PLR może towarzyszyć obniżeniu stężenia hemoglobiny w ocenie morfologii krwi. 3.U chorych z rakiem jelita grubego, w momencie rozpoznania choroby, zwiększone NLR, MLR, PLR, w nieregularny sposób mogą być związane ze wzrostem CRP u kobiet i mężczyzn. Jedynie u mężczyzn, wzrost każdego ze wskaźników może być związany z wykładnikami niedokrwistości, a MLR – ze zwiększeniem CEA i LDH we krwi. 4.Spośród ocenianych wskaźników, przed rozpoczęciem leczenia przeciwnowotworowego, NLR wykazał się największą mocą różnicującą pacjentki BC od kobiet PBO, a MLR – największą mocą różnicującą pacjentów CC od kobiet i mężczyzn PBO. 5. Badane wskaźniki, w ograniczonym wymiarze, mogą wskazywać pacjentów z wyższym stopniem zaawansowania klinicznego raka piersi i raka jelita grubego, zgodnie z klasyfikacją TNM. 6. NLR, MLR, PLR mogą być dodatkowymi parametrami uzyskanymi w rutynowym badaniu morfologii krwi, dla oceny zagrożenia i rozwoju raka piersi oraz raka jelita grubego u osób dorosłych.

8. Summary

The cancer disease is a matter of relevant medical and social concern worldwide. Inflammation is often associated with development of cancer disease. Cancer tumor usually is a trigger that causes defense reaction of the organism. The inflammation itself may also contribute to malignant development. The systemic inflammatory response of the host organism is associated with both immunological and blood cells reaction. In each medical management over an oncological patient (including differential diagnosis, disease monitoring) the total blood count is widely used. That is why the indicators of inflammation that are calculated from selected complete blood count (CBC) parameters, provide an opportunity for additional use of this laboratory test in everyday oncological practice.

The main aim of this work is the assessment of clinical usefulness of selected inflammatory indices derived from complete blood count expressed by: Neutrophil to Lymphocyte Ratio (NLR), Monocyte to Lymphocyte Ratio (MLR) and Platelet to Lymphocyte Ratio (PLR) in adult patients with breast cancer (BC) and colon cancer (CC).

The specific objectives include evaluation of proposed indices: NLR, MLR, PLR in: 1. Healthy adults according to the gender; 2. Patients with breast cancer and colon cancer according to the selected laboratory indicators of malignancy: basic breast and colon cancer markers, C-reactive protein (CRP) and others CBC parameters; 3. Patients with BC and CC considering tumor-node-metastasis (TNM) classification.

The research project did not require Bioethics Committee approval. The work is based on the analysis of medical records of patients treated in the University Hospital of Lord's Transfiguration of Poznan University of Medical Sciences (UHLT-PUMS), hospitalized in years 2016-2019. The study population included patients of departments and clinics of UHLT-PUMS with diagnosed breast or colon cancer. Individuals of both genders with diagnosis of malignancy, before treatment were recruited for the study. The exclusion criteria were: acute inflammatory condition, organ failure, anti-inflammatory and immunosuppressant treatment.

The BC group consists of 93 women aged 25-70. The CC group included 89 patients aged 25-85, 28 women (CC-K) aged 35-80 and 61 men (CC-M) aged 25-85. The UHLT-PUMS staff with no diseases and CRP<10 mg/l were qualified to the comparison group. Finally, 186 individuals aged 24-69: 93 women (23-69 yr) and 93 men (23-69 yr)

were enrolled. The results of blood examination including CBC and biochemical analysis were analyzed. The test material was patients' blood collected according to the standards of good laboratory practice. The laboratory tests were performed on the whole blood and serum.

Subsequently, basing on CBC results, NLR, MLR and PLR indices were calculated. The statistical analysis of the obtained results was performed using the Statistica 13.3 software (StatSoft Inc., USA) and MedCalc in the entire study population and in the selected subgroups. The comparison group was created for both women (PBO-K) and men (PBO-M) and what is more PBO group aged older than 49yr (PBO-w>49) was extracted: (PBO-K-w>49) and men (PBO-M-w>49).

In both: study and control groups, no difference within inflammatory indicators was observed, neither for women, nor for men, between age groups likewise. NLR, MLR and PLR indices were higher in BC and CC groups. Different correlations of these indices were obtained in healthy population and in BC and CC patients. To establish the clinical usefulness of analyzed indices in forementioned patients, analysis of ROC was performed. The obtained results allowed for the following conclusions:

1. To determine the references for NLR, MLR, PLR for adult Caucasians, citizens of Wielkopolska, probably will not require including age and gender in complete blood count.
2. Increased NLR, MLR, PLR, in BC patients may indicate malignant development independently from CRP or CA 15-3 antigen concentration. The elevation of NLR, MLR, PLR may coexist with decreased hemoglobin concentration.
3. In newly diagnosed CC patients, increased NLR, MLR, PLR, may be irregularly associated with increase of CRP in men and women alike. Only in men, increase of each studied indicator may be associated with anemia markers, and MLR also with increase of CEA and LDH in blood.
4. NLR of all studied indices, before cancer therapy, showed the most important differences between PBO and BC groups. On the other hand, MLR is found to show the most important difference between CC patients and females/males PBO groups.
5. Studied inflammatory indices only in restricted way may indicate patients with higher clinical stage of breast and colon cancer, according to TNM classification.
6. NLR, MLR, PLR may be additional parameters obtained from the routine blood testing, to assess the risk and development of breast or colon cancer in the group of adult patients.

9. Bibliografia

1. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature*. 2002; 420(6917):860-867.
2. Singh N, Baby D, Rajguru JP, Patil PB, Thakkannavar SS, Pujari VB. Inflammation and Cancer. *Ann Afr Med*. 2019; 18(3): 121-126.
3. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet Lond Engl*. 2001; 357(9255):539-545.
4. Maher SG, Reynolds JV. Basic concepts of inflammation and its role in carcinogenesis. *Recent Results Cancer Res Fortschritte Krebsforsch Progres Dans Rech Sur Cancer*. 2011; 185: 1-34. doi:10.1007/978-3-642-03503-6_1
5. Galdiero MR, Marone G, Mantovani A. Cancer Inflammation and Cytokines. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2018; 10(8): a028662. doi:10.1101/cshperspect.a028662
6. Muller WA. Mechanisms of leukocyte transendothelial migration. *Annu Rev Pathol*. 2011; 6: 323-344.
7. Nourshargh S, Hordijk PL, Sixt M. Breaching multiple barriers: leukocyte motility through venular walls and the interstitium. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2010; 11(5): 366-378.
8. Kopeć-Szlęzak J. Procesy migracji komórek krwiotwórczych i leukocytów. *J Transf Med*. 2014; 7(2): 40-50.
9. Barreiro O, Sánchez-Madrid F. Molecular Basis of Leukocyte-Endothelium Interactions During the Inflammatory Response. *Rev Esp Cardiol Engl Ed*. 2009; 62(5): 552-562.
10. Morgan AG, Laurel EH, Huttenlocher A. Neutrophil plasticity in the tumor microenvironment. *Blood*. 2019; 133(20): 2159-2167.
11. Kopeć-Szlęzak J. Zróżnicowanie monocytów krwi obwodowej. *J of Transf Med*. 2010; 3(2): 62-66.
12. Francuz T, Czajka-Francuz P, Cisoń-Jurek S, Wojnar J. Rola zapalenia w patogenezie raka jelita grubego. *Postępy Hig i Med Dosw*. 2016; 70: 360-366.
13. Kozłowska-Skrzypczak M. Hematopoeza. W: *Atlas Hematologiczny z Elementami Diagnostyki Laboratoryjnej i Hemostazy*. Wydanie I. Warszawa: PZWL Wydawnictwo Lekarskie; 2016: 16-68.
14. Nowak W.S., Skotnicki A.B. Podstawy diagnostyki hematologicznej. W: *Diagnostyka Laboratoryjna z Elementami Biochemii Klinicznej*. Pod red. Dembińska-Kieć A, Naskalski JW, Solnica B. Wydanie IV. Wrocław: Edra Urban&Partner; 2017: 252-287.
15. Lewandowski K., Hellmann A. Leukocyty i płytki krwi w rozmazie krwi obwodowej. W: *Cytologiczny Atlas Hematologiczny*. Gdańsk: Via Medica; 1999: 13-22.
16. Summers C, Rankin SM, Condliffe AM, Singh N, Peters AM, Chilvers ER. Neutrophil kinetics in health and disease. *Trends Immunol*. 2010; 31(8): 318-324.
17. Fridlender ZG, Albelda SM. Tumor-associated neutrophils: friend or foe? *Carcinogenesis*. 2012; 33(5): 949-955.

18. Sagiv JY, Michaeli J, Assi S, i wsp. Phenotypic diversity and plasticity in circulating neutrophil subpopulations in cancer. *Cell Rep.* 2015; 10(4): 562-573.
19. Uribe-Querol E, Rosales C. Neutrophils in Cancer: Two Sides of the Same Coin. *J Immunol Res.* 2015; 2015: 983698. doi:10.1155/2015/983698
20. McKenzie BS, Kastelein RA, Cua JD. Understanding the IL-23-IL-17 immune pathway. *Trends Immunol.* 2006; 27(1): 17-23.
21. Rychlik U, Wójcik E, Tarapacz J, i wsp. Wartość predykcyjna wskaźników stanu zapalnego (NLR, LMR, PLR) u chorych na raka jajnika. *Diag Lab* 2017; 53(3): 139-146.
22. Giembycz MA, Lindsay MA. Pharmacology of the eosinophil. *Pharmacol Rev.* 1999; 51(2): 213-340.
23. Kopeć-Szlęzak J. Rola granulocytów zasadochłonnych (bazofili) w świetle badań z ostatnich lat. *J Transfus Med.* 2016; 9(2): 45-53.
24. Ricardo SD, van Goor H, Eddy AA. Macrophage diversity in renal injury and repair. *J Clin Invest.* 2008; 118(11): 3522-3530.
25. Merad M, Manz MG. Dendritic cell homeostasis. *Blood.* 2009; 113(15): 3418-3427.
26. Podstawka U, Kopeć-Szlęzak J. Dendritic cells, their properties and generation for cancer immunotherapy. *Postępy Nauk Med.* 2008; 8: 541-546.
27. Niedźwiedzka-Rystwej P, Tokarz-Deptuła B, Deptuła W. Characteristics of T lymphocyte subpopulations. *Postępy Hig Med Dosw.* 2013; 67:371-379.
28. Ślebioda TJ, Kaszubowska L, Kmiec Z. Nowe mechanizmy aktywacji komórek NK w przebiegu infekcji wirusowych. *Postępy Biol Kom.* 2012; 1(39): 61-83.
29. Ślebioda TJ, Foerster J, Kmiec Z. Znaczenie komórek NK w procesie starzenia fizjologicznego. *Postępy Biol Kom.* 2012; 1(39): 119-133.
30. Li C, Li J, Li Y, i wsp. Crosstalk between Platelets and the Immune System: Old Systems with New Discoveries. *Adv Hematol.* 2012; 2012: 384685. doi:10.1155/2012/384685
31. Morrell CN, Aggrey AA, Chapman LM, Modjeski KL. Emerging roles for platelets as immune and inflammatory cells. *Blood.* 2014; 123(18): 2759-2767.
32. Jenne CN, Urrutia R, Kubes P. Platelets: bridging hemostasis, inflammation, and immunity. *Int J Lab Hematol.* 2013; 35(3): 254-261.
33. McFadyen JD, Kaplan ZS. Platelets are not just for clots. *Transfus Med Rev.* 2015; 29(2): 110-119.
34. Dolasia K, Bisht MK, Pradhan G, Udgata A, Mukhopadhyay S. TLRs/NLRs: Shaping the landscape of host immunity. *Int Rev Immunol.* 2018; 37(1): 3-19. doi:10.1080/08830185.2017.1397656
35. Korzonek-Szlacheta I, Hudzik B, Zubelewicz-Szkodzińska B, Gąsior M. Płytki krwi - ogniwo łączące zakrzepicę ze stanem zapalnym. *Varia Medica.* 2018; 2(5): 381-386.
36. Maślanka J. Udział płytek krwi w procesach zapalnych. *J of Transf Med.* 2014; 7: 102-109.

37. Clark SR, Ma AC, Tavener SA, i wsp. Platelet TLR4 activates neutrophil extracellular traps to ensnare bacteria in septic blood. *Nat Med.* 2007; 13(4): 463-469.
38. Mezouar S, Frère C, Darbousset R, i wsp. Role of platelets in cancer and cancer-associated thrombosis: Experimental and clinical evidences. *Thromb Res.* 2016; 139: 65-76.
39. Zhang Q, Liu H, Zhu Q, i wsp. Patterns and functional implications of platelets upon tumor “education.” *Int J Biochem Cell Biol.* 2017; 90: 68-80.
40. Stegner D, Dütting S, Nieswandt B. Mechanistic explanation for platelet contribution to cancer metastasis. *Thromb Res.* 2014; 133(2): 149-157.
41. Carr JH, Rodak BF, red. I wyd. pol. Dąbrowska M. Wstęp do oceny rozmazu krwi obwodowej. W: *Atlas Hematologii Klinicznej.* Wyd. Elsevier Urban&Partner, Wrocław 2011: 1-11.
43. Gajewski P. red. *Interna Szczeklika* 2016. Medycyna Praktyczna; 2016:1004
44. Riley LK, Rupert J. Evaluation of Patients with Leukocytosis. *Am Fam Physician.* 2015; 92(11): 1004-1011. www.aafp.org/afp
45. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature.* 2008; 454(7203): 436-444.
46. Bunt SK, Sinha P, Clements VK, Leips J, Ostrand-Rosenberg S. Inflammation Induces Myeloid-Derived Suppressor Cells that Facilitate Tumor Progression. *J Immunol.* 2006; 176(1): 284-290.
47. 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): 181-184.
48. Galdiero MR, Bonavita E, Barajon I, Garlanda C, Mantovani A, Jaillon S. Tumor associated macrophages and neutrophils in cancer. *Immunobiology.* 2013; 218(11): 1402- 1410.
49. Pedersen LM, Milman N. Diagnostic significance of platelet count and other blood analyses in patients with lung cancer. *Oncol Rep.* 2003; 10(1): 213-216.
50. Davis AN, Afshar-Kharghan V, Sood AK. Platelet effects on ovarian cancer. *Semin Oncol.* 2014; 41(3): 378-384.
51. Buergy D, Wenz F, Groden C, Brockmann MA. Tumor-platelet interaction in solid tumors. *Int J Cancer.* 2012; 130(12): 2747-2760.
52. Mattiuzzi C, Lippi G. Current Cancer Epidemiology. *J Epidemiol Glob Health.* 2019; 9(4): 217-222.
53. strona internetowa: 39-All-cancers-fact-sheet.pdf. Dostęp z dnia 09.01.2022. <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/39-All-cancers-fact-sheet.pdf>
54. Wojciechowska Urszula, Didkowska Joanna. Zachorowania i zgony na nowotwory złośliwe w Polsce. Krajowy Rejestr Nowotworów, Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie - Państwowy Instytut Badawczy. Dostępne na stronie <http://onkologia.org.pl/raporty/dostep> z dnia 18/02/2022.

55. Kopczyński P, Krawczyński M. Rola onkogenów i genów supresji nowotworów w onkogenezie. *Nowiny Lekarskie*. 2012; 81(6): 679-681.
56. Hanahan D, Weinberg RA. The Hallmarks of Cancer. *Cell*. 2000; 100(1): 57-70.
57. Binnewies M, Roberts EW, Kersten K, et al. Understanding the tumor immune microenvironment (TIME) for effective therapy. *Nat Med*. 2018;24(5):541-550. doi:10.1038/s41591-018-0014-x
58. Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways: Similarities, Differences, and Implications of Their Inhibition. *Am J Clin Oncol*. 2016; 39(1): 98-106.
59. Amin MB, Greene FL, Edge SB, i wsp. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more “personalized” approach to cancer staging. *CA Cancer J Clin*. 2017; 67(2): 93-99.
60. Jassem J, Krzakowski M, Bobek-Bilewicz B, i wsp. Breast cancer. *Oncol Clin Pract*. 2020; 16. doi: 10.5603/OCP.2020.0038
61. Kalli S, Semine A, Cohen S, Naber SP, Makim SS, Bahl M. American Joint Committee on Cancer’s Staging System for Breast Cancer, Eighth Edition: What the Radiologist Needs to Know. *RadioGraphics*. 2018; 38(7): 1921-1933.
62. Bartnik W, Ciećkiewicz J, Januszkiewicz W, Wysocki WM. Choroby jelita grubego. W: *Interna Szczeklika* 2016. *Medycyna Praktyczna*; Kraków 2016: 1004-1036.
63. Potemski P, Bujko K, Rutkowski A, Krzakowski M. Clinical practice guidelines for diagnosis and treatment of colon (C18) and rectosigmoid junction (C19) cancer. *Oncol Clin Pract* 2020; 16. DOI:10.5603/OCP.2020.0030.
64. Holdenrieder S, Pagliaro L, Morgenstern D, Dayyani F. Clinically Meaningful Use of Blood Tumor Markers in Oncology. *BioMed Res Int*. 2016; 2016: 9795269. doi:10.1155/2016/9795269
65. Faria SC, Sagebiel T, Patnana M, i wsp. Tumor markers: myths and facts unfolded. *Abdom Radiol (NY)*. 2019; 44(4): 1575-1600.
66. Duffy MJ. Tumor markers in clinical practice: a review focusing on common solid cancers. *Med Princ Pract Int J Kuwait Univ Health Sci Cent*. 2013; 22(1): 4-11. doi:10.1159/000338393
67. Perkins GL, Slater ED, Sanders GK, Prichard JG. Serum Tumor Markers. *Am Fam Physician*. 2003; 68(6): 1075-1082.
68. Duffy MJ. Serum tumor markers in breast cancer: are they of clinical value? *Clin Chem*. 2006; 52(3):345-351.
69. Duffy MJ. Tumor Markers in Clinical Practice: A Review Focusing on Common Solid Cancers. *Med Princ Pract*. 2013; 22(1): 4-11. doi:10.1159/000338393
70. Wójcik E, Kulpa JK, Sas-Korczyńska B, Korzeniowski S, Jakubowicz J. ProGRP and NSE in Therapy Monitoring in Patients with Small Cell Lung Cancer. *Anticancer Res*. 2008; 28(5B): 3027-3033.

71. Duffy MJ. Tumor markers in clinical practice: a review focusing on common solid cancers. *Med Princ Pract Int J Kuwait Univ Health Sci Cent*. 2013; 22(1): 4-11. doi:10.1159/000338393
72. Weiss G, Ganz T, Goodnough LT. Anemia of inflammation. *Blood*. 2019; 133(1): 40-50.
73. Azab B, Bhatt VR, Phookan J, i wsp. Usefulness of the neutrophil-to-lymphocyte ratio in predicting short- and long-term mortality in breast cancer patients. *Ann Surg Oncol*. 2012; 19(1): 217-224.
74. Proctor MJ, Morrison DS, Talwar D, i wsp. A comparison of inflammation-based prognostic scores in patients with cancer. A Glasgow Inflammation Outcome Study. *Eur J Cancer Oxf Engl 1990*. 2011; 47(17): 2633-2641.
75. Hutterer GC, Stoeckigt C, Stojakovic T, et al. Low preoperative lymphocyte-monocyte ratio (LMR) represents a potentially poor prognostic factor in nonmetastatic clear cell renal cell carcinoma. *Urol Oncol*. 2014; 32(7): 1041-1048.
76. Moosazadeh M, Maleki I, Alizadeh-Navaei R, i wsp. Normal values of neutrophil-to-lymphocyte ratio, lymphocyte-to-monocyte ratio and platelet-to-lymphocyte ratio among Iranian population: Results of Tabari cohort. *Casp J Intern Med*. 2019; 10(3): 320-325.
77. Gibbs G. Advia Haematology Systems. A Guide to Cytogram Interpretation. Lulu Press; 2014.
78. Stanisław A. Przystępny kurs statystyki z zastosowaniem STATISTICA PL na przykładach z medycyny. Tom I. Statystyki podstawowe. Wydanie 3. Kraków: StatSoft; 2006: 77
79. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011; 144(5): 646-674.
80. Guthrie GJK, Charles KA, Roxburgh CSD, Horgan PG, McMillan DC, Clarke SJ. The systemic inflammation-based neutrophil-lymphocyte ratio: experience in patients with cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2013; 88(1): 218-230. d
81. Sun H, Yin CQ, Liu Q, Wang F, Yuan CH. Clinical Significance of Routine Blood Test-Associated Inflammatory Index in Breast Cancer Patients. *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res*. 2017; 23: 5090-5095.
82. Templeton AJ, McNamara MG, Šeruga B, i wsp. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in solid tumors: a systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst*. 2014; 106(6): dju124. doi:10.1093/jnci/dju124
83. Azab B, Camacho-Rivera M, Taioli E. Average values and racial differences of neutrophil lymphocyte ratio among a nationally representative sample of United States subjects. *PloS One*. 2014; 9(11): e112361. doi:10.1371/journal.pone.0112361
84. Nishijima TF, Muss HB, Shachar SS, Tamura K, Takamatsu Y. Prognostic value of lymphocyte-to-monocyte ratio in patients with solid tumors: A systematic review and meta-analysis. *Cancer Treat Rev*. 2015; 41(10): 971-978.
85. Ding N, Pang Z, Shen H, Ni Y, Du J, Liu Q. The Prognostic Value of PLR in Lung Cancer, a Meta-analysis Based on Results from a Large Consecutive Cohort. *Sci Rep*. 2016; 6: 34823. doi:10.1038/srep34823

86. Zhu Y, Si W, Sun Q, Qin B, Zhao W, Yang J. Platelet-lymphocyte ratio acts as an indicator of poor prognosis in patients with breast cancer. *Oncotarget*. 2017; 8(1): 1023-1030.
87. Wu Q, Hu T, Zheng E, Deng X, Wang Z. Prognostic role of the lymphocyte-to-monocyte ratio in colorectal cancer: An up-to-date meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2017; 96(22): e7051. doi:10.1097/MD.00000000000007051
88. Terzić J, Grivennikov S, Karin E, Karin M. Inflammation and colon cancer. *Gastroenterology*. 2010; 138(6): 2101-2114.
89. Lin EY, Pollard JW. Role of infiltrated leucocytes in tumour growth and spread. *Br J Cancer*. 2004; 90(11): 2053-2058.
90. Waldner M, Schimanski CC, Neurath MF. Colon cancer and the immune system: the role of tumor invading T cells. *World J Gastroenterol*. 2006; 12(45): 7233-7238.
91. Bain BJ. Ethnic and sex differences in the total and differential white cell count and platelet count. *J Clin Pathol*. 1996; 49(8): 664-666.
92. Kweon OJ, Lee MK, Kim HJ, Chung JW, Choi SH, Kim HR. Neutropenia and neutrophil-to-lymphocyte ratio in a healthy Korean population: race and sex should be considered. *Int J Lab Hematol*. 2016; 38(3): 308-318.
93. Demirkol S, Balta S, Cakar M, Unlu M, Arslan Z, Kucuk U. Red cell distribution width: A novel inflammatory marker in clinical practice. *Cardiol J*. 2013;20(2):209-209.
94. Balta S, Demirkol S, Kucuk U, Sarlak H, Kurt O, Arslan Z. Neutrophil to lymphocyte ratio may predict mortality in breast cancer patients. *J Breast Cancer*. 2013; 16(3): 354-355.
95. Yao M, Liu Y, Jin H, i wsp. Prognostic value of preoperative inflammatory markers in Chinese patients with breast cancer. *OncoTargets Ther*. 2014; 7: 1743-1752.
96. 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. *J Clin Med Res*. 2013; 5(2): 121-126.
97. Koma Y, Onishi A, Matsuoka H, i wsp. Increased red blood cell distribution width associates with cancer stage and prognosis in patients with lung cancer. *PloS One*. 2013; 8(11): e80240. doi:10.1371/journal.pone.0080240
98. Suzuki K, Aiura K, Ueda M, Kitajima M. The influence of platelets on the promotion of invasion by tumor cells and inhibition by antiplatelet agents. *Pancreas*. 2004; 29(2): 132- 140.
99. Palumbo JS, Talmage KE, Massari JV, i wsp. Platelets and fibrinogen increase metastatic potential by impeding natural killer cell-mediated elimination of tumor cells. *Blood*. 2005; 105(1): 178-185.
100. Klinger MHF, Jelkmann W. Role of blood platelets in infection and inflammation. *J Interferon Cytokine Res Off J Int Soc Interferon Cytokine Res*. 2002; 22(9): 913-922.
101. Chen N, Li W, Huang K, i wsp. Increased platelet-lymphocyte ratio closely relates to inferior clinical features and worse long-term survival in both resected and metastatic colorectal cancer: an updated systematic review and meta-analysis of 24 studies. *Oncotarget*. 2017; 8(19): 32356-32369. doi:10.18632/oncotarget.16020

102. You J, Zhu GQ, Xie L, i wsp. Preoperative platelet to lymphocyte ratio is a valuable prognostic biomarker in patients with colorectal cancer. *Oncotarget*. 2016; 7(18): 25516- 25527. doi:10.18632/oncotarget.8334
103. Gu X, Gao XS, Cui M, i wsp. Clinicopathological and prognostic significance of platelet to lymphocyte ratio in patients with gastric cancer. *Oncotarget*. 2016 ;7(31): 49878-49887. doi:10.18632/oncotarget.10490
104. Lian L, Xia YY, Zhou C, i wsp. Application of platelet/lymphocyte and neutrophil/lymphocyte ratios in early diagnosis and prognostic prediction in patients with resectable gastric cancer. *Cancer Biomark Sect Dis Markers*. 2015; 15(6): 899-907. doi:10.3233/CBM-150534
105. Gu X, Sun S, Gao XS, i wsp. Prognostic value of platelet to lymphocyte ratio in non-small cell lung cancer: evidence from 3,430 patients. *Sci Rep*. 2016; 6: 23893. doi:10.1038/srep23893
106. Zhang M, Huang XZ, Song YX, Gao P, Sun JX, Wang ZN. High Platelet-to-Lymphocyte Ratio Predicts Poor Prognosis and Clinicopathological Characteristics in Patients with Breast Cancer: A Meta-Analysis. *BioMed Res Int*. 2017; 2017:9503025. doi:10.1155/2017/9503025
107. Jakubowska K, Koda M, Grudzińska M, Kańczuga-Koda L, Famulski W. Monocyte-to-lymphocyte ratio as a prognostic factor in peripheral whole blood samples of colorectal cancer patients. *World J Gastroenterol*. 2020; 26(31): 4639-4655. doi:10.3748/wjg.v26.i31.4639
108. Xiang J, Zhou L, Li X, i wsp. Preoperative Monocyte-to-Lymphocyte Ratio in Peripheral Blood Predicts Stages, Metastasis, and Histological Grades in Patients with Ovarian Cancer. *Transl Oncol*. 2017; 10(1): 33-39.
109. Sica A, Allavena P, Mantovani A. Cancer related inflammation: the macrophage connection. *Cancer Lett*. 2008; 267(2): 204-215.
110. Sica A, Bronte V. Altered macrophage differentiation and immune dysfunction in tumor development. *J Clin Invest*. 2007; 117(5): 1155-1166.
111. Huszno J, Kolosza Z. Prognostic value of the neutrophil-lymphocyte, platelet-lymphocyte and monocyte-lymphocyte ratio in breast cancer patients. *Oncol Lett*. 2019; 18(6):6275-6283. doi:10.3892/ol.2019.10966
112. Engel JB, Honig A, Kapp M, i wsp. Mechanisms of tumor immune escape in triple-negative breast cancers (TNBC) with and without mutated BRCA 1. *Arch Gynecol Obstet*. 2014; 289(1):141-147.
113. Liu S, Lachapelle J, Leung S, Gao D, Foulkes WD, Nielsen TO. CD8+ lymphocyte infiltration is an independent favorable prognostic indicator in basal-like breast cancer. *Breast Cancer Res BCR*. 2012; 14(2):R48. doi:10.1186/bcr3148
114. Stotz M, Gerger A, Eisner F, i wsp. Increased neutrophil-lymphocyte ratio is a poor prognostic factor in patients with primary operable and inoperable pancreatic cancer. *Br J Cancer*. 2013; 109(2):416-421.
115. Timudom K, Akaraviputh T, Chinswangwatanakul V, i wsp.. Predictive significance of cancer related-inflammatory markers in locally advanced rectal cancer. *World J Gastrointest Surg*. 2020; 12(9): 390-396.

116. Forkasiewicz A, Dorociak M, Stach K, Szelachowski P, Tabola R, Augoff K. The usefulness of lactate dehydrogenase measurements in current oncological practice. *Cell Mol Biol Lett*. 2020; 25: 35. doi:10.1186/s11658-020-00228-7
117. Kolev Y, Uetake H, Takagi Y, Sugihara K. Lactate dehydrogenase-5 (LDH-5) expression in human gastric cancer: association with hypoxia-inducible factor (HIF-1alpha) pathway, angiogenic factors production and poor prognosis. *Ann Surg Oncol*. 2008;15(8):2336-2344.
118. Augoff K, Hryniewicz-Jankowska A, Tabola R. Lactate dehydrogenase 5: an old friend and a new hope in the war on cancer. *Cancer Lett*. 2015; 358(1): 1-7. doi:10.1016/j.canlet.2014.12.035
119. Liu D, Wang D, Wu C, i wsp. Prognostic significance of serum lactate dehydrogenase in patients with breast cancer: a meta-analysis. *Cancer Manag Res*. 2019; 11: 3611-3619.
120. Jia Z, Zhang J, Wang Z, i wsp. An explorative analysis of the prognostic value of lactate dehydrogenase for survival and the chemotherapeutic response in patients with advanced triple-negative breast cancer. *Oncotarget*. 2018; 9(12): 10714-10722.
121. Pelizzari G, Basile D, Zago S, i wsp. Lactate Dehydrogenase (LDH) Response to First-Line Treatment Predicts Survival in Metastatic Breast Cancer: First Clues for A Cost-Effective and Dynamic Biomarker. *Cancers*. 2019; 11(9): E1243. doi:10.3390/cancers11091243
122. Lossos IS, Breuer R, Intrator O, Sonenblick M. Differential diagnosis of pleural effusion by lactate dehydrogenase isoenzyme analysis. *Chest*. 1997; 111(3):648-651.
123. Anami S, Doi H, Nakamatsu K, i wsp. Serum lactate dehydrogenase predicts survival in small-cell lung cancer patients with brain metastases that were treated with whole-brain radiotherapy. *J Radiat Res (Tokyo)*. 2019; 60(2): 257-263.
124. Inomata M, Hayashi R, Tanaka H, i wsp. Elevated levels of plasma lactate dehydrogenase is an unfavorable prognostic factor in patients with epidermal growth factor receptor mutation-positive non-small cell lung cancer, receiving treatment with gefitinib or erlotinib. *Mol Clin Oncol*. 2016;4(5):774-778.

10. Opinia Komisji Bioetycznej

UNIwersYTET MEDYCZNY
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
Katedra i Zakład
Diagnostyki Laboratoryjnej
60-569 Poznań, ul. Szamarzewskiego 82/84
tel./fax 61 855 34 96, 61 854 90 33

Poznań, 9 kwietnia 2019 r.

Grażyna Kasprzak

.....
imię i nazwisko

Katedra i Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej

.....
miejsce realizowania pracy naukowej

Sz. Pan
Prof. dr hab. Paweł Chęciński
Przewodniczący Komisji Bioetycznej
przy Uniwersytecie Medycznym
w Poznaniu

Szanowny Panie Profesorze,

Przygotowuję się do realizacji pracy doktorskiej, pt.: „Ocena wybranych wskaźników zapalnych morfologii krwi u chorych na nowotwory złośliwe”, która będzie przeprowadzana w oparciu o analizę dokumentacji medycznej (historia choroby, wyniki badań laboratoryjnych) pacjentów Szpitala Klinicznego Przemienienia Pańskiego UM w Poznaniu w latach 2013-2019.

Proszę o potwierdzenie, że prowadzone przeze mnie badanie nie jest eksperymentem medycznym i nie wymaga opinii Komisji Bioetycznej.

BADANIE NIE NOSI CECH
EKSPERYMENTU
MEDYCZNEGO

2019-04-10

PRZEWODNICZĄCY
KOMISJI BIOETYCZNEJ

P. Chęciński
prof. dr hab. med. Paweł Chęciński

Grażyna Kasprzak

.....
podpis studenta

Kierownik
Katedry i Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej
Ewa Wysocka
dr hab. n. med. Ewa Wysocka

.....
podpis promotora