

UNIVERZITET U
BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

Vladimir D. Otašević

**BIOMARKERI INFLAMACIJE I
EKSTRACELULARNE VEZIKULE KAO
PREDIKTORI VENSKE TROMBOEMBOLIJE KOD
PACIJENATA SA LIMFOMOM**

Doktorska disertacija

Beograd, 2023

UNIVERSITY OF
BELGRADE

FACULTY OF MEDICINE

Vladimir D. Otašević

**INFLAMMATORY
BIOMARKERS AND
EXTRACELLULAR VESICLES
AS PREDICTORS OF VENOUS
THROMBOEMBOLISM IN
LYMPHOMA PATIENTS**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2023

MENTOR:

Doc. dr Darko Antić, docent Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

ČLANOVI KOMISIJE:

1. Prof. dr Biljana Mihaljević, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu – predsednik Komisije
2. Prof. dr Jelena Bila, vanredni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
3. Prof. dr Predrag Đurđević, redovni profesor Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu

Datum odbrane teze: _____

Zahvaljujem se

Doc. dr Darku Antiću, mom mentoru, načelniku Odeljenja i direktoru Klinike za hematologiju UKCS, zahvaljujući kojem sam dobio jedinstvenu priliku da se bavim ovom vrlo zanimljivom naukom, zahvaljujući kojem svakodnevno stičem ogromna klinička iskustva. Radi se o jednom vrhunskom profesionalcu, sa ogromnim znanjem i iskustvom u ovoj oblasti, sa istančanim osjećajem za nauku i hematologiju uopšte. Posebno bih istakao njegov neposredan i prijateljski odnos, mogućnost postavljanja pitanja u svim mogućim i nemogućim okolnostima i situacijama, kao i pružanje uvijek adekvatnih komentara i savjeta. Takođe, zahvaljujući primarno njemu ova doktorska disertacija je sprovedena u saradnji sa renomiranim Institutom Karolinska iz Stokholma, Švedska

Prof. dr Nataši Milić, na neizmjernom doprinosu u svim fazama izrade ove disertacije, na kontinuiranoj prisutnosti i velikom broju izuzetnih savjeta i ideja koje su krucijalno uticale na cjelokupan rad

Prof. dr Biljani Mihaljević, predsjedniku Komisije, na uvijek prisutnoj velikodušnoj podršci, nesebičnom dijeljenju ogromnog znanja i iskustva

Članovima Komisije, prof. dr Jeleni Bili i prof. dr Predragu Đurđeviću

Prof. dr Nadi Suvajdžić-Vuković, koja me uvela u svijet hematologije i zahvaljujući kojoj sam dobio prvu priliku da se bavim hematologijom

Prof. dr Neli Puškaš, koju sam sreo praktično prvog dana nastave na fakultetu, koja je neupitno imala presudan uticaj na moj naučni i profesionalni razvoj

Prof. dr Dejani Stanisavljević, na pomoći oko dijela statističke obrade podataka retrospektivnog dijela doktorske disertacije

Službi koagulacije i kliničke hemije, Odeljenje za molekularnu medicinu i hirurgiju, Institut Karolinska, prof. dr Jovanu Antoviću, načelniku Odeljenja kao i njegovoj saradnici dr Charlotte Gran, za izvrsnu naučnu saradnju i neizmernu podršku u izradi ove disertacije

Kolegama i osoblju Odeljenja limfoma, kao cijele Klinike za hematologiju na prijateljskom odnosu i podršci

Mojoj vjerenici, sestri, majci i ocu, na ljubavi i životnoj podršci kakva se samo poželjeti može

Takođe se zahvaljujem koautorima rada koji je proizišao kao rezultat istraživanja u okviru ove doktorske teze:

1. doc. dr Darko Antić – kreiranje koncepta teze, učestvovao u svim dijelovima izrade rada

2. prof. dr Nataša Milić – statistička analiza podataka, značajan doprinos u metodološkom dijelu kao i u koncepciji rada

3. prof. dr Biljana Mihaljević – revizija rada, posebna zasluga za uvod i diskusiju

4. prof. dr Dejana Stanisavljević – statistička analiza podataka

5. ass. dr Vojin Vuković – revizija i unapređenje diskusije

6. dr Kristina Tomić Vujović – prikupljanje podataka, pomoć u izradi uvoda

7. prof. dr Džaved Farid – revizija celokupnog rada, doprinos u vidu nekoliko važnih unapređenja

BIOMARKERI INFLAMACIJE I EKSTRACELULARNE VEZIKULE KAO PREDIKTORI VENSKE TROMBOEMBOLIJE KOD PACIJENATA SA LIMFOMOM

REZIME

Uvod: Limfomi predstavljaju vrlo heterogenu grupu neoplazmi, čija se biološka raznolikost ogleda u različitim mehanizmima napredovanja bolesti i razvoja komplikacija. Jedna od komplikacija koja izaziva značajan morbiditet i mortalitet kod pacijenata sa malignitetima je venska tromboembolija (VTE). Pacijenti sa malignitetom imaju do 7 puta veći rizik za razvoj tromboze u odnosu na opštu populaciju. Specifična patofiziološka karakteristika limfoma je imunološka disregulacija, koja je usko povezana sa aktivacijom inflamacije. Klasični indikatori nivoa inflamacije su broj leukocita i standardizovani reaktanti akutne faze: C-reaktivni protein (CRP), brzina sedimentacije eritrocita (ESR) i fibrinogen. Međutim, danas postoji značajan broj novih markera sistemske inflamacije poput odnosa neutrofila i limfocita (*neutrophil-to-lymphocyte ratio*, NLR) i odnosa trombocita i limfocita (*platelet-to-lymphocyte ratio*, PLR). Ekstracelularne vezikule (EV) predstavljaju generički termin za formacije koje se prirodno oslobađaju iz ćelije, koje su ograničene lipidnim dvoslojem i koje se ne mogu replicirati (tj. ne sadrže funkcionalno jedro). EV imaju vrlo sofisticiranu ulogu u brojnim fiziološkim i patološkim procesima, gde se EV otpuštaju od strane različitih ćelija. Uloga EV u trombozi povezanoj sa tumorom (*cancer-associated thrombosis*, CAT) ispitivana je u animalnim modelima i kod ljudi. Pored toga, EV su povezane sa stanjima kako akutne tako i hronične inflamacije, a često su i „nosači“ različitih molekula od kojih pojedini imaju protrombotički potencijal. S obzirom na sve navedeno, ciljevi istraživanja bili su ispitivanje povezanosti biomarkera inflamacije i razvoja VTE kod pacijenata sa limfomom koji su lečeni (imuno)hemioterapijom, ispitivanje povezanosti VTE sa tipom terapijskog lečenja i odgovora na terapiju kod pacijenata sa limfomom. Sledeći cilj je bio karakterizacija profila EV kod pacijenata sa difuznim B-krupnoćelijskim limfomom (DBKL), ispitivanje povezanosti EV sa VTE kod pacijenata sa DBKL, ispitivanje testa ukupnog hemostaznog potencijala (*overall hemostasis potential*, OHP) i povezanosti sa VTE kod pacijenata sa DBKL.

Metodologija: U prvom delu istraživanja sprovedena je retrospektivna kohortna studija, u koju je uključeno 706 novodijagnostikovanih i relapsirajućih pacijenata sa limfomom koji su lečeni u Klinici za hematologiju, Univerzitetskog kliničkog centra Srbije. Prikupljeni su podaci o svim VTE kod pacijenata sa novodijagnostikovanim limfomom ili relapsom bolesti. NLR i PLR su računati korišćenjem parametara kompletne krvne slike sa diferencijalnom leukocitarnom formulom. Analizirani su sledeći biohemijski parametri: ESR, CRP, laktat dehidrogenaza (LDH), fibrinogen, ukupni proteini (TP), albumin. Drugi deo istraživanja predstavlja prospektivnu kohortnu studiju, koja je uključila 62 pacijenta sa dijagnozom DBKL i sprovedeno je u kolaboraciji sa Univerzitetom bolnicom Karolinska, Služba koagulacije i kliničke hemije, Odeljenje za molekularnu medicinu i hirurgiju, Institut Karolinska i klinička hemija, medicinska dijagnostika Karolinska. Ispitivanje EV je sprovedeno korišćenjem protočne citometrije. Korišćen je sledeći panel markera: Annexin V za fosfatidilserin (PS), CD42b/CD61 za EV porekla trombocita (*platelet-derived extracellular vesicles*, PEV), CD142 za tkivni faktor (TF), CD19, CD20 i CD45 za DBKL/B-ćelijsku populaciju, CD62P/CD62E za P-selektin odnosno E-selektin. Za identifikaciju EV korišćen je specifičan gejtning algoritam. EV su definisane kao vezikule veličine $\leq 1,0 \mu\text{m}$ i pozitivne na Annexin V. Za poređenje EV kod pacijenata sa DBKL, formirana je kontrolna grupa od 5 zdravih volontera. Formiranje i

liziranje fibrinskog ugruška su ispitivani putem testa OHP, na osnovu kog se formiraju dve krive agregacije fibrina i izračunavaju se dve površine ispod krive (*area under curve*, AUC): OHP i ukupni koagulacioni potencijal (*overall coagulation potential*, OCP). Razliku između ova dva parametra reflektuje ukupni potencijal fibrinolize (*overall fibrinolysis potential*, OFP).

Rezultati: U retrospektivnom delu istraživanja, od 706 pacijenata uključenih u studiju, ukupno je 69 pacijenata (9,8%) razvilo VTE. Većina pacijenata imala je simptomatsku VTE (41/69), a takođe je kod većine pacijenata došlo do razvoja VTE tokom lečenja (52,1%). Učestalost VTE bila je najveća kod pacijenata sa agresivnim non-Hoćkin limfomom (NHL) (11,8%), potom kod pacijenata sa Hoćkin limfomom (HL) (8,4%), a najmanja kod pacijenata sa indolentnim NHL (5,8%). U poređenju sa pacijentima bez VTE, NLR, PLR, ESR, CRP i LDH su bili statistički značajno povišeni kod pacijenata sa VTE ($p=0,001$, $p=0,001$, $p=0,023$, $p<0,001$ i $p=0,035$), dok su TP i albumin bili statistički značajno niži ($p=0,024$ i $p=0,032$). U univarijantnoj regresionoj analizi, NLR, PLR, TP, albumin, LDH i CRP su se pokazali prognostičkim faktorima za razvoj VTE kod pacijenata sa limfomom. B-simptomatologija, „bulky“ tumorska masa, zahvatanje medijastinuma i ECOG PS bili su značajni kliničko-patološki prognostički faktori za razvoj VTE kod pacijenata sa limfomom ($p=0,001$, $p=0,001$, $p=0,005$, $p=0,015$). U multivarijantnom regresionom modelu, NLR i CRP su se pokazali kao nezavisni prognostički faktori za razvoj VTE kod pacijenata sa limfomom ($p=0,046$ i $p=0,024$). Analiza ROC krive (*receiver operating characteristic*) pokazala je zadovoljavajuću senzitivnost (Sn) i specifičnost (Sp) NLR, PLR i CRP u predikciji VTE kod pacijenata sa limfomom ($p=0,001$ za sva tri: NLR, PLR i CRP). Nezadovoljavajući terapijski odgovor na (imuno)hemioterapiju bio je povezan sa razvojem VTE ($p=0,011$). Kompletna remisija bila je ređa kod pacijenata sa limfomom koji su razvili VTE nego kod onih koji nisu razvili VTE ($p=0,011$). Pacijenti sa limfomom kojima su ordinirani intenzivni hemioterapijski protokoli u prvoj liniji ili „salvage“ hemioterapijski protokoli, imali su veću stopu VTE u odnosu na pacijente sa limfomom koji su lečeni standardnim terapijama prve linije ($p<0,001$). Prospektivni deo istraživanja sproveden je na grupi od 62 pacijenta sa dijagnozom DBKL. Ukupno je 11 pacijenata (17,7%) razvilo VTE. Ukupna koncentracija Annexin V+ EV bila je statistički značajno veća kod pacijenata sa DBKL u odnosu na zdrave kontrole ($p=0,008$). Takođe, koncentracija TF+ EV bila je značajno veća u grupi pacijenata sa DBKL u odnosu na kontrolnu grupu ($p<0,001$). Nadalje, koncentracija sledećih EV bila je statistički značajno veća kod pacijenata obolelih od DBKL u odnosu na zdrave kontrole: TF+/CD42b+ (TF+ PEV), TF+/P-selektin-, TF+/P-selektin+, TF+/E-selektin-, TF+/E-selektin+, TF+/CD19+, TF+/CD19-, CD19+/CD20+, TF+/CD45-, TF+/CD45+, TF+/CD20+, TF+/CD19+, TF+/CD19-, TF-/CD19+. Sa druge strane, koncentracija sledećih EV se nije statistički značajno razlikovala između dve pomenute grupe: TF+/CD42b-, TF-/CD42b+, TF-/P-selektin+, TF-/E-selektin-, TF-/CD19+, TF-/CD45+, TF+/CD20-, TF-/CD20+. Nije opservirana statistički značajna razlika u koncentraciji ukupnih Annexin V+ EV kao i TF+ EV kod pacijenata sa DBKL i VTE u odnosu na pacijente sa DBKL bez VTE ($p=0,513$ odnosno $p=0,747$), kao ni statistički signifikantna razlika u koncentraciji drugih EV obuhvaćenih istraživanjem u odnosu na razvoj VTE. Korišćenjem Cox-ove regresione analize, ni ukupna koncentracija Annexin+ EV niti TF+ EV nisu pokazale povezanost sa ukupnim preživljavanjem (OS) ($p=0,953$ odnosno $p=0,757$). U poređenju grupa pacijenata sa DBKL i VTE odnosno bez VTE, kao i u poređenju sa ishodom OS, nisu uočene statistički značajne razlike u koncentraciji gore pomenutih EV. OHP analiza urađena je na podgrupi od 11 pacijenata sa DBKL, a kod jednog pacijenta (9,1%) došlo je do razvoja VTE. Kod pacijenta sa DBKL i VTE ($n=1$; 9,1%) testiranje ukupnog hemostaznog potencijala pokazalo je sledeće rezultate:

OHP (AUC) 64,1, OCP (AUC) 149,8, OFP 57,2%, dok je D-dimer bio 3,37 mg/L. Sa druge strane, pacijenti sa DBKL kod kojih nije došlo do razvoja VTE (n=9; 90,9%) su imali sledeće rezultate: OHP (AUC (opseg)) 49,5 (35,5-98), OCP (AUC (opseg)) 156,1 (95,5-269,1), OFP (% (opseg)) 65,5 (43,4-78), D-dimer (mg/L (opseg)) 0,95 (0,38-9,59).

Zaključak: Biomarkeri inflamacije, a pre svega NLR i CRP, povezani su sa povećanim rizikom od razvoja VTE kod pacijenata sa limfomom koji su lečeni (imuno)hemioterapijom. Disregulacija inflamacije igra značajnu ulogu u razvoju VTE u ovoj grupi pacijenata. Lako dostupni markeri inflamacije mogu adekvatno da reflektuju nivo inflamacije i stratifikuju pacijente koji su u povećanom riziku za razvoj VTE. Nezadovoljavajući terapijski odgovor na (imuno)hemioterapiju bio je povezan sa razvojem VTE kod pacijenata sa limfomom. Kompletna remisija bila je ređa kod pacijenata sa limfomom koji su razvili VTE nego kod onih koji nisu razvili VTE. U grupi pacijenata sa DBKL koja je prospektivno praćena, ukupna koncentracija Annexin V+ EV signifikantno je bila veća od koncentracije Annexin V+ EV kod zdravih kontrola. Dodatnom karakterizacijom profila EV, nađene su signifikantno veće koncentracije TF+ EV, TF+ PEV, TF+ P-selektin EV, TF+ E-selektin EV, EV porekla DBKL/B-ćelijske populacije i TF+ EV porekla DBKL/B-ćelijske populacije u grupi pacijenata sa DBKL u odnosu na koncentracije EV pomenutih obrazaca kod zdravih kontrola. U poređenju grupa pacijenata sa DBKL i VTE odnosno bez VTE nisu uočene statistički značajne razlike u koncentraciji gore pomenutih EV. Interpretacija rezultata OHP analize i nivoa D-dimera kod pacijenata sa DBKL sa odnosno bez VTE bila je značajno limitirana malim uzorkom pacijenata.

Ključne reči: limfomi, VTE, NLR, CRP, EV, TF, DBKL

NAUČNA OBLAST: MEDICINA

UŽA NAUČNA OBLAST: BIOLOGIJA TUMORA I OKSIDATIVNA OBOLJENJA

UDK broj: _____

INFLAMMATORY BIOMARKERS AND EXTRACELLULAR VESICLES AS PREDICTORS OF VENOUS THROMBOEMBOLISM IN LYMPHOMA PATIENTS

ABSTRACT

Introduction: Lymphomas represent a very heterogeneous group of neoplasms, whose biological diversity is reflected by different mechanisms of disease progression and development of complications. One of the complications that causes significant morbidity and mortality in patients with malignancies is venous thromboembolism (VTE). Patients with malignancy have up to 7-times higher risk of developing thrombosis compared to the general population. A specific pathophysiological characteristic of lymphoma is immune dysregulation, which is closely related to the activation of inflammation. Inflammation has been classically assessed by white blood cell (WBC) count and standardized acute phase reactants including C-reactive protein (CRP), erythrocyte sedimentation rate (ESR), and fibrinogen level. However, today there are a significant number of new markers of systemic inflammation such as neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) and platelet-to-lymphocyte ratio (PLR). Extracellular vesicles (EVs) are a generic term for formations that are naturally released from cells. They are composed of a lipid bilayer and cannot replicate (i.e., do not contain a functional nucleus). EVs have a very sophisticated role in numerous physiological and pathological processes, where EVs are released by various cells. The role of EVs in cancer-associated thrombosis (CAT) has been investigated in both animal models and in humans. In addition, EVs are associated with conditions of both acute and chronic inflammation, and are often "carriers" of various molecules which possess prothrombotic potential. In view of all the above, the research aims were to examine the association between the biomarkers of inflammation and the development of VTE in patients with lymphoma treated with (immuno)chemotherapy, to examine the association between VTE development with the type of therapeutic treatment and response to therapy in patients with lymphoma. The next objective was to characterize the profile of EVs in patients with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), to examine the association of EVs with VTE in patients with DLBCL, to examine the overall hemostasis potential (OHP) test and the association with VTE in patients with DLBCL.

Methodology: In the first part of the research, a retrospective cohort study was conducted, which included 706 newly diagnosed and relapsed patients with lymphoma, who were treated at Clinic for Hematology, University Clinical Center of Serbia. Data were collected for all VTE events in patients with newly diagnosed lymphoma or relapsed disease. NLR and PLR were calculated using parameters of complete blood count with differential leukocyte formula. The following biochemical parameters were analyzed: ESR, CRP, lactate dehydrogenase (LDH), fibrinogen, total proteins (TP), albumin. The second part of the research was the prospective cohort study, which included 62 patients diagnosed with DLBCL, and was conducted in collaboration with Karolinska University Hospital, Coagulation and Clinical Chemistry Service, Department of Molecular Medicine and Surgery, Karolinska Institute and Clinical Chemistry, Karolinska Medical Diagnostics. The EVs assay was performed using flow cytometry. The following panel of markers was used: Annexin V for phosphatidylserine (PS), CD42b/CD61 for platelet-derived extracellular vesicles (PEVs), CD142 for tissue factor (TF), CD19, CD20 and CD45 for DLBCL/B-cell population, CD62P/CD62E for P-selectin or E-selectin. A specific gating algorithm was used to identify EVs. EVs were defined as vesicles $\leq 1.0 \mu\text{m}$ in size and positive for Annexin V. To compare EVs in DLBCL patients, a control

group of 5 healthy volunteers was formed. The formation and lysis of the fibrin clot were examined using the OHP test, based on which two fibrin aggregation curves are formed and two areas under the curve (AUC) are calculated: OHP and overall coagulation potential (OCP). The difference between these two parameters reflects the overall fibrinolysis potential (OFP).

Results: In the retrospective part of the study, out of 706 patients included, a total of 69 patients (9.8%) developed VTE. Most of the patients had symptomatic VTE (41/69), and most of the patients also developed VTE during the treatment (52.1%). The frequency of VTE was the highest in the patients with aggressive non-Hodgkin lymphoma (NHL) (11.8%), then in the patients with Hodgkin lymphoma (HL) (8.4%), and lowest in the patients with indolent NHL (5.8%). Compared to the patients without VTE, NLR, PLR, ESR, CRP and LDH were statistically significantly elevated in the patients with VTE ($p=0.001$, $p=0.001$, $p=0.023$, $p<0.001$ and $p=0.035$, respectively), while TP and albumin were statistically significantly lower ($p=0.024$ and $p=0.032$, respectively). In univariate regression analysis, NLR, PLR, TP, albumin, LDH and CRP were found to be prognostic factors for the development of VTE in the lymphoma patients. B-symptomatology, "bulky" tumor mass, mediastinal involvement and ECOG PS were significant clinicopathological prognostic factors for development of VTE in the lymphoma patients ($p=0.001$, $p=0.001$, $p=0.005$, $p=0.015$, respectively). In a multivariate regression model, NLR and CRP were shown to be independent prognostic factors for development of VTE in the patients with lymphoma ($p=0.046$ and $p=0.024$, respectively). The analysis of the ROC curve (receiver operating characteristic) demonstrated acceptable sensitivity (Sn) and specificity (Sp) of NLR, PLR and CRP in prediction of VTE in the lymphoma patients ($p=0.001$ for all three: NLR, PLR and CRP). Insufficient therapeutic response to (immuno)chemotherapy was associated with development of VTE ($p=0.011$). Complete remission was less common in the lymphoma patients who developed VTE than in those who did not develop VTE ($p=0.011$). The lymphoma patients who were administered intensive first-line chemotherapy protocols or "salvage" chemotherapy protocols, had a higher rate of VTE compared to the lymphoma patients who were treated with standard first-line therapies ($p<0.001$). The prospective part of the research was conducted on a group of 62 patients diagnosed with DLBCL. A total of 11 patients (17.7%) developed VTE. The total concentration of Annexin V+ EVs was statistically significantly higher in the DLBCL patients compared to the healthy controls ($p=0.008$). Also, the concentration of TF+ EVs was significantly higher in the DLBCL patients' group compared to the control group ($p<0.001$). Furthermore, the concentration of the following EVs was statistically significantly higher in the DLBCL patients compared to the healthy controls: TF+/CD42b+ (TF+ PEVs), TF+/P-selectin-, TF+/P-selectin+, TF+/E-selectin-, TF+/E-selectin+, TF+/CD19+, TF+/CD19-, CD19+/CD20+, TF+/CD45-, TF+/CD45+, TF+/CD20+, TF+/CD19+, TF+/CD19-, TF-/CD19+. On the other hand, the concentration of the following EVs was not statistically significantly different between the two mentioned groups: TF+/CD42b-, TF-/CD42b+, TF-/P-selectin+, TF-/E-selectin-, TF-/CD19+, TF-/CD45+, TF+/CD20-, TF-/CD20+. No statistically significant difference was observed in the concentration of total Annexin V+ EVs as well as TF+ EVs in the DLBCL patients and VTE compared to the DLBCL patients without VTE ($p=0.513$ and $p=0.747$, respectively), as no statistically significant difference was found in the concentration of other EVs included in the research, in relation to development of VTE. Using Cox regression analysis, neither the total concentration of Annexin+ EVs nor TF+ EVs showed an association with overall survival (OS) ($p=0.953$ and $p=0.757$, respectively). In the comparison of the groups of DLBCL patients with and without VTE, as well as in the comparison with the OS outcome, no statistically significant

differences were observed in the concentration of the above-mentioned EVs. OHP analysis was performed on a subgroup of 11 DLBCL patients. One patient (9.1%) developed VTE. In the patient with DLBCL and VTE (n=1; 9.1%), testing of total hemostatic potential showed following results: OHP (AUC) 64.1, OCP (AUC) 149.8, OFP 57.2%, while D-dimer was 3.37 mg/L. On the other hand, DLBCL patients who did not develop VTE (n=9; 90.9%) had following results: OHP (AUC (range)) 49.5 (35.5-98), OCP 156.1 (95.5-269.1), OFP (% (range)) 65.5 (43.4-78), D-dimer (mg/L (range)) 0.95 (0.38-9.59).

Conclusions: Inflammatory biomarkers, primarily NLR and CRP, are associated with increased risk of VTE development in the patients with lymphoma treated with (immuno)chemotherapy. Dysregulation of inflammation plays a significant role in development of VTE in this group of patients. Readily available markers of inflammation can adequately reflect the level of inflammation and stratify patients who are at increased risk for developing VTE. Insufficient therapeutic response to (immuno)chemotherapy was associated with VTE development in the lymphoma patients. Complete remission was less common in the lymphoma patients who developed VTE than in those who did not develop VTE. In the prospectively followed group of DLBCL patients, the total Annexin V+ EVs concentration was significantly higher than Annexin V+ EVs concentration in the healthy controls. By the additional characterization of the EVs profile, significantly higher concentrations of TF+ EVs, TF+ PEVs, TF+ P-selectin EVs, TF+ E-selectin EVs, EVs of DLBCL/B-cell population origin and TF+ EVs of DLBCL/B-cell population origin were found in the DLBCL patients in comparison to EVs concentrations of the before mentioned patterns in the healthy controls. No statistically significant differences in the concentration of the above-mentioned EVs were observed between the DLBCL patients with and without VTE. The interpretation of OHP analysis results and D-dimer levels in DLBCL patients with and without VTE was significantly limited by the modest sample size.

Key words: lymphomas, VTE, NLR, CRP, EV, TF, DLBCL

SCIENTIFIC FIELD: MEDICINE

SCIENTIFIC DISCIPLINE: TUMOR BIOLOGY AND OXIDATIVE DISEASES

UDC number: _____

SADRŽAJ

| | |
|---|----|
| 1. UVOD | 1 |
| 1.1. LIMFOMI | 1 |
| 1.1.1. NHL | 1 |
| 1.1.2. HL | 3 |
| 1.2. IMUNOLOŠKA DISREGULACIJA I AKTIVIRANA INFLAMACIJA KOD LIMFOMA | 4 |
| 1.2.1. BIOMARKERI INFLAMACIJE | 6 |
| 1.3. TROMBOZA POVEZANA ZA TUMOROM (<i>CANCER-ASSOCIATED THROMBOSIS</i>) | 7 |
| 1.3.1. PATOFIZIOLOGIJA CAT | 8 |
| 1.4. EKSTRACELULARNE VEZIKULE | 11 |
| 1.4.1. EV I MALIGNITETI | 12 |
| 1.4.2. EV, CAT I INFLAMACIJA | 12 |
| 1.5. VTE KOD PACIJENATA SA LIMFOMOM | 14 |
| 1.5.1. EPIDEMIOLOGIJA VTE KOD PACIJENATA SA LIMFOMOM | 14 |
| 1.5.2. FAKTORI RIZIKA I MODELI ZA PROCENU RIZIKA ZA RAZVOJ VTE KOD PACIJENATA SA LIMFOMOM | 14 |
| 2. CILJEVI | 18 |
| 3. MATERIJALI I METODE | 19 |
| 3.1. STUDIJSKA POPULACIJA | 19 |
| 3.2. LABORATORIJSKA ISPITIVANJA | 19 |
| 3.3. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA | 21 |
| 4. REZULTATI | 22 |
| 4.1 RETROSPEKTIVNA KOHORTNA STUDIJA PACIJENATA SA LIMFOMOM | 22 |
| 4.2 PROSPEKTIVNA KOHORTNA STUDIJA PACIJENATA SA LIMFOMOM | 31 |
| 5. DISKUSIJA | 37 |
| 6. ZAKLJUČCI | 48 |
| 7. LITERATURA | 49 |

1. UVOD

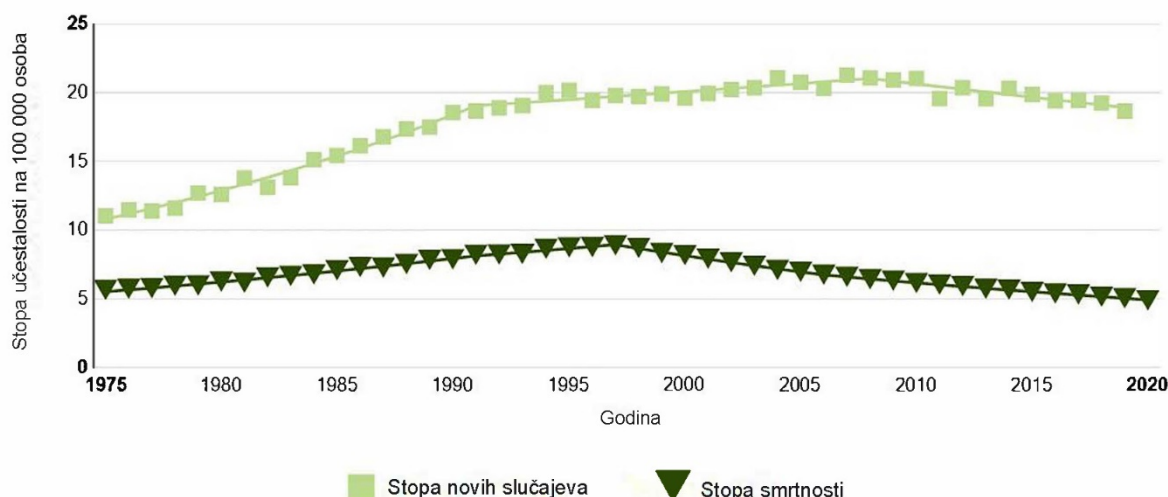
1.1. LIMFOMI

Limfomi predstavljaju grupu klonalnih hematoloških neoplazmi koji se odlikuju izraženom heterogenošću, u patofiziološkom, biološkom, dijagnostičkom i terapijskom aspektu. I dalje se koristi klasična podela na Hočkin (HL) (čini oko 10% svih limfoma) i non-Hočkin limfome (NHL) (oko 90% svih limfoma) (1). Pre svega u grupi NHL, danas su daleko više u upotrebi podele zasnovane na ćelijskom poreklu konkretnog tipa limfoma (B-/T-/NK- ćelijske neoplazme; prekursorske i zrele ćelijske neoplazme) i na kliničkom toku bolesti (tj. na indolentne i agresivne limfome).

1.1.1. NHL

NHL su po učestalosti dominantni u odnosu na HL. Nastaju iz limfocita koji su u različitim fazama razvoja, a karakteristike podtipova limfoma su refleksija ćelija iz kojih potiču (1). Klasifikacija NHL se menjala kroz vreme, kako se sticalo znanje o patogenezi i biologiji bolesti. Postoji veći broj klasifikacija ali su danas najviše u upotrebi klasifikacije limfoidnih neoplazmi Svetske zdravstvene organizacije (*World Health Organization*, WHO) u kojima je diverzifikovano više od 50 različitih podtipova NHL (2). Poslednja u upotrebi je 5. WHO klasifikacija limfoidnih neoplazmi (3) koja je objavljena 2022. godine. Uporedo sa poslednjom klasifikacijom WHO, publikovana je i *International Concensus Classification* zrelih limfoidnih neoplazmi (4), te možemo reći da je su u ovom trenutku obe u upotrebi.

Prema Nacionalnom institutu za kancer (*National Cancer Institute*) Sjedinjenih Američkih Država (SAD), u 2022. godini očekuje se nešto preko 80 000 novih slučajeva NHL u SAD, dok NHL predstavlja 7. malignitet po učestalosti u SAD, odnosno oko 4,2% svih *de novo* maligniteta (5). NHL se najčešće dijagnostikuje u starosnoj dobi između 65. i 74. godine života. U poslednjoj deceniji,



Grafikon 1. – Stopa novih slučajeva i stopa smrtnosti tokom godina (preuzeto i adaptirano iz *National Cancer Institute, Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program 2022* (5))

stopa izlečenja i petogodišnje preživljavanje je u značajnom poboljšanju, a interesantna je činjenica da je poslednjih nekoliko godina opserviran blagi pad broja novih slučajeva NHL (Grafikon 1). U Ujedinjenom Kraljevstvu (UK) incidencija je oko 14 200 novih NHL slučajeva godišnje (u periodu

2016-2018.), dok NHL čini 6. najčešći malignitet. Incidencija je najveća između 80-84. godine života. U poređenju sa podacima iz SAD, u UK je uočen nastavak porasta incidencije (6).

Etiopatogeneza NHL je i dalje tema velikog broja istraživanja, a do sada je poznat značajan broj genetskih i infektivnih etioloških agenasa koji su povezani sa različitim podtipovima limfoma (7). Kongenitalne i stečene imunodeficijencije predstavljaju najjači poznati faktor rizika za razvoj NHL (8). Među stečenim imunodeficijencijama ističe se infekcija virusom humane imunodeficijencije (HIV), kod koje je incidencija NHL višestruko veća nego u opštoj populaciji, uz predominaciju javljanja agresivnih tipova limfoma (9). Podaci govore da je incidencija niža u eri kombinovane antiretroviralne terapije (*combination antiretroviral therapy*, cART) (10,11). Veći broj virusnih agenasa je povezan sa povećanim rizikom za razvoj NHL: Epstein-Barr virus (EBV) (12), humani T-ćelijski limfotropni virus 1 (HTLV-1) (13), humani herpesvirus-8 (HHV-8) (14), hepatitis C virus (HCV) (15). Nadalje, bakterijske infekcije su takođe poznati predisponirajući faktor za razvoj NHL, bilo putem hronične antigenske stimulacije ili prolongirane inflamacije (*Helicobacter pylori*, *Borrelia burgdorferi*, *Chlamydia psittaci*, *Campylobacter jejuni*, *Coxiella burnetii*) (8,16–18). Pored infektivnih, postoji cela baterija promenljivih i nepromenljivih faktora rizika koji imaju uticaja u razvoju NHL (Tabela 1), poput pušenja, konzumacije alkoholnih pića, vrste ishrane, gojaznosti, ultravioletnog zračenja, okupacione ekspozicije (pesticidi, insekticidi), godina starosti, pola, rase (8,12,19–22).

Tabela 1. – Promenjivi i nepromenjivi faktori rizika za razvoj NHL (preuzeto i adaptirano iz Thandra i sar. (12))

| Nepromenjivi faktori rizika | Promenjivi faktori rizika |
|-----------------------------|--------------------------------|
| Godine | Radijacija |
| Pol | Hemijska ekspozicija |
| Rasa/etnička pripadnost | Gojaznost |
| Porodična istorija | Pušenje i konzumacija alkohola |
| Autoimune bolesti | Grudni implantati |
| Imunosupresija | Deficit vitamina |

Klinička slika je uglavnom karakteristična za sve limfome, ali uz veliki broj varijacija s obzirom na već pomenutu izraženu heterogenost ove grupe malignih hematoloških bolesti. Najčešća prezentacija NHL je limfadenopatija. U najvećem broju slučajeva pacijent primeti perifernu limfadenopatiju i to bude glavni razlog javljanja lekaru. Limfomska limfadenopatija je bezbolna, tvrda, bez lokalnih znakova inflamacije na koži. NHL su vrlo često praćeni konstitutivnim ili B-simptomima: noćno preznojavanje, gubitak telesne težine >10% u poslednjih 6 meseci, febrilnost (1,23). NHL mogu zahvatiti/infiltrirati bilo koji organ u telu, što neretko rezultira pojavljivanjem simptoma/znakova disfunkcije zahvaćenog organa ili organskog sistema, koji se na prvi pogled ne mogu povezati sa NHL. Takođe, NHL se mogu prezentovati i autoimunim fenomenima. Dijagnoza

limfoma (i NHL i HL) se postavlja biopsijom tumorske mase (uvećan limfni čvor ili prethodno radiografski verifikovana infiltracija nekog organa) i, potom, patohistološkom i imunohistohemijskom analizom uzorka limfnog čvora ili bioptiranog tkiva. Takođe, u određenim situacijama prisutna je samo infiltracija koštane srži, sa ili bez prodora limfomskih ćelija u perifernu krv.

U savremenoj eri, standard lečenja B-NHL je imunohemioterapija, a otpočinjanje primene imunoterapije je imalo revolucionaran efekat na terapijske ishode (1). Terapijski ishodi za T-NHL su lošiji, pre svega zbog izostanka imunoterapije u okviru standardnog lečenja. Stopa izlečenja zavisi primarno od tipa limfoma jer klinički tok direktno korespondira tipu, a takođe zavisi i od brojnih drugih faktora (kako porekla limfoma, tako i porekla pacijenta).

1.1.2. HL

HL je maligna limfoproliferativna neoplazma porekla B-ćelija. HL ima nekoliko specifičnih karakteristika koje su gotovo jedinstvene među humanim malignitetima, kao što su mlađa starosna dob bolesnika, retka zastupljenost malignih ćelija (poznate kao Hočkinove i Rid-Šternbergove ćelije) uz obilno tumorsko mikrokruženje koje je bogato imunim efektorskim ćelijama, i visoka stopa izlečenja (24). Po pitanju klasifikacije, HL se deli na klasični HL (CHL) i nodularna limfocitna predominacija HL (NLPHL). Nadalje se CHL deli na 4 podtipa (učestalost unutar CHL): nodularna skleroza (oko 70%), mešana celularnost (20-25%), limfocitima bogat (oko 5%) i limfocitna deplecija (<1%). CHL čini preko 90% svih slučajeva HL (25). Ova podela je zadržana i u poslednjoj WHO klasifikaciji limfoidnih neoplazmi (3). Međutim, postoji debata oko tipa nodularne limfocitne predominacije. Naime, *Clinical Advisory Committee* (4) je predstavio svoj konsenzus po pitanju klasifikacije zrelih limfoidnih neoplazmi, u kojima se NLPHL, zbog svojih bioloških i kliničkih razlika sa CHL i sličnosti sa *T-cell/histiocyte-rich* B-ćelijskim limfomom (26), preimenuje u nodularni limfocitima predominantan B-ćelijski limfom (NLPBL). NLPBL se može javiti kao gradus 1 ili gradus 2, a to ima terapijsku implikaciju u vidu kliničke preporuke da se gradus 2 leči kao difuzni B-krupnoćelijski limfom (DBKL), a ne kao HL (27).

Ukupna incidencija HL je mala, u Evropi oko 2-3 slučaja na 100 000 stanovnika, ali HL predstavlja jedan od najčešćih maligniteta među mladima (24). HL ima bimodalnu distribuciju sa dva pika učestalosti: prvi u trećoj deceniji života i drugi nakon 55. godine starosti (28). Etiologija HL nije u potpunosti razjašnjena. U oko 30-40% slučajeva CHL (tačnije podtipa nodularne limfocitne predominacije) u Evropi i Severnoj Americi Hočkinove i Rid-Šternbergove ćelije su latentno pozitivne na EBV, a ovaj procenat ide do 80% slučajeva kod dece u centralnoj i južnoj Americi (29–31). Kao i kod NHL, poseban faktor rizika za razvoj HL predstavljaju stanja kako urođene tako i stečene imunodeficijencije (32). Genetska predispozicija ima svoje mesto u etiologiji HL, pre svega u CHL. Od ranije je poznato da su određeni HLA aleli povezani sa povećanim rizikom od HL, pri čemu su aleli HLA klase I povezani sa EBV pozitivnim CHL, a aleli HLA klase II sa EBV negativnim CHL (33).

Najveći broj pacijenata se prezentuje u prvom ili drugom kliničkom stadijumu po *Ann Arbor*-u i ima dobru prognozu. Izolovana limfadenopatija bez B simptomatologije predstavlja najčešći znak. Limfadenopatija se najfrekventnije javlja cervikalno, aksilarno ili medijastinalno, a samo oko 10% pacijenata se prezentuje sa tumorskom masom infradijafragmalno. Oko 25% pacijenata ima B simptomatologiju (34,35). Febrilnosti su uglavnom iregularne, a retko cikličan obrazac visoke

febrilnosti u trajanju od 1-2 nedelje, koji se naizmenično prati sa afebrilnim periodima sličnog trajanja, poznat kao Pel-Ebštajnov tip temperature, je praktično dijagnostički za HL (36). Kod oko 10% pacijenata se javlja specifičan simptom u vidu bola u zahvaćenim limfnim žlezdama tokom konzumacije alkohola, i vrlo je specifičan za HL (36,37). Postupak postavljanja dijagnoze prati iste principe kao kod NHL, neophodna je adekvatna biopsija tumorske mase, a dijagnoza se postavlja patohistološkom i imunohistohemijskom analizom biopsiranog materijala.

Standard lečenja je primena hemioterapije, a pristup i tok lečenja neretko variraju od institucije do institucije. U Evropi se najviše koriste preporuke za lečenje HL izdate od strane Evropskog udruženja za medikalnu onkologiju (*European Society for Medical Oncology, ESMO*) (38). Standard lečenja u Evropi je ABVD protokol (doksorubicin, bleomicin, vinblastin, dakarbazin) (izuzev Nemačke gde se koristi protokol BEACOPP (bleomicin, etopozid, doksorubicin, ciklofosamid, vinkristin, prokarbazin, prednizolon)), čiji se broj ciklusa adekvatno procenjuje sprovođenjem interim-PET/CT snimanja (pozitron emisija tomografija/kompjuterizovana tomografija). Terapijski odgovor HL direktno zavisi od uznapredovalosti bolesti. Stopa izlečenja kod pacijenata sa izostankom *bulky* tumorske mase u I i II kliničkom stadijumu je oko 90-95% i oko 70-80% kod pacijenata sa uznapredovalom bolešću (24).

1.2. IMUNOLOŠKA DISREGULACIJA I AKTIVIRANA INFLAMACIJA KOD LIMFOMA

S obzirom da su limfomi vrlo heterogena grupa neoplazmi, posledično se njihova biološka raznolikost ogleda u različitim mehanizmima napredovanja bolesti i razvoja komplikacija. Posebna patofiziološka karakteristika je imunološka disregulacija, koja je usko povezana sa aktivacijom inflamacije. Kao što je već napomenuto, duboka disregulacija imunološkog sistema, kao u HIV infekciji ili kod pacijenata koji su bili podvrgnuti solidnoj transplantaciji organa, čini jedan od najvećih rizika za razvoj NHL. Manje izražena imunološka disregulacija, u vidu autoimunih bolesti i subkliničkih imunodeficijencija, takođe je povezana sa povišenim rizikom za razvoj NHL (39–42). Poznato je da prisustvo hronične inflamacije može doprineti razvoju maligniteta (43,44). Aktivacija B-limfocita zahteva da se ove ćelije podvrgnu različitim procesima modifikacije dezoksiribonukleinske kiseline (DNK): somatske hipermutacije, rekombinacije gena za teški lanac imunoglobulina. Greške tokom ovih procesa mogu rezultirati molekularnim lezijama u genetičkom materijalu (onkogene mutacije, hromozomske translokacije), a navedeno može dovesti do razvoja B-ćelijskih neoplazmi (45–47). Slično B-ćelijama, kod T-ćelija takođe dolazi do rekombinacije gena za T-ćelijski receptor ali ne podležu somatskim hipermutacijama niti *class-switch* rekombinacijama (42). S obzirom na navedeno, u većem broju studija su ispitivani mehanizmi i potencijalni solubilni markeri inflamacije koji mogu imati učešća u limfomagenezi. Značajan doprinos na ovu temu su dali *Makgoeng* i sar. (48) sa meta-analizom studija koje su ispitivale markere inflamacije i aktivacije imunološkog sistema kod NHL.

Interleukin 6 (IL-6), koji predstavlja pluripotentni citokin koji može stimulisati B-ćelijsku proliferaciju i diferencijaciju, podstiče ćelijsko preživljavanje kako zdravih tako i malignih ćelija (49). Pored uticaja i uloge u adaptivnom imunitetu, IL-6 ima bitnu funkciju u modulaciji urođenog imuniteta, pre svega preko regulacije hemokina koji aktiviraju neutrofile i apoptoze neutrofila od strane IL-6 (50). IL-6 je povezan sa Th17 imunološkim odgovorom, koji je povezan sa razvojem NHL (48).

Interleukin-10 (IL-10) ima stimulatívni efekat na B-ćelije i postoje indicije da podstiče

limfomagenezu (51–53). Ovaj nalaz je takođe naveden u prethodno pomenutoj meta-analizi (48).

Faktor nekroze tumora α (*Tumor necrosis factor – α* , TNF- α) predstavlja potentni proinflamatorni citokin koji indukuje B-ćelijsku aktivaciju, rast, diferencijaciju, apoptozu i hemotaksu (54,55). Potencijalni mehanizmi kojima TNF- α doprinosi limfomagenezi su višestruki, odnosno kroz preživljavanje B-ćelija, diferencijaciju i proliferaciju aktivacijom puta nuklearnog transkripcionog faktora κ B (NF- κ B) (51,55). Poseban haplotip TNF- α (AG haplotip) i homozigotni status alela TNF- α -308 povezani su sa razvojem DBKL (56). Nalaz povišenih nivoa TNF- α je uočen i u meta-analizi (48), sa većim nivoom kod pacijenata sa HIV infekcijom.

Hemokin CXCL13 i njegov receptor CXCR5 imaju centralnu ulogu u tranziciji antigen naivnih B-ćelija u i unutar folikula sekundarnih limfoidnih organa. Ovaj *homing* B-ćelija je neophodan za proces prezentacije antigena i aktivacije unutar germinativnog centra, što predstavlja esencijalni element u razvoju i strukturi sekundarnih limfoidnih organa i u diferencijaciji B-ćelija u plazma ćelije (57,58). Utvrđeno je da genetske varijacije u CXCR5 imaju uticaj u limfomagenezi, pre svega kod folikularnog NHL (59). Povećana ekspresija CXCL13/CXCR5 uočena je kod NHL povezanih sa AIDS (*acquired immunodeficiency syndrome*) (60,61).

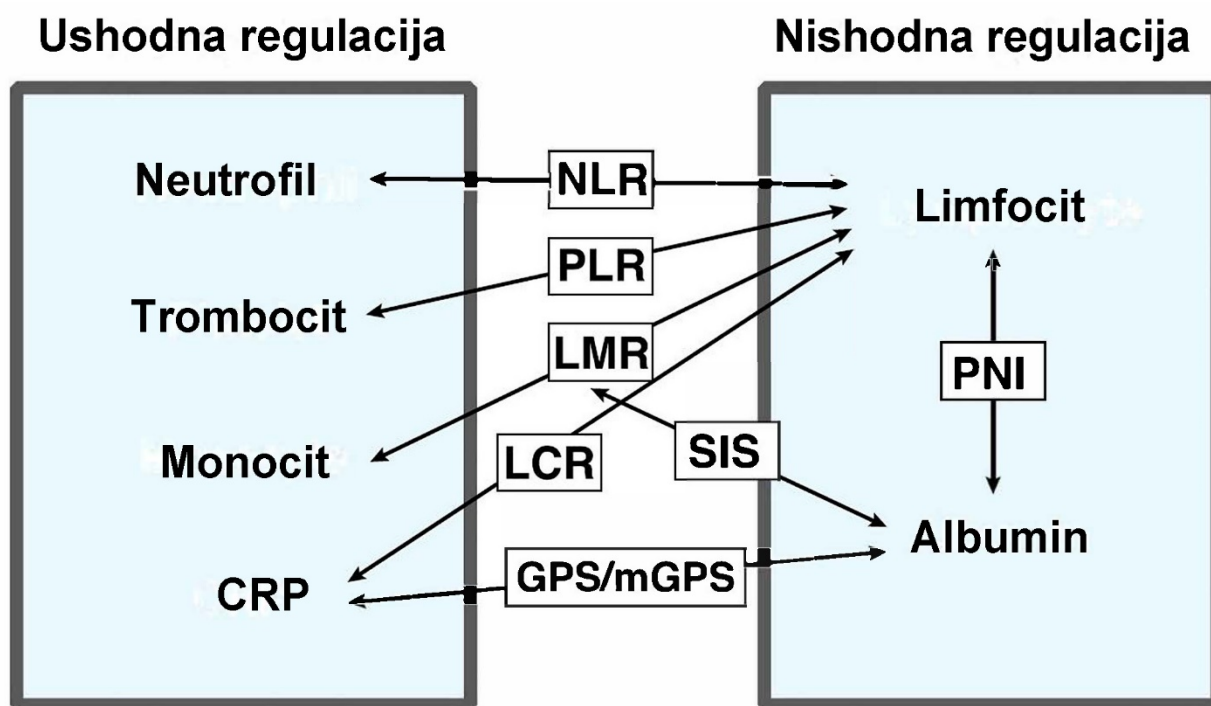
CD23, receptor za Fc IgE, može se proteolitički odvojiti od površine B-ćelija i na taj način nastaje njegov solubilni oblik (sCD23). Kroz stimulatívno dejstvo IL-4, IL-13 i infektivnih agenasa, aktivirane B-ćelije povećavaju ekspresiju i proteolizu CD23, a time se posledično i povećava koncentracija sCD23 u serumu. Serumski sCD23 dalje utiče na stimulaciju B-ćelija, što potencijalno dovodi do aberantne rekombinacije, odnosno limfomageneze (62,63). U meta-analizi *Makgoeng* i sar. (48) utvrdili su povišene nivoe sCD23, te zaključili da sCD23 može biti biomarker za razvoj NHL, nezavisno od HIV statusa, pre svega za DBKL i folikularni NHL.

Izuzetno bitna i do danas nedovoljno istražena oblast jeste tumorska mikrosredina (TME) kod limfoma kao izvor inflamatorne disregulacije i inflamatornog potencijala. TME, u sekundarnim limfoidnim organima ili u koštanoj srži, predstavlja vrlo kompleksan ćelijski kompartment koji uključuje nehematopoetske stromalne ćelije, ekstracelularni matriks (ECM), limfocite i subpopulacije mijeloidnih ćelija (64). Tokom tumorigeneze, normalna stroma održava premaligne ćelije pod kontrolom, ali promene u mikrosredini u pravcu inflamatornog miljea, dovode do remodelovanja tkiva i progresije tumora (65). Dinamična komunikacija i odnos između limfomskih ćelija i TME aktivno oblikuje ćelijsku nišu koja podržava tumor, kombinujući mehanizme za izbegavanje imuniteta, preživljavanja i obezbeđivanja faktora rasta ćelijama limfoma (64). U skorije vreme, TME se smatra bitnim faktorom u patogenezi i progresiji limfoma zbog gore pomenutih uloga, ali takođe i zbog okidača imunološke disregulacije (32). U novijim publikacijama se akcentuje i uloga ECM, kojoj se prethodno nije pridavala veća značajnost. Naime, ECM se strukturalno sastoji od intersticijalnog matriksa, koji se primarno sastoji od stromalnih ćelija i bazalne membrane, uključujući ćelije u endotelu, epitelu i stromalne ćelije. ECM ima centralnu ulogu u održavanju strukturalnog integriteta i regulacije ćelijskog ponašanja u organima (66,67). Densitet i orijentacija ECM može uticati na migraciju imunih ćelija i regulaciju njihove aktivnosti, odgovorni su za inflamaciju povezanu sa tumorom (*tumor-associated inflammation*) i regulišu trodimenzionalnu tumorsku arhitektoniku, što utiče na tumorsku progresiju (67,68). U ekstenzivnom radu autora *Kotlov* i sar. (69), koji su se bavili TME kod pacijenata sa DBKL, najpre su precizirali pojam limfomskog mikrooruzenja (*lymphoma microenvironment*, LME). Potom su, koristeći funkcionalne potpise

genske ekspresije (*Functional Gene Expression Signatures*, F^{GES}), LME podelili na 4 glavna klastera: *GC-like*, mezenhimalni, inflamatorni (IN-LME) i deplecirani. Rezultati su pokazali da se kod pacijenata sa DBKL kod kojih je preovladavao IN-LME postizao lošiji terapijski odgovor na konvencionalnu terapiju. Dodatno, kod IN-LME bilo je veće prisustvo prolimfomskih citokina (IL-10, TNF- α).

1.2.1. BIOMARKERI INFLAMACIJE

Klasični indikatori nivoa inflamacije su broj leukocita i standardizovani reaktanti akutne faze: C-reaktivni protein (CRP), brzina sedimentacije eritrocita (ESR) i fibrinogen. Međutim, danas postoji značajan broj novih markera koji su bazirani na osnovnim markerima inflamacije. Specifičnost novih markera povezanih sa inflamacijom jeste da kombinuju više prostih parametara inflamacije, na taj način se dobija reprezentativnija informativnost, uvodeći odnos prostih parametara kao poseban, izvedeni indikator (Slika 1.). Markeri povezani sa inflamacijom se mogu svrstati prema osnovnom parametru na koji se dominantno oslanjaju (npr. *neutrophil-related markers*, *platelet-related markers*, *monocyte-related markers*, *albumin-related markers*, *CRP-related markers*). Odnos neutrofila i limfocita (*neutrophil-to-lymphocyte ratio*, NLR) i odnos trombocita i limfocita (*platelet-to-lymphocyte ratio*, PLR) su noviji biomarkeri sistemske inflamacije (70). NLR i PLR su pokazali prognostički značaj za ispitivane ishode u različitim poljima medicine (71–80), kako u nemalignim, tako i u malignim oboljenjima. Pored toga, njihova potencijalna moć predikcije venskog tromboembolizma (VTE) kod pacijenata sa malignitetom koji primaju hemioterapiju, potvrđena je u nekoliko novijih istraživanja (81–83), stavljajući akcenat na sistemska inflamaciju povezanu sa tumorom kao indikatora tumorske progresije. Međutim, pouzdanost i prediktivne performanse ovih parametara u detekciji VTE kod pacijenata sa limfomom do sada nisu ispitivane.



Slika 1. – Pregled markera povezanih sa inflamacijom (*inflammation-related markers*). Serumski parametri inflamacije se mogu podeliti u dve grupe: oni koji podležu ushodnoj regulaciji i oni koji podležu nishodnoj regulaciji. Kombinacija dva parametra se može koristiti kao marker povezan sa

inflamacijom (preuzeto i adaptirano iz *Yamamoto* i sar. (84))

Legenda: CRP, C-reaktivni protein; NLR, odnos neutrofila i limfocita (*neutrophil-to-lymphocyte ratio*); PLR, odnos trombocita i limfocita (*platelet-to-lymphocyte ratio*); LMR, odnos limfocita i monocita (*lymphocyte-monocyte ratio*); LCR, odnos limfocita i C-reaktivnog proteina (*lymphocyte-to-C-reactive protein ratio*); SIS, skor sistemske inflamacije (*systemic inflammation score*); GPS, Glazgov prognostički skor (*Glasgow prognostic score*), mGPS, modifikovani Glazgov prognostički skor (*modified Glasgow Prognostic Score*)

1.3. TROMBOZA POVEZANA ZA TUMOROM (*CANCER-ASSOCIATED THROMBOSIS*)

Tromboza povezana sa tumorom (*cancer-associated thrombosis*, CAT) predstavlja značajnu komplikaciju lečenja bolesnika sa malignitetom, a ujedno je i glavni uzrok nekancerske smrtnosti kod pacijenata sa malignitetom koji ambulantno primaju sistemska terapija (85). Maligniteti su povezani sa povećanom incidencijom VTE (od 4% do 20%) i arterijskih tromboza (od 2% do 5%) (86). VTE je više istraživani i proučavan od arterijske tromboze, pri čemu pacijenti sa malignitetom imaju 4-7 puta veći rizik za razvoj VTE u poređenju sa opštom populacijom, uglavnom koncentrisanom u prvih nekoliko meseci nakon postavljanja dijagnoze tumora. Više od polovine smrtnih ishoda uzrokovanih plućnom embolijom (PE) su potencijalno preventabilni, kroz primenu odgovarajuće tromboprolifakse. Međutim, neophodno je balansirati s obzirom na povećani rizik za krvarenje kod pacijenata sa malignitetom koji primaju antikoagulantnu terapiju (87). Takođe, VTE je i signifikantan javnozdravstveni problem, s obzirom na finansijsko i vremensko opterećenje koje se generiše dijagnostičkim i terapijskim procedurama povezanim sa ovom komplikacijom (88). Učestalost VTE zavisi od tipa tumora (89,90). Tumori se uslovno mogu podeliti u 3 grupe prema riziku za razvoj VTE: visokog rizika (pankreatični, ovarijalni, tumori mozga, želuca, ginekološki i hematološki tumori), intermedijarnog rizika (kolon i pluća) i niskog rizika (tumor dojke i tumor prostate) (91–94). Relativni rizik za razvoj VTE kod pacijenata sa različitim malignitetima je prikazan u Tabeli 2. Ovaj podatak vodi ka zaključku da su u proces razvoja VTE uključeni brojni patofiziološki mehanizmi i da verovatno zavise od tipa tumora, ali i od brojnih drugih faktora vezanih i za individuu.

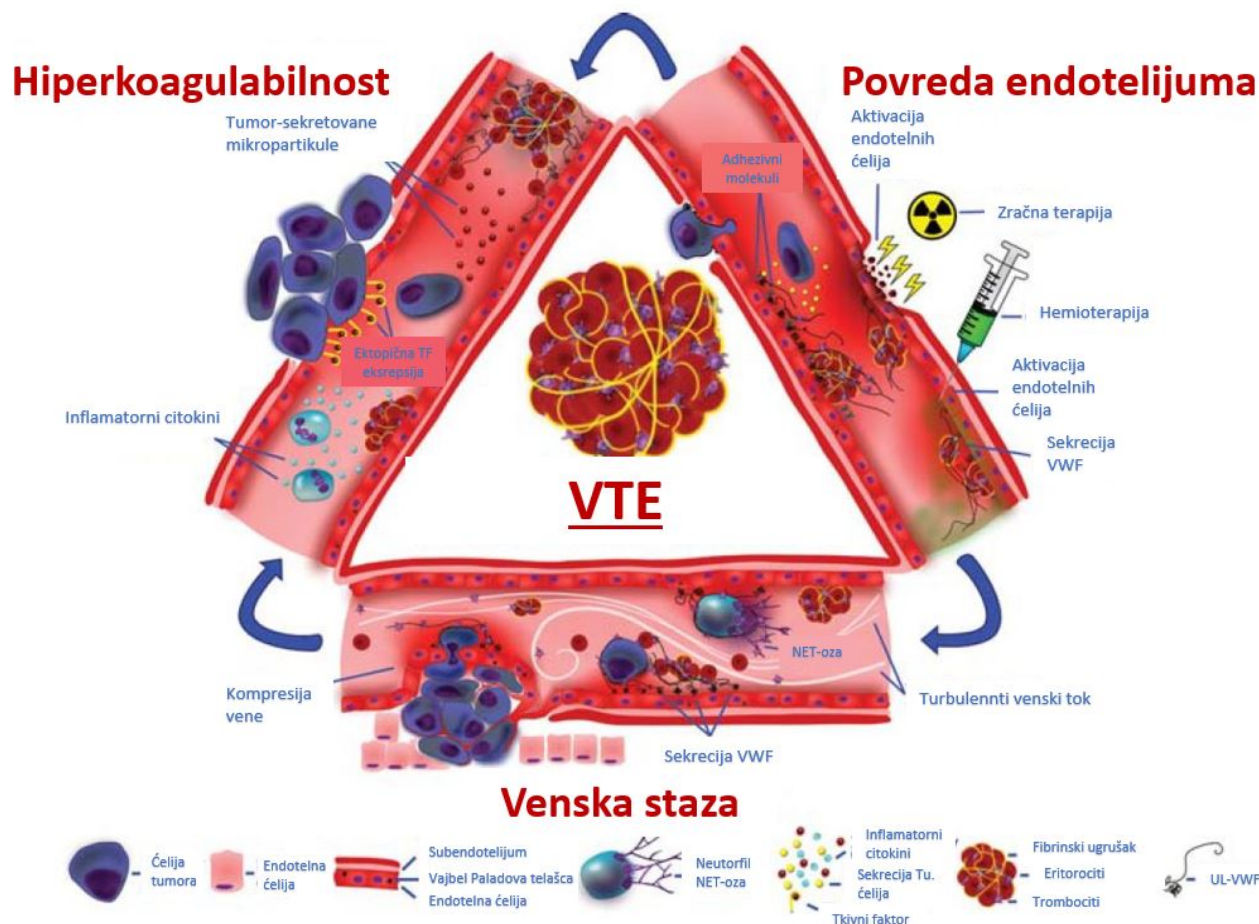
Tabela 2. – Relativni rizik dijagnoze VTE kod hospitalizovanih pacijenata sa malignitetom (preuzeto i adaptirano iz *Fernandes* i sar. (95) i *Blom* i sar. (96))

| Maligniteti | Odnos šansi (<i>Odds ratio</i>) |
|--|--|
| Hematološki | 26,2 |
| Pluća | 24,8 |
| Gastrointestinalni (kolon, pankreas, želudac, jednjak) | 18,9 |
| Mozak | 8 |
| Bubreg | 5,8 |
| Koža (melanom, skvamocelularni karcinom) | 3,6 |
| Dojka | 3,5 |

| | |
|------------------|-----|
| Prostata | 3,4 |
| Uterus (cerviks) | 3,3 |
| Ovarijum | 2,3 |
| Uho, nos, grlo | 1,5 |
| Ostali | 6,6 |

1.3.1. PATOFIZIOLOGIJA CAT

Istorijski gledano, prve naznake povezanosti između tumora i nastanka tromboze datiraju još iz 1823. godine, kada je *Jean Baptiste Bouillaud* prvi publikovao ovu pretpostavku (97,98). Potom je *Armand Trousseau* 1865. godine uspostavio povezanost između migratornog tromboflebitisa i visceralnog maligniteta (99). Interesantna je činjenica da je Truso sam sebi postavio dijagnozu, da bi od iste i preminuo 1867. godine. Do danas su mnoge studije potvrdile vezu između tumora i VTE. Patogeneza CAT je multifaktorijska i kompleksna. Poremećaji u svim aspektima Virhovljeve trijade mogu doprinijeti nastanku tromboze. Hiperkoagulabilnost može biti indukovana aberantnom ekspresijom tkivnog faktora (TF) direktno na tumorske ćelije ili na ekstracelularne vezikule (EV) porekla tumora. Tumorom indukovana inflamacija i proinflamatorni citokini porekla tumora također mogu doprinijeti aktivaciji koagulacije, depoziciji fibrina i formiranju tromba. Specifična antikancerska terapija, uključujući zračenje i hemioterapiju, indukuje oštećenje endotela i njegovu aktivaciju, što rezultira oslobađanjem multimeričkog von Willebrandovog faktora (vWF), što indukuje agregaciju trombocita. Tumorska masa može direktno doprinijeti venskoj stazi kroz fizičku kompresiju na venu, povećavajući turbulentni venski tok koji trigeruje aktivaciju koagulacije. Promene u naponu smicanja (*shear stress*) također mogu trigerovati aktivaciju ćelija imunološkog sistema, dodatno stvarajući prokoagulantnu sredinu (Grafikon 2) (100).



Grafikon 2. – Patofiziologija CAT (preuzeto i adaptirano iz *Dhami* i sar. (100))

Legenda: VTE, venski tromboembolizam, NET, neutrofilne ekstracelularne zamke (*neutrophil extracellular traps*); TF, tkivni faktor; VWF, fon Vilebrandov faktor; UL-VWF, ultra-veliki fon Vilebrandov faktor

U glavne mehanizme CAT spadaju ekspresija hemostatskih proteina od strane kancerskih ćelija, produkcija EV, produkcija inflamatornih citokina (TNF- α , IL-1 β , itd.) i proangiogenih faktora (vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF), bazični fibroblastni faktor rasta (bFGF)) od strane tumorskih ćelija i/ili ćelija domaćina, uz ekspresiju adhezionih molekula koji se vežu za trombocite, endotelne ćelije i leukocite. Svi pomenuti mehanizmi takođe doprinose tumorskoj progresiji (101,102).

Među prokoagulantnim materijama koje vode poreklo od kancerskih ćelija, najviše je dokumentovana uloga TF. Hematološki maligniteti, slično značajnom broju solidnih tumora (maligniteti pankreasa, dojke, ovarijuma, mozga, pluća), ekspimiraju povišene vrednosti TF (91,103–106). TF ima krucijalnu ulogu u CAT na način da direktno aktivira faktor VII, stvarajući kompleks TF-FVIIa. Taj kompleks indukuje aktivaciju FX u FXa, koji onda dovodi do generisanja trombina, i simultano stimuliše i amplifikuje koagulacionu kaskadu. Amplifikacija koagulacione kaskade dalje promoviše aktivaciju trombocita, a svi pomenuti procesi finalno rezultiraju formiranjem tromba (107). Takođe, TF indukuje ekspresiju VEGF od strane malignih ćelija i zdravih ćelija domaćinovog vaskularnog sistema. Na taj način reguliše tumorsku neo-vaskularizaciju i stvara konekciju između koagulacije, inflamacije, tromboze, tumorskog rasta i metastaza (102,108).

Povećana ekspresija TF korelira sa lošijim terapijskim ishodom lečenja, a takođe je uočena povezanost između ekspresije TF i razvoja metastatske bolesti (100,109). TF je ekspimiran i na EV porekla tumorskih ćelija o čemu će detaljno biti reči u posebnom poglavlju.

Tumorske ćelije mogu direktno indukovati aktivaciju i agregaciju trombocita putem direktnih i indirektnih mehanizama, poput sekrecije agonista agregacije trombocita (adenozin difosfat (ADP), trombin), ekspresije trombocitnih liganada na kancerskim ćelijama (podoplanin i CD40) (106,110). S obzirom na navedeno, skovan je poseban termin *tumor-cell induced platelet aggregation* (TCIPA) (110). Dodatno, TCIPA korelira sa povišenim metastatskim potencijalom (110,111).

Kancerski prokoagulant (*cancer procoagulant*, CP) je cistein proteinaza, koja može direktno aktivirati FX, nezavisno od FVII, a potom aktivirani FX stvara trombin i amplifikuje koagulacionu kaskadu (98,112,113). CP je ekspimiran u embrionskim tkivima i u mnogim malignim ćelijama, ali nije prisutan kod normalnih, diferentovanih ćelija, te je prisustvo CP korišćeno kao marker diferencijacije između zdravih i malignih ćelija (114).

Prisustvo i potencijalna uloga EV u razvoju CAT je danas vrlo aktuelna tema. S obzirom na značajnost teme za celokupan rad, njima je posvećeno posebno poglavlje u uvodnom delu disertacije (u nastavku).

Inhibitor aktivatora plazminogena-1 (PAI-1), sekretovan od strane kancerskih ćelija, inhibiše fibrinolitički sistem te promoviše fibrinogenezu, što ima za posledicu povećavan rizik za razvoj tromboze (87,91,98,101,102,106). Novije publikacije sugerišu da PAI-1 nije samo konsekvencija već i da signifikantno doprinosi inflamaciji povezanoj sa tumorom: stimuliše produkciju IL-8 i leukotrijena B4, stimuliše migraciju inflamatornih ćelija (115).

Postoji nekoliko mehanizama putem kojih kancerske ćelije aktiviraju prokoagulantni potencijal normalnih ćelija domaćina: 1) sekrecija solubilnih medijatora, uključujući inflamatorne citokine (TNF- α , IL-1 β), proangiogenih agenasa i stimulatora rasta (VEGF, itd.), agonista agregacije trombocita (ADP i trombin); 2) ekspresija površinskih adhezivnih molekula i/ili liganda, koji posledično vrše adheziju drugih ćelija iz cirkulacije i adheziju za endotel krvnog suda (101,102).

Hematološki fenomeni koji se neretko sreću kod pacijenata sa malignim bolestima su leukocitoza i trombocitoza, a prema dostupnim podacima, iste se smatraju dodatnim faktorima koji mogu doprineti razvoju CAT (91,116). Ipak se posebno akcentuju trombociti, odnosno procesi aktivacije i agregacije trombocita, čiji se potencijal višestruko povećava pod uticajem maligne bolesti (101). U nedavnim publikacijama ističe se sposobnost ćelija tumora da sekretuju faktore koji aktiviraju trombocite: ADP, tromboksan A2 (TxA2) i CD40L, što dalje vodi ka agregaciji trombocita (87,102,117,118).

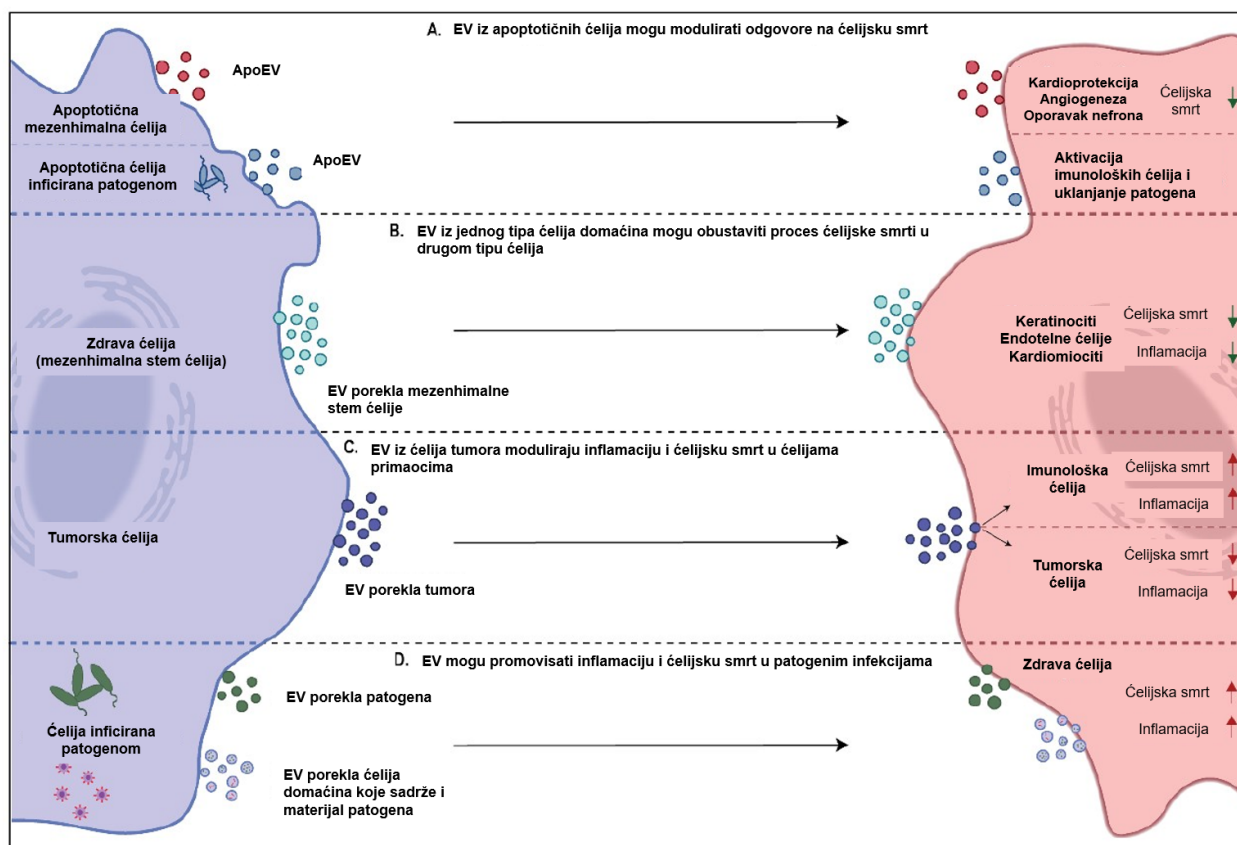
Specifična sposobnost aktiviranih neutrofila jeste formiranje neutrofilnih ekstracelularnih zamki (*neutrophil extracellular traps*, NET), koje se sastoje od DNK, histona, i proteina iz neutrofilnih granula (87), a istraživanja su pokazala da neutrofilni i NET formacije mogu imati značajnu ulogu u razvoju CAT (119). Stimulacija neutrofila od strane različitih agenasa i medijatora, poput aktiviranih endotelnih ćelija, IL-8, TNF- α , granulocitni faktor rasta (G-CSF), može indukovati razvoj NET, u kojeg se poput mreže hvataju trombociti, eritrociti i drugi prokoagulantni faktori. Sastavni deo NET su histoni, koji aktiviraju trombocite preko Tolu-sličnih receptora (*Toll-like*

receptors, TLR). Dodatno, histoni potiču oslobađanje vWF iz endotelnih ćelija, koji dalje omogućava adheziju trombocita i povećava rizik od razvoja tromboze (87,102,118). Trombocitni TLR4 može otpočeti formiranje NET u aktiviranim neutrofilima, dok aktivirani trombocitni P-selektin može aktivirati neutrofile kroz P-selektin glikoprotein ligand-1 (PSGL-1) i trigerovati formiranje NET (110,120,121).

Tema i uloga kojoj se kroz vreme posvećuje sve više pažnje jeste komplikovana interakcija inflamacije i CAT. Kao što je prethodno detaljno obrazloženo, inflamacija ima značajnu ulogu i u kancerogenezi, ali i u propagaciji maligne bolesti. Kod većeg broja stanja povezanih sa inflamacijom primećena je povišena incidencija razvoja trombotičkih komplikacija, te je skovan i termin „inflamacijom indukovana tromboza“ (122), a inflamacija je prepoznata kao signifikantna komponenta biologije malignih bolesti (123,124). Disregulacija hemostaze i inflamacije kod pacijenata sa limfomom može imati ulogu u razvoju VTE (102,125).

1.4. EKSTRACELULARNE VEZIKULE

Međunarodno društvo za ekstracelularne vezikule (*International Society for Extracellular Vesicles*, ISEV), u poslednjem ažuriranju svojih preporuka vezanih za nomenklaturu i standardizaciju EV (*Minimal information for studies of extracellular vesicle*, MISSEV), definišu EV (takođe poznate kao mikropartikule, mikrovezikule, egzozomi) kao generički termin za formacije koje se prirodno oslobađaju iz ćelije i koje su ograničene lipidnim dvoslojem i koje se ne mogu replicirati (tj. ne sadrže funkcionalno jedro) (126). Polje EV je dosta opterećeno raznolikom i nestandardizovanom nomenklaturom, te su preporuke ISEV iz 2014. i 2018. godine imale za cilj da standardizuju kako laboratorijske procedure vezane za izolaciju, kvantifikaciju i karakterizaciju EV, tako i terminologiju koja se koristi u ovom vrlo dinamičnom naučnom polju. EV su prvi put detektovane u diferencijaciji retikulocita pre više od tri decenije, i tada se smatralo da su EV deo sistema ćelije za odlaganje otpada (127,128). Međutim, opsežna ispitivanja u poslednje dve decenije bila su ključna za promenu paradigme u pravcu sofisticirane uloge EV u brojnim fiziološkim i patološkim procesima, gde se EV otpuštaju od strane različitih ćelija: trombocita, eritrocita, limfocita, dendritičnih ćelija, endotelnih ćelija, tumorskih ćelija (129,130). Generalno, EV se sastoje od širokog spektra različitih vezikula veličine od 30 do 1000 nm, koje mogu imati vrlo raznovrstan sadržaj. Do sada publikovani podaci ukazuju da EV imaju ključnu ulogu u inter-ćelijskoj komunikaciji, naravno pored sekrecije malih molekula (sekretoma) i direktnog ćelijskog kontakta kao vidova inter-ćelijske komunikacije (131). EV imaju kompleksnu ulogu u regulaciji ćelijske smrti (promociji i atenuaciji) i regulaciji inflamacije, u fiziološkim i patološkim stanjima (Grafikon 3).



Grafikon 3. – Uloge EV u posredovanju ćelijske smrti i inflamacije (preuzeto i adaptirano iz *Sanwlani i sar.* (132))

Legenda: EV, ekstracelularne vezikule; ApoEV, apoptotske ekstracelularne vezikule

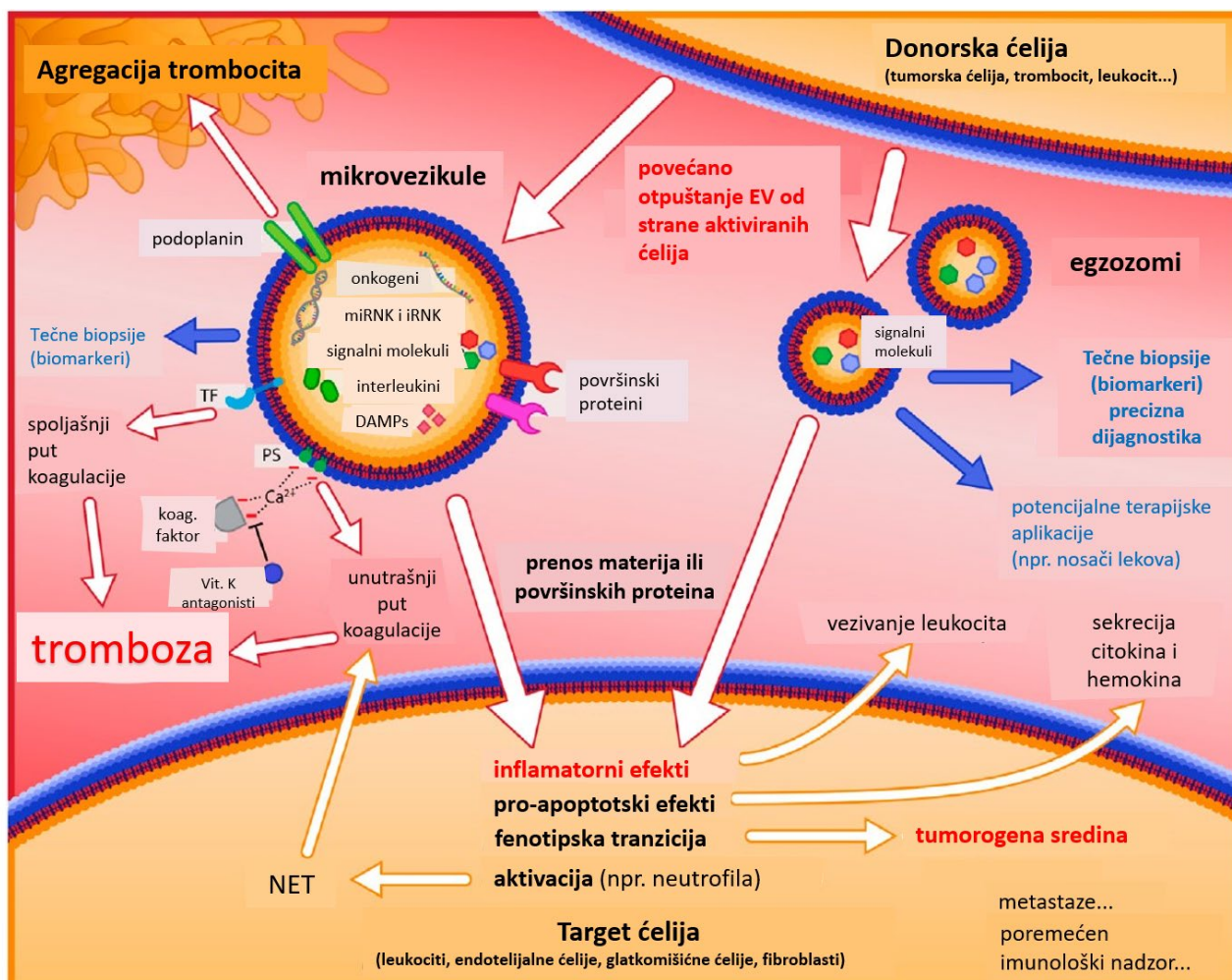
1.4.1. EV I MALIGNITETI

Broj EV je oko dva puta veći u krvi pacijenata sa kancerom (133). Razlog povećanih vrednosti EV kod pacijenata sa malignitetom nije u potpunosti razjašnjen, ali je poznato da su ESCRT (*endosomal sorting complexes required for transport*) geni, kao i drugi lipidi i proteini koji imaju ulogu u formiranju EV, eksprimirani i povišeni kod različitih vrsta tumora (134,135). Pomoću EV tumorske ćelije „transportuju“ različite materije ka ćelijama recipijentima. Ovaj materijal može sadržati materije koje imaju pro-tumorski potencijal, poput faktora rasta ili produkata ekspresije onkogeni, ali i informacionu ribonukleinsku kiselinu (iRNK), i mikro RNK (miRNK) što dalje utiče na ćelularne funkcije target ćelija na transkripcionom i post-transkripcionom nivou. Nadalje, EV mogu uticati i na TME, na način da podstiču dalji rast tumora. Jedan od načina je indukovanje okolnih ćelija TME u transformaciju ka fibroblastima povezanih sa tumorom, koji potom stvaraju adekvatnu nišu za razvoj tumora. EV takođe mogu doprineti angiogenezi i remodelovanju ECM na način da potpomažu razvoj metastatske bolesti (135). Pored pomenutog, EV bi mogle imati ulogu u neinvazivnoj detekciji tumora pomoću tečnih biopsija (*liquid biopsy*) uzoraka krvi, urina ili drugih telesnih tečnosti iz kojih bi se mogla izolovati i kvantifikovati tumorska miRNK ili iRNK (135–137).

1.4.2. EV, CAT I INFLAMACIJA

Uloga EV u CAT ispitivana je u animalnim modelima i kod ljudi. Prokoagulantna aktivnost

EV potiče od njihove negativno naelektrisane plazma membrane, koja služi kao katalitička površina za vitamin K zavisne faktore koagulacije: FII, FVII, FIX, FX. Fosfatidilserin (PS) na EV vezuje faktore koagulacije i povećava katalitičku efikasnost reakcija koagulacije koje su zavisne od fosfolipida, poput kompleksa tenaze i protrombinaze (87). EV mogu biti „nosač“ različitih molekula, od kojih pojedini imaju protrombotički potencijal: TF, inflamatorni molekuli, podoplanin, P-selektin, PSGL-1 (87,138,139). Još jedan prediktor CAT je i povećan broj leukocita, koji se javlja kod pojedinih maligniteta (140). Stvaranjem NET, neutrofilni imaju važnu ulogu u trombogenezu i CAT (135,141). Pored toga, EV su povezane sa stanjima kako akutne tako i hronične inflamacije. Nedavno EV su zadobile pažnju kao medijatori i biomarkeri inflamacije (132). Procesi i mehanizmi razvoja CAT i inflamacije na terenu maligne bolesti, su vrlo kompleksni i delomično se preklapaju (Grafikon 4).



Grafikon 4. – Glavne funkcije EV u inflamaciji, tumoru i trombozi (preuzeto i adaptirano iz Beck i sar. (135))

Legenda: EV, ekstracelularne vezikule; TF, tkivni faktor; NET, neutrofilne ekstracelularne zamke; miRNK, mikro ribonukleinska kiselina; iRNK, informaciona ribonukleinska kiselina; DAMPs, molekularni obrazac povezan sa oštećenjem (*damage-associated molecular pattern*); PS, fosfatidilserin

1.5. VTE KOD PACIJENATA SA LIMFOMOM

1.5.1. EPIDEMIOLOGIJA VTE KOD PACIJENATA SA LIMFOMOM

Kao što je prethodno istaknuto, limfomi se odlikuju izraženom heterogenošću, što se reflektuje i na varijabilnost podataka o učestalosti VTE kod pacijenata sa limfomom. U literaturi se navodi da se stopa VTE kreće od 1,5% do čak 59,5%, sa najvećom incidencijom kod bolesnika sa primarnim limfomom centralnog nervnog sistema (PCNSL) (142–144), a na drugom mestu učestalosti VTE je primarni medijastinalni B-ćelijski limfom (PMBCL) (142,145,146). Velika meta-analiza pacijenata sa limfomom i trombotičkim komplikacijama (147), koja je obuhvatila nešto preko 18 hiljada bolesnika sa limfomom, publikovala je ukupnu incidenciju trombotičkih komplikacija od 6,4% (VTE i arterijske tromboze), sa značajno većom stopom tromboza kod NHL, u poređenju sa HL (6,5% vs. 4,7%). Što se tiče HL, studija Nemačke studijske grupe za Hočkinov limfom (GHSG) pokazala je stopu trombotičkih komplikacija od 3,3% (148). S obzirom na značajnost teme, niz autora potvrđuje visoku incidenciju VTE kod bolesnika sa limfomom: *Zhou i sar.* (149) – 17,1%, *Yokoyama i sar.* (146) – 11%, *Yildiz i sar.* (150) – 9,2%, *Mohren i sar.* (151) – 7,7%, *Rupa-Matysek i sar.* (152) – 21,2%, *Hohaus i sar.* (153) – 11,1%. Karakteristika koja je prisutna u većini publikacija jeste signifikantno veća incidencija VTE kod pacijenata sa agresivnim limfomima u odnosu na pacijente sa indolentnim limfomima (102,151,154,155).

1.5.2. FAKTORI RIZIKA I MODELI ZA PROCENU RIZIKA ZA RAZVOJ VTE KOD PACIJENATA SA LIMFOMOM

Identifikacija faktora rizika za razvoj VTE kod bolesnika sa malignitetima je proces od izuzetne značajnosti, pre svega zbog uticaja ovih komplikacija na morbiditet i mortalitet kod ove vulnerabilne grupe pacijenata, ali i zbog formiranja strategija za prevenciju ovih komplikacija. Međutim, heterogenost malignih oboljenja dodatno komplikuje ovaj zadatak, tako što se spektar potencijalnih faktora rizika amplifikuje.

Faktori rizika za razvoj VTE se mogu podeliti u tri grupe: prva grupa - faktori u vezi sa malignitetom, druga grupa - faktori povezani sa lečenjem, treća grupa - faktori povezani sa bolesnikom (104,142,156). *Antić i sar.* (157) su se fokusirali na VTE kod pacijenata sa limfomom, te su modifikovali klasifikaciju faktora rizika (Tabela 3).

Tabela 3. – Faktori rizika za razvoj VTE kod pacijenata sa limfomom (preuzeto i adaptirano iz *Antić i sar.* (157) i *Khorana i sar.* (156))

| Faktori povezani sa pacijentom | Faktori povezani sa limfomom | Faktori povezani sa lečenjem |
|--------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Godine starosti | Histološki tip limfoma | Hemioterapija |
| Rasa | Lokalizacija | Hirurgija |
| Pol | Klinički stadijum | Primena suportivne terapije |
| Trudnoća | | Prisustvo centralnog venskog |

| | |
|--------------------|--------------------|
| | katetera |
| Komorbiditeti | Hospitalizacija |
| Performans status | Hormonska terapija |
| Trombofilije | Transfuzije |
| Gojaznost | |
| Prethodne tromboze | |

Prethodni trombotički događaji predstavljaju značajan faktor rizika za razvoj VTE. Ova činjenica posebno dobija na značaju u grupi bolesnika obolelih od maligniteta. Naime, bolesnici sa malignitetom sa podatkom o prethodnom VTE događaju imaju 6-7 puta veći rizik za razvoj VTE u poređenju sa pacijentima sa malignitetom koji prethodno nisu imali VTE (158). Gojaznost je faktor rizika i prediktor razvoja VTE (156,159), a potencijalni faktor rizika je i upotreba hormonske terapije (160). S obzirom na povezanost prisustva lupus antikoagulansa (LA) i razvoja tromboza, pacijenti sa LA zahtevaju posebnu pažnju (157,161,162). Tačnije, LA predstavlja veći faktor rizika za rekurentnu VTE, a slabiji faktor rizika za primarnu trombozu (163). Unutar NHL, prisustvo LA se najviše sreće kod spleničnog limfoma marginalne zone (SMZL) (102,164,165).

Khorana i sar. (166) su pioniri u razvoju modela (skora) za procenu rizika (*risk assessment model*, RAM) razvoja VTE kod nehospitalizovanih pacijenata koji primaju hemioterapiju. *Khorana* skor (KS) je sastavljen od pet varijabli: mesto tumora (2 boda za vrlo visoko rizična mesta, 1 bod za visoko rizična mesta), broj trombocita $\geq 350 \times 10^9/L$ (1 bod), hemoglobin ≤ 100 g/L (1 bod), broj leukocita $\geq 11 \times 10^9/L$ (1 bod) i indeks telesne mase (BMI) ≥ 35 kg/m² (1 bod). Na osnovu zbira bodova, izvršena je stratifikacija u tri grupe rizika za razvoj VTE: nizak (zbir 0), srednji (zbir 1-2) i visok (zbir ≥ 3). Iako su se performanse KS pokazale kao uslovno zadovoljavajuće za identifikaciju visoko rizičnih pacijenata sa kancerom, lečenih ambulantno, koji bi imali benefit od tromboprolifakse (101,167), skor se nije pokazao u potpunosti zadovoljavajućim kod grupe pacijenata obolelih od limfoma (168). Takođe, kao što je naglašeno ranije, pojedini podtipovi NHL (PNCSL, DBKL, PMBCL) imaju značajno veću učestalost trombotičkih komplikacija u odnosu na indolentne limfome (143,145). Dodatna mana KS je niska senzitivnost ogledana u činjenici da se većina VTE događaja kod pacijenata sa malignitetom zapravo događa izvan grupe visokog rizika (KS >3) (169). Zbog svega navedenog, u poslednje vreme se opservira pomak ka bolest-specifičnim (*disease-specific*) RAM. Naime, ovi skorovi su se, za određena oboljenja, pokazali kao precizniji jer su dizajnirani na način da uključuju varijable karakteristične za datu bolest. Tim pristupom se poznati faktori rizika adekvatnije reflektuju u RAM. Primer za RAM kod pacijenata sa limfomom je ThroLy skor (170). Varijable koje čine skor su: prethodni venski i/ili arterijski događaji, zahvatanje medijastinuma, BMI >30 kg/m², redukovana pokretljivost, ektranodalna lokalizacija, razvoj neutropenije i nivo hemoglobina <100 g/L (Tabela 4) (102).

Tabela 4. – ThroLy skor (preuzeto i adaptirano iz Antić i sar. (170))

| Karakteristike pacijenta | Skor |
|--|------|
| Prethodni VTE/AMI/CVI | 2 |
| Gojaznost (BMI >30 kg/m ²) | 2 |
| Zahvaćenost medijastinuma | 2 |
| Ekstranodalna lokalizacija | 1 |
| Redukovana pokretljivost (ECOG PS 2-4) | 1 |
| Neutrofili <1 x10 ⁹ /L | 1 |
| Nivo hemoglobina <100 g/L | 1 |
| U riziku | >1 |
| U visokom riziku | ≥4 |

Legenda: VTE, venski tromboembolizam; AMI, akutni infarkt miokarda; CVI, cerebrovaskularni insult; BMI, indeks telesne mase; ECOG PS, *Eastern Cooperative Oncology Group performance status*

U navedeni skor su uključene određene tipične karakteristike limfoma (ekstranodalna lokalizacija, zahvatanje medijastinuma, itd.), a njegova prednost u odnosu na KS je mogućnost korišćenja i kod ambulantnih i hospitalizovanih pacijenata (170). Eksterna multicentrična validacija ThroLy skora dovela je do njegove manje modifikacije, tako da revidirani skor uključuje sledeće varijable: dijagnoza/klinički stadijum, prethodna VTE, redukovana pokretljivost, nivo hemoglobina <100 g/L i prisustvo centralnog venskog katetera. Potom je učinjena i restratifikacija rizika, i to na nizak rizik (skor ≤2) i visok rizik (skor >2) (102,171). Na ovaj način su poboljšane prediktivne performanse skora. Usledile su dalje analize efikasnosti ThroLy skora, koje su većinom potvrđivale njegovu prediktivnu sposobnost (172–174) ali postoje i publikacije sa nezadovoljavajućim prediktivnim performansama skora (175).

Pored ThroLy skora, u domenu limfoma postoje dva skorija modela za procenu rizika razvoja VTE. U proces formiranja modela *Dharmavaram* i sar. (176) uključeno je 790 pacijenata (DBKL=542, folikularni limfom=248). Izabrani model je uključivao sledeće varijable iz multivarijantne analize: podtip limfoma (folikularni NHL naspram DBKL), albumin, broj leukocita veći od 11 x10⁹/L i „bulky“ tumorska masa (veća od 10 cm). Pacijenti su podeljeni na visoko- i niskorizične, pri čemu su visokorizični pacijenti imali značajno veći rizik za razvoj VTE (p<0,001), sa c-statistikom za 2 godine od 0,79.

Dostupan je drugi model koji uključuje tip limfoma, TiC-LYMPHO skor (174). Model uključuje sledeće varijable: medijastinalna tumorska masa, *Ann Arbor* stadijum bolesti, skor genetskog rizika (rezultat koji uključuje četiri genetske varijante: rs6025, rs4524, 3 rs5985 i

SERPINA10 rs2232698), imobilizacija najmanje 3 dana, tip limfoma i prethodna VTE. U okviru derivacione kohorte, model je imao c-statistiku od 0,78. Oba navedena modela, *Dharmavaram* i sar. i TiC-LYMPHO, zahtevaju eksternu validaciju koja još uvek nije sprovedena.

2. CILJEVI

1. Ispitivanje povezanosti biomarkera inflamacije i razvoja VTE kod pacijenata sa limfomom koji su lečeni (imuno)hemioterapijom.
2. Ispitivanje povezanosti VTE sa tipom terapijskog lečenja i odgovora na terapiju kod pacijenata sa limfomom.
3. Karakterizacija profila EV kod pacijenata sa DBKL, ispitivanje povezanosti EV sa VTE kod pacijenata sa DBKL, ispitivanje testa ukupnog hemostaznog potencijala (*overall hemostasis potential*, OHP) i povezanosti sa VTE kod pacijenata sa DBKL.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. STUDIJSKA POPULACIJA

Istraživanje je koncipirano iz dva dela. U prvom delu je sprovedena retrospektivna kohortna studija, u koju je uključeno 706 novodijagnostikovanih i relapsirajućih pacijenata sa limfomom (uključujući NHL i HL, isključujući hroničnu limfocitnu leukemiju (HLL) i sve bolesnike sa leukemijskom fazom limfoma) koji su lečeni u Klinici za hematologiju, Univerzitetskog kliničkog centra Srbije. Dijagnoza limfoma postavljena je patohistološkom analizom bioptiranog limfnog čvora i/ili ekstrasnodalnog uzorka tkiva. Vremenski okvir unutar kojeg su regrutovani pacijenti je od januara 2010. do novembra 2019. godine. Pacijenti sa dijagnozom HLL ili dijagnozom drugih tipova limfoma koji su na prezentaciji bili u leukemijskoj fazi, nisu uključeni u istraživanje, s obzirom na uticaj iste na diferencijalnu leukocitarnu formulu (DLF) kod ovih pacijenata i posledičan uticaj na NLR i PLR. Prikupljeni su podaci o svim VTE kod pacijenata sa novodijagnostikovanom limfomom ili relapsom bolesti. Dijagnoza VTE postavljena je objektivno, na osnovu fizikalnog pregleda, laboratorijskih analiza, radioloških dijagnostičkih procedura koje uključuju neke od sledećih: dopler ultrasonografiju, kompjuterizovanu tomografiju sa kontrastom i imidžing magnetnom rezonancom za tromboze krvnih sudova centralnog nervnog sistema (CNS). Svi suspektne slučajeve VTE su detaljno revidirani od strane najmanje dvoje specijalista (interniste i radiologa).

Drugi deo istraživanja predstavlja prospektivnu kohortnu studiju, koja je uključila 62 pacijenta sa dijagnozom DBKL. Ovo istraživanje je sprovedeno u kolaboraciji sa Univerzitetom Karolinska, Služba koagulacije i kliničke hemije, Odeljenje za molekularnu medicinu i hirurgiju, Institut Karolinska i klinička hemija, medicinska dijagnostika Karolinska. Dobijeno je odobrenje Etičkog odbora KCS br. 630/19A od 15.03.2018. za sprovođenje kliničkog ispitivanja prokoagulantnih biomarkera kod pacijenata sa limfoproliferativnim bolestima. Za prospektivni deo istraživanja, regrutovani su pacijenti sa dijagnozom DBKL u periodu od maja 2018. do jula 2019. Kontrolnu grupu činilo je 5 nasumičnih zdravih volontera koji su regrutovani od strane Univerzitetske bolnice Karolinska.

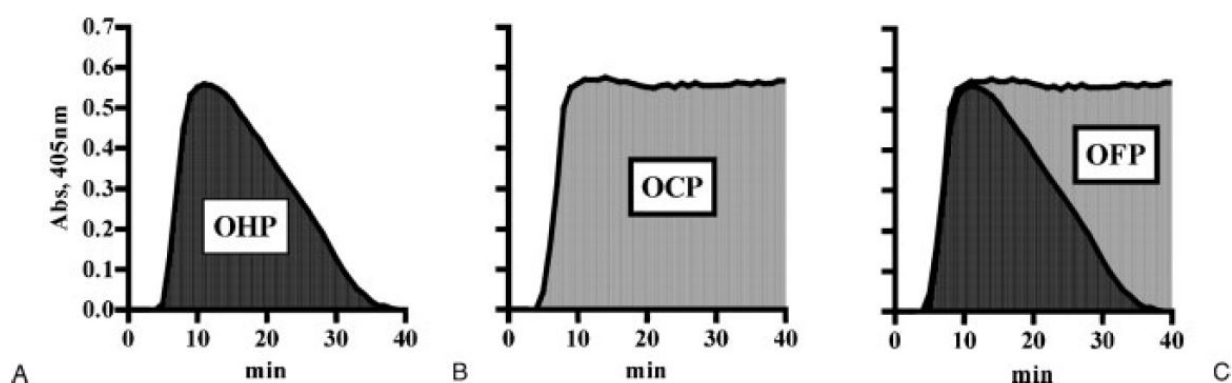
3.2. LABORATORIJSKA ISPITIVANJA

Uzorci krvi pacijenata koji su uključeni u studiju su uzorkovani na standardan način, korišćenjem vakuum sistema, pre početka specifičnog hematološkog lečenja. Uzorci su antikoagulirani sa EDTA, a urađena je mašinska automatizovana kompletna krvna slika sa DLF. NLR i PLR su računati korišćenjem parametara kompletne krvne slike sa DLF. Uzorci seruma su analizirani u Centru za medicinsku biohemiju Univerzitetskog kliničkog centra Srbije. Analizirani su sledeći biohemijski parametri: ESR, CRP (imunoturbidimetrija), laktat dehidrogenaza (LDH) (spektrofotometrija), fibrinogen (koagulometrija), ukupni proteini (TP) (spektrofotometrija), albumin (spektrofotometrija).

Protočna citometrija i OHP su urađene u kolaboraciji sa Univerzitetom Karolinska, Služba koagulacije i kliničke hemije, Odeljenje za molekularnu medicinu i hirurgiju, Institut Karolinska i klinička hemija, medicinska dijagnostika Karolinska. Ispitivanje EV je sprovedeno korišćenjem protočne citometrije. Koncentracija ukupnih EV i njihova karakterizacija određena je protokolom koji je razvio Karolinska institut, Stokholm, Švedska. Korišćen je sledeći panel markera: Annexin V za PS (Thermo Fisher Scientific, Sjedinjene Američke države (SAD)),

CD42b/CD61 za EV porekla trombocita (*platelet-derived extracellular vesicles*, PEV) (BD Biosciences, SAD; Thermo Fisher Scientific, SAD), CD142 za TF (Miltenyi Biotec, Nemačka), CD19 (Beckman Coulter, SAD), CD20 (Bio-Rad, SAD) i CD45 za DBKL/B-ćelijsku populaciju (Miltenyi Biotec, Nemačka), CD62P/CD62E za P-selektin odnosno E-selektin (BD Biosciences, SAD; Miltenyi Biotec, Nemačka) (177–179). Za identifikaciju EV korišćen je specifičan gejting algoritam. Uzorci su obojeni sa Annexin V-FITC (fluorescin izotiocijanat). Megamix-Plus SSC (BioCytex, Marselj, Francuska) korišćen je za merenje veličine EV; uzorci su analizirani na BD FACSCanto™ (BD Biosciences, SAD). EV su definisane kao vezikule veličine $\leq 1,0 \mu\text{m}$ i pozitivne na Annexin V. Podaci protočne citometrije su procenjeni pomoću softvera FlowJo (verzija 10.8.1, BD, Ešland, Oregon, SAD). Za poređenje EV kod pacijenata sa DBKL, formirana je kontrolna grupa od 5 zdravih volontera, kojima je periferna krv uzorkovana u Karolinska institutu, Stokholm, Švedska.

Formiranje i liziranje fibrinskog ugruška su ispitivani putem testa OHP (180–182). Za razliku od drugih testova koji procenjuju generisanje trombina, formiranje ugruška ili degradaciju fibrina, OHP test se može koristiti za procenu ukupne koagulacije i fibrinolize u ispitivanom uzorku. Test je zasnovan na ponovljenim spektrofotometrijskim beleženjima krive agregacije fibrina (tj. apsorbancije (ABS) u funkciji vremena) u plazmi siromašnoj trombocitima (*platelet-poor plasma*, PPP), koja sadrži male količine egzogenog trombina, tkivnog aktivatora plazminogena (tPA) i kalcijum hlorida. Kriva agregacije fibrina predstavlja proces kojim se fibrinogen, prvobitno prisutan u plazmi, postepeno pod dejstvom generisanog trombina pretvara u fibrin, dok aktivacija plazminogena istovremeno proizvodi plazmin koji lizira fibrin. Shodno tome, svaka vrednost ABS označava nivo fibrina u određenom trenutku, a površina ispod krive (*area under curve*, AUC) reflektuje ravnotežu između stvaranja i proteolize fibrina tokom perioda merenja. Dodatak trombina u nižoj dozi (0,04 IU/mL) i trombocitnog reagensa kao izvora PS, sa i bez tPA (330 ng/mL) u PPP, vrednosti ABS se beleže svakog minuta tokom 40 minuta na talasnoj dužini od 405 nm. Formiraju se dve krive agregacije fibrina i izračunavaju se dve AUC: OHP (dodat tPA) i ukupni koagulacioni potencijal (*overall coagulation potential*, OCP; bez dodatka tPA). Razlika između ova dva parametra reflektuje ukupni potencijal fibrinolize (*overall fibrinolysis potential*, OFP): $((\text{OCP}-\text{OHP})/\text{OCP}) \times 100\%$ (Grafikon 5) (180).



Grafikon 5. – Ukupni hemostazni potencijal (OHP) (A), ukupni koagulacioni potencijal (OCP) (B) i ukupni potencijal fibrinolize (OFP) (C) (preuzeto i adaptirano iz Antović (180))

Legenda: ABS, apsorbancija; nm, nanometri; min, minut; OHP, ukupni hemostazni potencijal; OCP, ukupni koagulacioni potencijal; OFP, ukupni potencijal fibrinolize

3.3. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA

Kategorijalne varijable su prikazane kao apsolutni brojevi sa procentima, a numeričke varijable su predstavljene kao aritmetička sredina sa standardnom devijacijom ili medijana sa opsegom odnosno interkvartilnim opsegom, u zavisnosti od normalnosti raspodele podataka. Normalnost raspodele je procenjena primenom *Kolmogorov-Smirnov* testa. LDH, TP i albumin su transformisani u kategorijalne varijable i definisani kao „ispod donje granice referentnog opsega“, „u referentnom opsegu“ ili „iznad gornje granice referentnog opsega“. Razlike između pacijenata sa limfomom koji su razvili trombozu i onih bez tromboze, su procenjene korišćenjem *Mann-Whitney* testa za numeričke varijable i hi-kvadrat testa za kategorijalne varijable. Analiza ROC krive je korišćena za definisanje najboljih graničnih vrednosti ispitivanih varijabli za predikciju VTE. U cilju identifikacije značajnih prediktora tromboze kod pacijenata sa limfomom sprovedene su univarijantna i multivarijantna logistička regresiona analiza. Značajne varijable iz univarijantne logističke regresione analize su dalje ispitivane u multivarijantnoj analizi. Rezultati su predstavljeni kao odnosi šanse (*odds ratios*, ORs) sa odgovarajućim intervalima poverenja od 95% (*confidence intervals*, CIs). Statistička značajnost postavljena je na $p < 0,05$. Sve statističke analize su sprovedene korišćenjem IBM SPSS statističkog softvera (*SPSS for Windows, release 25.0, SPSS, Chicago, IL, USA*).

4. REZULTATI

4.1 RETROSPEKTIVNA KOHORTNA STUDIJA PACIJENATA SA LIMFOMOM

Medijana starosti pacijenata sa limfomom uključenih u studiju bila je 56 godina (raspon, 18-89 godina), 53% odnosno 374 pacijenata bilo je muškog pola. U ispitivanoj populaciji najzastupljenija je bila dijagnoza agresivnog NHL (415, 58,8%), a potom indolentni NHL (172, 24,3%) i HL (119, 16,9%) (Tabela 5).

Tabela 5. – Dijagnoze pacijenata uključenih u studiju

| Dijagnoza limfoma | n (%) |
|-------------------|------------|
| Indolentni NHL | 172 (24,3) |
| Agresivni NHL | 415 (58,8) |
| HL | 119 (16,9) |

Skraćenice: NHL, non-Hočkinov limfom; HL, Hočkinov limfom

Većina pacijenata su bili novodijagnostikovani pacijenti (90,4%), a takođe većina ih je imala uznapredovali stadijum bolesti: *Ann Arbor* stadijum III 20,6% pacijenata odnosno stadijum IV 39,3% pacijenata (Tabela 6.).

Tabela 6. – Klinički stadijumu po *Ann Arboru* pacijenata sa limfomom uključenih u studiju

| <i>Ann Arbor</i> klinički stadijum | % |
|------------------------------------|------|
| I stadijum | 11,5 |
| II stadijum | 28,6 |
| III stadijum | 20,6 |
| IV stadijum | 39,3 |

Najveći deo pacijenata uključenih u istraživanje imao je dobar performans status (*Eastern Cooperative Oncology Group performance status*, ECOG PS 0-1: 81,7%), dok je B simptomatologija bila prisutna kod 55,8% pacijenata. Prisustvo „*bulky*“ tumorske mase (limfomska masa ili konglomerat limfnih žlezda koji meri ≥ 7 cm) opserviran je kod 30,7% pacijenata, dok je zahvatanje medijastinuma uočeno kod 31,5% pacijenata uključenih u studiju. Ekstranodalnu lokalizaciju bolesti je imalo 57,7% pacijenata sa limfomom.

Komorbidity kod pacijenata uključenih u istraživanje su prikazani u Tabeli 7. Najčešće je bila prisutna hipertenzija (34,9%), dok je šećerna bolest bila prisutna kod 10,1% pacijenata sa limfomom koji su uključeni u istraživanje. Dodatno, 27,8% pacijenata su bili pušači.

Tabela 7. – Komorbiditeti i faktori rizika za razvoj tromboze kod pacijenata sa limfomom uključenih u istraživanje

| Komorbiditeti i faktori rizika za razvoj tromboza | n (%) |
|--|------------|
| Hipertenzija | 246 (34,9) |
| Dijabetes melitus | 71 (10,1) |
| Pušenje | 196 (27,8) |
| Prethodna VTE | 9 (1,3) |
| Redukovana pokretljivost | 8 (2,1) |
| Trombofilije* | 5 (0,7) |
| Trauma ili nedavni hirurški zahvat (unutar 1 meseca) | 22 (5,6) |
| Srčano i/ili respiratorno popuštanje | 38 (5,4) |
| Prethodna AMI/PCI/CABG | 43 (4,8) |
| Prethodni CVI | 14 (2) |
| Akutna infekcija ili reumatološko oboljenje | 29 (4,1) |
| Hormonska terapija | 23 (3,3) |

* Trombofilije: deficit antitrombina, deficit proteina C, deficit proteina S, faktor V *Leiden* mutacija, protrombin G20210A mutacija, antifosfolipidni sindrom

Legenda: VTE, venski tromboembolizam; AMI, akutni infarkt miokarda; PCI, perkutana koronarna intervencija; CABG, aortokoronarna bajpas operacija; CVI, cerebrovaskularni insult

Medijana praćenja je bila 25 meseci. Ukupno je 69 pacijenata (9,8%) razvilo VTE, i to: 39 je razvilo DVT ekstremiteta, 3 pacijenta je razvilo trombozu abdominalnih vena, 12 pacijenata je razvilo superficijalni tromboflebitis, 11 pacijenata trombozu jugularne vene i kod 16 pacijenata je dijagnostikovana PE (određeni pacijenti su imali više od jedne lokalizacije tromboze u istom trenutku). Incidencija VTE prema tipu limfoma prikazana je u Tabeli 8. Učestalost VTE je bila najveća kod pacijenata sa agresivnim NHL (11,8%), potom kod pacijenata sa HL (8,4%), a najmanja kod pacijenata sa indolentnim NHL (5,8%).

Tabela 8. – Incidencija VTE prema tipu limfoma

| Tip limfoma | VTE, n (%) |
|----------------|---------------|
| Indolentni NHL | 10/172 (5,8) |
| Agresivni NHL | 49/415 (11,8) |
| HL | 10/119 (8,4) |

Legenda: VTE, venski tromboembolizam, NHL, non-Hoćkinov limfom; HL, Hoćkinov limfom

Većina pacijenata je imala simptomatsku VTE (41/69), a takođe je kod većine pacijenata došlo do razvoja VTE tokom lećenja (52,2%). Međutim, dijagnoza VTE pre početka specifičnog

hematološkog lečenja postavljena je kod 46,4% pacijenata, a 1,4% pacijenata sa limfomom je razvilo VTE nakon završetka lečenja (Tabela 9). Po pitanju vrste limfoma i vremena razvoja VTE, kod pacijenata sa indolentnim NHL, VTE je najučestalije dijagnostikovana pre otpočinjanja specifičnog hematološkog lečenja (10,1%), u odnosu na 4,3% VTE tokom lečenja, a nisu verifikovane VTE nakon kompletiranja hematološkog lečenja. U grupi agresivnih NHL, podjednaka je učestalost VTE pre i tokom hematološkog lečenja (po 34,8%), što je bilo značajno više u odnosu na VTE nakon kompletiranja hematološkog lečenja (samo 1,4%). Međutim, kod HL je VTE najčešće dijagnostikovana tokom specifičnog hematološkog lečenja (13%), u odnosu na VTE pre otpočinjanja lečenja (1,4%), dok nisu uočeni VTE događaji nakon kompletiranja hematološkog lečenja.

Tabela 9. – Vreme razvoja VTE kod pacijenata sa limfomom

| Tip limfoma | Vreme razvoja tromboze n (%) | | |
|----------------|------------------------------|---------------|----------------------|
| | Pre početka lečenja | Tokom lečenja | Po završetku lečenja |
| Indolentni NHL | 7 (10,1) | 3 (4,3) | 0 |
| Agresivni NHL | 24 (34,8) | 24 (34,8) | 1 (1,4) |
| HL | 1 (1,4) | 9 (13) | 0 |
| Ukupno | 32 (46,4) | 36 (52,2) | 1 (1,4) |

* Određeni pacijenti su imali više od jedne lokalizacije tromboze u istom trenutku.

Legenda: VTE, venski tromboembolizam, NHL, non-Hočkinov limfom; HL, Hočkinov limfom

Kod pacijenata sa lokalizacijom limfoma u CNS nisu opservirani VTE događaji. Većina pacijenata sa limfomom koji su razvili VTE imala je uznapredovali stadijum bolesti (*Ann Arbor* stadijum III, 29%; *Ann Arbor* stadijum IV, 34,8%), dok je učestalost VTE kod pacijenata u II kliničkom stadijumu bila 31,9% (Tabela 10).

Tabela 10. – Učestalost VTE prema *Ann Arbor* stadijumu limfoma

| Klinički stadijum (<i>Ann Arbor</i>) | VTE, n (%) |
|--|------------|
| I | 3 (4,3) |
| II | 22 (31,9) |
| III | 20 (29) |
| IV | 24 (34,8) |

Legenda: VTE, venski tromboembolizam

Demografske i kliničke karakteristike limfomskih pacijenata sa i bez VTE su prikazane u Tabeli 11. U poređenju sa pacijentima bez VTE, NLR, PLR, ESR, CRP i LDH su bili statistički značajno povišeni kod pacijenata sa VTE ($p=0,001$, $p=0,001$, $p=0,023$, $p<0,001$ i $p=0,035$), dok su TP i albumin bili statistički značajno niži ($p=0,024$ i $p=0,032$). U grupi pacijenata sa DBKL,

internacionalni prognostički indeks (IPI) >1 (intermedijarni/visok rizik) bio je učestaliji kod pacijenata sa VTE (p=0,027), u odnosu na grupu pacijenata bez VTE.

Tabela 11. – Demografske i kliničke karakteristike pacijenata sa limfomom sa i bez VTE

| Karakteristika | Limfomski pacijenti bez VTE | Limfomski pacijenti sa VTE | p |
|---|-----------------------------|----------------------------|--------|
| Godine starosti, medijana (opseg) | 56 (18-87) | 54 (19-89) | 0,898 |
| Muškarci/žene | 337/300 | 37/32 | 0,900 |
| Hemoglobin, g/L, medijana (opseg) | 124 (51-172) | 117 (87-141) | 0,017 |
| Leukociti, x10 ⁹ /L, medijana (opseg) | 7,4 (0,4-28,5) | 8,5 (4,6-16,6) | 0,132 |
| Trombociti, x10 ⁹ /L, medijana (opseg) | 248 (29-613) | 283 (103-678) | 0,034 |
| NLR, medijana (opseg) | 2,7 (0,2-32,5) | 3,79 (0,7-160,5) | 0,001 |
| PLR, medijana (opseg) | 10,1 (0,3-193,3) | 14,5 (483,3) | 0,001 |
| ESR, mm/h, medijana (opseg) | 26 (2-150) | 38 (2-150) | 0,023 |
| CRP, mg/L, medijana (opseg) | 9,9 (0,1-274,6) | 30,6 (0,8-251,8) | <0,001 |
| Fibrinogen, mg/L, medijana (opseg) | 5,3 (1-13,2) | 5,7 (1,9-11,8) | 0,351 |
| LDH > gornje granice referentnog opsega, n (%) | 187 (30,4) | 32 (50,8) | 0,001 |
| TP < donje granice referentnog opsega, n (%) | 258 (40,5) | 39 (56,6) | 0,024 |
| Albumin < donje granice referentnog opsega, n (%) | 70 (11) | 15 (21,2) | 0,032 |
| B simptomatologija, n (%) | 360 (56,6) | 52 (75,4) | 0,001 |
| “ <i>Bulky</i> ” tumorska masa, n (%) | 182 (28,5) | 34 (49,3) | <0,001 |
| Ekstranodalna lokalizacija, n (%) | 368 (57,8) | 35 (50,7) | 0,259 |
| Zahvatanje medijastinuma, n (%) | 189 (29,6) | 32 (46,4) | 0,004 |

| | | | |
|---------------|------------|-----------|-------|
| IPI >1, n (%) | 153 (52,0) | 27 (71,1) | 0,027 |
|---------------|------------|-----------|-------|

Legenda: VTE, venski tromboembolizam; NLR, odnos neutrofila i limfocita; PLR, odnos trombocita i limfocita; ESR, brzina sedimentacije eritrocita; CRP, C-reaktivni protein; LDH, laktat dehidrogenaza; TP, ukupni proteini; IPI, internacionalni prognostički indeks (izračunat za DBKL)

Povezanost komorbiditeta i razvoja tromboza kod pacijenata sa limfomom prikazana je u Tabeli 12. Kod pacijenata sa limfomom kod kojih je došlo do razvoja VTE statistički je manje bilo pušača ($p=0,021$), češće se javljala VTE kod pacijenata koji su ranije imali VTE ($p<0,001$) i kod pacijenata sa urođenom trombofilijom odnosno sa antifosfolipidnim sindromom ($p<0,001$). Pored toga, statistički je značajno bila veća učestalost razvoja VTE kod pacijenata koji su imali nedavnu traumu i/ili hirurški zahvat unutar 30 dana od početka specifičnog hematološkog lečenja.

Tabela 12. - Komorbiditeti kod pacijenata sa limfomom sa i bez VTE

| Komorbiditet | Limfomski pacijenti bez VTE | Limfomski pacijenti sa VTE | p |
|---|-----------------------------|----------------------------|--------|
| Hipertenzija, n (%) | 224 (35,2) | 22 (32,4) | 0,644 |
| Hiperlipidemija, n (%) | 34 (9,7) | 4 (8,7) | 0,821 |
| Dijabetes melitus, n (%) | 65 (10,2) | 6 (8,8) | 0,716 |
| Pušenje, n (%) | 185 (29) | 11 (15,9) | 0,021 |
| Prethodna VTE, n (%) | 5 (0,8) | 4 (5,8) | <0,001 |
| Trombofilija*, n (%) | 2 (0,3) | 3 (4,3) | <0,001 |
| Trauma ili nedavni hirurški zahvat (unutar 1 meseca), n (%) | 16 (4,6) | 6 (12,2) | 0,029 |
| Srčano i/ili respiratorno popuštanje, n (%) | 32 (5) | 6 (8,7) | 0,199 |
| Prethodni AIM/PCI/CABG | 31 (4,9) | 3 (4,3) | 0,848 |
| Prethodni CVI | 13 (2) | 1 (1,4) | 0,738 |
| Aktivna infekcija i/ili reumatološko oboljenje | 27 (4,2) | 2 (2,9) | 0,594 |
| Hormonska terapija | 22 (3,5) | 1 (1,4) | 0,373 |

* Trombofilije: deficit antitrombina, deficit proteina C, deficit proteina S, faktor V *Leiden* mutacija, protrombin G20210A mutacija, antifosfolipidni sindrom

Legenda: VTE, venski tromboembolizam; AIM, akutni infarkt miokarda; PCI, perkutana koronarna intervencija; CABG, koronarni arterijski bajpas graft; CVI, cerebrovaskularni insult

U univarijantnoj regresionoj analizi, NLR, PLR, TP, albumin, LDH i CRP su se pokazali prognostičkim faktorima za razvoj VTE kod pacijenata sa limfomom (Tabela 13). U analizi podgrupe iz koje su isključeni pacijenti sa superficijalnom venskom trombozom, NLR i PLR su ostali prognostički faktori za razvoj VTE kod pacijenata sa limfomom. B-simptomatologija, „bulky“ tumorska masa, zahvatanje medijastinuma i ECOG PS bili su značajni kliničko-patološki prognostički faktori za razvoj VTE kod pacijenata sa limfomom ($p=0,001$, $p=0,001$, $p=0,005$, $p=0,015$) (Tabela 13).

Tabela 13. – Univarijantni regresioni model TP, albumin, LDH, CPR, ESR, NLR, PLR, B-simptomatologija, „bulky“ tumorska masa, zahvatanje medijastinuma tumorskom masom i ECOG PS

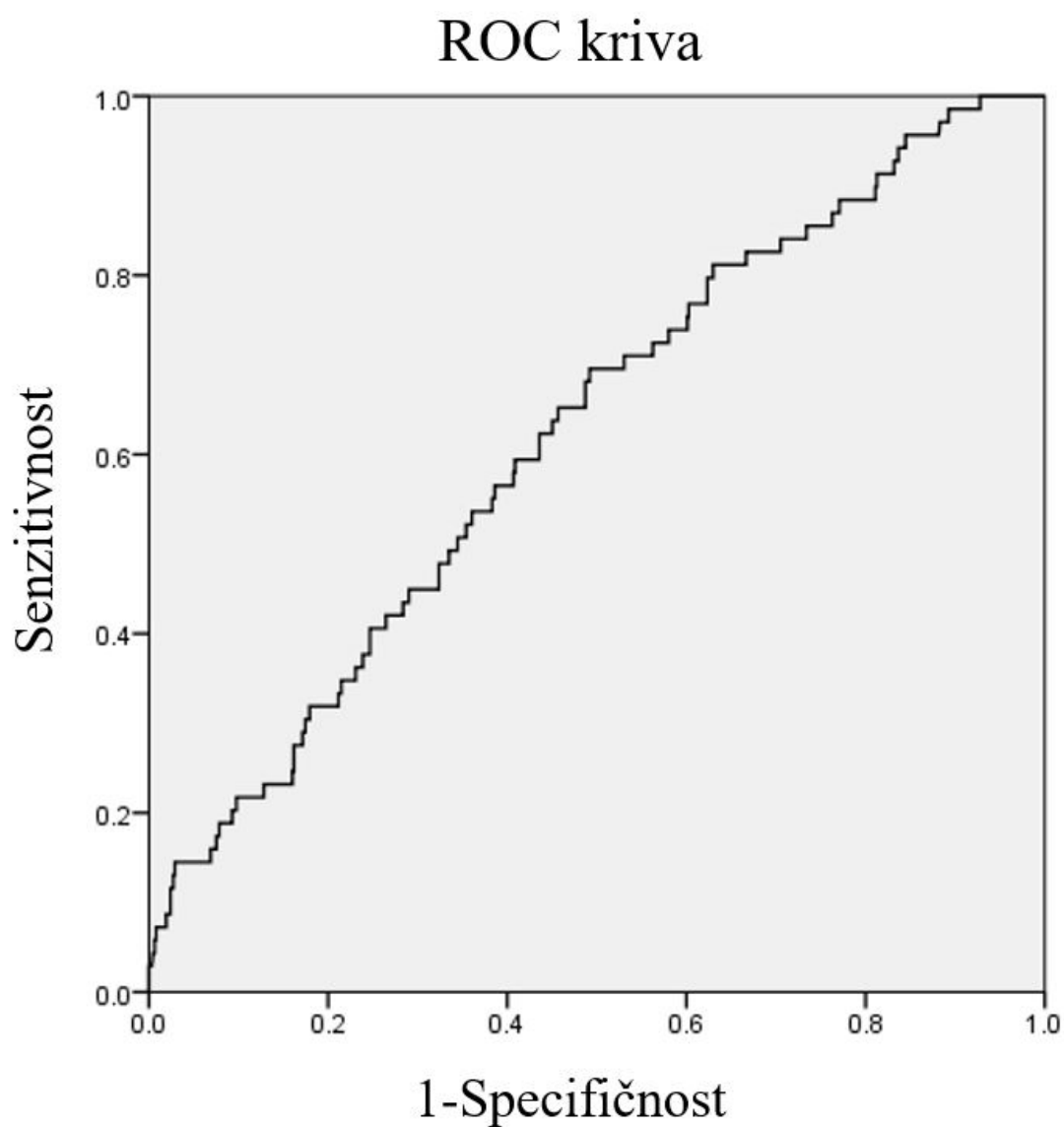
| Varijabla | p | OR | 95% CI za OR |
|--------------------------|-------|-------|--------------|
| TP | 0,026 | 1,91 | 1,08-3,39 |
| Albumin | 0,036 | 2,16 | 1,05-4,46 |
| LDH | 0,001 | 2,368 | 1,404-3,995 |
| CRP | 0,008 | 2,75 | 1,29-5,84 |
| ESR | 0,18 | 1,76 | 0,78-4,02 |
| NLR | 0,001 | 2,5 | 1,48-4,21 |
| PLR | 0,003 | 2,24 | 1,31-3,83 |
| B-simptomatologija | 0,001 | 2,64 | 1,49-4,67 |
| „Bulky“ tumorska masa | 0,001 | 2,43 | 1,47-4,01 |
| Zahvatanje medijastinuma | 0,005 | 2,05 | 1,24-3,39 |
| ECOG PS | 0,015 | 1,99 | 1,14-3,5 |

Legenda: OR, odnos šansi; CI, interval poverenja; TP, ukupni proteini; LDH, laktat dehidrogenaza; CRP, C-reaktivni protein; ESR, brzina sedimentacije eritrocita; NLR, odnos neutrofila i limfocita; PLR, odnos trombocita i limfocita; ECOG PS, *Eastern Cooperative Oncology Group performance status*

U multivarijantnom regresionom modelu, NLR i CRP su se pokazali kao nezavisni prognostički faktori za razvoj VTE kod pacijenata sa limfomom ($p=0,046$, OR=1,043, 95% CI: 1,001-1,087 i $p=0,024$, OR=1,007, 95% CI: 1,001-1,013) (OR, odnos šansi; CI, interval poverenja).

Analiza ROC krive (*receiver operating characteristic*) pokazala je sledeće vrednosti senzitivnosti (Sn) i specifičnosti (Sp) NLR, PLR i CRP u predikciji VTE kod pacijenata sa limfomom (Sn=65,2%, Sp=57,1% za NLR; Sn=69,6%, Sp=49,7% za PLR; Sn=71,7%, Sp=63,7% za CRP) ($p=0,001$ za sva tri: NLR, PLR i CRP) (Slika 2, 3, 4). Povišen NLR je definisan kao vrednost 3 ili

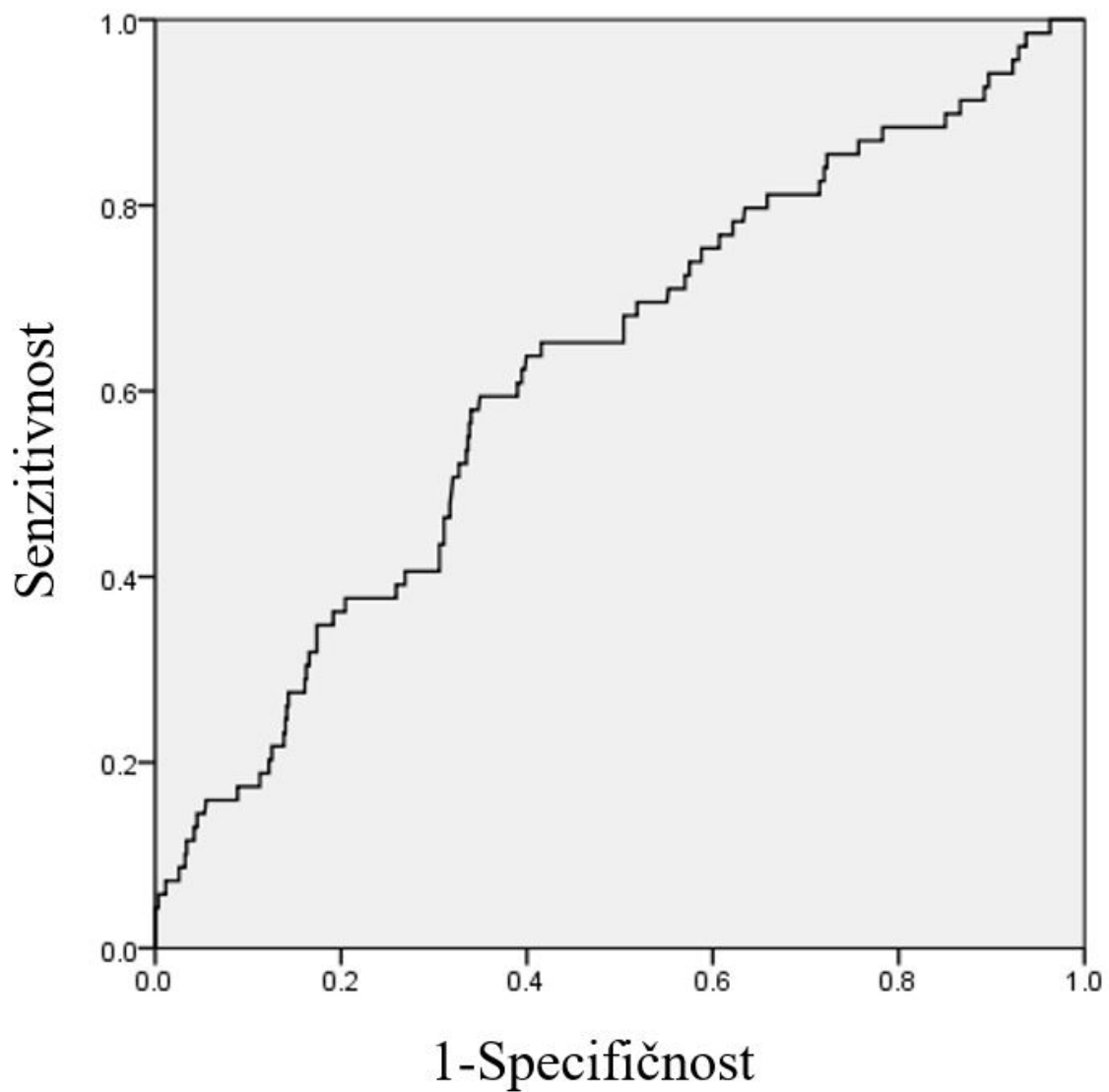
više, povišen PLR je definisan kao vrednost 10 ili više, dok je povišena vrednost CRP definisana kao >20 mg/L. U ovom istraživanju, KS, za prethodno definisane granične vrednosti za visok rizik (≥ 3), imao je Sn=11,6% i Sp=88%.



Slika 2. – ROC kriva za NLR

Legenda: ROC kriva, *receiver operating characteristic*; NLR, odnos neutrofila i limfocita

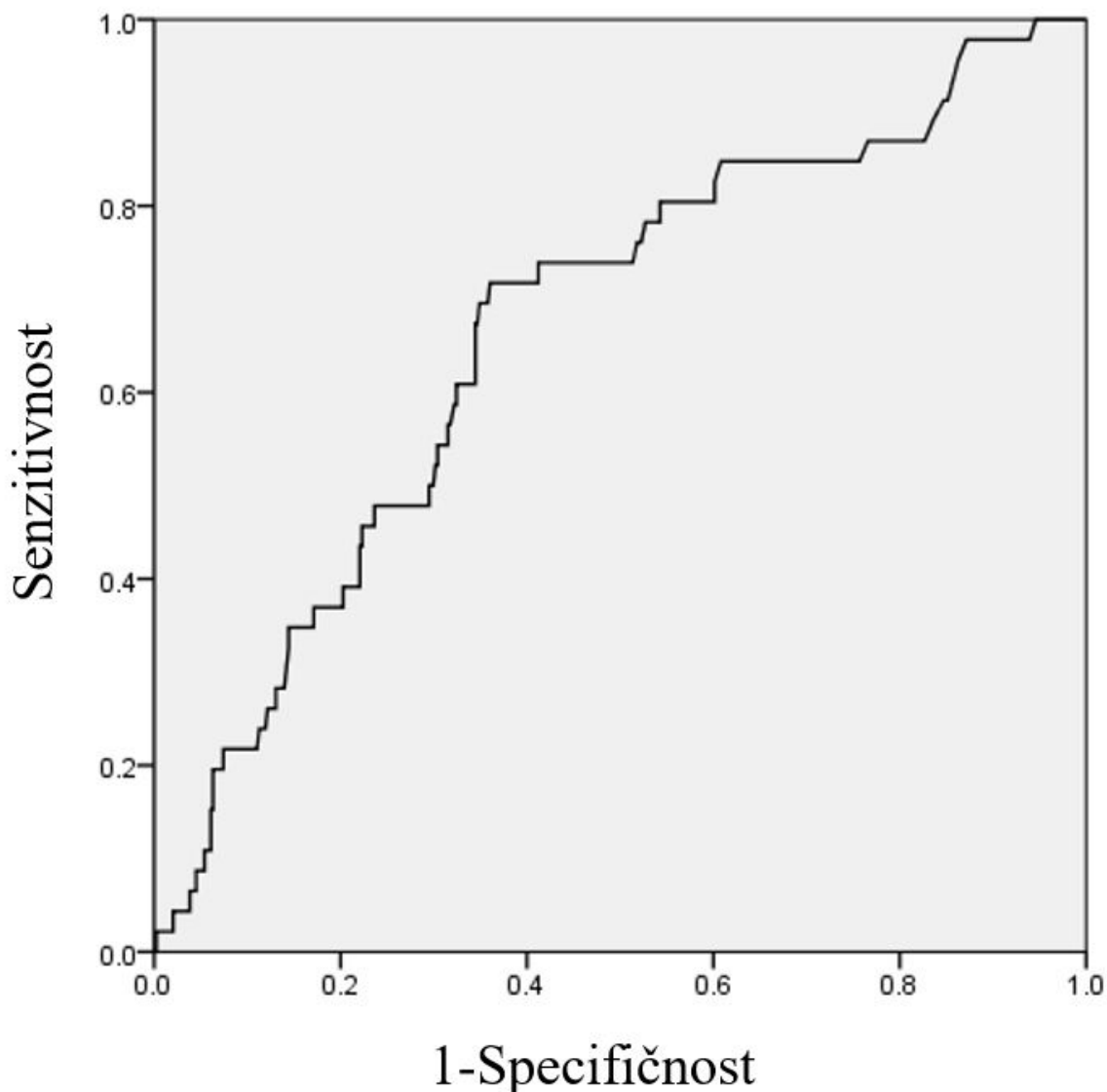
ROC kriva



Slika 3. – ROC kriva za PLR

Legenda: ROC kriva, *receiver operating characteristic*; PLR, odnos trombocita i limfocita

ROC kriva

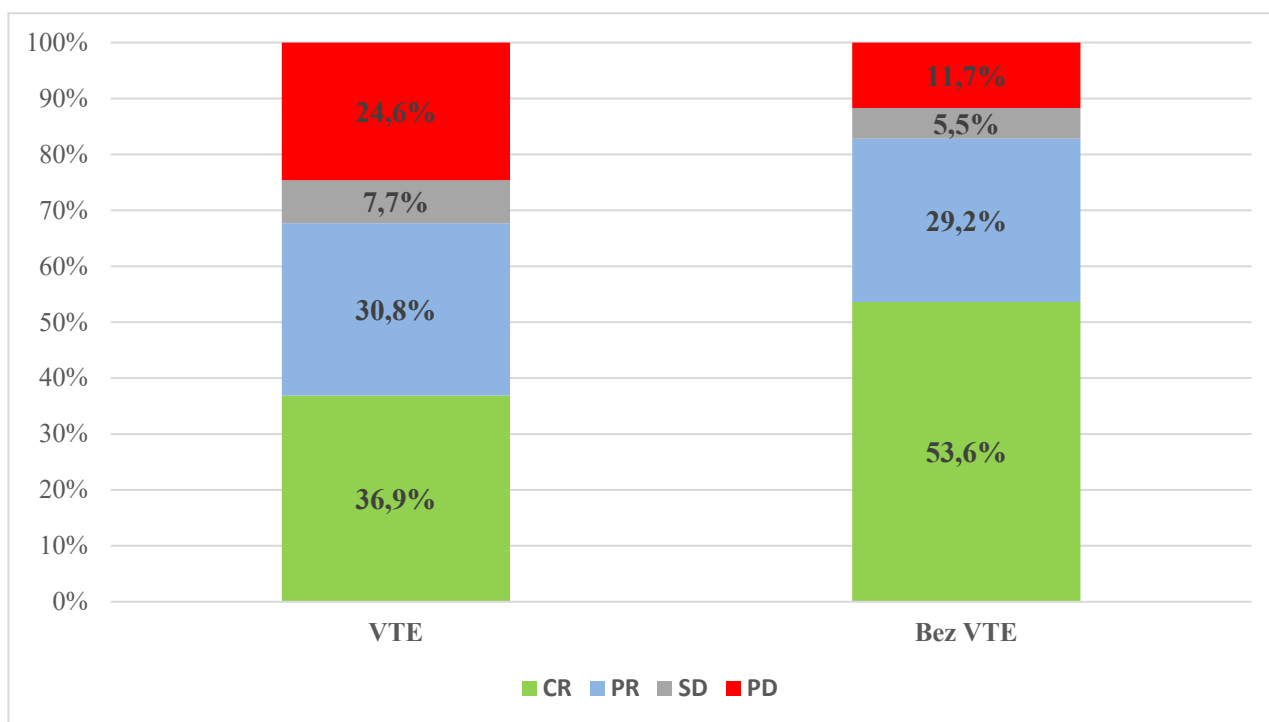


Slika 4. – ROC kriva za CRP

Legenda: ROC kriva, *receiver operating characteristic*; CRP, C-reaktivni protein

Nije opservirana statistički značajna razlika u primeni tromboprofilakse između pacijenata sa limfomom i VTE u odnosu na pacijente sa limfomom bez VTE (13% vs. 18,4%, $p=0,268$).

Nezadovoljavajući terapijski odgovor na (imuno)hemioterapiju bio je povezan sa razvojem VTE ($p=0,011$). Kompletna remisija bila je ređa kod pacijenata sa limfomom koji su razvili VTE nego kod onih koji nisu razvili VTE (36,9% vs. 53,6%, $p=0,011$) (Grafikon 6). Pacijenti sa limfomom kojima su ordinirani intenzivni hemioterapijski protokoli u prvoj liniji ili „*salvage*“ hemioterapijski protokoli, imali su veću stopu VTE u odnosu na pacijente sa limfomom koji su lečeni standardnim terapijama prve linije, poput R-CHOP (rituksimab, ciklofosfamid, doksorubicin, vinkristin, prednizolon), CHOP (ciklofosfamid, doksorubicin, vinkristin, prednizolon) i ABVD (18,2% vs. 7,3%, $p<0,001$).



Grafikon 6. – Terapijski odgovor na (imuno)hemioterapiju i razvoj VTE kod pacijenata sa limfomom

Legenda: VTE, venski tromboembolizam; CR, kompletna remisija; PR, parcijalna remisija; SD, stabilna bolest; PD, progresija bolesti

4.2 PROSPEKTIVNA KOHORTNA STUDIJA PACIJENATA SA LIMFOMOM

U prospektivnu kohortnu studiju uključeno je 62 pacijenta sa dijagnozom DBKL. Muškarci su bili nešto više zastupljeni od žena (51,6% vs. 48,4%). U ovoj grupi pacijenata sa limfomom, medijana godina starosti na dijagnozi limfoma bila je 59 godina (opseg 20-87). Većina pacijenata sa DBKL uključenih u istraživanje bili su novodijagnostikovani (95,2% vs. 4,8%). Klinički stadijum pacijenata sa DBKL prikazan je u Tabeli 14. Većina uključenih pacijenata nije imala uznapredovali stadijum limfoma.

Tabela 14. – Klinički stadijum po *Ann Arboru* pacijenata sa limfomom uključenih u studiju

| <i>Ann Arbor</i> klinički stadijum | % |
|------------------------------------|------|
| I stadijum | 22,6 |
| II stadijum | 38,7 |
| III stadijum | 14,5 |
| IV stadijum | 24,2 |

Demografske i kliničke karakteristike pacijenata sa DBKL u prospektivnoj kohortnoj studiji su prikazane u Tabeli 15. Nešto manje od polovine pacijenata imalo je B simptomatologiju, „bulky“ tumorska masa bila je prisutna kod nešto više od trećine pacijenata, dok je prisustvo ektranodalne bolesti opservirano kod 71% pacijenata. Zahvatanje sredogruda imalo je nešto više od četvrtine pacijenata sa DBKL, dok je kod 5 pacijenata (8,1%) došlo do diseminacije bolesti u CNS (odnosno

4 pacijenta imalo je dijagnozu PCNSL DBKL, a jedna pacijentkinja je imala diseminaciju osnovne bolesti u CNS). Preko 70% pacijenata bilo je dobrog performans statusa (Tabela 15).

Tabela 15. - Demografske i kliničke karakteristike pacijenata sa DBKL u prospektivnoj kohortnoj studiji

| Karakteristika | Pacijenti sa DBKL |
|---|-------------------|
| Godine starosti, medijana (opseg) | 59 (20-87) |
| Muškarci/žene | 32/30 |
| Relaps, n (%) | 3 (4,8) |
| B simptomatologija, n (%) | 29 (46,8) |
| “ <i>Bulky</i> ” tumorska masa, n (%) | 22 (35,5) |
| Ekstranodalna lokalizacija, n (%) | 44 (71) |
| Zahvatanje medijastinuma, n (%) | 17 (27,4) |
| Zahvatanje CNS, n (%) | 5 (8,1) |
| PCNSL DBKL | 4 (6,4) |
| Diseminacija sistemske bolesti u CNS | 1 (1,6) |
| Hemoglobin, g/L, medijana (opseg) | 127,5 (51-166) |
| Leukociti, x10 ⁹ /L, medijana (opseg) | 6,6 (2,2-20,6) |
| Trombociti, x10 ⁹ /L, medijana (opseg) | 273,5 (29-570) |
| ECOG PS, % | |
| 0 | 19,4 |
| 1 | 53,2 |
| 2 | 16,1 |
| 3 | 6,5 |
| 4 | 4,8 |

Legenda: DBKL, difuzni B-krupnoćelijski limfom; CNS, centralni nervni sistem; PCNSL DBKL, primarni limfom centralnog nervnog sistema difuzni B-krupnoćelijski limfom; ECOG PS, *Eastern Cooperative Oncology Group performance status*

Medijana praćenja grupe pacijenata sa DBKL bila je 32 meseca. Ukupno je 11 pacijenata (17,7%) razvilo VTE, a učestalosti su bile sledeće (Tabela 16): kod 3 pacijenta je dijagnostikovana DVT ekstremiteta, jedan pacijent je imao trombozu vene porte, jedan pacijent trombozu potključne vene, jedan pacijent trombozu mezenterične vene, kod jednog pacijenta je opserviran superficijalni tromboflebitis, kod jednog pacijenta tromboza unutrašnje jugularne vene i kod 4 pacijenta je dijagnostikovana PE (jedan pacijent je imao VTE istovremeno na dve lokalizacije). Kod 45,5% (n=5) pacijenata sa DBKL kod kojih je došlo do razvoja VTE, ista je dijagnostikovana pre otpočinjanja specifičnog hematološkog lečenja, dok je kod 36,4% (n=4) pacijenata došlo do razvoja VTE tokom primene (imuno)hemioterapije, a kod 3,2% (n=2) pacijenata VTE je dijagnostikovana nakon kompletiranja specifičnog hematološkog lečenja.

Tabela 16. – Učestalost VTE kod pacijenata sa DBKL prema lokalizaciji

| Lokalizacija VTE kod pacijenata sa DBKL | n (%) |
|---|---------|
| DVT donjih ekstremiteta | 2 (3,2) |
| DVT gornjih ekstremiteta | 1 (1,6) |
| PE | 4 (6,5) |
| Vena porta | 1 (1,6) |
| Vena subklavija | 1 (1,6) |
| Vena mezenterika | 1 (1,6) |
| Vena jugularis interna | 1 (1,6) |
| Superficijalni tromboflebitis | 1 (1,6) |

*Jedan pacijent je imao dve istovremene lokalizacije VTE

Legenda: VTE, venski tromboembolizam; DBKL, difuzni B-krupnoćelijski limfom; DVT, duboka venska tromboza; PE, plućna embolija

Nije uočena statistički značajna razlika u primeni tromboprolifakse između pacijenata sa DBKL i VTE u odnosu na pacijente sa DBKL bez VTE (18,2% vs. 21,6%, p=0,802).

Karakteristike EV kod pacijenata sa DBKL su prikazane u Tabeli 17. Poređena je ukupna koncentracija EV kod pacijenata sa DBKL u odnosu na zdrave volontere (kontrolna grupa). Urađeno je poređenje koncentracija EV različitog porekla kod ove dve populacije (Annexin V za PS, CD42b/CD61 za PEV, CD142 za TF, CD19, CD20 i CD45 za DBKL/B-ćelijsku populaciju i CD62P/CD62E za P-selektin odnosno E-selektin). Ukupna koncentracija Annexin V+ EV bila je statistički značajno veća kod pacijenata sa DBKL u odnosu na zdrave kontrole (423 [155-828] x10⁹ EV/L (medijana [interkvartilni opseg, IQR]) vs. 149 [148-156] x10⁹ EV/L, p=0,008). Takođe, koncentracija TF+ EV bila je značajno veća u grupi pacijenata sa DBKL u odnosu na kontrolnu grupu (140 [50-272] vs. 13 [12-23] x10⁹ EV/L, p<0,001). Nadalje, koncentracija sledećih EV bila je statistički značajno veća kod pacijenata obolelih od DBKL u odnosu na zdrave kontrole: TF+/CD42b+ (TF+ PEV) (p<0,001), TF+/P-selektin- (p<0,001), TF+/P-selektin+ (p=0,001), TF+/E-selektin- (p<0,001), TF+/E-selektin+ (p<0,001), TF+/CD19+ (p=0,014), TF+/CD19- (p<0,001), CD19+/CD20+ (p=0,006), TF+/CD45- (p=0,018), TF+/CD45+ (p=0,009), TF+/CD20+ (p=0,006), TF+/CD19+ (p=0,007), TF+/CD19- (p=0,009), TF-/CD19+ (p=0,014). Sa druge strane, koncentracija sledećih EV se nije statistički razlikovala između dve pomenute grupe: TF+/CD42b- (p=0,063), TF-/CD42b+ (p=0,067), TF-/P-selektin+ (p=0,570), TF-/E-selektin- (p=0,523), TF-/CD19+ (p=0,899),

TF-/CD45+ (p=0,071), TF+/CD20- (p=0,899), TF-/CD20+ (p=0,071).

Tabela 17. – Karakterizacija EV kod pacijenata sa DBKL i zdravih kontrola

| EV | Pacijenti sa DBKL | | Zdrave kontrole | | p |
|-----------------|-----------------------------------|------------------------------|-----------------------------------|------------------------------|--------|
| | Medijana x10 ⁹ EV/L | IQR x10 ⁹ EV/L | Medijana x10 ⁹ EV/L | IQR x10 ⁹ EV/L | |
| Annexin V+ EV | 423 | 155-828 | 149 | 148-156 | 0,008 |
| TF+ EV | 140 | 50-272 | 13 | 12-23 | <0,001 |
| TF+/CD42b- | 33 | 15-64 | 15 | 14-23 | 0,063 |
| TF+/CD42b+ | 280 | 104-539 | 27 | 23-41 | <0,001 |
| TF-/CD42b+ | 81 | 49-184 | 52 | 44-58 | 0,067 |
| TF+/P-selektin- | 49 | 19-85 | 4 | 3-4 | <0,001 |
| TF+/P-selektin+ | 290 | 111-594 | 56 | 47-83 | 0,001 |
| TF-/P-selektin+ | 73 | 33-138 | 78 | 52-89 | 0,570 |
| TF+/E-selektin- | 0,8 | 0,3-1 | 0,042 | 0,023-0,087 | <0,001 |
| TF+/E-selektin+ | 323 | 120-615 | 44 | 38-66 | <0,001 |
| TF-/E-selektin- | 89 | 43-165 | 81 | 54-103 | 0,523 |
| TF+/CD19+ | 72 | 26-129 | 20 | 17-28 | 0,014 |
| TF+/CD19- | 249 | 88-485 | 24 | 21-29 | <0,001 |
| TF-/CD19+ | 30 | 14-54 | 47 | 39-47 | 0,899 |
| CD19+/CD20+ | 65 | 26-129 | 19 | 18-20 | 0,006 |
| TF+/CD45- | 35 | 11-64 | 12 | 8-13 | 0,018 |
| TF+/CD45+ | 295 | 89-547 | 74 | 72-77 | 0,009 |
| TF-/CD45+ | 76 | 45-156 | 61 | 19-63 | 0,071 |
| TF+/CD20- | 2 | 0,8-4 | 3 | 0,6-4 | 0,899 |
| TF+/CD20+ | 294 | 88-547 | 65 | 63-70 | 0,006 |
| TF-/CD20+ | 86 | 51-186 | 70 | 20-71 | 0,071 |
| TF+/CD19+ | 252 | 70-472 | 63 | 61-64 | 0,007 |
| TF+/CD19- | 42 | 13-80 | 8 | 7-9 | 0,009 |
| TF-/CD19+ | 18 | 10-42 | 9 | 7-9 | 0,014 |

Legenda: EV, ekstracelularne vezikule; DBKL, difuzni B-krupnoćelijski limfom; IQR, interkvartilni opseg; TF, tkivni faktor

Karakterizacija EV kod pacijenata sa DBKL kod kojih je došlo do razvoja VTE i pacijenata sa DBKL kod kojih nije došlo do razvoja VTE, prikazana je u Tabeli 18. Nije opservirana statistički značajna razlika u koncentraciji ukupnih Annexin V+ EV kao i TF+ EV kod pacijenata sa DBKL i

VTE u odnosu na pacijente sa DBKL bez VTE ($p=0,513$ odnosno $p=0,747$). Takođe, nije nađena statistički signifikantna razlika u koncentraciji drugih EV obuhvaćenih istraživanjem u odnosu na razvoj VTE (TF+/CD42b-, TF+/CD42b+, TF-/CD42b+, TF+/P-selektin-, TF+/P-selektin+, TF-/P-selektin+, TF+/E-selektin-, TF+/E-selektin+, TF-/E-selektin-, TF+/CD19+, TF+/CD19-, TF-/CD19+, CD19+/CD20+, TF+/CD45-, TF+/CD45+, TF-/CD45+, TF+/CD20-, TF+/CD20+, TF-/CD20+, TF+/CD19+, TF+/CD19-, TF-/CD19+).

Tabela 18. – Karakterizacija EV kod pacijenata sa DBKL sa VTE i pacijenata sa DBKL bez VTE

| EV | Pacijenti sa DBKL i VTE | | Pacijenti sa DBKL bez VTE | | p |
|-----------------|-------------------------|-----------------------|---------------------------|-----------------------|-------|
| | Medijana | IQR | Medijana | IQR | |
| | x10 ⁹ EV/L | x10 ⁹ EV/L | x10 ⁹ EV/L | x10 ⁹ EV/L | |
| Annexin V+ EV | 510 | 152-1213 | 423 | 155-789 | 0,513 |
| TF+ EV | 214 | 33-385 | 140 | 50-255 | 0,747 |
| TF+/CD42b- | 52 | 11-93 | 33 | 17-63 | 0,652 |
| TF+/CD42b+ | 356 | 87-770 | 269 | 104-534 | 0,562 |
| TF-/CD42b+ | 81 | 39-256 | 80 | 49-162 | 0,490 |
| TF+/P-selektin- | 59 | 14-138 | 48 | 19-84 | 0,719 |
| TF+/P-selektin+ | 389 | 97-828 | 282 | 111-572 | 0,501 |
| TF-/P-selektin+ | 92 | 29-190 | 72 | 33-121 | 0,371 |
| TF+/E-selektin- | 1 | 0,2-2 | 0,8 | 0,3-1 | 0,371 |
| TF+/E-selektin+ | 413 | 97-887 | 318 | 120-608 | 0,555 |
| TF-/E-selektin- | 102 | 34-227 | 83 | 43-138 | 0,381 |
| TF+/CD19+ | 106 | 17-150 | 71 | 32-124 | 0,993 |
| TF+/CD19- | 308 | 80-711 | 245 | 88-443 | 0,417 |
| TF-/CD19+ | 44 | 9-58 | 29 | 14-52 | 0,692 |
| CD19+/CD20+ | 121 | 20-179 | 61 | 27-128 | 0,890 |
| TF+/CD45- | 40 | 9-74 | 35 | 11-64 | 0,919 |
| TF+/CD45+ | 389 | 89-804 | 292 | 89-544 | 0,501 |
| TF-/CD45+ | 82 | 34-204 | 73 | 45-145 | 0,537 |
| TF+/CD20- | 3 | 0,5-4 | 2 | 0,9-3 | 0,638 |
| TF+/CD20+ | 388 | 79-719 | 291 | 88-543 | 0,562 |
| TF-/CD20+ | 91 | 37-236 | 80 | 51-164 | 0,574 |
| TF+/CD19+ | 312 | 69-630 | 245 | 71-445 | 0,537 |
| TF+/CD19- | 59 | 10-107 | 41 | 15-77 | 0,861 |
| TF-/CD19+ | 29 | 5-49 | 18 | 10-40 | 0,761 |

Legenda: EV, ekstracelularne vezikule; DBKL, difuzni B-krupnoćelijski limfom; VTE, venski tromboembolizam; IQR, interkvartilni opseg; TF, tkivni faktor

Nakon medijane praćenja pacijenata sa DBKL od 32 meseca, korišćenjem *Cox*-ove regresione analize, ni ukupna koncentracija Annexin+ EV niti TF+ EV nisu pokazale povezanost sa ukupnim preživljavanjem (OS) ($p=0,953$ odnosno $p=0,757$). Karakterizacija EV u odnosu na ishod OS prikazana je u Tabeli 19. Dodatno, nije nađena statistički značajna razlika u koncentraciji drugih EV obuhvaćenih istraživanjem u odnosu na ishod OS (TF+/CD42b-, TF+/CD42b+, TF-/CD42b+, TF+/P-selektin-, TF+/P-selektin+, TF-/P-selektin+, TF+/E-selektin-, TF+/E-selektin+, TF-/E-selektin-, TF+/CD19+, TF+/CD19-, TF-/CD19+, CD19+/CD20+, TF+/CD45-, TF+/CD45+, TF-/CD45+, TF+/CD20-, TF+/CD20+, TF-/CD20+, TF+/CD19+, TF+/CD19-, TF-/CD19+).

Tabela 19. – Karakterizacija EV kod pacijenata sa DBKL u odnosu na ishod OS

| EV | Preminuli pacijenti sa DBKL | | Živi pacijenti sa DBKL | | p |
|-----------------|-----------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|-------|
| | Medijana | IQR | Medijana | IQR | |
| | x10 ⁹ EV/L | x10 ⁹ EV/L | x10 ⁹ EV/L | x10 ⁹ EV/L | |
| Annexin V+ EV | 446 | 154-985 | 404 | 170-809 | 0,858 |
| TF+ EV | 159 | 44-332 | 136 | 55-253 | 0,620 |
| TF+/CD42b- | 39 | 16-63 | 29 | 15-66 | 0,840 |
| TF+/CD42b+ | 306 | 87-629 | 250 | 119-535 | 0,716 |
| TF-/CD42b+ | 88 | 50-199 | 76 | 49-169 | 0,804 |
| TF+/P-selektin- | 61 | 19-84 | 46 | 19-97 | 0,938 |
| TF+/P-selektin+ | 306 | 86-724 | 273 | 128-577 | 0,756 |
| TF-/P-selektin+ | 89 | 35-149 | 71 | 33-128 | 0,792 |
| TF+/E-selektin- | 0,9 | 0,2-1 | 0,8 | 0,3-1 | 0,653 |
| TF+/E-selektin+ | 343 | 97-698 | 282 | 132-608 | 0,693 |
| TF-/E-selektin- | 97 | 44-173 | 83 | 43-151 | 0,792 |
| TF+/CD19+ | 78 | 32-172 | 64 | 25-124 | 0,535 |
| TF+/CD19- | 264 | 65-577 | 237 | 97-483 | 0,907 |
| TF-/CD19+ | 43 | 17-56 | 28 | 14-50 | 0,402 |
| CD19+/CD20+ | 94 | 27-163 | 60 | 24-125 | 0,466 |
| TF+/CD45- | 35 | 12-64 | 35 | 10-65 | 0,914 |
| TF+/CD45+ | 308 | 81-598 | 241 | 99-544 | 0,710 |
| TF-/CD45+ | 90 | 49-202 | 76 | 41-141 | 0,609 |
| TF+/CD20- | 2 | 1-4 | 2 | 0,8-3 | 0,745 |
| TF+/CD20+ | 325 | 88-600 | 243 | 94-532 | 0,721 |
| TF-/CD20+ | 101 | 55-224 | 86 | 49-159 | 0,609 |

| | | | | | |
|-----------|-----|--------|-----|--------|-------|
| TF+/CD19+ | 267 | 71-485 | 218 | 80-454 | 0,828 |
| TF+/CD19- | 53 | 17-106 | 38 | 13-79 | 0,587 |
| TF-/CD19+ | 23 | 11-49 | 17 | 9-39 | 0,429 |

Legenda: EV, ekstracelularne vezikule; DBKL, difuzni B-krupnoćelijski limfom; OS, ukupno preživljavanje; IQR, interkvartilni opseg; TF, tkivni faktor

OHP analiza urađena je na podgrupi od 11 pacijenata sa DBKL, a kod jednog pacijenta (9,1%) je došlo do razvoja VTE. Rezultati OHP kod pacijenata sa DBKL u odnosu na prisustvo VTE su prikazani u Tabeli 20. Kod pacijenta sa DBKL i VTE (n=1; 9,1%) testiranje ukupnog hemostaznog potencijala pokazalo je sledeće rezultate: OHP (AUC) 64,1, OCP (AUC) 149,8, OFP 57,2%, dok je D-dimer bio 3,37 mg/L. Sa druge strane, pacijenti sa DBKL kod kojih nije došlo do razvoja VTE (n=9; 90,9%) su imali sledeće rezultate: OHP (AUC (opseg)) 49,5 (35,5-98), OCP 156,1 (95,5-269,1), OFP (% (opseg)) 65,5 (43,4-78), D-dimer (mg/L (opseg)) 0,95 (0,38-9,59).

Tabela 20. – OHP kod pacijenata sa DBKL i VTE i pacijenata sa DBKL bez VTE

| Varijabla | Pacijenti sa DBKL i VTE n=1 (9,1%) | Pacijenti sa DBKL bez VTE n=10 (90,9%) |
|-----------------------------------|---------------------------------------|---|
| OHP, AUC medijana (opseg) | 64,1 | 49,5 (35,5-98) |
| OCP, AUC medijana (opseg) | 149,8 | 156,1 (95,5-269,1) |
| OFP, % medijana (opseg) | 57,2 | 65,5 (43,4-78) |
| D-dimer, mg/L medijana (opseg) | 3,37 | 0,95 (0,38-9,59) |

Legenda: VTE, venski tromboembolizam; DBKL, difuzni B-krupnoćelijski limfom; OHP, ukupni hemostazni potencijal; OCP, ukupni koagulacioni potencijal; OFP, ukupni potencijal fibrinolize; AUC, površina ispod krive

5. DISKUSIJA

VTE predstavlja ozbiljnu komplikaciju lečenja pacijenata sa limfomom, koja utiče na morbiditet i mortalitet kod ove već vulnerabilne grupe pacijenata. Tromboza neretko značajno komplikuje klinički tok lečenja, dodatno usložnjava lečenje uvođenjem antikoagulantne terapije i stvara mogućnost za interakcije između lekova koji se već primenjuju ili će se primeniti u toku lečenja, produžava trajanje hospitalizacije, povećava rizik od hemoragijskih komplikacija kod pacijenata kod kojih se redovno javljaju jatrogene citopenije kao posledica hematološkog lečenja osnovne bolesti. Poseban aspekt predstavlja dodatno opterećenje zdravstvenih resursa tokom procesa dijagnostike i lečenja VTE, ali i generisanje nezanemarljivih troškova koje ova komplikacija direktno uzrokuje.

Ciljevi ovog istraživanja bili su ispitivanje povezanosti biomarkera inflamacije i razvoja VTE kod pacijenata sa limfomom lečenih (imuno)hemioterapijom, povezanosti VTE sa tipom terapijskog lečenja i odgovora na terapiju kod pacijenata sa limfomom. Pored navedenog, cilj je bio i

karakterizacija profila EV kod pacijenata sa DBKL, ispitivanje povezanosti EV sa VTE kod pacijenata sa DBKL, ispitivanje testa OHP i povezanosti sa VTE kod pacijenata sa DBKL. Rezultati su pokazali da biomarkeri inflamacije značajno koreliraju sa rizikom za razvoj VTE kod pacijenata sa limfomom. Pre svega su se istakli NLR i CRP kao najsnažniji prediktivni markeri za razvoj VTE kod pacijenata sa limfomom lečenih (imuno)hemioterapijom. Nadalje, utvrđeno je da nezadovoljavajući i insuficijentan odgovor na primenu (imuno)hemioterapije kod pacijenata sa limfomom predstavlja faktor rizika za razvoj VTE u pomenutoj grupi pacijenata. Imunološka disregulacija na terenu limfoma igra signifikantnu ulogu u razvoju VTE. U grupi pacijenata sa DBKL koja je prospektivno praćena, ukupna koncentracija Annexin+ EV bila je značajno veća od koncentracije EV kod zdravih kontrola. Dodatnom disekcijom porekla EV u odnosu na markere koje eksprimiraju, signifikantno veće koncentracije TF+ EV, TF+ PEV, TF+ P-selektin EV, TF+ E-selektin EV, EV porekla DBKL/B-ćelijske populacije i TF+ EV porekla DBKL/B-ćelijske populacije opservirane su u grupi pacijenata sa DBKL u odnosu na koncentracije EV pomenutih obrazaca kod zdravih kontrola. U poređenju grupa pacijenata sa DBKL i VTE odnosno bez VTE, kao i u poređenju sa ishodom ukupnog preživljavanja, nisu uočene statistički značajne razlike u koncentraciji gore pomenutih EV.

Prosečna starost pacijenata sa limfomom u retrospektivnom delu našeg istraživanja bila je 52,8 godina (raspon, 18-89 godina), a 53% pacijenata je bilo muškog pola. Većina pacijenata sa limfomom koji su uključeni u istraživanje imalo je dobar performans status (ECOG PS 0-1: 81,7%). B simptomatologija je bila prisutna kod 55,8% pacijenata, „bulky“ tumorsku masu imalo je 30,7% pacijenata, dok je zahvatanje medijastinuma opservirano kod 31,4% pacijenata sa limfomom (183). Ekstranodalnu lokalizaciju bolesti imalo je 57,6% pacijenata sa limfomom. U istraživanje u koje su uključeni pacijenti sa dijagnozom DBKL i folikularnog limfoma (176), pacijenti su bili nešto stariji (medijana 63 godine, raspon 16-92), odnos polova uključenih u studiju bio je komparativan sa našim podacima (muškarci 50,7%, žene 49,3%). ECOG performans status je takođe bio uporediv u navedenom istraživanju (176) u odnosu na našu studiju, gde je 81,5% pacijenata imalo ECOG PS 0-1. Sa druge strane, prisustvo B simptoma i „bulky“ tumorske mase je bilo značajno češće u našoj studiji u odnosu na studiju *Dharmavaram* i sar. (176) (55,8% i 30,7% vs. 34,8% i 14,3%).

Komorbidity kod pacijenata sa limfomom koji su uključeni u istraživanje su prikazani u Tabeli 7. Najčešće zastupljeni komorbidity su bili hipertenzija (34,9%) i šećerna bolest (10,1%). U studiji *Dharmavaram* i sar. (176) najčešći komorbiditet je bila hipertenzija (46%), na drugom mestu po učestalosti je bila hiperlipidemija (26,7%), dok je na trećem mestu po učestalosti bila šećerna bolest (16,9%). Određene publikacije su se fokusirale na kvantitativni aspekt hroničnih komorbiditeta. Naime, veći broj komorbiditeta može biti prediktivan faktor za razvoj VTE, a rizik je direktno srazmeran broju komorbiditeta, odnosno pacijenti sa limfomom i sa 1-2 komorbiditeta su imali 2 puta veći rizik za razvoj VTE, dok su pacijenti sa limfomom i 3 ili više komorbiditeta imali čak 4 puta veći rizik za razvoj VTE (184). U istraživanju *Khorana* i sar. (185), hipertenzija je bila najčešći komorbiditet kod pacijenata sa limfomom, dok je multivarijantna logistička regresiona analiza pokazala da su određeni komorbidity statistički značajno povezani sa razvojem VTE kod pacijenata sa limfomom (arterijski tromboembolizam, plućne bolesti, bubrežne bolesti, infekcije i anemija). S obzirom da se limfomi češće javljaju kod starije populacije, koja neretko ima nezanemarljiv broj hroničnih komorbiditeta, oni postaju karakteristika o kojoj se mora voditi računa, kako po pitanju lečenja osnovne bolesti, tako i u aspektu prevencije VTE kod ove grupe pacijenata.

U našoj retrospektivnoj kohorti pacijenata sa različitim tipovima limfoma, stopa VTE je bila 9,8% (183). U meta-analizi *Caruso* i sar. (147) koja je obuhvatila 18 018 pacijenata sa limfomom,

stopa VTE je bila 6,4%. U pomenutom istraživanju, učestalost razvoja VTE bila je statistički signifikantno veća kod pacijenata sa NHL u odnosu na pacijente sa HL (6,5% vs 4,7%). U studiji autora *Mahajan* i sar. (184), retrospektivna studija u koju je uključeno 16 755 pacijenata sa dijagnostikovanim NHL, kumulativna dvogodišnja incidencija akutne VTE bila je: 2,1% kod pacijenata sa *low-grade* limfomom, 4,8% kod pacijenata sa intermedijarnim/agresivnim limfomom i 4,5% kod pacijenata sa *high-grade* limfomom. U dve studije (146,186) koje su se fokusirale samo na pacijente sa DBKL, stopa razvoja VTE kod ove grupe pacijenata bila je 11% i 11,1%. U istraživanju sprovedenom od strane *Khorana* i sar. (185) opservirana je učestalost VTE od 4,8% kod hospitalizovanih pacijenata sa NHL i 4,6% kod hospitalizovanih pacijenata sa HL. U istraživanju publikovanom od strane *Antića* i sar. (170), učestalost razvoja VTE kod pacijenata sa limfomom bila je 5,3% u derivacionoj kohorti i 5,8% u validacionoj kohorti. Tokom dvogodišnjeg praćenja, u kohorti od 422 novodijagnostikovana pacijenta sa limfomom incidencija VTE (pre svega DVT i PE) bila je 17,1% (149). U gore pomenutoj nedavno publikovanoj studiji (176), koja je bila fokusirana na pacijente sa dijagnozom DBKL i folikularnog NHL, ukupna petogodišnja incidencija razvoja VTE bila je 13,4%, uz statistički značajno veću incidenciju kod pacijenata sa DBKL u odnosu na pacijente sa folikularnim limfomom (16,3% vs. 3,8%). Ove opservirane varijacije u učestalosti razvoja VTE među pacijentima sa limfomom su značajne i mogu biti efekat nekoliko različitih faktora, poput fokusiranja na određeni tip limfoma, metodologiju studije (npr. retrospektivna vs. prospektivna studija) i vreme istraživanja odnosno publikacije (novije publikacije i istraživanja su značajno više pažnje posvetili CAT, te je i učestalost dijagnostikovanja i beleženja ovih komplikacija posledično povećana). Rezultati našeg istraživanja su slični rezultatima studija koje su bile usredsređene na agresivne limfome, što je u skladu sa činjenicom da je više od polovine populacije naše studije imalo dijagnozu agresivnog limfoma. U našoj kohorti pacijenata sa limfomom sa diseminacijom bolesti u CNS, nisu opservirani VTE događaji. Postoje različiti uzroci koji mogu imati kako direktni tako i indirektni uticaj na ovakav rezultat. Naime, nešto manje od 60% pacijenata sa limfomom i diseminacijom u CNS bilo je zadovoljavajućeg performans statusa u trenutku otpočinjanja specifičnog hematološkog lečenja. Pored toga, tokom poslednje 3 godine obuhvaćene studijom kod gotovo 70% pacijenata primenjivana je tromboprofilaksa, što ukazuje na veće poštovanje i pridržavanje smernica za primenu tromboprofilakse kod ove podgrupe pacijenata sa limfomom.

Kod pacijenata sa limfomom kod kojih je došlo do razvoja VTE, statistički se značajno češće javljala VTE kod pacijenata koji su ranije imali VTE i kod pacijenata sa urođenom trombofilijom odnosno sa antifosfolipidnim sindromom. Nadalje, statistički značajno veća učestalost razvoja VTE bila je kod pacijenata koji su imali nedavnu traumu i/ili hirurški zahvat unutar 30 dana od početka specifičnog hematološkog lečenja. U nekoliko studija je pokazano da je raniji trombotički događaj povezan sa povećanim rizikom za razvoj VTE nakon dijagnoze limfoma i tokom lečenja istog (155,169,170,175,187). Međutim, podaci po ovom pitanju nisu konkluzivni, jer mnoge studije nisu registrovale prethodnu VTE kao posebnu varijablu, ili je mala veličina studijske populacije uticala na rezultate statističkih analiza i posljedične zaključke (143,145,146,169,188). Pored toga, prethodna VTE je relativno redak događaj, a dodatno se situacija komplikuje tumačenjem podataka odnosno razlikama u tipu trombotičkog događaja koji se smatra prethodnom trombozom, kao i nedostatkom informacija između vremena od prethodne VTE i dijagnoze/lečenja limfoma (169). U publikaciji koja je uključila 289 pacijenata sa dijagnozom DBKL (186), u multivarijantnoj analizi prethodna VTE kod ovih pacijenata bila je nezavisan faktor rizika za razvoj VTE u ovoj grupi pacijenata. Poznato je da prisustvo urođenih trombofilija kod pacijenata sa malignitetom povećava rizik za razvoj CAT (96).

Podaci o urođenim trombofilijama i rizika za razvoj VTE kod pacijenata sa limfomom su i dalje oskudni. Slična je situacija i sa podacima o antifosfolipidnom sindromu i antifosfolipidnim antitelima u grupi pacijenata sa limfomom. U publikaciji *Pabinger i sar.* (189) koja se bavila prisustvom faktor *V Leiden* mutacije kod pacijenata sa malignitetima, kod 12 od 124 pacijenata sa limfomom potvrđeno je prisustvo navedene mutacije. Kod pacijenata sa spleničnim limfomom marginalne zona uočena je visoka prevalencija antifosfolipidnih antitela (kod 13% pacijenata) i bila je povezana sa povećanim rizikom za razvoj VTE (165). Japanski autori u studiji sa pacijentima sa DBKL, vršili su skrining kod pacijenata koji su razvili VTE (11%) i nisu zabeležili prisustvo pacijenata sa urođenim trombofilijama (deficit antitrombina, proteina C, proteina S) (146). U cilju adekvatnog dokumentovanja i ispitivanja uticaja navedenih faktora na rizik za razvoj VTE kod pacijenata sa limfomom, neophodna su dalja, po mogućnosti, prospektivna istraživanja.

Pokazano je da su NLR, PLR, ESR, CRP i LDH bili statistički značajno povišeni kod pacijenata sa limfomom sa VTE u odnosu na pacijente sa limfomom bez VTE, dok su TP i albumin bili statistički značajno sniženi kod pacijenata sa limfomom i VTE u odnosu na pacijente sa limfomom bez VTE. Dodatno, analiza ROC krive pokazala je zadovoljavajuću specifičnost i senzitivnost NLR, PLR i CRP u predikciji VTE kod pacijenata sa limfomom. Konkretno, univarijantna regresiona analiza pokazala je da su NLR, PLR, TP, albumin, LDH i CRP prognostički faktori za razvoj VTE kod pacijenata sa limfomom. Multivarijantni regresioni model je pokazao da su NLR i CRP nezavisni prognostički faktori za razvoj VTE (183). Neutrofili povezani sa tumorom imaju značajnu ulogu u TME i služe kao veza između maligniteta i inflamacije, utičući na progresiju tumora kroz nekoliko složenih mehanizama, koji uključuju: mobilizaciju neutrofila iz koštane srži ka lokalizacijama na kojima se nalazi malignitet (uglavnom preko CXCR2 osovine), aktivno učešće u TME (oslobađanje slobodnih radikala i sekrecija pro-tumorskih citokina i hemokina) (190). Slično tome, trombociti u velikoj meri stupaju u interakciju sa tumorskim ćelijama, dok imaju značajnu ulogu u inflamaciji tako što oslobađaju brojne inflamatorne medijatore, poput PF4 (CXCL4), P-selektin i CD40L (191). I NLR i PLR su se pokazali prognostičkim markerima u različitim patološkim stanjima, uključujući sepsu, sistemski eritemski lupus i solidne tumore (73,192–194). Pored toga, NLR i PLR su se pokazali kao negativni prognostički markeri kod pacijenata sa DBKL (195) i kod pacijenata sa mantl ćelijskim NHL (196). Međutim, neke studije su pokazale oprečne rezultate (197). Što se tiče povezanosti između NLR i PLR i rizika za razvoj VTE, u nekoliko studija je nađena prediktivna moć NLR i PLR za razvoj VTE (82,198). Nasuprot tome, nekoliko studija (199,200) nije identifikovalo povezanost između NLR i PLR i povećanog rizika za razvoj VTE ili tromboze cerebralnih vena. Prema našim saznanjima, izuzev naše studije ne postoje publikovane studije koje su ispitivale NLR i PLR i rizik od razvoja VTE kod pacijenata sa limfomom. Srednji/visoki skor IPI kod pacijenata sa DBKL bio je značajno učestaliji kod pacijenata koji su razvili VTE, u poređenju sa onima bez VTE, što je u skladu sa nedavno objavljenim podacima (173).

U poslednje vreme sve veći broj studija se bavi ispitivanjem povezanosti inflamacije i tromboze, kao i specifičnim mehanizmima koji predstavljaju osnov ove interakcije. Međutim, mnogi patofiziološki mehanizmi koji imaju učešće u ovom komplikovanom procesu tek treba da budu u potpunosti razjašnjeni. Do sada najviše proučavani mehanizmi za koje se pokazala sposobnost da trigeruju razvoj tromboze ili su često opservirani kod pacijenata koji su razvili trombozu su povišeni nivoi TNF- α (201), hiperekspresija IL-6 (202), NET (203), solubilni CD40L (204) i EV (205). *Kapoor i sar.* (206) su značajno doprineli razumevanju ovih procesa uvođenjem četvrtog elementa u Virhovljevu trijadu, nazvavši je „tetradom tromboze“. Oni su izneli stav da postoji dovoljna količina

dokaza koji podržavaju uticaj imunološke disregulacije na patofiziologiju tromboze, te upravo imunološka disregulacija predstavlja četvrti element gore pomenute „tetrađe“. Nekoliko studija je identifikovalo povišene nivoe CRP kod pacijenata sa VTE (uglavnom DVT) (207), dok je istraživanje Antića i sar. (125) ukazalo na potencijalni efekat širokog spektra inflamatornih i hemostatskih biomarkera kod pacijenata sa limfomom (uključujući D-dimer, FXIIIa, vWF, TNF- α , protein S, β 2Glikoprotein I, EV, aktivator plazminogena sličan urokinazi, fibronektin i PAI-1) dok je FXIIIa bio značajno povišen kod pacijenata sa limfomom i VTE u odnosu na pacijente sa limfomom bez VTE.

Slično rezultatima ranije publikovanih studija (147,184,208), ustanovili smo da pacijenti sa uznapredovalim stadijumom bolesti češće razvijaju VTE. Međutim, ovaj rezultat nije bilo statistički značajan. „*Bulky*“ tumorska masa, zahvaćenost medijastinuma i ECOG PS identifikovani su kao prognostički faktori za razvoj VTE kod pacijenata sa limfomom u univarijantnoj analizi (183). Velika medijastinalna tumorska masa je važan faktor rizika za razvoj VTE, uglavnom zbog mehaničke kompresije na krvne sudove (142,145). Performans status je sastavni deo novijih modela za procenu rizika od VTE, naglašavajući time njegov značaj u razvoju VTE (142,170). Takođe, imobilizacija je prepoznata kao faktor rizika za razvoj VTE. Od posebnog je značaja kod pacijenata sa PCNSL, jer je kod ove grupe pacijenata opservirana vrlo visoka stopa VTE (od 8,4% čak do 59,5% pacijenata) (143,144,153,209,210).

U našoj retrospektivnoj kohorti pacijenata sa limfomom, pacijenti sa agresivnim limfomom imali su veću stopu razvoja VTE (11,8%) u poređenju sa pacijentima sa indolentnim limfomom (5,3%) i pacijentima sa HL (8,4%) (183). Agresivna histologija i biologija ima predispoziciju da komplikuje klinički tok limfoma, a jedan od načina je razvoj VTE (142,147,176,184,208,211). Međutim, velika studija *Sanfilippo* i sar. (155) došla je do zaključka da je rizik od VTE za DBKL niži nakon prilagođavanja za dodatne faktore rizika. Generalno, agresivni limfomi imaju veću stopu proliferacije što im omogućava da napreduju promptno i brže stiču faktore rizika za VTE („*bulky*“ tumorska masa, ektranodalne lokalizacije, loš performans status), što posledično povećava učestalost razvoja VTE.

Komplementarno našim rezultatima, predominantno vreme nastanka VTE kod pacijenata sa limfomom bilo je pre ili unutar tri meseca od početka specifičnog hematološkog lečenja (145,157,169,186,188,212,213). Ovi podaci skreću pažnju na ulogu tromboprofilakse, koja se i dalje nedovoljno primenjuje kod pacijenata sa malignitetom (170,214). S obzirom na odsustvo statističke značajnosti za upotrebu tromboprofilakse između pacijenata sa limfomom sa i bez VTE, naši podaci su potvrdili nedovoljno korišćenje tromboprofilakse. Postoji nekoliko razloga zašto se tromboprofilaksa i dalje nedovoljno koristi kod pacijenata sa limfomom: nedostatak pouzdane i široko prihvaćene upotrebe modela za procenu rizika od VTE za ovu heterogenu populaciju pacijenata, nedostatak prospektivnih studija sa stratifikacijom rizika i randomizacijom za tromboprofilaksu (211), izražena heterogenost podataka u literaturi vezana za ovu temu i precenjivanje rizika od krvarenja u kombinaciji sa antikoagulantnom terapijom kod pacijenata sa malignitetom od strane kliničara. Postojanje VTE pre otpočinjanja specifičnog hematološkog lečenja se često pripisuje mehaničkim faktorima kompresije tumorske mase na venski sistem (145,169). Potrebna su dalja specifična i adekvatno dizajnirana klinička istraživanja tromboprofilakse u cilju dobijanja visokokvalitetnih podataka i dokaza za generisanje čvrstih kliničkih smernica i vodiča za pacijente sa limfomom.

Pacijenti sa limfomom koji su postigli nezadovoljavajući terapijski odgovor bili su podložniji razvoju VTE (183). Ovaj rezultat je u skladu sa objavljenim podacima koji potvrđuju povezanost između agresivnog limfoma i uznapredovalog stadijuma bolesti, što rezultira kraćim OS i većom stopom mortaliteta (145,184,188,208). Pored toga, u studiji *Dharmavaram* i sar. (176) negativan uticaj VTE na preživljavanje i mortalitet pokazan je i kod pacijenata sa DBKL i sa folikularnim NHL, s tim što kod drugog nije potvrđena statistička značajnost. Međutim, u jednom istraživanju (215) nije uočena razlika u OS između pacijenata sa limfomom koji su razvili VTE i pacijenata sa limfomom koji nisu razvili VTE. Biologija agresivnih limfoma ima presudan uticaj na razvoj težeg kliničkog toka bolesti. Štaviše, imunološka disregulacija kod pacijenata sa agresivnim podtipovima limfoma je verovatno u većoj meri izražena, te doprinosi riziku za razvoj VTE.

U našoj studiji, pacijenti koji su primali intenzivne hemioterapijske protokole prve terapijske linije ili „salvage“ hemioterapijske protokole su imali veću stopu razvoja VTE od onih koji su lečeni standardnim protokolima prve linije (R-CHOP, CHOP, ABVD) (183). Poznato je da je sama primena hemioterapije faktor rizika za razvoj VTE (85,142). Incidencija VTE bila je veća kod pacijenata sa limfomom koji su lečeni intenzivnim hemioterapijskim protokolima (148). Takođe, antraciklinski lekovi su povezani sa povećanim rizikom od razvoja VTE (155,176,216). U jednoj od novijih studija (217) nađeno je da je veći broj ciklusa hemioterapije povezan sa većim rizikom od razvoja VTE kod pacijenata sa limfomom. Naime, incidencija VTE kod pacijenata koji su primili više od 10 ciklusa hemioterapije bila je signifikantno veća u odnosu na pacijente koji su primili između 1-6 ciklusa hemioterapije. Ova opservacija je zabeležena u nekoliko istraživanja (155,218), i smatra se da je posledica efekta akumulacije hemioterapeutika za koje je poznato da imaju trombogene karakteristike (217). Intenzivni protokoli prve linije terapije se koriste za lečenje agresivnijih podtipova limfoma, a i intenzivni protokoli i agresivni podtipovi limfoma su potencijalni faktori rizika za razvoj VTE. Relapsirajući limfomi su skloni agresivnijem kliničkom toku, prvenstveno zbog biologije bolesti i razvoja i sticanja rezistentnih karakteristika tokom lečenja. Posledično se ti pacijenti uglavnom leče intenzivnijim ili „salvage“ hemioterapijskim režimima. Pored navedenog, ovi pacijenti često imaju i druge faktore rizika za razvoj VTE, poput lošeg performans statusa i uznapredovalog stadijuma bolesti, koji signifikantno doprinose povećanom riziku od razvoja VTE.

U saglasju sa dosadašnjim istraživanjima (168,219), KS nije pokazao zadovoljavajuće prediktivne performanse za razvoj VTE kod pacijenata sa limfomom. Stoga sve više prevladava promena paradigme ka modelima procene rizika za razvoj tromboze koji su dizajnirani specifično za određenu bolest. Naime, ovakvi RAM imaju bolje prediktivne performanse jer obuhvataju varijable koje su specifične za određenu bolest i za koje je poznato da doprinose povećanom riziku za razvoj događaja od interesa, u ovom slučaju VTE. Primer RAM koji je dizajniran specifično za određenu bolest je ThroLy skor za procenu rizika razvoja tromboza kod pacijenata sa limfomom (157).

Navedeni rezultati koji govore u prilog aktivirane inflamacije kod pacijenata sa limfomom i povezanosti iste sa rizikom od razvoja VTE kod ove grupe pacijenata, otvaraju potencijalnu mogućnost primene antiinflamatornih lekova u grupi visokog rizika za razvoj VTE. Naravno, za ispitivanje ove pretpostavke neophodne su adekvatno dizajnirane randomizovane kliničke studije koje bi pružile odgovor na ovu pretpostavku.

U prospektivnom delu istraživanja, fokus je stavljen na grupu pacijenata sa agresivnim limfomom, tačnije DBKL. U ovoj grupi pacijenata, ukupna koncentracija Annexin V+ EV bila je

statistički značajno veća od koncentracije Annexin V+ EV kod zdravih kontrola. Statistički signifikantno veće koncentracije TF+ EV, TF+ PEV, TF+ P-selektin EV, TF+ E-selektin EV, EV porekla DBKL/B-ćelijske populacije i TF+ EV porekla DBKL/B-ćelijske populacije su nađene u grupi pacijenata sa DBKL u odnosu na koncentracije EV pomenutih obrazaca kod zdravih kontrola. U poređenju grupa pacijenata sa DBKL i VTE odnosno bez VTE, kao i u poređenju sa ishodom ukupnog preživljavanja, nisu uočene statistički značajne razlike u koncentraciji prethodno pomenutih EV. EV predstavljaju vrlo aktivno naučno polje istraživanja, uz izraženu heterogenost, pre svega, u aspektu metodologije, i to u svim segmentima obrade EV: izolaciji, preparaciji, purifikaciji i analizi EV. Posebno je izražena heterogenost u analizi EV jer se koriste sve navedene metode: protočna citometrija, analiza praćenja nanočestica, *Western-blot*, sekvenciranje nove generacije (*next generation sequencing*), elektronska mikroskopija (135,220–225). Sve pomenute metode imaju svoje prednosti i mane, razlike u zastupljenosti, u ceni, u kompleksnosti same metode ali i u interpretaciji rezultata. Sledeći nivo heterogenosti su funkcionalni testovi za EV, poput koagulacione funkcije (vreme zgrušavanja, generisanje trombina), fibrinolize (generisanje trombina), ćelijskih funkcija (226–229). Navedeni faktori pojedinačno i zajedno utiču na rezultate istraživanja i posledične zaključke koji iz njih proizilaze. Međutim, i pored izražene metodološke heterogenosti, rezultati dobijeni jednom metodom se najčešće uspešno reprodukuju drugom metodom, potvrđujući testirane hipoteze. Koncentracija EV kod pacijenata sa malignitetom je oko 2 puta veća u odnosu na zdrave kontrole (230). Razlog za ovu pojavu nije u potpunosti razjašnjen, ali je poznato da je veći broj proteina i lipida, koji imaju ulogu u formiranju EV, povišen kod različitih maligniteta (134,135). Ovaj rezultat je u saglasnosti sa našim o povećanoj ukupnoj koncentraciji EV kod pacijenata sa DBKL. Karakterizacijom EV porekla DBKL su se bavili *Rutherford* i sar. (231) u svojoj studiji. Sproveli su istraživanje na 5 komercijalnih ćelijskih linija DBKL ABC i GCB podtipa, primarnom DBKL uzorkovanom od obolelih i kontrolnoj normalnoj B-ćelijskoj liniji. U skladu sa našim rezultatom je nalaz CD20+ EV porekla DBKL. Dodatno, oni su potvrdili da se analizom EV porekla DBKL može steći uvid u „*cell of origin*“. Ćelije DBKL su sekretovale značajne koncentracije CD63, Alix, TSG101 i CD81 EV. Posebnu pažnju su posvetili RNK sadržaju EV porekla DBKL. Naime, potvrdili su da je analizom RNK iz EV porekla DBKL moguće utvrditi mutacioni profil ćelija odnosno tumora koji ih proizvode. S obzirom da EV cirkulišu kroz organizam i da se mogu relativno lako izdvojiti iz periferne krvi, očekivano je da analiza EV može da pruži važne informacije o praćenju bolesti ali i da potencijalno ima implikacije na donošenje terapijskih odluka vezanih za DBKL. U još jednoj studiji (232) koja se takođe bavila EV kod pacijenata sa DBKL i zdravih kontrola, identifikovana je značajna razlika u proteomu EV između DBKL i zdravih kontrola u kvalitativnoj, kvantitativnoj i funkcionalnoj analizi. Što se tiče poređenja sa našim rezultatima, koristili su različite markere te direktna komparacija nije moguća. Identifikovali su značajno veću koncentraciju CD9+ i CD81+ EV u plazmi pacijenata sa DBKL u odnosu na zdrave kontrole. Pored značajne razlike u ekspresiji velikog broja različitih proteina između DBKL i zdravih kontrola, interesantan podatak je povećana ekspresija proteina u KEGG putu karakterističnom za sistemski eritemski lupus. Ovaj podatak dodatno može uticati na aktivaciju inflamacije u limfomima.

Pretpostavka je da EV porekla tumora koje eksprimiraju TF doprinose i da su povezane sa razvojem VTE (233). Transmembranski protein TF, koji je glavni inicijator koagulacije, prekomerno je eksprimiran u različitim tipovima maligniteta i može podstaći rast tumora i metastaza (234,235). U korelaciji sa navedenom činjenicom su i naši rezultati, gde je ukupna koncentracija TF+ EV bila veća kod pacijenata sa DBKL u odnosu na zdrave kontrole. Međutim, konkretna komparacija

rezultata nije moguća jer nismo identifikovali studije koje su se do sada bavile ukupnim brojem EV kod pacijenata sa DBKL, a takođe do sada nije rađena karakterizacija profila navedenih EV: TF+ PEV, TF+ P-selektin EV, TF+ E-selektin EV, TF+ EV porekla DBKL/B-ćelijske populacije. U studiji *van Es* i sar. (236), koja je uključila pacijente sa različitim vrstama maligniteta u uznapredovalom stadijumu bolesti (jednjak, pluća, kolon, pankreas, dojka, želudac, jajnik, prostata, mokraćna bešika), testom generisanja trombina potvrđeno je da je visoka EV-TF prokoagulantna aktivnost bila povezana sa povećanim rizikom od razvoja VTE. Najjača povezanost opservirana je kod pacijenata sa tumorom pankreasa, kod kojih je uočena i povezanost sa lošijom stopom preživljavanja (237). Takođe u preglednom radu *Geddings* i sar. (238), navedena je povezanost nekolicine različitih maligniteta kod kojih su TF+ EV (odnosno mikropartikule) povezane sa povišenim rizikom za razvoj VTE. Metodom imunohistohemije, rezultati ekspresije TF kod pacijenata sa limfoidnim malignitetima nisu u potpunosti razjašnjeni. Naime, u jednoj publikaciji (239) ističe se da ekspresija TF kod limfoma ne potiče od malignih ćelija jer iste ne ekspimiraju TF, dok se u jednoj nedavno publikovanoj studiji (240) navodi da je ekspresija TF vrlo izražena u DBKL. Prema našim rezultatima, iako je nađena razlika u koncentraciji TF+ EV kod pacijenata sa DBKL i zdravih kontrola, nije nađena statistički značajna razlika u koncentraciji TF+ EV između pacijenata sa DBKL u odnosu na VTE. Jedan od potencijalnih razloga ovakvog rezultata je veličina uzorka našeg prospektivnog istraživanja, te bi na većem uzorku performanse statističkih testova bile neupitno senzitivnije i specifičnije, što bi rezultiralo jačim nivoom statističkih dokaza. Izostanak značajnosti po pitanju ishoda OS može biti posledica izostanka uticaja TF+ EV na razvoj VTE, ali takođe potencijalno može biti uzrokovana i dužinom prospektivnog praćenja pacijenata sa DBKL čija je medijana bila 32 meseca u našem istraživanju.

PEV se otpuštaju u cirkulaciju od trombocita prilikom aktivacije istih. Tačna koncentracija PEV u plazmi zdravih individua još uvek nije u potpunosti definisana ali se smatra da se nalazi u opsegu od 20 EV/ μ L do 10⁹ EV/ μ L (241,242). Zbog često složenog sadržaja koji prenose (proteini, lipidi, metaboliti, nukleinske kiseline), PEV učestvuju u različitim patološkim procesima kao što su angiogeneza, tumori, kardiovaskularne bolesti ili inflamacija (135). Naši rezultati govore u prilog statistički značajno veće koncentracije TF+ PEV u plazmi pacijenata sa DBKL u poređenju sa zdravim kontrolama, dok nije nađena značajna razlika u koncentraciji TF+ PEV kod pacijenata sa DBKL i VTE u odnosu na pacijente sa DBKL bez VTE. Do sada ne postoje studije koje su ispitivale koncentraciju TF+ PEV kod pacijenata sa DBKL, ali je, pre svega, kod solidnih maligniteta potvrđena povećana koncentracija PEV (dojka, kolorektalni karcinom, tumor želuca, tumor pluća, oralni skvamocelularni karcinom) (243–248). U radu *Yamanaka* i sar. (249), u koji su uključeni pacijenti sa različitim malignitetima (od čega su 53 pacijenta imala dijagnozu limfoma), nađena je značajno veća koncentracija PEV kod pacijenata kod kojih je došlo do razvoja CAT u odnosu na pacijente bez CAT. U većem broju publikacija pokazano je da PEV mogu doprineti tumorskoj angiogenezi i rastu tumorskih ćelija u *in vitro* uslovima tako što obezbeđuju faktore rasta i receptore za faktore rasta (Flt1, VEGF receptor) (250–253). Sa druge strane, CAT i PEV je tema koja je do sada bila značajno aktuelnija i kojom se bavio veći broj istraživača. *Mallat* i sar. (254) su prokoagulantnu aktivnost PEV predominantno povezivali sa TF. Pored TF, glavni prokoagulantni mehanizam PEV je ekspozicija negativno naelektrisanih fosfolipida (npr. PS), koji stvaraju kompleksne veze sa Ca²⁺ jonima, koji dalje vezuju vitamin K zavisne faktore koagulacije. Na ovaj način se komponente koagulacione kaskade koncentrišu na površini negativno naelektrisanih membrana, što rezultira drastičnim povećanjem brzine proteolitičke konverzije i aktivacije faktora koagulacije. Dakle, PEV koji

ekspimiraju PS obezbeđuju površinu za stvaranje kompleksa tenaze i protrombinaze, čime su direktno uključeni u proces koagulacije, što implicira uzročnu vezu između povećane koncentracije PEV i razvoja tromboze (135,255). Koncentracija PEV bila je niža u plazmi pacijenata sa DVT na dijagnozi, dok je koncentracija PEV imala tendenciju porasta kod istih pacijenata u periodu 1-3 godine nakon obustavljanja primene varfarina (256). U pedijatrijskoj populaciji pacijenata sa akutnom limfoblastnom leukemijom, tokom indukcione faze lečenja, primećen je porast broja EV dominantno na račun PEV, a pokazana je i prokoagulantna aktivnost EV odnosno PEV (257). S obzirom na gore navedene rezultate, iako je koncentracija TF+ PEV povećana kod pacijenata sa DBKL, činjenica da se koncentracija TF+ PEV ne razlikuje kod DBKL pacijenata sa i bez VTE može biti refleksija ukupnog rezultata TF+ EV u ovim subpopulacijama pacijenata. Pored limitacije u vidu broja pacijenata uključenih u prospektivni deo istraživanja, navedeni rezultati mogu ići u prilog ograničenoj funkciji TF+ EV odnosno PEV u patofiziološkim mehanizmima razvoja VTE kod pacijenata sa DBKL. Dodatna istraživanja u ovom pravcu su neophodna radi razjašnjenja i dobijanja adekvatnih naučnih saznanja.

Povećane koncentracije TF+ P-selektin EV i TF+ E-selektin EV opservirane su u grupi pacijenata sa DBKL u odnosu na zdrave kontrole, dok nije uočena značajna razlika u koncentraciji ovih EV po pitanju VTE u grupi pacijenata sa DBKL. P-selektin je transmembranski protein kojeg proizvode megakariociti i endotelne ćelije, i nalazi se u alfa granulama trombocita odnosno u Vajbel-Paladijevim telašcima u endotelnim ćelijama (258). Glavi ligand za P-selektin je PSGL-1 koji se nalazi na većini leukocita, a P-selektin se vezuje i za glikoprotein 1b na trombocitima, na ovaj način P-selektin facilitira leukocitnu i trombocitnu adheziju. Nadalje, P-selektin trigeruje otpuštanje prokoagulantnih mikropartikula (259) i povećava ekspresiju TF na monocitima (260), a sve navedeno zajedno povećava rizik od razvoja tromboze (261). Inicijalno ispitivan u animalnim modelima (262), a potom je potvrđeno i u istraživanjima na humanoj populaciji da membranski P-selektin primarno doprinosi patogenezi DVT, dok solubilni P-selektin služi kao biomarker za VTE (261,263–265). E-selektin je takođe regulator formiranja tromba. Radi o glikoproteinu koji je ekspimiran na ćelijama endotela, a facilitira nastanak tromba direktno modulišući neutrofilnu i monocitnu aktivnost. Zajedno sa P-selektinom regrutuje leukocite na mesto inflamacije (261,266). Poput P-selektina, E-selektin je takođe povezan sa razvojem VTE (261). Pored VTE, P-selektin je povezan i sa arterijskim trombozama (267). Broj publikacija na temu EV P-selektin i EV E-selektin pozitivnih kod pacijenata sa malignitetom je vrlo ograničen, a prema našim saznanjima do sada ne postoje radovi koji su se bavili TF+ P-selektin EV i E-selektin EV. Nešto više je naučnih saznanja i podataka prisutno za EV koje ekspimiraju PSGL-1. *Thomas i sar.* (268) pokazali su da ćelije tumora pankreasa i tumora pluća proizvode EV koje ekspimiraju TF i PSGL-1, i na humanom i na animalnom modelu *in vitro*. *In vivo*, EV porekla ćelija maligniteta, ubrizgane u živog miša, akumuliraju se na mestu povrede i smanjuju vreme krvarenja iz repa i vreme do okluzije venula i arteriola. Dominantan mehanizam kojim se EV porekla tumorskih ćelija akumuliraju na mestu formiranja tromba je putem interakcija između PSGL-1 ekspimiranog na površini EV i P-selektina ekspimiranog na aktiviranim trombocitima i endotelnim ćelijama. Ovakvo protrombotičko stanje je takođe primećeno kod miševa koji obolevaju od maligniteta. Kod takvih miševa povećana je koncentracija cirkulišućih EV porekla trombocita, endotelnih ćelija i tumorskih ćelija (268). U studiji koja je uključila pacijente sa neprovociranom VTE (bez dijagnoze maligniteta) (269), nađeno je da je koncentracija PSGL-1+ EV u plazmi povezana sa rizikom od razvoja neprovocirane VTE. S obzirom na izuzetno oskudne podatke u literaturi praktično je nemoguće porediti naše rezultate i tumačiti ih u širem aspektu. Limitacije koje

su prethodno navedene (veličina uzorka, dužina prospektivnog praćenja pacijenata) važe i za rezultate izostanka značajnosti razlike u koncentraciji TF+ P- selektin EV i TF+ E-selektin EV kod pacijenata sa DBKL sa odnosno bez VTE, kao i razlike u ishodu OS. Takođe, izostanak razlike u koncentraciji TF+ P- selektin EV i TF+ E-selektin EV kod DBKL pacijenata sa odnosno bez VTE može biti uzrokovana izostankom razlike u koncentraciji TF+ EV između ove dve grupe pacijenata.

Interpretacija OHP analize i nivoa D-dimera u prospektivno praćenoj grupi pacijenata sa DBKL sa odnosno bez VTE je bila značajno limitirana skromnom veličinom uzorka pacijenata, iako su u deskriptivnoj obradi podataka uočene numeričke razlike u vrednosti D-dimera. D-dimer predstavlja globalni marker aktivacije koagulacionog i fibrinolitičkog sistema, koji se već istorijski koristi kao nezaobilazan biomarker primarno za isključivanje trombotičkih događaja, ali se takođe koristi i u dijagnostici aortne disekcije i diseminovane intravaskularne koagulacije (DIK) (270). Negativnu prognostičku snagu D-dimera za dijagnozu DVT potvrdili su *Wells* i sar. (271), a potom se ista potvrdila za sve entitete VTE (272,273). Postoji veliki broj oboljenja i stanja koja su povezana sa povećanim nivoom D-dimera, a da se ne radi o VTE: inflamacija, DIK, godine starosti, hirurške intervencije, traume/opekotine, aortna disekcija, malignitet, infekcija/sepsa, trudnoća, ciroza jetre, trombolitička terapija, bubrežna insuficijencija, kardiovaskularne bolesti (270,274–283). Međutim i pored navedenih limitacija, uključujući i često izostanak standardizacije metode, D-dimer je suveren biomarker za isključivanje trombotičkih događaja i danas se rutinski koristi u te svrhe (270). U CATS skor za procenu rizika za CAT inkorporiran je D-dimer kao jedna od dve varijable (druga varijabla je lokacija maligniteta) (284). CATS kohorta ovog skora uključila je 17% pacijenata sa dijagnozom limfoma, sa C-statistikom od 0,66. U gotovo svim istraživanjima koja su se bavila incidencijom VTE kod pacijenata sa DBKL, nivo D-dimera nije bio jedan od ciljeva istraživanja. Naime, razlog tome je da su istraživanja uglavnom bila retrospektivna i da analiza D-dimera nije rutinski rađena. Iako je u deskripciji podataka uočena numerička razlika nivoa D-dimera u prospektivno praćenoj grupi DBKL pacijenata sa i bez VTE, adekvatno statističko zaključivanje nije moguće učiniti zbog malog uzorka pacijenata. Smatramo da bi razlika u vrednosti D-dimera između ove dve grupe pacijenata bila identifikovana i statistički potvrđena ukoliko bi istraživanje bilo sprovedeno na većem uzorku pacijenata.

OHP je koncipiran tako da ima sposobnost da detektuje kako hiperkoagulabilna tako i hipokoagulabilna stanja, a takođe se može koristiti za monitoring antikoagulantne i antiagregacione terapije (180). Deskriptivni rezultati u našoj podgrupi pacijenata sa DBKL pokazali su nešto više vrednosti OHP i niže vrednosti OFP kod jedinog pacijenta sa DBKL i VTE u poređenju sa DBKL pacijentima bez VTE, dok je medijana OCP veća kod DBKL pacijenata bez VTE u poređenju sa pacijentom sa VTE. Prema našim saznanjima, OHP analiza do sada nije rađena kod pacijenata sa DBKL niti kod pacijenata sa limfomom. U prospektivnoj pilot studiji (285), koja je bila fokusirana na pacijente sa multiplim mijelomom (MM), *smoldering* mijelomom (SM) i monoklonskoj gamapatiji neodređenog značaja (MGUS), nije nađena značajna razlika u OHP između pacijenata sa MM/SM/MGUS i zdravih kontrola. Tokom praćenja u trajanju od 14 meseci, OHP je bio statistički veći i OFP statistički niži kod pacijenata koji su razvili arterijsku trombozu, dok razlike nije bilo kod pacijenata sa VTE. Postoji niz publikacija u kojima su testirane performanse ovog testa u protrombotičkim stanjima kod nekancerskih pacijenata, kako u fiziološkim tako i patološkim stanjima. OHP testom je detektovano prokoagulantno stanje tokom kontrolisane ovarijalne hiperstimulacije za *in vitro* fertilizaciju (286). Narušen hemostatski balans u trombogenom pravcu kod žena sa prethodnom VTE potvrđen je OHP analizom (287). Kod pacijentkinja koje su imale

rezistenciju na aktivirani protein C ili faktor V *Leiden* mutaciju, disbalans OHP u prokoagulantnom smeru (kraće vreme zgrušavanja i duže vreme lize ugruška) bio je još izraženiji u odnosu na pacijentkinje bez navedenih abnormalnosti. Nedavno publikovan rad *McLeod* i sar. (288) daje još jedan novi upotrebn aspekt OHP. Naime, ova pilot studija sugerše da OHP analiza, kod pacijenata koji su još uvek na antikoagulantnoj terapiji, ima prognostičku snagu po pitanju razvoja post-trombotičkog sindroma, te na ovaj način OHP može biti od koristi u izboru i primeni preventivnih mera kod ove grupe pacijenata. Još interesantniji rezultat je dobijen u studiji istih autora (289) gde su pokazali da se OHP testom može detektovati hiperkoagulabilno i hipofibrinolitičko stanje kod pacijenata sa VTE dok primaju terapijske doze antikoagulantne terapije te se na taj način može stratifikovati rizik za rekurentnu VTE, omogućavajući individualizaciju odluke o dugotrajnoj antikoagulantnoj terapiji. Bitan podatak iz ove pilot studije je da je OCP imao bolje performanse od D-dimera u predikciji neprovocirane rekurentne VTE (ROC AUC 0,71 vs. 0,43). Još jedna značajna potvrda snage OHP analize u detekciji hiperkoagulabilnog stanja pokazana je u publikaciji *Curnow* i sar. (290), koji su sprovedeli istraživanje na heterogenoj grupi pacijenata sa kliničkim hiperkoagulabilnim stanjem (arterijske tromboze, VTE, autoimune bolesti, komplikacije u trudnoći, antifosfolipidna antitela itd.). Procenjena senzitivnost OHP testa za detekciju klinički definisanog hiperkoagulabilnog stanja bila je čak 96%. Slični rezultati su dobijeni i u animalnim modelima (pas, miš) (291–293). Pandemija COVID-19 bila je odličan povod za još jedno testiranje OHP analize, pre svega zbog poznate koagulopatije u ovoj infekciji. Nađeno je da je kod COVID-19 pacijenata pre svega poremećena fibrinoliza (294), tačnije OHP analizom su potvrđene prethodne opservacije poremećene fibrinolize kao jedan od faktora patogeneze koagulopatije u ovoj infekciji (295,296). OHP je takođe korišćena za karakterizaciju različitih hiperkoagulabilnih stanja (koronarna bolest i revaskularizaciona hirurgija, ortopedska trauma, shizofrenija, *sleep apnea*) (293,297–301). Identifikovali smo jednu publikaciju (302) koja na opštoj populaciji nije pronašla značajnu razliku u vrednostima OHP kod pacijenata sa VTE i pacijenata bez VTE. S obzirom na limitaciju malim uzorkom pacijenata, nije moguće sprovesti adekvatnu interpretaciju statističkih testova u poređenju naše grupe pacijenata sa DBKL u odnosu na VTE. Imajući u vidu do sada publikovane podatke i deskriptivne rezultate naše analize, sprovođenje OHP analize na većem uzorku pacijenata, po mogućnosti prospektivnog dizajna, je neophodan preduslov za izvođenje zaključaka o ovom perspektivnom alatu za dijagnostiku hiperkoagulabilnih stanja.

6. ZAKLJUČCI

1. Biomarkeri inflamacije, a pre svega NLR i CRP, povezani su sa povišenim rizikom od razvoja VTE kod pacijenata sa limfomom koji su lečeni (imuno)hemioterapijom. Disregulacija inflamacije igra značajnu ulogu u razvoju VTE u ovoj grupi pacijenata. Lako dostupni markeri inflamacije mogu adekvatno da reflektuju nivo inflamacije i stratifikuju pacijente koji su u povećanom riziku za razvoj VTE.
2. Nezadovoljavajući terapijski odgovor na (imuno)hemioterapiju bio je povezan sa razvojem VTE kod pacijenata sa limfomom. Kompletna remisija bila je ređa kod pacijenata sa limfomom koji su razvili VTE nego kod onih koji nisu razvili VTE. Pacijenti sa limfomom kojima su ordinirani intenzivni protokoli u prvoj liniji lečenja ili „*salvage*“ protokoli, imali su veću stopu VTE u odnosu na pacijente sa limfomom koji su lečeni standardnim protokolima prve terapijske linije.
3. U grupi pacijenata sa DBKL koja je prospektivno praćena, ukupna koncentracija Annexin V+ EV signifikantno je bila veća od koncentracije Annexin V+ EV kod zdravih kontrola. Dodatnom karakterizacijom profila EV, nađene su signifikantno veće koncentracije TF+ EV, TF+ PEV, TF+ P-selektin EV, TF+ E-selektin EV, EV porekla DBKL/B-ćelijske populacije i TF+ EV porekla DBKL/B-ćelijske populacije u grupi pacijenata sa DBKL u odnosu na koncentracije EV pomenutih obrazaca kod zdravih kontrola. U poređenju grupa pacijenata sa DBKL i VTE odnosno bez VTE nisu uočene statistički značajne razlike u koncentraciji gore pomenutih EV. Interpretacija rezultata OHP analize i nivoa D-dimera kod pacijenata sa DBKL sa odnosno bez VTE je bila značajno limitirana malim uzorkom pacijenata.

7. LITERATURA

1. Armitage JO, Gascoyne RD, Lunning MA, Cavalli F. Non-Hodgkin lymphoma. *Lancet* (London, England). 2017;390(10091):298–310.
2. Bowzyk Al-Naeef A, Ajithkumar T, Behan S, Hodson DJ. Non-Hodgkin lymphoma. *BMJ*. 2018;362:k3204.
3. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, Attygalle AD, Araujo IB de O, Berti E, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. *Leukemia*. 2022;36(7):1720–48.
4. Campo E, Jaffe ES, Cook JR, Quintanilla-Martinez L, Swerdlow SH, Anderson KC, et al. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: A Report from the Clinical Advisory Committee. *Blood*. 2022;
5. National Cancer Institute; Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program. [Internet]. 2022.
6. Cancer Research UK [Internet]. 2022.
7. Ansell SM. Non-Hodgkin Lymphoma: Diagnosis and Treatment. *Mayo Clin Proc*. 2015;90(8):1152–63.
8. Chiu BC-H, Hou N. Epidemiology and etiology of non-hodgkin lymphoma. *Cancer Treat Res*. 2015;165:1–25.
9. Grogg KL, Miller RF, Dogan A. HIV infection and lymphoma. *J Clin Pathol*. 2007;60(12):1365–72.
10. Re A, Cattaneo C, Rossi G. Hiv and Lymphoma: from Epidemiology to Clinical Management. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2019;11(1):e2019004.
11. Shiels MS, Cole SR, Wegner S, Armenian H, Chmiel JS, Ganesan A, et al. Effect of HAART on incident cancer and noncancer AIDS events among male HIV seroconverters. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2008;48(4):485–90.
12. Thandra KC, Barsouk A, Saginala K, Padala SA, Barsouk A, Rawla P. Epidemiology of Non-Hodgkin's Lymphoma. *Med Sci (Basel, Switzerland)*. 2021;9(1).
13. Suarez F, Lecuit M. Infection-associated non-Hodgkin lymphomas. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. 2015;21(11):991–7.
14. Foster WR, Bischin A, Dorer R, Aboulafia DM. Human Herpesvirus Type 8-associated Large B-cell Lymphoma: A Nonserous Extracavitary Variant of Primary Effusion Lymphoma in an HIV-infected Man: A Case Report and Review of the Literature. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2016;16(6):311–21.
15. Dal Maso L, Franceschi S. Hepatitis C virus and risk of lymphoma and other lymphoid neoplasms: a meta-analysis of epidemiologic studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev a Publ Am Assoc Cancer Res cosponsored by Am Soc Prev Oncol*. 2006;15(11):2078–85.
16. Melenotte C, Mezouar S, Mège J-L, Gorvel J-P, Kroemer G, Raoult D. Bacterial infection and non-Hodgkin's lymphoma. *Crit Rev Microbiol*. 2020;46(3):270–87.
17. Violeta Filip P, Cuciureanu D, Sorina Diaconu L, Maria Vladareanu A, Silvia Pop C. MALT lymphoma: epidemiology, clinical diagnosis and treatment. *J Med Life*. 2018;11(3):187–93.
18. Biernat MM, Wróbel T. Bacterial Infection and Non-Hodgkin B-Cell Lymphoma: Interactions between Pathogen, Host and the Tumor Environment. *Int J Mol Sci*. 2021;22(14).
19. Huang Y, Cao D, Chen Z, Chen B, Li J, Guo J, et al. Red and processed meat consumption

- and cancer outcomes: Umbrella review. *Food Chem.* 2021;356:129697.
20. Hidayat K, Li H-J, Shi B-M. Anthropometric factors and non-Hodgkin's lymphoma risk: systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2018;129:113–23.
 21. Ali A, Al-Belushi BS, Waly MI, Al-Moundhri M, Burney IA. Dietary and lifestyle factors and risk of non-hodgkin's lymphoma in Oman. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2013;14(2):841–8.
 22. Koutros S, Harris SA, Spinelli JJ, Blair A, McLaughlin JR, Zahm SH, et al. Non-Hodgkin lymphoma risk and organophosphate and carbamate insecticide use in the north American pooled project. *Environ Int.* 2019;127:199–205.
 23. Smith MR. Non-Hodgkin's lymphoma. *Curr Probl Cancer.* 1996;20(1):6–77.
 24. Connors JM, Cozen W, Steidl C, Carbone A, Hoppe RT, Flechtner HH, et al. Hodgkin lymphoma. *Nat Rev Dis Prim* 2020 61. 2020;6(1):1–25.
 25. Shanbhag S, Ambinder RF. Hodgkin lymphoma: A review and update on recent progress. *CA Cancer J Clin.* 2017/12/01. 2018;68(2):116–32.
 26. Hartmann S, Eichenauer DA. Nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma: pathology, clinical course and relation to T-cell/histiocyte rich large B-cell lymphoma. *Pathology.* 2020;52(1):142–53.
 27. Hartmann S, Eichenauer DA, Plütschow A, Mottok A, Bob R, Koch K, et al. The prognostic impact of variant histology in nodular lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma: a report from the German Hodgkin Study Group (GHSG). *Blood.* 2013;122(26):4246–52.
 28. Bröckelmann PJ, Eichenauer DA, Jakob T, Follmann M, Engert A, Skoetz N. Hodgkin Lymphoma in Adults. *Dtsch Arztebl Int.* 2018;115(31–32):535–40.
 29. Mathas S, Hartmann S, Küppers R. Hodgkin lymphoma: Pathology and biology. *Semin Hematol.* 2016;53(3):139–47.
 30. Schnitzer B. Hodgkin Lymphoma. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2009;23(4):747–68.
 31. Gobbi PG, Ferreri AJM, Ponzoni M, Levis A. Hodgkin lymphoma. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2013;85(2):216–37.
 32. Carbone A, Tripodo C, Carlo-Stella C, Santoro A, Gloghini A. The role of inflammation in lymphoma. *Adv Exp Med Biol.* 2014;816:315–33.
 33. Mcaulay KA, Jarrett RF. Human leukocyte antigens and genetic susceptibility to lymphoma. *Tissue Antigens.* 2015;86(2):98–113.
 34. Goldman L, Schafer A. *Goldman-Cecil Medicine E-Book.* (26th Edition). Elsevier - OHCE; 2019.
 35. Wang HW, Balakrishna JP, Pittaluga S, Jaffe ES. Diagnosis of Hodgkin lymphoma in the modern era. *Br J Haematol.* 2019;184(1):45–59.
 36. Lichtman MA, Kaushansky K, Prchal JT, Levi MM, Burns LJ, Armitage J. *Williams Manual of Hematology, Ninth Edition* [Internet]. McGraw-Hill Education; 2017.
 37. Atkinson K, Austin DE, McElwain TJ, Peckham MJ. Alcohol pain in Hodgkin's disease. *Cancer.* 1976;37(2):895–9.
 38. Eichenauer DA, Aleman BMP, André M, Federico M, Hutchings M, Illidge T, et al. Hodgkin lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2018;29:iv19–29.
 39. Grulich AE, Vajdic CM, Cozen W. Altered immunity as a risk factor for non-Hodgkin lymphoma. *Cancer Epidemiol biomarkers Prev a Publ Am Assoc Cancer Res cosponsored by Am Soc Prev Oncol.* 2007;16(3):405–8.

40. Smedby KE, Baecklund E, Askling J. Malignant lymphomas in autoimmunity and inflammation: a review of risks, risk factors, and lymphoma characteristics. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006;15(11):2069–77.
41. Thieblemont C, Bertoni F, Copie-Bergman C, Ferreri AJM, Ponzoni M. Chronic inflammation and extra-nodal marginal-zone lymphomas of MALT-type. *Semin Cancer Biol.* 2014;24:33–42.
42. Baecklund E, Smedby KE, Sutton LA, Askling J, Rosenquist R. Lymphoma development in patients with autoimmune and inflammatory disorders - What are the driving forces α . *Semin Cancer Biol.* 2014;24:61–70.
43. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature.* 2008;454(7203):436–44.
44. Vendrame E, Martínez-Maza O. Assessment of pre-diagnosis biomarkers of immune activation and inflammation: insights on the etiology of lymphoma. *J Proteome Res.* 2011;10(1):113–9.
45. Pasqualucci L, Neumeister P, Goossens T, Nanjangud G, Chaganti RSK, Küppers R, et al. Hypermutation of multiple proto-oncogenes in B-cell diffuse large-cell lymphomas. *Nature.* 2001;412(6844):341–6.
46. Shaffer AL, Rosenwald A, Staudt LM. Lymphoid malignancies: The dark side of B-cell differentiation. *Nat Rev Immunol.* 2002;2(12):920–32.
47. Küppers R. Mechanisms of B-cell lymphoma pathogenesis. *Nat Rev Cancer* 2005 54. 2005;5(4):251–62.
48. Makgoeng SB, Bolanos RS, Jeon CY, Weiss RE, Arah OA, Breen EC, et al. Markers of Immune Activation and Inflammation, and Non-Hodgkin Lymphoma: A Meta-Analysis of Prospective Studies. *JNCI Cancer Spectr.* 2018;2(4):1–13.
49. Bertolini JN, Benson EM. The role of human interleukin-6 in B-cell isotype regulation and differentiation. *Cell Immunol.* 1990;125(1):197–209.
50. Hunter CA, Jones SA. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. *Nat Immunol.* 2015;16(5):448–57.
51. Rothman N, Skibola CF, Wang SS, Morgan G, Lan Q, Smith MT, et al. Genetic variation in TNF and IL10 and risk of non-Hodgkin lymphoma: a report from the InterLymph Consortium. *Lancet Oncol.* 2006;7(1):27–38.
52. Levin LI, Breen EC, Birmann BM, Batista JL, Magpantay LI, Li Y, et al. Elevated Serum Levels of sCD30 and IL6 and Detectable IL10 Precede Classical Hodgkin Lymphoma Diagnosis. *Cancer Epidemiol biomarkers Prev a Publ Am Assoc Cancer Res cosponsored by Am Soc Prev Oncol.* 2017;26(7):1114–23.
53. Cortes J, Kurzrock R. Interleukin-10 in non-Hodgkin's lymphoma. *Leuk Lymphoma.* 1997;26(3–4):251–9.
54. Bazzoni F, Beutler B. The tumor necrosis factor ligand and receptor families. *N Engl J Med.* 1996;334(26):1717–25.
55. Husson H, Lugli SM, Ghia P, Cardoso A, Roth A, Brohmi K, et al. Functional effects of TNF and lymphotoxin alpha1beta2 on FDC-like cells. *Cell Immunol.* 2000;203(2):134–43.
56. D'mello KP, Zhao L, Kaser EC, Zhu Z, Xiao H, Wakefield MR, et al. The role of interleukins and the widely studied TNF- α in non-Hodgkin's lymphoma. *Med Oncol.* 2021;38(5).
57. Ansel KM, Ngo VN, Hyman PL, Luther SA, Förster R, Sedgwick JD, et al. A chemokine-

- driven positive feedback loop organizes lymphoid follicles. *Nature*. 2000;406(6793):309–14.
58. Reif K, Ekland EH, Ohl L, Nakano H, Lipp M, Förster R, et al. Balanced responsiveness to chemoattractants from adjacent zones determines B-cell position. *Nature*. 2002;416(6876):94–9.
 59. Charbonneau B, Wang AH, Maurer MJ, Asmann YW, Zent CS, Link BK, et al. CXCR5 polymorphisms in non-Hodgkin lymphoma risk and prognosis. *Cancer Immunol Immunother*. 2013;62(9):1475–84.
 60. Widney DP, Gui D, Popoviciu LM, Said JW, Breen EC, Huang X, et al. Expression and Function of the Chemokine, CXCL13, and Its Receptor, CXCR5, in Aids-Associated Non-Hodgkin's Lymphoma. *AIDS Res Treat*. 2010;2010.
 61. Hussain SK, Zhu W, Chang SC, Breen EC, Vendrame E, Magpantay L, et al. Serum levels of the chemokine CXCL13, genetic variation in CXCL13 and its receptor CXCR5, and HIV-associated non-hodgkin B-cell lymphoma risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2013;22(2):295–307.
 62. Gordon J. CD23 and B cell activation. *Clin Exp Allergy*. 1992;22(2):199–204.
 63. Schroeder JR, Saah AJ, Hoover DR, Margolick JB, Ambinder RF, Martinez-Maza O, et al. Serum soluble CD23 level correlates with subsequent development of AIDS-related non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer Epidemiol biomarkers Prev a Publ Am Assoc Cancer Res cosponsored by Am Soc Prev Oncol*. 1999;8(11):979–84.
 64. Höpken UE, Rehm A. Targeting the Tumor Microenvironment of Leukemia and Lymphoma. *Trends in cancer*. 2019;5(6):351–64.
 65. Scott DW, Gascoyne RD. The tumour microenvironment in B cell lymphomas. *Nat Rev Cancer* 2014 148. 2014;14(8):517–34.
 66. Özbek S, Balasubramanian PG, Chiquet-Ehrismann R, Tucker RP, Adams JC. The evolution of extracellular matrix. *Mol Biol Cell*. 2010;21(24):4300–5.
 67. Lu P, Weaver VM, Werb Z. The extracellular matrix: a dynamic niche in cancer progression. *J Cell Biol*. 2012;196(4):395–406.
 68. Khurana A, Ansell SM. Role of Microenvironment in Non-Hodgkin Lymphoma: Understanding the Composition and Biology. *Cancer J*. 2020;26(3):206–16.
 69. Kotlov N, Bagaev A, Revuelta M V., Phillip JM, Cacciapuoti MT, Antysheva Z, et al. Clinical and Biological Subtypes of B-cell Lymphoma Revealed by Microenvironmental Signatures. *Cancer Discov*. 2021;11(6):1468–89.
 70. Ahsen A, Ulu MS, Yuksel S, Demir K, Uysal M, Erdogan M, et al. As a new inflammatory marker for familial Mediterranean fever: neutrophil-to-lymphocyte ratio. *Inflammation*. 2013;36(6):1357–62.
 71. Kumarasamy C, Sabarimurugan S, Madurantakam RM, Lakhotiya K, Samiappan S, Baxi S, et al. Prognostic significance of blood inflammatory biomarkers NLR, PLR, and LMR in cancer—A protocol for systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98(24).
 72. Tamhane UU, Aneja S, Montgomery D, Rogers E-K, Eagle KA, Gurm HS. Association between admission neutrophil to lymphocyte ratio and outcomes in patients with acute coronary syndrome. *Am J Cardiol*. 2008;102(6):653–7.
 73. Templeton AJ, McNamara MG, Šeruga B, Vera-Badillo FE, Aneja P, Ocaña A, et al. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in solid tumors: A systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst*. 2014;106(6).

74. Zhou X, Du Y, Huang Z, Xu J, Qiu T, Wang J, et al. Prognostic value of PLR in various cancers: a meta-analysis. *PLoS One*. 2014;9(6):e101119–e101119.
75. Zhang X, Duan J, Wen Z, Xiong H, Chen X, Liu Y, et al. Are the Derived Indexes of Peripheral Whole Blood Cell Counts (NLR, PLR, LMR/MLR) Clinically Significant Prognostic Biomarkers in Multiple Myeloma? A Systematic Review And Meta-Analysis. *Front Oncol*. 2021;11.
76. Mazza MG, Lucchi S, Tringali AGM, Rossetti A, Botti ER, Clerici M. Neutrophil/lymphocyte ratio and platelet/lymphocyte ratio in mood disorders: A meta-analysis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2018;84(Pt A):229–36.
77. Serra R, Ielapi N, Licastro N, Provenzano M, Andreucci M, Bracale UM, et al. Neutrophil-to-lymphocyte Ratio and Platelet-to-lymphocyte Ratio as Biomarkers for Cardiovascular Surgery Procedures: A Literature Review. *Rev Recent Clin Trials*. 2021;16(2):173–9.
78. Zheng J, Cai J, Li H, Zeng K, He L, Fu H, et al. Neutrophil to Lymphocyte Ratio and Platelet to Lymphocyte Ratio as Prognostic Predictors for Hepatocellular Carcinoma Patients with Various Treatments: a Meta-Analysis and Systematic Review. *Cell Physiol Biochem*. 2017;44(3):967–81.
79. Erre GL, Paliogiannis P, Castagna F, Mangoni AA, Carru C, Passiu G, et al. Meta-analysis of neutrophil-to-lymphocyte and platelet-to-lymphocyte ratio in rheumatoid arthritis. *Eur J Clin Invest*. 2019;49(1).
80. Jiang Y, Xu D, Song H, Qiu B, Tian D, Li Z, et al. Inflammation and nutrition-based biomarkers in the prognosis of oesophageal cancer: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2021;11(9).
81. Wang Q, Ma J, Jiang Z ML. Prognostic value of neutrophil-to-lymphocyte ratio and platelet-to-lymphocyte ratio in acute pulmonary embolism: a systematic review and meta-analysis. *Int Angiol*. 2018;37:4–11.
82. Farah R, Nseir W, Kagansky D, Khamisy-Farah R. The role of neutrophil-lymphocyte ratio, and mean platelet volume in detecting patients with acute venous thromboembolism. *J Clin Lab Anal*. 2020;34(1):e23010.
83. Xue J, Ma D, Jiang J, Liu Y. Diagnostic and Prognostic Value of Immune/Inflammation Biomarkers for Venous Thromboembolism: Is It Reliable for Clinical Practice? *J Inflamm Res*. 2021;14:5059–77.
84. Yamamoto T, Kawada K, Obama K. Inflammation-Related Biomarkers for the Prediction of Prognosis in Colorectal Cancer Patients. *Int J Mol Sci*. 2021;22(15):8002.
85. Khorana AA, Francis CW, Culakova E, Kuderer NM, Lyman GH. Thromboembolism is a leading cause of death in cancer patients receiving outpatient chemotherapy. Vol. 5, *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. England; 2007. p. 632–4.
86. Hisada Y, Mackman N. Cancer-associated pathways and biomarkers of venous thrombosis. *Blood*. 2017;130(13):1499–506.
87. Kim AS, Khorana AA, McCrae KR. Mechanisms and biomarkers of cancer-associated thrombosis. *Transl Res*. 2020;225:33–53.
88. Ay C, Pabinger I, Cohen AT. Cancer-associated venous thromboembolism: Burden, mechanisms, and management. *Thromb Haemost*. 2017;117(2):219–30.
89. Blom JW, Vanderschoot JPM, Oostindiër MJ, Osanto S, van der Meer FJM, Rosendaal FR. Incidence of venous thrombosis in a large cohort of 66,329 cancer patients: results of a record linkage study. *J Thromb Haemost*. 2006;4(3):529–35.

90. Chew HK, Wun T, Harvey D, Zhou H, White RH. Incidence of venous thromboembolism and its effect on survival among patients with common cancers. *Arch Intern Med.* 2006;166(4):458–64.
91. Hisada Y, Mackman N. Cancer-associated pathways and biomarkers of venous thrombosis. *Blood.* 2017;130(13):1499–506.
92. Gade IL, Braekkan SK, Naess IA, Hansen J-B, Cannegieter SC, Overvad K, et al. The impact of initial cancer stage on the incidence of venous thromboembolism: the Scandinavian Thrombosis and Cancer (STAC) Cohort. *J Thromb Haemost.* 2017;15(8):1567–75.
93. Stein PD, Beemath A, Meyers FA, Skaf E, Sanchez J, Olson RE. Incidence of venous thromboembolism in patients hospitalized with cancer. *Am J Med.* 2006;119(1):60–8.
94. Fernandes CJ, CDS. Evolution in the management of non-small cell lung cancer in Brazil. Vol. 43, *Jornal brasileiro de pneumologia : publicacao oficial da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia.* 2017. p. 403–4.
95. Fernandes CJ, Morinaga LTK, Alves JL, Castro MA, Calderaro D, Jardim CVP, et al. Cancer-associated thrombosis: the when, how and why. *Eur Respir Rev.* 2019;28(151):180119.
96. Blom JW, Doggen CJM, Osanto S, Rosendaal FR. Malignancies, prothrombotic mutations, and the risk of venous thrombosis. *JAMA.* 2005;293(6):715–22.
97. Bouillaud S, Bouillaud J. De l’Obliteration des veines et de son influence sur la formation des hydropisies partielles: consideration sur la hydropisies passive et general. *Arch Gen Med.* 1823;1(2):188–204.
98. Mukai M, Oka T. Mechanism and management of cancer-associated thrombosis. *J Cardiol.* 2018;72(2):89–93.
99. Metharom P, Falasca M, Berndt MC. The history of armand trousseau and cancer-associated thrombosis. *Cancers (Basel).* 2019;11(2):2–5.
100. Dhama SPS, Patmore S, O’Sullivan JM, O’Sullivan JM. Advances in the Management of Cancer-Associated Thrombosis. *Semin Thromb Hemost.* 2021;47(2):139–49.
101. Falanga A, Russo L, Milesi V, Vignoli A. Mechanisms and risk factors of thrombosis in cancer. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2017;118(August):79–83.
102. Otašević V, Antić D, Mihaljević B. Venous thromboembolic complications in lymphoma patients. *Med Podml.* 2020;71(4):25–39.
103. Khorana AA. Cancer and thrombosis: Implications of published guidelines for clinical practice. *Ann Oncol.* 2009;20(10):1619–30.
104. Elyamany G, Alzahrani AM, Bukhary E. Cancer-associated thrombosis: An overview. *Clin Med Insights Oncol.* 2014;8:129–37.
105. Han X, Guo B, Li Y, Zhu B. Tissue factor in tumor microenvironment: A systematic review. *J Hematol Oncol.* 2014;7(1):1–8.
106. Girardi L, Wang T-F, Ageno W, Carrier M. Updates in the Incidence, Pathogenesis, and Management of Cancer and Venous Thromboembolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2023;43:824–31.
107. Mukai M, Oka T. Mechanism and management of cancer-associated thrombosis. *J Cardiol.* 2018;72(2):89–93.
108. Falanga A, Marchetti M, Vignoli A. Coagulation and cancer: biological and clinical aspects. *J Thromb Haemost.* 2013;11(2):223–33.
109. Palumbo JS, Talmage KE, Massari J V, La Jeunesse CM, Flick MJ, Kombrinck KW, et al.

- Platelets and fibrin(ogen) increase metastatic potential by impeding natural killer cell-mediated elimination of tumor cells. *Blood*. 2005;105(1):178–85.
110. Palacios-Acedo AL, Mège D, Crescence L, Dignat-George F, Dubois C, Panicot-Dubois L. Platelets, Thrombo-Inflammation, and Cancer: Collaborating With the Enemy. *Front Immunol*. 2019;10:1805.
 111. Gyobu S, Ishihara K, Suzuki J, Segawa K, Nagata S. Characterization of the scrambling domain of the TMEM16 family. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017;114(24):6274–9.
 112. Karimi M, Cohan N. Cancer-associated thrombosis. *Open Cardiovasc Med J*. 2010;4:78–82.
 113. Tafazoli A. Cancer procoagulant inhibitors: New drugs for an old target. *J Oncol Pharm Pract*. 2022;28(3):695–7.
 114. Molnar S, Guglielmone H, Lavarda M, Rizzi ML, Jarchum G. Procoagulant factors in patients with cancer. *Hematology*. 2007;12(6):555–9.
 115. Kubala MH, DeClerck YA. The Plasminogen Activator Inhibitor-1 Paradox in Cancer: A Mechanistic Understanding. *Cancer Metastasis Rev*. 2019;38(3):483.
 116. Al-Samkari H, Song AB, Connors JM. Cancer-associated thrombosis: Where do we stand? *Adv CELL GENE Ther*. 2020;3(1):e73.
 117. Mitrugno A, Tassi Yunga S, Sylman JL, Zilberman-Rudenko J, Shirai T, Hebert JF, et al. The role of coagulation and platelets in colon cancer-associated thrombosis. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2019;316(2):C264–73.
 118. Razak NBA, Jones G, Bhandari M, Berndt MC, Metharom P. Cancer-associated thrombosis: An overview of mechanisms, risk factors, and treatment. *Cancers (Basel)*. 2018;10(10):1–21.
 119. Charlotte T, Yohei H, Staffan L, Nigel M, Håkan W. Neutrophil Extracellular Traps. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2019;39(9):1724–38.
 120. Cools-Lartigue J, Spicer J, Najmeh S, Ferri L. Neutrophil extracellular traps in cancer progression. *Cell Mol Life Sci*. 2014;71(21):4179–94.
 121. Kimball AS, Obi AT, Diaz JA, Henke PK. The emerging role of NETs in venousthrombosis and immunothrombosis. *Front Immunol*. 2016;7(JUN):236.
 122. Aksu K, Donmez A, Keser G. Inflammation-induced thrombosis: mechanisms, disease associations and management. *Curr Pharm Des*. 2012;18(11):1478–93.
 123. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature*. 2002;420(6917):860–7.
 124. Diakos CI, Charles KA, McMillan DC, Clarke SJ. Cancer-related inflammation and treatment effectiveness. *Lancet Oncol*. 2014;15(11):e493-503.
 125. Antic D, Milic N, Bontekoe E, Hoppensteadt D, Djurasinovic V, Vukovic V, et al. Biomarkers of Hemostatic Dysregulation and Inflammation in Lymphoma: Potential Relevance to Thrombogenesis. *Blood*. 2019;134(Supplement_1):4945.
 126. Théry C, Witwer KW, Aikawa E, Alcaraz MJ, Anderson JD, Andriantsitohaina R, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *J Extracell Vesicles*. 2018;7(1):1535750.
 127. Pan BT, Teng K, Wu C, Adam M, Johnstone RM. Electron microscopic evidence for externalization of the transferrin receptor in vesicular form in sheep reticulocytes. *J Cell Biol*. 1985;101(3):942–8.
 128. Harding C, Heuser J, Stahl P. Endocytosis and intracellular processing of transferrin and colloidal gold-transferrin in rat reticulocytes: demonstration of a pathway for receptor shedding. *Eur J Cell Biol*. 1984;35(2):256–63.

129. Gangoda L, Boukouris S, Liem M, Kalra H, Mathivanan S. Extracellular vesicles including exosomes are mediators of signal transduction: Are they protective or pathogenic? *Proteomics*. 2015;15(2–3):260–71.
130. Van Niel G, D'Angelo G, Raposo G. Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2018 194. 2018;19(4):213–28.
131. Abels ER, Breakefield XO. Introduction to Extracellular Vesicles: Biogenesis, RNA Cargo Selection, Content, Release, and Uptake. *Cell Mol Neurobiol*. 2016;36(3):301.
132. Sanwlani R, Gangoda L. Role of Extracellular Vesicles in Cell Death and Inflammation. *Cells* . 2021;10(10):2663.
133. Kalluri R. The biology and function of exosomes in cancer. *J Clin Invest*. 2016;126(4):1208–15.
134. Kilinc S, Paisner R, Camarda R, Gupta S, Momcilovic O, Kohnz RA, et al. Oncogene-regulated release of extracellular vesicles. *Dev Cell*. 2021;56(13):1989-2006.e6.
135. Beck S, Hochreiter B, Schmid JA. Extracellular Vesicles Linking Inflammation, Cancer and Thrombotic Risks. *Front cell Dev Biol*. 2022;10:859863.
136. Möller A, Lobb RJ. The evolving translational potential of small extracellular vesicles in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2020;20(12):697–709.
137. Ofori K, Bhagat G, Rai AJ. Exosomes and extracellular vesicles as liquid biopsy biomarkers in diffuse large B-cell lymphoma: Current state of the art and unmet clinical needs. *Br J Clin Pharmacol*. 2021;87(2):284–94.
138. Wang JG, Geddings JE, Aleman MM, Cardenas JC, Chantrathammachart P, Williams JC, et al. Tumor-derived tissue factor activates coagulation and enhances thrombosis in a mouse xenograft model of human pancreatic cancer. *Blood*. 2012;119(23):5543–52.
139. Campello E, Zanetto A, Spiezia L, Radu CM, Gavasso S, Ferrarese A, et al. Hypercoagulability detected by circulating microparticles in patients with hepatocellular carcinoma and cirrhosis. *Thromb Res*. 2016;143:118–21.
140. Hisada Y, Geddings JE, Ay C, Mackman N. Venous thrombosis and cancer: from mouse models to clinical trials. *J Thromb Haemost*. 2015;13(8):1372–82.
141. von Brühl ML, Stark K, Steinhart A, Chandraratne S, Konrad I, Lorenz M, et al. Monocytes, neutrophils, and platelets cooperate to initiate and propagate venous thrombosis in mice in vivo. *J Exp Med*. 2012;209(4):819–35.
142. Falanga A, Marchetti M, Russo L. Venous thromboembolism in the hematologic malignancies. *Curr Opin Oncol*. 2012;24(6):702–10.
143. Goldschmidt N, Linetsky E, Shalom E, Varon D, Siegal T. High incidence of thromboembolism in patients with central nervous system lymphoma. *Cancer*. 2003;98(6):1239–42.
144. Saito M, Wages NA, Schiff D. Incidence, risk factors and management of venous thromboembolism in patients with primary CNS lymphoma. *J Neurooncol*. 2021;154(1):41–7.
145. Lekovic D, Miljic P, Mihaljevic B. Increased risk of venous thromboembolism in patients with primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Thromb Res*. 2010;126(6):477–80.
146. Yokoyama K, Murata M, Ikeda Y, Okamoto S. Incidence and risk factors for developing venous thromboembolism in Japanese with diffuse large b-cell lymphoma. *Thromb Res*. 2012;130(1):7–11.
147. Caruso V, Di Castelnuovo A, Meschengieser S, Lazzari MA, de Gaetano G, Storti S, et al.

- Thrombotic complications in adult patients with lymphoma: a meta-analysis of 29 independent cohorts including 18 018 patients and 1149 events. *Blood*. 2010;115(26):5322–8.
148. Borchmann S, Muller H, Hude I, Fuchs M, Borchmann P, Engert A. Thrombosis as a treatment complication in Hodgkin lymphoma patients: a comprehensive analysis of three prospective randomized German Hodgkin Study Group (GHSg) trials. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2019;30(8):1329–34.
 149. Zhou X, Teegala S, Huen A, Ji Y, Fayad L, Hagemester FB, et al. Incidence and risk factors of venous Thromboembolic events in lymphoma. *Am J Med*. 2010;123(10):935–41.
 150. Yıldız A, Albayrak M, Pala Ç, Afacan Öztürk HB, Maral S, Şahin O, et al. The incidence and risk factors of thrombosis and the need for thromboprophylaxis in lymphoma and leukemia patients: A 9-year single-center experience. *J Oncol Pharm Pract*. 2020;26(2):386–96.
 151. Mohren M, Markmann I, Jentsch-Ullrich K, Koenigsmann M, Lutze G, Franke A. Increased risk of thromboembolism in patients with malignant lymphoma: A single-centre analysis. *Br J Cancer*. 2005;92(8):1349–51.
 152. Rupa-Matysek J, Gil L, Kroll-Balcerzak R, Barańska M, Komarnicki M. Mean platelet volume as a predictive marker for venous thromboembolism and mortality in patients treated for diffuse large B-cell lymphoma. *Hematol Oncol*. 2017;35(4):456–64.
 153. Hohaus S, Tisi MC, Bartolomei F, Cuccaro A, Maiolo E, Alma E, et al. Risk factors for venous thromboembolism in patients with lymphoma requiring hospitalization. *Blood Cancer J* 2018 86. 2018;8(6):1–4.
 154. Lyman GH, Khorana AA, Falanga A. Thrombosis and Cancer: Emerging Data for the Practicing Oncologist. *Am Soc Clin Oncol Educ B*. 2013;(33):e337–45.
 155. Sanfilippo KM, Wang TF, Gage BF, Luo S, Riedell P, Carson KR. Incidence of venous thromboembolism in patients with non-Hodgkin lymphoma. *Thromb Res*. 2016;143:86–90.
 156. Khorana AA, Connolly GC. Assessing risk of venous thromboembolism in the patient with cancer. *J Clin Oncol*. 2009;27(29):4839–47.
 157. Antic D, Jelacic J, Vukovic V, Nikolovski S, Mihaljevic B. Venous thromboembolic events in lymphoma patients: Actual relationships between epidemiology, mechanisms, clinical profile and treatment. *Blood Rev*. 2018;32(2):144–58.
 158. Connolly GC, Khorana AA. Emerging risk stratification approaches to cancer-associated thrombosis: risk factors, biomarkers and a risk score. *Thromb Res*. 2010;125 Suppl:S1–7.
 159. Fuentes HE, Tafur AJ, Caprini JA. Cancer-associated thrombosis. *Disease-a-Month*. 2016;62(5):121–58.
 160. Heit JA, Spencer FA, White RH. The epidemiology of venous thromboembolism. *J Thromb Thrombolysis*. 2016/01/16. 2016;41(1):3–14.
 161. Shapiro SS. The lupus anticoagulant/antiphospholipid syndrome. *Annu Rev Med*. 1996;47:533–53.
 162. Marlar RA, Husain S. The enigmas of the lupus anticoagulant: mechanisms, diagnosis, and management. *Curr Rheumatol Rep*. 2008;10(1):74–80.
 163. Wahl DG, Guillemin F, De Maistre E, Perret-Guillaume C, Lecompte T, Thibaut G. Meta-analysis of the risk of venous thrombosis in individuals with antiphospholipid antibodies without underlying autoimmune disease or previous thrombosis. *Lupus*. 1998;7(1):15–22.
 164. Lechner K, Simonitsch I, Haselböck J, Jäger U, Pabinger I. Acquired immune-mediated thrombophilia in lymphoproliferative disorders. *Leuk Lymphoma*. 2011;52(10):1836–43.

165. Gebhart J, Lechner K, Skrabs C, Sliwa T, Müldür E, Ludwig H, et al. Lupus anticoagulant and thrombosis in splenic marginal zone lymphoma. *Thromb Res.* 2014;134(5):980–4.
166. Khorana AA, Kuderer NM, Culakova E, Lyman GH, Francis CW. Development and validation of a predictive model for chemotherapy-associated thrombosis. *Blood.* 2008;111(10):4902–7.
167. Mulder FI, Candeloro M, Kamphuisen PW, Di Nisio M, Bossuyt PM, Guman N, et al. The Khorana score for prediction of venous thromboembolism in cancer patients: a systematic review and meta-analysis. *Haematologica.* 2019;104(6):1277–87.
168. Rupa-Matysek J, Gil L, Kazmierczak M, Baranska M, Komarnicki M. Prediction of venous thromboembolism in newly diagnosed patients treated for lymphoid malignancies: validation of the Khorana Risk Score. *Med Oncol.* 2017;35(1):5.
169. Hohaus S, Bartolomei F, Cuccaro A, Maiolo E, Alma E, D'alò F, et al. Venous thromboembolism in lymphoma: Risk stratification and antithrombotic prophylaxis. *Cancers (Basel).* 2020;12(5):1–17.
170. Antic D, Milic N, Nikolovski S, Todorovic M, Bila J, Djurdjevic P, et al. Development and validation of multivariable predictive model for thromboembolic events in lymphoma patients. *Am J Hematol.* 2016;91(10):1014–9.
171. Antic D, Milic N, Mihaljevic B, Cheson B, Narkhede M, Abdel-Razek H, et al. External Validation and Revision of Thrombosis Lymphoma /Throly/ Score. *Blood.* 2018;132(Supplement 1):140.
172. Kirkizlar O, Alp Kirkizlar T, Umit EG, Asker I, Baysal M, Bas V, et al. The Incidence of Venous Thromboembolism and Impact on Survival in Hodgkin Lymphoma. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2020;20(8):542–7.
173. Abdel-Razek H, Ma'koseh M, Abdel-Razek R, Amarin R, Abufara A, Mansour R, et al. The Application of the Lymphoma International Prognostic Index to Predict Venous Thromboembolic Events in Diffuse Large B-Cell Lymphoma Patients. *Front Oncol.* 2021;11:677776.
174. Bastos-Oreiro M, Ortiz J, Pradillo V, Salas E, Marínez-Laperche C, Muñoz A, et al. Incorporating genetic and clinical data into the prediction of thromboembolism risk in patients with lymphoma. *Cancer Med.* 2021;10(21):7585–92.
175. Rupa-Matysek J, Brzeźniakiewicz-Janus K, Gil L, Krasiński Z, Komarnicki M. Evaluation of the ThroLy score for the prediction of venous thromboembolism in newly diagnosed patients treated for lymphoid malignancies in clinical practice. *Cancer Med.* 2018;7(7):2868–75.
176. Dharmavaram G, Cao S, Sundaram S, Ayyapan S, Boughan K, Gallogly M, et al. Aggressive Lymphoma Subtype Is A Risk Factor for Venous Thrombosis. Development of Lymphoma – Specific Venous Thrombosis Prediction Models. *Am J Hematol.* 2020;
177. Stojanovic A, Veselinovic M, Zong Y, Jakovljevic V, Pruner I, Antovic A. Increased Expression of Extracellular Vesicles Is Associated With the Procoagulant State in Patients With Established Rheumatoid Arthritis [Internet]. Vol. 12, *Frontiers in Immunology* . 2021.
178. Mobarrez F, Antovic J, Egberg N, Hansson M, Jörneskog G, Hultenby K, et al. A multicolor flow cytometric assay for measurement of platelet-derived microparticles. *Thromb Res.* 2010;125(3):e110–6.
179. Eustes AS, Dayal S. The Role of Platelet-Derived Extracellular Vesicles in Immune-Mediated Thrombosis. *Int J Mol Sci.* 2022;23(14).

180. Antovic A. The Overall Hemostasis Potential: A Laboratory Tool for the Investigation of Global Hemostasis. *Semin Thromb Hemost.* 2010;36(07):772–9.
181. He S, Antovic A, Blombäck M. A simple and rapid laboratory method for determination of haemostasis potential in plasma: II. Modifications for use in routine laboratories and research work. *Thromb Res.* 2001;103(5):355–61.
182. He S, Bremme K, Blombäck M. A laboratory method for determination of overall haemostatic potential in plasma. I. Method design and preliminary results. *Thromb Res.* 1999;96(2):145–56.
183. Otasevic V, Mihaljevic B, Milic N, Stanisavljevic D, Vukovic V, Tomic K, et al. Immune activation and inflammatory biomarkers as predictors of venous thromboembolism in lymphoma patients. *Thromb J.* 2022;20(1):20.
184. Mahajan A, Wun T, Chew H, White RH. Lymphoma and venous thromboembolism: influence on mortality. *Thromb Res.* 2014;133 Suppl:S23-8.
185. Khorana AA, Francis CW, Culakova E, Kuderer NM, Lyman GH. Frequency, risk factors, and trends for venous thromboembolism among hospitalized cancer patients. *Cancer.* 2007;110(10):2339–46.
186. Borg IH, Bendtsen MD, Bogsted M, Madsen J, Severinsen MT. Incidence of venous thromboembolism in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma.* 2016;57(12):2771–6.
187. Zhang Y-W, Zhong J-H, Chen X-L, Xiao F, Chen F-Y. Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm: A case report and literature review. *Exp Ther Med.* 2016;12(1):319—322.
188. Byun JM, Hong J, Yoon S-S, Koh Y, Ock C-Y, Kim TM, et al. Incidence and characteristics of venous thromboembolism in Asian patients with primary central nervous system lymphoma undergoing chemotherapy. *Thromb Res.* 2019;183:131–5.
189. Pabinger I, Ay C, Dunkler D, Thaler J, Reitter EM, Marosi C, et al. Factor V Leiden mutation increases the risk for venous thromboembolism in cancer patients - results from the Vienna Cancer And Thrombosis Study (CATS). *J Thromb Haemost.* 2015;13(1):17–22.
190. Wu L, Saxena S, Awaji M, Singh RK. Tumor-Associated Neutrophils in Cancer: Going Pro. *Cancers (Basel).* 2019;11(4):564.
191. Thomas MR, Storey RF. The role of platelets in inflammation. *Thromb Haemost.* 2015;114(3):449–58.
192. Wang S, Liu H, Wang Q, Cheng Z, Sun S, Zhang Y, et al. Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio and Platelet-to-Lymphocyte Ratio Are Effective Predictors of Prognosis in Patients with Acute Mesenteric Arterial Embolism and Thrombosis. *Ann Vasc Surg.* 2018;49:115–22.
193. Wu Y, Chen Y, Yang X, Chen L, Yang Y. Neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) and platelet-to-lymphocyte ratio (PLR) were associated with disease activity in patients with systemic lupus erythematosus. *Int Immunopharmacol.* 2016;36:94–9.
194. Liu X, Shen Y, Wang H, Ge Q, Fei A, Pan S. Prognostic Significance of Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio in Patients with Sepsis: A Prospective Observational Study. *Mediators Inflamm.* 2016;2016.
195. Wang Q, Ma J, Jiang Z, Ming L. Prognostic value of neutrophil-to-lymphocyte ratio and platelet-to-lymphocyte ratio in acute pulmonary embolism: a systematic review and meta-analysis. *Int Angiol.* 2018;37(1):4–11.
196. Haydaroglu Sahin H. Can the prognosis of mantle cell lymphoma be predicted by simple CBC counts? *Medicine (Baltimore).* 2019;98(30):e16180.

197. Azuma Y, Nakaya A, Fujita S, Satake A, Nakanishi T, Tsubokura Y, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) fails to predict outcome of diffuse large B cell lymphoma. *Leuk Res reports*. 2019;12:100173.
198. Ferroni P, Riondino S, Formica V, Cereda V, Tosetto L, La Farina F, et al. Venous thromboembolism risk prediction in ambulatory cancer patients: clinical significance of neutrophil/lymphocyte ratio and platelet/lymphocyte ratio. *Int J cancer*. 2015;136(5):1234–40.
199. Artoni A, Abbattista M, Bucciarelli P, Gianniello F, Scalabrino E, Pappalardo E, et al. Platelet to Lymphocyte Ratio and Neutrophil to Lymphocyte Ratio as Risk Factors for Venous Thrombosis. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2018;24(5):808–14.
200. Grilz E, Posch F, Konigsbrugge O, Schwarzingger I, Lang IM, Marosi C, et al. Association of Platelet-to-Lymphocyte Ratio and Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio with the Risk of Thromboembolism and Mortality in Patients with Cancer. *Thromb Haemost*. 2018;118(11):1875–84.
201. Saghazadeh A, Rezaei N. Inflammation as a cause of venous thromboembolism. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2016;99:272—285.
202. Vazquez-Garza E, Jerjes-Sanchez C, Navarrete A, Joya-Harrison J, Rodriguez D. Venous thromboembolism: thrombosis, inflammation, and immunothrombosis for clinicians. *J Thromb Thrombolysis*. 2017;44(3):377–85.
203. Fuchs TA, Brill A, Duerschmied D, Schatzberg D, Monestier M, Myers DDJ, et al. Extracellular DNA traps promote thrombosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(36):15880–5.
204. Ferroni P, Santilli F, Guadagni F, Basili S, Davi G. Contribution of platelet-derived CD40 ligand to inflammation, thrombosis and neoangiogenesis. *Curr Med Chem*. 2007;14(20):2170–80.
205. Ardoin SP, Shanahan JC, Pisetsky DS. The role of microparticles in inflammation and thrombosis. *Scand J Immunol*. 2007;66(2–3):159–65.
206. Kapoor S, Opneja A, Nayak L. The role of neutrophils in thrombosis. *Thromb Res*. 2018/08/09. 2018;170:87–96.
207. Borgel D, Bianchini E, Lasne D, Pascreau T, Saller F. Inflammation in deep vein thrombosis: a therapeutic target? *Hematol (United Kingdom)*. 2019;24(1):742–50.
208. Yokoyama K. Thrombosis in lymphoma patients and in myeloma patients. *Keio J Med*. 2015;64(3):37–43.
209. Mahajan A, Brunson A, Keegan THM, Rosenberg A, Wun T. High incidence of venous thromboembolism and major bleeding in patients with primary CNS lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2020;61(11):2605–13.
210. Lund JL, Stgård LS, Prandoni P, Sørensen HT, De Nully Brown P. Incidence, determinants and the transient impact of cancer treatments on venous thromboembolism risk among lymphoma patients in Denmark. *Thromb Res*. 2015;136(5):917–23.
211. Kekre N, Connors JM. Venous thromboembolism incidence in hematologic malignancies. *Blood Rev*. 2019;33:24–32.
212. Colombo R, Gallipoli P, Castelli R. Thrombosis and hemostatic abnormalities in hematological malignancies. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2014;14(6):441–50.
213. Santi RM, Ceccarelli M, Monagheddu C, Evangelista A, Bernocco E, Monaco F, et al. A pooled data analysis of 12 clinical trials of Fondazione Italiana Linfomi (FIL): Khorana score

- and histotype predict the incidence of early venous thromboembolism (VTE) in non-Hodgkin lymphoma (NHL). *Ann Oncol.* 2016;27:vi316.
214. Brenner B, Hull R, Arya R, Beyer-Westendorf J, Douketis J, Elalamy I, et al. Evaluation of unmet clinical needs in prophylaxis and treatment of venous thromboembolism in high-risk patient groups: cancer and critically ill. *Thromb J.* 2019;17(1):6.
 215. Park LC, Woo S, Kim S, Jeon H, Ko YH, Kim SJ, et al. Incidence, risk factors and clinical features of venous thromboembolism in newly diagnosed lymphoma patients: Results from a prospective cohort study with Asian population. *Thromb Res.* 2012;130(3):E6–12.
 216. Sanfilippo KM. Venous thromboembolism and risk stratification in hematological malignancies. *Thromb Res.* 2022;213:S16–21.
 217. Chen Y, Lei H, Wang W, Zhu J, Zeng C, Lu Z, et al. Characteristics and Predictors of Venous Thromboembolism Among Lymphoma Patients Undergoing Chemotherapy: A Cohort Study in China. *Front Pharmacol.* 2022;13:1922.
 218. Horsted F, West J, Grainge MJ. Risk of venous thromboembolism in patients with cancer: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Med.* 2012;9(7).
 219. Hohaus S, Bartolomei F, Cuccaro A, Maiolo E, Alma E, D'alò F, et al. Venous thromboembolism in lymphoma: Risk stratification and antithrombotic prophylaxis. *Cancers (Basel).* 2020;12(5).
 220. Ayers L, Kohler M, Harrison P, Sargent I, Dragovic R, Schaap M, et al. Measurement of circulating cell-derived microparticles by flow cytometry: Sources of variability within the assay. *Thromb Res.* 2011;127(4):370–7.
 221. van der Pol E, Coumans FAW, Grootemaat AE, Gardiner C, Sargent IL, Harrison P, et al. Particle size distribution of exosomes and microvesicles determined by transmission electron microscopy, flow cytometry, nanoparticle tracking analysis, and resistive pulse sensing. *J Thromb Haemost.* 2014;12(7):1182–92.
 222. George SK, Lauková L, Weiss R, Semak V, Fendl B, Weiss VU, et al. Comparative analysis of platelet-derived extracellular vesicles using flow cytometry and nanoparticle tracking analysis. *Int J Mol Sci.* 2021;22(8):3839.
 223. Iwai K, Minamisawa T, Suga K, Yajima Y, Shiba K. Isolation of human salivary extracellular vesicles by iodixanol density gradient ultracentrifugation and their characterizations. *J Extracell Vesicles.* 2016;5(1):30829.
 224. Hildebrandt A, Kirchner B, Meidert AS, Brandes F, Lindemann A, Doose G, et al. Detection of Atherosclerosis by Small RNA-Sequencing Analysis of Extracellular Vesicle Enriched Serum Samples. *Front Cell Dev Biol.* 2021;9:2771.
 225. Cizmar P, Yuana Y. Detection and Characterization of Extracellular Vesicles by Transmission and Cryo-Transmission Electron Microscopy. *Methods Mol Biol.* 2017;1660:221–32.
 226. Luddington R, Baglin T. Clinical measurement of thrombin generation by calibrated automated thrombography requires contact factor inhibition. *J Thromb Haemost.* 2004;2(11):1954–9.
 227. Tatsumi K, Antoniak S, Monroe DM, Khorana AA, Mackman N. Evaluation of a new commercial assay to measure microparticle tissue factor activity in plasma: communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost.* 2014;12(11):1932–4.
 228. Miszta A, Kopec AK, Pant A, Holle LA, Byrnes JR, Lawrence DA, et al. A high-fat diet delays plasmin generation in a thrombomodulin-dependent manner in mice. *Blood.*

- 2020;135(19):1704–17.
229. Kriebel PW, Majumdar R, Jenkins LM, Senoo H, Wang W, Ammu S, et al. Extracellular vesicles direct migration by synthesizing and releasing chemotactic signals. *J Cell Biol.* 2018;217(8):2891–910.
 230. Kalluri R. The biology and function of exosomes in cancer. *J Clin Invest.* 2016;126(4):1208–15.
 231. Rutherford SC, Fachel AA, Li S, Sawh S, Muley A, Ishii J, et al. Extracellular vesicles in DLBCL provide abundant clues to aberrant transcriptional programming and genomic alterations. *Blood.* 2018;132(7):e13–23.
 232. Matthiesen R, Gameiro P, Henriques A, Bodo C, Moraes MCS, Costa-Silva B, et al. Extracellular Vesicles in Diffuse Large B Cell Lymphoma: Characterization and Diagnostic Potential. *Int J Mol Sci.* 2022;23(21):13327.
 233. Gardiner C, Harrison P, Belting M, Böing A, Campello E, Carter BS, et al. Extracellular vesicles, tissue factor, cancer and thrombosis - discussion themes of the ISEV 2014 educational day. *J Extracell Vesicles.* 2015;4(2015):1–14.
 234. Van Den Berg YW, Osanto S, Reitsma PH, Versteeg HH. The relationship between tissue factor and cancer progression: insights from bench and bedside. *Blood.* 2012;119(4):924–32.
 235. Kakkar AK, DeRuvo N, Chinswangwatanakul V, Tebbutt S, Williamson RCN. Extrinsic-pathway activation in cancer with high factor VIIa and tissue factor. *Lancet.* 1995;346(8981):1004–5.
 236. van Es N, Hisada Y, Di Nisio M, Cesarman G, Kleinjan A, Mahé I, et al. Extracellular vesicles exposing tissue factor for the prediction of venous thromboembolism in patients with cancer: A prospective cohort study. *Thromb Res.* 2018;166:54–9.
 237. Hisada Y, Mackman N. Tissue Factor and Extracellular Vesicles: Activation of Coagulation and Impact on Survival in Cancer. *Cancers (Basel).* 2021;13(15).
 238. Geddings JE, Mackman N. Tumor-derived tissue factor–positive microparticles and venous thrombosis in cancer patients. *Blood.* 2013;122(11):1873–80.
 239. Cesarman-Maus G, Braggio E, Lome-Maldonado C, Morales-Leyte AL, Fonseca R. Absence of tissue factor is characteristic of lymphoid malignancies of both T- and B-cell origin. *Thromb Res.* 2014;133(4):606–9.
 240. JIANG Y, ZHU G, HE Y, CHAI X, YANG X, MENG F, et al. Expressions of tissue factor and vascular endothelial growth factor in diffuse large B-cell lymphoma and their clinical significances. *J Leuk Lymphoma.* 2020;45–9.
 241. Arraud N, Linares R, Tan S, Gounou C, Pasquet JM, Mornet S, et al. Extracellular vesicles from blood plasma: determination of their morphology, size, phenotype and concentration. *J Thromb Haemost.* 2014;12(5):614–27.
 242. Heijnen HF, Schiel AE, Fijnheer R, Geuze HJ, Sixma JJ. Activated platelets release two types of membrane vesicles: microvesicles by surface shedding and exosomes derived from exocytosis of multivesicular bodies and alpha-granules. *Blood.* 1999;94(11):3791–9.
 243. Toth B, Liebhardt S, Steinig K, Ditsch N, Rank A, Bauerfeind I, et al. Platelet-derived microparticles and coagulation activation in breast cancer patients. *Thromb Haemost.* 2008;100(4):663–9.
 244. Dymicka-Piekarska V, Gryko M, Lipska A, Korniluk A, Siergiejko E, Kemonia H, et al. Platelet-Derived Microparticles in Patients with Colorectal Cancer. *J Cancer Ther.* 2012;3(6):898–901.

245. Kim HK, Song KS, Park YS, Kang YH, Lee YJ, Lee KR, et al. Elevated levels of circulating platelet microparticles, VEGF, IL-6 and RANTES in patients with gastric cancer: possible role of a metastasis predictor. *Eur J Cancer*. 2003;39(2):184–91.
246. Tseng CC, Wang CC, Chang HC, Tsai TH, Chang LT, Huang KT, et al. Levels of circulating microparticles in lung cancer patients and possible prognostic value. *Dis Markers*. 2013;35(5):301–10.
247. Ren JG, Man QW, Zhang W, Li C, Xiong XP, Zhu JY, et al. Elevated Level of Circulating Platelet-derived Microparticles in Oral Cancer. *J Dent Res*. 2016;95(1):87–93.
248. Haghbeen M, Tayer AH, Kamravan M, Jahromi AS. Platelet-Derived Procoagulant Microparticles as Blood-based Biomarker of Breast Cancer. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2021;22(5):1573.
249. Yamanaka Y, Sawai Y, Nomura S. Platelet-Derived Microparticles are an Important Biomarker in Patients with Cancer-Associated Thrombosis. 2019;
250. Janowska-Wieczorek A, Wysoczynski M, Kijowski J, Marquez-Curtis L, Machalinski B, Ratajczak J, et al. Microvesicles derived from activated platelets induce metastasis and angiogenesis in lung cancer. *Int J Cancer*. 2005;113(5):752–60.
251. Janowska-Wieczorek A, Marquez-Curtis LA, Wysoczynski M, Ratajczak MZ. Enhancing effect of platelet-derived microvesicles on the invasive potential of breast cancer cells. *Transfusion*. 2006;46(7):1199–209.
252. Lok CAR, Böing AN, Sargent IL, Sooranna SR, Van Der Post JAM, Nieuwland R, et al. Circulating platelet-derived and placenta-derived microparticles expose Flt-1 in preeclampsia. *Reprod Sci*. 2008;15(10):1002–10.
253. Gasecka A, Nieuwland R, Siljander PRM. Platelet-Derived Extracellular Vesicles. *Platelets*. 2019;401–16.
254. Mallat Z, Hugel B, Ohan J, Lesèche G, Freyssinet JM, Tedgui A. Shed Membrane Microparticles With Procoagulant Potential in Human Atherosclerotic Plaques. *Circulation*. 1999;99(3):348–53.
255. Weber C, Mause S, Editors G, Phillip Owens III A, Mackman N. Microparticles in Hemostasis and Thrombosis. *Circ Res*. 2011;108(10):1284–97.
256. Flores-Nascimento MC, Beltrame MP, De Paula E V., Montalvão SL, Pereira FG, Orsi FLA, et al. Microparticles in deep venous thrombosis, antiphospholipid syndrome and Factor V Leiden. <http://dx.doi.org/101080/09537100903096676>. 2009;20(6):367–75.
257. Pluchart C, Barbe C, Poitevin G, Audonnet S, Nguyen P. A pilot study of procoagulant platelet extracellular vesicles and P-selectin increase during induction treatment in acute lymphoblastic leukaemia paediatric patients: two new biomarkers of thrombogenic risk? *J Thromb Thrombolysis*. 2021;51(3):711–9.
258. Agrati C, Sacchi A, Tartaglia E, Vergori A, Gagliardini R, Scarabello A, et al. The Role of P-Selectin in COVID-19 Coagulopathy: An Updated Review. *Int J Mol Sci*. 2021;22(15).
259. André P, Hartwell D, Hrachovinová I, Saffaripour S, Wagner DD. Pro-coagulant state resulting from high levels of soluble P-selectin in blood. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(25):13835–40.
260. Celi A, Pellegrini G, Lorenzet R, De Blasi A, Ready N, Furie BC, et al. P-selectin induces the expression of tissue factor on monocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994;91(19):8767.
261. Purdy M, Obi A, Myers D, Wakefield T. P- and E- selectin in venous thrombosis and non-venous pathologies. *J Thromb Haemost*. 2022;20(5):1056–66.

262. Myers DD, Hawley AE, Farris DM, Wroblewski SK, Thanaporn P, Schaub RG, et al. P-selectin and leukocyte microparticles are associated with venous thrombogenesis. *J Vasc Surg.* 2003;38(5):1075–89.
263. Vandy FC, Stabler C, Eliassen AM, Hawley AE, Guire KE, Myers DD, et al. Soluble P-selectin for the diagnosis of lower extremity deep venous thrombosis. *J Vasc surgery Venous Lymphat Disord.* 2013;1(2):117–25.
264. Ramacciotti E, Blackburn S, Hawley AE, Vandy F, Ballard-Lipka N, Stabler C, et al. Evaluation of soluble P-selectin as a marker for the diagnosis of deep venous thrombosis. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2011;17(4):425–31.
265. Rectenwald JE, Myers DD, Hawley AE, Longo C, Henke PK, Guire KE, et al. D-dimer, P-selectin, and microparticles: novel markers to predict deep venous thrombosis. A pilot study. *Thromb Haemost.* 2005;94(6):1312–7.
266. McEver RP. Selectins: initiators of leucocyte adhesion and signalling at the vascular wall. *Cardiovasc Res.* 2015;107(3):331–9.
267. Merten M, Thiagarajan P. P-selectin in arterial thrombosis. *Z Kardiol.* 2004;93(11):855–63.
268. Thomas GM, Panicot-Dubois L, Lacroix R, Dignat-George F, Lombardo D, Dubois C. Cancer cell-derived microparticles bearing P-selectin glycoprotein ligand 1 accelerate thrombus formation in vivo. *J Exp Med.* 2009;206(9):1913–27.
269. Jamaly S, Basavaraj MG, Starikova I, Olsen R, Brækkan SK, Hansen JB. Elevated plasma levels of P-selectin glycoprotein ligand-1-positive microvesicles in patients with unprovoked venous thromboembolism. *J Thromb Haemost.* 2018;16(8):1546–54.
270. Johnson ED, Schell JC, Rodgers GM. The D-dimer assay. *Am J Hematol.* 2019;94(7):833–9.
271. Wells PS, Anderson DR, Rodger M, Forgie M, Kearon C, Dreyer J, et al. Evaluation of D-dimer in the diagnosis of suspected deep-vein thrombosis. *N Engl J Med.* 2003;349(13):1227–35.
272. Wells PS. Integrated strategies for the diagnosis of venous thromboembolism. *J Thromb Haemost.* 2007;5 Suppl 1(SUPPL. 1):41–50.
273. Di Nisio M, Squizzato A, Rutjes AWS, Büller HR, Zwinderman AH, Bossuyt PMM. Diagnostic accuracy of D-dimer test for exclusion of venous thromboembolism: a systematic review. *J Thromb Haemost.* 2007;5(2):296–304.
274. Prochaska JH, Frank B, Nagler M, Lamparter H, Weißer G, Schulz A, et al. Age-related diagnostic value of D-dimer testing and the role of inflammation in patients with suspected deep vein thrombosis. *Sci Rep.* 2017;7(1).
275. Simes J, Robledo KP, White HD, Espinoza D, Stewart RA, Sullivan DR, et al. D-Dimer Predicts Long-Term Cause-Specific Mortality, Cardiovascular Events, and Cancer in Patients With Stable Coronary Heart Disease: LIPID Study. *Circulation.* 2018;138(7):712–23.
276. Haase C, Joergensen M, Ellervik C, Joergensen MK, Bathum L. Age- and sex-dependent reference intervals for D-dimer: evidence for a marked increase by age. *Thromb Res.* 2013;132(6):676–80.
277. Wada H, Matsumoto T, Yamashita Y. Diagnosis and treatment of disseminated intravascular coagulation (DIC) according to four DIC guidelines. *J intensive care.* 2014;2(1).
278. Zhang J, He M, Song Y, Xu J. Prognostic role of D-dimer level upon admission in patients with traumatic brain injury. *Medicine (Baltimore).* 2018;97(31).
279. Weber T, Högler S, Auer J, Berent R, Lassnig E, Kvas E, et al. D-dimer in acute aortic dissection. *Chest.* 2003;123(5):1375–8.

280. Rodelo JR, De La Rosa G, Valencia ML, Ospina S, Arango CM, Gómez CI, et al. D-dimer is a significant prognostic factor in patients with suspected infection and sepsis. *Am J Emerg Med.* 2012;30(9):1991–9.
281. Olson JD. D-dimer: An Overview of Hemostasis and Fibrinolysis, Assays, and Clinical Applications. *Adv Clin Chem.* 2015;69:1–46.
282. Li Y, Qi X, Li H, Dai J, Deng H, Li J, et al. D-dimer level for predicting the in-hospital mortality in liver cirrhosis: A retrospective study. *Exp Ther Med.* 2017;13(1):285–9.
283. Robert-Ebadi H, Bertoletti L, Combescure C, Le Gal G, Bounameaux H, Righini M. Effects of impaired renal function on levels and performance of D-dimer in patients with suspected pulmonary embolism. *Thromb Haemost.* 2014;112(3):614–20.
284. Pabinger I, van Es N, Heinze G, Posch F, Riedl J, Reitter EM, et al. A clinical prediction model for cancer-associated venous thromboembolism: a development and validation study in two independent prospective cohorts. *Lancet Haematol.* 2018;5(7):e289–98.
285. Lim HY, Brook R, Krishnamoorthi B, Tacey M, Leung T, Donnan G, et al. Global coagulation assays in patients with multiple myeloma and monoclonal gammopathy of unknown significance. *Thromb Res.* 2019;183:45–8.
286. Westerlund E, Henriksson P, Wallén H, Hovatta O, Wallberg KR, Antovic A. Detection of a procoagulable state during controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization with global assays of haemostasis. *Thromb Res.* 2012;130(4):649–53.
287. Antovic A, Blombäck M, Bremme K, Rooijen M Van, He S. Increased hemostasis potential persists in women with previous thromboembolism with or without APC resistance. *J Thromb Haemost.* 2003;1(12):2531–5.
288. Mcleod B; Lim HY; Nandurkar H; Ho P; Wang J, Mcleod B, et al. Overall Hemostatic Potential Assay Detects Risk of Progression to Post-Thrombotic Syndrome in Anticoagulated Patients following Deep Vein Thrombosis. *Diagnostics* 2022, Vol 12, Page 3165. 2022;12(12):3165.
289. Wang J, Lim HY, Brook R, Lai J, Nandurkar H, Ho P. Overall haemostatic potential (OHP) assay can risk stratify for venous thromboembolism recurrence in anticoagulated patients. *J Thromb Thrombolysis.* 2022;1–10.
290. Curnow JL, Morel-Kopp MC, Roddie C, Aboud M, Ward CM. Reduced fibrinolysis and increased fibrin generation can be detected in hypercoagulable patients using the overall hemostatic potential assay. *J Thromb Haemost.* 2007;5(3):528–34.
291. Dengate AL, Morel-Kopp MC, Beatty JA, Barrs V, Braddock JA, Churcher RK, et al. Differentiation between dogs with thrombosis and normal dogs using the overall hemostasis potential assay. *J Vet Emerg Crit Care.* 2016;26(3):446–52.
292. Reddel CJ, Allen JD, Ehteda A, Taylor R, Chen VMY, Curnow JL, et al. Increased thrombin generation in a mouse model of cancer cachexia is partially interleukin-6 dependent. *J Thromb Haemost.* 2017;15(3):477–86.
293. Curnow J. The overall hemostatic potential (OHP) assay. *Methods Mol Biol.* 2017;1646:523–31.
294. Lee N, Wang J, Brook R, Monagle P, Donnan G, Nandurkar H, et al. The evaluation of overall hemostatic potential assay in patients with COVID-19 infection. *Int J Lab Hematol.* 2022;44(5):e219–23.
295. Zuo Y, Warnock M, Harbaugh A, Yalavarthi S, Gockman K, Zuo M, et al. Plasma tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 in hospitalized COVID-19

- patients. *Sci Reports* 2021 111. 2021;11(1):1–9.
296. Meizoso JP, Moore HB, Moore EE. Fibrinolysis Shutdown in COVID-19: Clinical Manifestations, Molecular Mechanisms, and Therapeutic Implications. *J Am Coll Surg*. 2021;232(6):995–1003.
297. Reddel CJ, Curnow JL, Voitl J, Rosenov A, Pennings GJ, Morel-Kopp MC, et al. Detection of hypofibrinolysis in stable coronary artery disease using the overall haemostatic potential assay. *Thromb Res*. 2013;131(5):457–62.
298. Edelman JJ, Reddel CJ, Kritharides L, Bannon PG, Fraser JF, Curnow JL, et al. Natural history of hypercoagulability in patients undergoing coronary revascularization and effect of preoperative myocardial infarction. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2014;148(2):536–43.
299. White AE, Edelman JJB, Lott N, Bannon PG, McElduff P, Curnow JL, et al. Characterization of the hypercoagulable state following severe orthopedic trauma. *J Trauma Acute Care Surg*. 2014;77(2):231–7.
300. Chow V, Reddel C, Pennings G, Scott E, Pasqualon T, Ng ACC, et al. Global hypercoagulability in patients with schizophrenia receiving long-term antipsychotic therapy. *Schizophr Res*. 2015;162(1–3):175–82.
301. McEwen BJ, Phillips CL, Morel-Kopp MC, Yee BJ, Sullivan DR, Ward CM, et al. Diurnal changes and levels of fibrin generation are not altered by continuous positive airway pressure (CPAP) in obstructive sleep apnoea (OSA). A randomised, placebo-controlled crossover study. *Thromb Haemost*. 2012;108(4):701–9.
302. Farm M, Antovic A, Schmidt DE, Bark N, Soutari N, Siddiqui AJ, et al. Diagnostic Accuracy in Acute Venous Thromboembolism: Comparing D-Dimer, Thrombin Generation, Overall Hemostatic Potential, and Fibrin Monomers. *TH Open*. 2020;4:178–88.

PODACI O PUBLIKOVANIM RADOVIMA IZ DISERTACIJE

Otasevic, V., Mihaljevic, B., Milic, N., Stanisavljevic D., Vukovic V., Tomic K., Fareed J., Antic D. Immune activation and inflammatory biomarkers as predictors of venous thromboembolism in lymphoma patients. *Thrombosis J* 20, 20 (2022). doi: 10.1186/s12959-022-00381-3.

BIOGRAFIJA

Vladimir Otašević je rođen 5.4.1992. godine u Nikšiću, Crna Gora. Osnovnu školu i gimnaziju završio je u Herceg-Novom. Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu upisao je 2011. godine, a diplomirao 2017. sa prosečnom ocenom 9,76. Tokom studija je bio autor 4 studentska naučna rada, a u dva navrata je na Nacionalnom kongresu studenata biomedicinskih nauka Srbije dobio nagradu za najbolji rad u sesiji. Tokom studiranja boravio je avgusta 2015. godine na razmeni studenata na odeljenju interne medicine - gastroenterologija, „Hospital Clinico San Carlos“, Madrid, Španija i avgusta 2017. Na odeljenju hematologije, "A.R.N.A.S. Civico", Palermo, Italija.

Radno iskustvo, po završetku obaveznog pripravničkog staža, sticao je kao klinički lekar-volonter u Klinici za hematologiju Kliničkog centra Srbije, a potom je zaposlen aprila 2018. godine na određeno vreme u istoj Klinici. Juna 2018. godine, preko programa Vlade Srbije za zapošljavanje 100 najboljih diplomiranih studenata medicine, dobio je ugovor na neodređeno vreme. Oktobra meseca iste godine upisao je specijalizaciju iz interne medicine. Od akademske 2017/18. godine pohađa doktorske studije, modul Biologija tumora i oksidativna oboljenja.

Vladimir Otašević je autor i koautor većeg broja publikacija i apstrakata. Učestvovao je na brojnim domaćim i međunarodnim hematološkim sastancima. Imao je nekoliko oralnih i poster prezentacija na kongresima u zemlji i inostranstvu. Istraživač je u nekoliko kliničkih studija iz oblasti limfoma. Član je Srpske limfomske grupe, Evropske asocijacije hematologa i Američkog društva za hematologiju.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора Vladimir Otašević

Број индекса 175034/17

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

BIOMARKERI INFLAMACIJE I EKSTRACELULARNE VEZIKULE KAO PREDIKTORI
VENSKE TROMBOEMBOLIJE KOD PACIJENATA SA LIMFOMOM

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, 30.11.2022.

Vladimir Otašević

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Vladimir Otašević

Број индекса 175034/17

Студијски програм Biologija tumora i oksidativna oboljenja

Наслов рада BIOMARKERI INFLAMACIJE I EKSTRACELULARNE VEZIKULE KAO PREDIKTORI
VENSKE TROMBOEMBOLIJE KOD PACIJENATA SA LIMFOMOM

Ментор Doc. dr Darko Antić

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањивања у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, 30.11.2022.

Vladimir Otašević

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

BIOMARKERI INFLAMACIJE I EKSTRACELULARNE VEZIKULE KAO PREDIKTORI VENSKE TROMBOEMBOLIJE KOD PACIJENATA SA LIMFOMOM

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)

2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)

3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)

5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)

6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.
Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

У Београду, 30.11.2022.

Vladimir Otašević