

# POVEZANOST SERUMSKE RAZINE 25-HIDROKSI VITAMINA D I KARCINOMA MOKRAĆNOG MJEHURA U SJEVERNOM PRIOBALJU HRVATSKE

---

**Marinelli, Frano**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2020**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:256810>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-22**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U RIJECI**  
**MEDICINSKI FAKULTET**  
**INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI**  
**SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE**

**Frano Marinelli**

**POVEZANOST SERUMSKE RAZINE 25–HIDROKSI VITAMINA D I KARCINOMA**  
**MOKRAĆNOG MJEHURA U SJEVERNOM PRIOBALJU HRVATSKE**

**Diplomski rad**

**Rijeka, 2020.**

**SVEUČILIŠTE U RIJECI**  
**MEDICINSKI FAKULTET**  
**INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI**  
**SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE**

**Frano Marinelli**

**POVEZANOST SERUMSKE RAZINE 25–HIDROKSI VITAMINA D I KARCINOMA**  
**MOKRAĆNOG MJEHURA U SJEVERNOM PRIOBALJU HRVATSKE**

**Diplomski rad**

**Rijeka, 2020.**

Mentor rada: Doc. dr. sc. Tanja Čelić, dr. med.

Diplomski rad ocijenjen je dana \_\_26. lipnja 2020. godine\_\_ u \_\_Rijeci\_\_, pred povjerenstvom u sastavu:

1. izv. prof. dr. sc. Josip Španjol, dr. med.
2. izv. prof .dr. sc. Hrvoje Jakovac, dr. med.
3. doc. dr. sc. Sergej Nadalin, dr. med.

Rad sadrži 45 stranica, 3 slike, 4 tablice, 90 literaturnih navoda.

## ZAHVALA

Ovim putem se zahvaljujem svojoj mentorici doc. dr. sc. Tanji Ćelić, dr. med. na velikoj pomoći u pisanju ovog diplomskog rada.

Također, zahvaljujem se svojim roditeljima, bratu i nonićima na bezuvjetnoj podršci tijekom cijelog studija, a htio bih se zahvaliti i mojim prijateljima s fakulteta koji su mi pokazali da je ovaj studij puno više od samog gledanja u knjigu.

Na kraju, zahvaljujem se i svojoj djevojci Marti s kojom sam dijelio sve dobre i loše trenutke u proteklih 6 godina i s kojom se nadam da ću ih i nastaviti dijeliti još dugo vremena.

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
1.1. Vitamin D.....	1
1.1.1. Uloga, izvori i vrste vitamina D .....	1
1.1.2. Metabolizam i funkcija vitamina D.....	2
1.1.3. Poremećaji vitamina D.....	4
1.2. Mokraćni mjehur.....	7
1.2.1. Građa i funkcija mokraćnog mjehura .....	7
1.2.2. Tumori mokraćnog mjehura .....	8
2. SVRHA RADA .....	12
3. ISPITANICI I METODE .....	13
3.1. Ispitanici i plan istraživanja .....	13
3.2. Anketni upitnik.....	14
3.3. Uzorkovanje krvi i laboratorijska mjerenja .....	15
3.4. Statistička analiza.....	16
4. REZULTATI .....	17
4.1. Karakteristike ispitanika.....	17
4.2. Serumske koncentracije 25-hidroksi vitamina D u ispitanika s karcinomom mokraćnog mjehura i u ispitanika u kontrolnoj grupi.....	20
4.3. Povezanost serumske koncentracije 25-hidroksi vitamina D i rizičnih faktora za karcinom mokraćnog mjehura u prilagođenim logističkim modelima .....	21
5. RASPRAVA .....	24
6. ZAKLJUČAK.....	26
7. SAŽETAK .....	27
8. SUMMARY .....	28
9. LITERATURA .....	29
10. ŽIVOTOPIS .....	39

## POPIS SKRAĆENICA I AKRONIMA

VDR - eng. *Vitamin D receptor*; receptor vitamina D

UVB - eng. *ultraviolet B*; ultraljubičasto zračenje tipa B

PTH - eng. *parathyroid hormone*; paratireoidni hormon

TRPV6 - eng. *transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 6*; prolazni potencijski receptor kationski kanal, podgrupa V, član 6

NFκB - eng. *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*; nuklearni factor pojačivač kapa lakih lanaca u aktiviranim B stanicama

MAPK - eng. *mitogen-activated protein kinase*; mitogenski aktivirana protein kinaza

DNK - eng. *deoxyribonucleic acid*; deoksiribonukleinska kiselina

WHO - eng. *World Health Organization*; Svjetska Zdravstvena organizacija

FINDRISK - eng. *FINnish Diabetes Risk Score*; Finski sustav bodovanja za procjenu rizika od dijabetesa

FRS - eng. *Framingham risk score*; Framingham sustav bodovanja za procjenu rizika

HDL-C - eng. *high density lipoprotein C*; lipoprotein visoke gustoće C

25(OH)D - eng. *25-hydroxy vitamin D*; 25-hidroksi vitamin D

ELISA - eng. *enzyme linked immunosorbent assay*; enzimsko vezani imunoapsorbirajući esej

OR - eng. *odds ratio*; omjer šansi

CI - eng. *confidence interval*; interval pouzdanosti

# 1. UVOD

## 1.1. Vitamin D

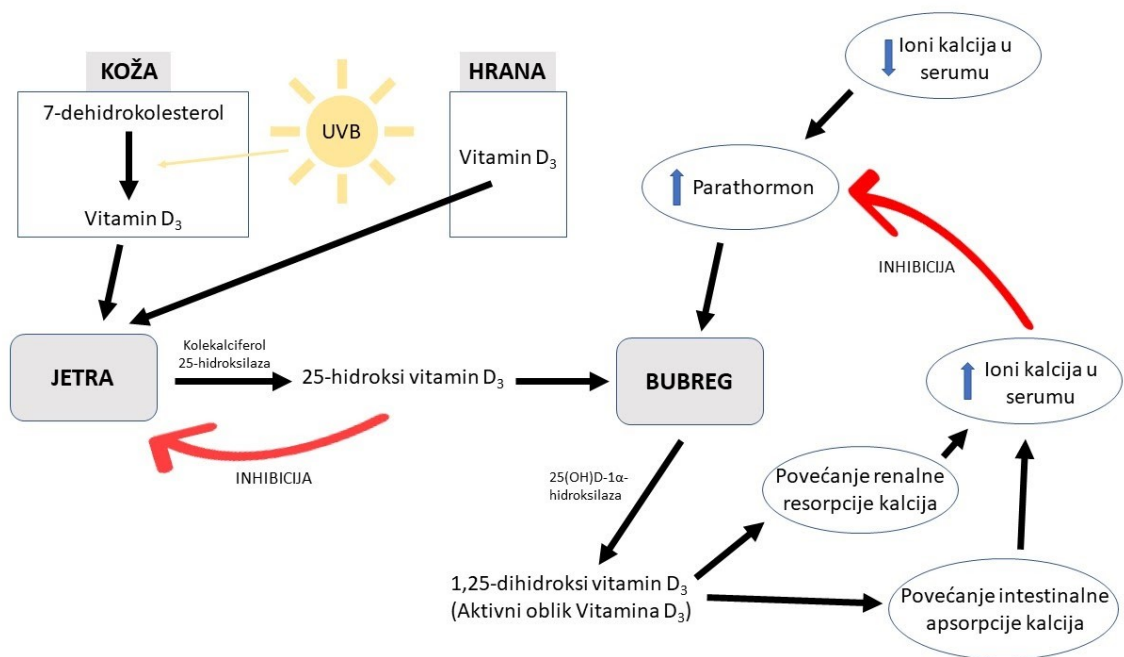
### 1.1.1. Uloga, izvori i vrste vitamina D

Vitamin D je steroid kojeg ubrajamo u vitamine topive u mastima. Vitamin D se smatra i prohormonom jer njegov aktivni oblik koji nastaje u ljudskom organizmu djeluje kao hormon, odnosno kao signalna molekula koja se prenosi kroz cirkulacijski sustav i pritom utječe na različite fiziološke funkcije. Smatra se da se vitamin D pojavio u samim počecima razvoja najjednostavnijih biljaka i životinja, fitoplanktona i zooplanktona, te se iz tog razloga, a i zato što receptore za vitamin D (eng. *vitamin D receptor*, VDR) nalazimo u gotovo svim tkivima, sve više pažnje pridaje istraživanju njegova djelovanja na različita tkiva (1,2). Pod vitaminom D danas se podrazumijeva i vitamin D<sub>2</sub> ili ergokalciferol i D<sub>3</sub> ili kolekalciferol koji obavljaju jednake funkcije u ljudskom organizmu, ali između kojih postoji nekoliko razlika. Samo vitamin D<sub>3</sub> se stvara u koži ljudi iz sterola pod utjecajem ultraljubičastog zračenja tipa B (eng. *ultraviolet B*, UVB), a može se unositi i hranom, jednako kao i vitamin D<sub>2</sub> (3). Izvori vitamina D u hrani su slabo rašireni te se prirodno rijetko nalaze u većim količinama. Vitamin D<sub>3</sub> je životinjskog podrijetla i nalazimo ga u ribljem ulju, žumanjku jajeta i u jetri životinja dok vitamin D<sub>2</sub> većinom nalazimo u hrani biljnog podrijetla kao što su gljive u kojima se vitamin D<sub>2</sub> stvara na jednak način kao i vitamin D<sub>3</sub> u ljudima - iz sterola pod utjecajem UVB zračenja (3,4). S obzirom da se veliki broj ljudi ne izlaže dovoljno suncu kako bi na prirodan način proizveli dovoljnu količinu vitamina D, brojni proizvođači dodaju vitamin D svojim prehrambenim proizvodima, a farmaceutske tvrtke proizvode dodatke prehrani koji se koriste i za liječenje niza poremećaja uzrokovana manjkom vitamina D odnosno posljedičnim manjkom kalcija u krvnom serumu (5,6).



### **1.1.2. Metabolizam i funkcija vitamina D**

Vitamin D<sub>3</sub> se u koži nakon sinteze iz 7-dehidrokolesterola pod utjecajem UVB zračenja nalazi u svom inaktivnom obliku te mora proći dvije hidroksilacije kako bi se aktivirao. Nakon što se stvori u koži ili apsorbira iz probavnog sustava, vitamin D<sub>3</sub> u jetri prolazi prvu hidroksilaciju uz pomoć enzima kolekalciferol 25-hidroksilaze koji je produkt gena CYP2R1 nakon čega nastaje 25-hidroksi vitamin D<sub>3</sub> ili kalcifediol. Sam 25-hidroksi vitamin D<sub>3</sub> djeluje inhibitorno na hidroksilaciju u jetri te na taj način regulira razine aktivnog oblika vitamina D<sub>3</sub> u serumu. To znači da ukoliko se u krvnom serumu nalazi dovoljna količina 25-hidroksi vitamina D<sub>3</sub> iz kojeg će nastati aktivni oblik vitamina D<sub>3</sub>, hidroksilacija u jetri se zaustavlja te se višak stvorenog vitamina D<sub>3</sub> pohranjuje u jetri čije rezerve mogu trajati i nekoliko mjeseci bez potrebe za izlaganjem suncu ili uzimanjem dodataka prehrani. U bubregu slijedi i druga hidroksilacija gdje uz pomoć enzima 25(OH)D-1 $\alpha$ -hidroksilaze, koji je produkt CYP27B1 gena, nastaje 1,25-dihidroksi vitamin D<sub>3</sub> ili kalcitriol; aktivni oblik vitamina D čija je aktivnost gotovo 1000 puta veća od one 25-hidroksi vitamina D<sub>3</sub>. Za uspješnu proizvodnju 1,25-dihidroksi vitamina D<sub>3</sub> u bubregu potrebna je povećana razina paratireoidnog hormona (eng. *parathyroid hormone*, PTH) koja nastaje kada je razina kalcija u krvnom serumu niska (4,7). Stvaranje aktivnog vitamina D<sub>3</sub> potiče povećanu intestinalnu apsorpciju kalcija vežući se na vitamin D receptor u jezgrama enterocita koji modulira stvaranje različitih proteina poput kalbindina i TRPV6 koji prenose kalcij u citoplazmu enterocita otkud se olakšanom difuzijom prenosi u krvni serum čime se povećava razina kalcija u krvnom serumu što inhibitorno djeluje na lučenje PTH i posljedično smanjuje produkciju 1,25-dihidroksi vitamina D<sub>3</sub> (8-11). Cijeli proces je prikazan na slici 1.



**Slika 1. - Metabolizam Vitamina D<sub>3</sub> i njegov utjecaj na razinu kalcija u serumu.**

Vitamin D<sub>2</sub> unesen kroz probavni sustav prolazi sličan put s dvije uzastopne hidroksilacije u jetri i bubregu kako bi na kraju nastao njegov aktivni oblik 1,25-dihidroksi vitamin D<sub>2</sub> ili erkalcitriol (7). Iako ima istraživanja koja pokazuju da je vitamin D<sub>2</sub> jednako koristan kao vitamin D<sub>3</sub> za održavanje serumske razine 25-hidroksi vitamina D (12-15), ipak je puno veći broj istraživanja pokazao da je vitamin D<sub>3</sub> efikasniji (16-25) dok nijedna studija nije pokazala da je vitamin D<sub>2</sub> efikasniji. Smatra se da je razlog manje efikasnosti metabolita vitamina D<sub>2</sub> manji afinitet za vitamin D receptor u enterocitima (26) ili pak manji afinitet jetrenog enzima 25-hidroksilaze koji preferira vitamin D<sub>3</sub> (27,28), a određene studije su predložile i bržu razgradnju vitamina D<sub>2</sub> kao razlog slabijeg djelovanja pošto je za razgradnju vitamina D<sub>3</sub> potreban jedan dodatni korak u odnosu na razgradnju vitamina D<sub>2</sub> (29).

Vitamin D osim intestinalne apsorpcije kalcija, potiče i intestinalnu apsorpciju fosfata te povećava renalnu reapsorpciju kalcija i fosfata koja se većinom odvija u proksimalnim tubulima bubrega te i na taj način doprinosi homeostazi kalcija i fosfata

(7,30). Također, vitamin D igra određenu ulogu i u mineralizaciji i resorpciji kostiju zajedno s PTH te su vitamin D receptori nađeni i u osteocitima, ali posljednja istraživanja nisu pokazala veću važnost tih receptora te se smatra da vitamin D većinu svojih funkcija vezanih uz koštani sustav obavlja kroz regulaciju razine kalcija u krvnom serumu (31,32).

### **1.1.3. Poremećaji vitamina D**

Poremećaji vitamina D se mogu podijeliti na hipervitaminoze i hipovitaminoze. I dok je višak vitamina D rijedak i klinički nije toliko relevantan te nastaje najčešće kao posljedica prekomjernog uzimanja suplemenata vitamina D, hipovitaminoza D se često smatra "pandemijom" zbog učestalosti nedostatka vitamina D u ljudima, posebice u zemljama u razvoju, gdje može uzrokovati razne poremećaje poput rahitisa u djece i osteomalacije u djece i odraslih (33). Iako se u razvijenim zemljama rijetko nađe nedostatak vitamina D koji već uzrokuje simptome, asimptomatski oblik nedostatka vitamina D je relativno čest te je povezan s osteoporozom, povećanim rizikom mogućih fraktura nakon padova (34,35) i s povećanim rizikom od razvoja autoimunih bolesti (36). Deficijencija vitamina D se procjenjuje mjerenjem serumske razine 25-hidroksi vitamina D, metabolita vitamina D<sub>3</sub>. Za odgovor na pitanje koji je normalan raspon 25-hidroksi vitamina D postoje oprečna mišljenja različitih znanstvenika; prema hrvatskim smjernicama donesenim 2016. godine normalan raspon iznosi 75-125 nmol/L; 50-75 nmol/L se smatra insuficijencijom, dok se serumska razina 25-hidroksi vitamina D manja od 50 nmol/L smatra deficijencijom (37). Kako bi se održala normalna razina vitamina D u serumu Europska agencija za sigurnost hrane preporuča unošenje dnevne doze od 15 µg za sve osobe starije od jedne godine (38).

Smanjena izloženost sunčevom zračenju i posljedični nedostatak vitamina D usko je povezan i s povećanim rizikom od razvoja različitih oblika malignih tumora o čemu su prvi znanstveni radovi objavljeni pred gotovo 80 godina koji govore o povećanju incidencije raznih malignih tumora s većom geografskom širinom (39,40). Iako se glavna uloga vitamina D obavlja u enterocitima, receptori za vitamin D su pronađeni u gotovo svim tkivima u tijelu te se ta činjenica smatra razlogom raznovrsnih fizioloških funkcija vitamina D i njegove važne uloge u prevenciji karcinogeneze (41). Postoji nekoliko mehanizama u kojima sudjeluje vitamin D, a za koje se smatra da su važni u njegovoj ulozi u prevenciji nastanka malignih tumora. Vitamin D ima protuupalno djelovanje koje iskazuje na nekoliko načina; inhibira prostaglandinski put inhibirajući ekspresiju enzima ciklooksigenaze 2 i prostaglandinskih receptora te potiče degradaciju samih prostaglandina (42), suprimira p38 MAPK signalni put inhibirajući produkciju proupalnih citokina (43), inhibira NFκB signalni put suprimirajući i na taj način ekspresiju enzima ciklooksigenaze 2 (44), a uz to može i regulirati interakciju između stanica imunskog sustava i tumorskih stanica kako bi se smanjila produkcija proupalnih citokina (45). Vitamin D djeluje i kao antioksidans inducirajući djelovanje različitih enzima koji razgrađuju slobodne kisikove radikale (46), a prema nekim istraživanjima sudjeluje i u obnovi oštećenja DNK molekule povećavajući ekspresiju gena koji su uključeni u popravljavanje DNK molekule poput p53 (47). Vitamin D djeluje i antiproliferativno te potiče diferencijaciju stanice regulacijom čimbenika rasta, ciklusa stanice i signalnih puteva (48). Vitamin D potiče i apoptozu, programiranu staničnu smrt (49), a novija istraživanja su pokazala da vitamin D ima i sposobnost potaknuti autofagiju tumorskih stanica (50).

Postoji veliki broj kliničkih i pretkliničkih istraživanja koja su istraživala odnos serumske razine 25-hidroksi vitamina D i malignih tumora. Najviše istraživanja koja su se bavili ovom temom promatrala su povezanost serumskih koncentracija 25-hidroksi vitamina D i malignih tumora debelog crijeva, dojke i prostate. Radna grupa Svjetske zdravstvene organizacije iz 2008. godine pronašla je povezanost između deficijencije vitamina D i raka debelog crijeva što je podržano i od rezultata dobivenih analizom podataka u studiji McCullough et al. koja je uključivala 17 različitih kohorti (5706 slučajeva raka debelog crijeva i 7107 sudionika u kontrolnoj skupini) (51,52). Studije o povezanosti serumske koncentracije 25-hidroksi vitamina D i raka dojke su dosad pružili različite rezultate, a jedna meta-analiza prospektivnih studija provedena od strane Bauer et al. pokazala je značajnu inverznu povezanost za postmenopauzalne žene, ali ne i za premenopauzalne (53). Kod raka prostate rezultati su također nekonzistentni što pokazuje meta-analiza provedena od strane Gilbert et al. koja nije pronašla konkretne dokaze o povezanosti serumske koncentracije 25-hidroksi vitamina D i raka prostate (54).

Također, postoji i određen broj studija koje su istraživale povezanost karcinoma mokraćnog mjehura i njegove povezanosti sa serumskom koncentracijom 25-hidroksi vitamina D. Meta-analiza provedena od strane Liao et al. u 2014. godini koja je uključivala 89,610 sudionika i ukupno 2238 pacijenata s karcinomom mokraćnog mjehura pokazala je jasan protektivni učinak visokih serumskih koncentracija vitamina D na razvoj karcinoma mokraćnog mjehura, a u isto vrijeme je predstavila deficijenciju vitamina D kao rizični faktor za karcinom mokraćnog mjehura (55). Još jedna meta-analiza provedena od strane Zhang et al. iz 2015. koja je uključivala 7 studija s 62,141 sudionika pokazala je jednake rezultate.

Međutim, jasno je iz rezultata meta-analize da je potrebno još dodatnih prospektivnih kohortnih studija kako bi se dokazala stvarna vrijednost vitamina D u nastanku karcinoma mokraćnog mjehura i njegova korist u prognostici karcinoma mokraćnog mjehura (56).

Zbog svih prethodno navedenih razloga, suplementi vitamina D se sve više reklamiraju kao antitumorski proizvodi te je zbog toga važno naglasiti da još uvijek nema dovoljno dokaza o koristi davanja suplemenata vitamina D te je potrebno još dosta kvalitetnih kliničkih istraživanja kako bi se dokazala njihova stvarna vrijednost.

## **1.2. Mokraćni mjehur**

### ***1.2.1. Građa i funkcija mokraćnog mjehura***

Mokraćni mjehur je šuplji mišićni organ naslonjen na mišićno dno zdjelice, a dio je mokraćnog sustava. Anatomski, mokraćni mjehur se sastoji od 3 dijela, a to su donji i stražnji dio ili baza, srednji dio ili tijelo i prednji dio ili vrh. Mokraćni mjehur ima i dvije površine, prednju koja gleda u simfizu i stražnju koja je u dodiru s crijevima, a u žena i s maternicom (57). Histološki, mjehur je građen od 4 sloja, a to su prijelazni epitel, lamina propria, mišićnica i seroza. Mišićni sloj je izgrađen od mišićnih snopova koji se kreću u svim smjerovima, a oko mokraćne cijevi tvore pravi sfinkter koji nije pod utjecajem volje (58). Glavna funkcija mokraćnog mjehura je pohrana urina koji dolazi putem mokraćovoda iz bubrega, a odlazi iz mokraćnog mjehura putem mokraćne cijevi u procesu mikcije koji je pod kontrolom istoimenog centra koji se nalazi u mostu produljene moždine (59). U prosjeku se u mjehuru nalazi 300-500 mL urina (60).

### **1.2.2. Tumori mokraćnog mjehura**

Karcinom mokraćnog mjehura je u 2012. godini bio najčešći maligni tumor mokraćnog sustava i deveti najčešći malignitet u svijetu (61,62). 90% svih karcinoma mokraćnog mjehura otpada na urotelni karcinom u zemljama zapadne Europe i Sjeverne Amerike (63,64) gdje je incidencija karcinoma mokraćnog mjehura u porastu (65), dok je u određenim afričkim državama češći planocelularni karcinom čiji je nastanak povezan s infekcijom parazitom *Schistosoma haematobium* (66). U Hrvatskoj, maligni tumori mokraćnog mjehura u 2017. godini se nalaze na petom mjestu po broju novooboljelih u muškaraca kod kojih čine 5% (690 slučajeva) svih malignih tumora, dok kod žena čine 2% (229 slučajeva), što znači da je odnos novooboljelih između muškaraca i žena približno 3:1, a preko 96% novooboljelih je starije od 50 godina (67). Rizični faktori povezani s nastankom karcinoma mokraćnog mjehura su pušenje cigareta (68,69), izloženost arsenu (70), uzimanje analgetika fenacetina (71), izloženost industrijskim kemikalijama (72,73), kronični cistitis (74,75), kongenitalna ekstrofija mokraćnog mjehura (76), radioterapija (77) te kemoterapija citostaticima (npr. ciklofosamidom) (78-80), a kod nastanka karcinoma mokraćnog mjehura pronađena je i genetska komponenta, specifično u osoba s Lynch sindromom (81).

Tumori mokraćnog mjehura se klasificiraju prema Klasifikaciji Svjetske zdravstvene organizacije za tumore mokraćnog sustava i muških spolnih organa (*eng. World Health Organization Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs*) iz 2016. godine. WHO klasifikacija primarne tumore mokraćnog mjehura s obzirom na histopatološke karakteristike dijeli na epitelne, koji čine više od 99% svih tumora, i mezenhimalne od kojih su najčešći sarkomi, a navode se još neke rijetke vrste tumora kao što su neuroendokrini i melanocitični, zatim urahalni

karcinomi, karcinomi Mullerovog tipa, hematopoetski i limfoidni tumori te drugi nesvrstani tumori. Epitelni tumori se dijele na urotelne novotvorine, planocelularne karcinome i adenokarcinome. Urotelne novotvorine ili novotvorine prijelaznog epitela se dijele na ne-invazivne i invazivne - one koji su probili bazalnu membranu. Ne-invazivne urotelne novotvorine se mogu podijeliti u ravne i papilarne. Ravne urotelne novotvorine dijelimo na displazije koje se smatraju premalignitetom i na urotelne karcinome in situ koji sadrže citološki maligne stanice, a papilarne urotelne novotvorine dijelimo na benigne i maligne. Benigni su urotelni i invertirani urotelni papilom, a u maligne spadaju papilarne urotelne novotvorine niskog malignog potencijala, ne-invazivni papilarni urotelni karcinom niskog stupnja malignosti i ne-invazivni papilarni urotelni karcinom visokog stupnja malignosti. U novoj klasifikaciji iz 2016. godine dodan je i pojam urotelne proliferacije nesigurnog malignog potencijala koji označava zadebljanje urotela bez ili sa minimalnom citološkom atipijom i bez prave papilarne formacije. Invazivne urotelne karcinome dijelimo s obzirom na njihovu histološku diferencijaciju koja se naziva divergentnom zbog morfološke raznovrsnosti koju može postići; to su skvamozna, glandularna, gnjezdasta, mikrocistična, plazmacitoidna, mikropapilarna varijanta i druge. Također se razlikuje i karcinome niskog i visokog stupnja s obzirom na njihovu diferenciranost. Karcinomi niskog stupnja su bolje diferencirani i više nalikuju normalnim stanicama te takvi karcinomi imaju sporiju progresiju i bolju prognozu, dok su karcinomi visokog stupnja slabije diferencirani, brže progrediraju i imaju u načelu lošiju prognozu (82).

Za gradiranje karcinoma mokraćnog mjehura prema TNM klasifikaciji, gdje T stoji za lokalno širenje primarnog tumora, N za metastaze u limfnim čvorovima, a M za udaljene metastaze, koristi se 8. izdanje Cancer Staging Manual-a iz 2018. godine kojeg izdaje American Joint Committee on Cancer. Kako bi se odredila T



komponenta gradiranja, prvi korak je biopsija tumora putem cistoskopske transuretralne resekcije tumora. Ukoliko se iz nekog razloga tumor ne može procijeniti pridaje se stadij TX, a ukoliko se ne nađe dokaza o tumoru tada je stadij T0. Ukoliko se tumor pronađe, onda se može odrediti stupanj invazije, je li to ne-invazivni papilarni karcinom (Ta) ili karcinom in-situ (Tis); prodire li u subepitelno vezivno tkivo (T1), u mišićnicu (unutrašnja polovica - T2a, vanjska polovica - T2b), perivezikalno tkivo (mikroskopski - T3a, makroskopski - T3b) ili je već invadirao u neke od okolnih organa poput prostate, seminalnih vezikula, maternice i/ili vagine (T4a), zdjeličnog i/ili abdominalnog zida (T4b). N komponenta se zatim određuje radiološkom dijagnostikom ili kod visokog T stadija, radikalnom disekcijom i naknadnom patohistološkom dijagnostikom. Ako se iz nekog razloga limfni čvorovi ne mogu procijeniti pridaje se stadij NX, a ukoliko nema pozitivnih limfnih čvorova N0. N1 označava metastaze u jednom zdjeličnom limfnom čvoru, N2 u više zdjeličnih limfnih čvorova, a N3 označava širenje u zajedničke ilijačne limfne čvorove. M komponenta se određuje radiološkom dijagnostikom. Ukoliko nema udaljenih metastaza pridaje se stadij M0, ako su dokazane u limfnim čvorovima dalje od zajedničkih ilijačnih M1a, a ukoliko se nalaze van limfnih čvorova M1b (83). Prema TNM klasifikaciji sve karcinome mokraćnog mjehura može se svrstati u prognostičke grupe označene rimskim brojevima I do IV gdje veći broj označava veću progresiju tumora i u načelu lošiju prognozu. Grupama III i IV su dodana i slova A i B kojima se dodatno precizira dijagnoza stavljanjem pacijenata u podgrupe. Prognostička grupa 0 je namijenjena stadiju in-situ i ne-invazivnom papilarnom karcinomu koji u načelu nemaju metastatski potencijal. Podjela u prognostičke grupe prikazana je u Tablici 1.

**Tablica 1. Svrstavanje karcinoma mokraćnog mjehura u prognostičke grupe prema TNM klasifikaciji (84).**

Kada je T...	Kada je N...	Kada je M...	Onda je prognostička grupa...
<b>Ta</b>	<b>N0</b>	<b>M0</b>	<b>0a</b>
<b>Tis</b>	<b>N0</b>	<b>M0</b>	<b>0is</b>
<b>T1</b>	<b>N0</b>	<b>M0</b>	<b>I</b>
<b>T2a</b>	<b>N0</b>	<b>M0</b>	<b>II</b>
<b>T2b</b>	<b>N0</b>	<b>M0</b>	<b>II</b>
<b>T3a, T3b, T4a</b>	<b>N0</b>	<b>M0</b>	<b>IIIA</b>
<b>T1-T4a</b>	<b>N1</b>	<b>M0</b>	<b>IIIA</b>
<b>T1-T4a</b>	<b>N2, N3</b>	<b>M0</b>	<b>IIIB</b>
<b>T4b</b>	<b>N0</b>	<b>M0</b>	<b>IVA</b>
<b>Bilo koji T</b>	<b>Bilo koji N</b>	<b>M1a</b>	<b>IVA</b>
<b>Bilo koji T</b>	<b>Bilo koji N</b>	<b>M1b</b>	<b>IVB</b>

Osim primarnih, mokraćni mjehur mogu zahvatiti i sekundarni, metastatski tumori. Takvi tumori čine 15% svih tumora mokraćnog mjehura, a to su najčešće tumori koji se lokalno šire iz debelog crijeva, rektuma, prostate i vrata maternice, a rjeđe su to prave udaljene metastaze iz melanoma ili karcinoma želuca, dojke i pluća (85,86). Klinička slika pacijenata s karcinomom mokraćnog mjehura ovisi o lokalizaciji tumora i stadiju u kojem se nalazi. Od simptoma gotovo uvijek nalazimo barem mikrohematuriju, ali najčešći simptom je bezbolna makrohaturija. Od ostalih simptoma javljaju se urgentna inkontinencija, nikturija i dizurija. Kod uznapredovalih tumora može doći i do opstrukcije mokrenja dok kod onih koji već imaju udaljene metastaze simptomi ovise o lokaciji tih metastaza (87,88).

## **2. SVRHA RADA**

Svrha ovog diplomskog rada je istražiti povezanost serumskih vrijednosti 25-hidroksi vitamina D i rizika razvoja karcinoma mokraćnog mjehura u ispitanika u sjevernom priobalju Hrvatske.

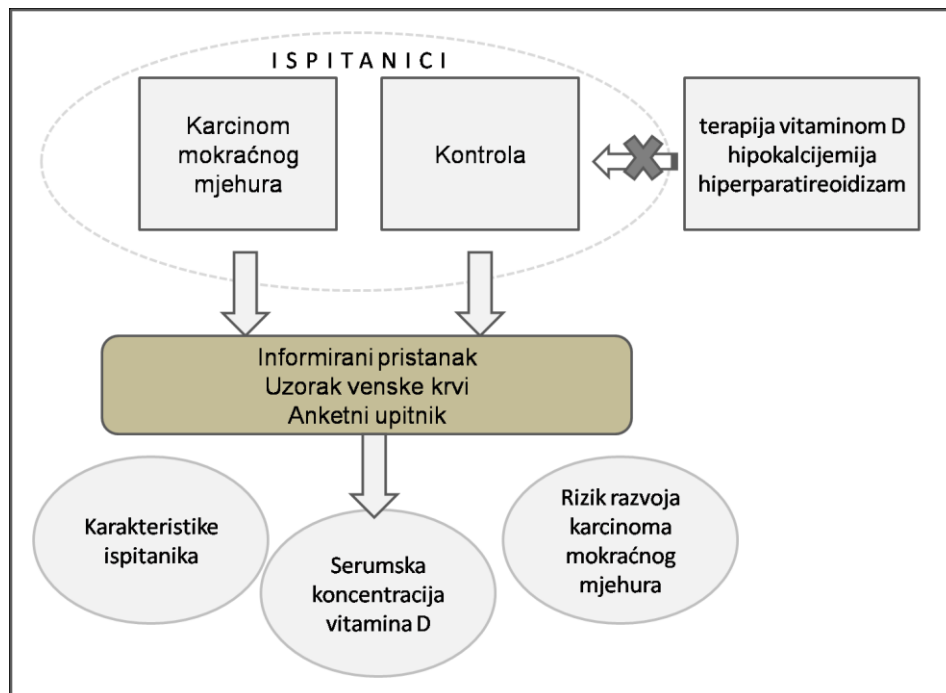
Za ostvarenje ove hipoteze postavili smo dva cilja:

1. Istražiti povezanost između serumskih razina 25-hidroksi vitamina D i rizika razvoja karcinoma mokraćnog mjehura u sjevernom priobalju Hrvatske.
2. Istražiti postoji li povezanost između serumskih razina 25-hidroksi vitamina D i vjerojatnosti pojave karcinoma mokraćnog mjehura u sjevernom priobalju Hrvatske prilagodbom za kovarijable koje su prethodnim istraživanjima povezane s karcinomom mokraćnog mjehura, uključujući pušenje cigareta, konzumiranje plave ribe i godišnje doba uzimanje uzoraka venske krvi.

### 3. ISPITANICI I METODE

#### 3.1. Ispitanici i plan istraživanja

Istraživanje provedeno u sklopu izrade ovog diplomskog rada je deskriptivna, presječna studija provedena u sjevernom priobalju Hrvatske, među ispitanicima koji su liječeni na u Kliničkom bolničkom centru Rijeka. Ispitanici uključeni u istraživanje svrstani su u dvije skupine: A) ispitanici s karcinomom mokraćnog mjehura (N=236) te B) ispitanici koji su činili kontrolnu skupinu (N=83) (slika 1.). Kontrolna skupina odgovara skupini s karcinomom mokraćnog mjehura prema dobi, a čine ju urološki pacijenti koji ne boluju od karcinoma mokraćnog mjehura već od nemalignog oboljenja kao što su hidronefroza, bubrežni kamenci i hiperplazija prostate. Isključni kriteriji za kontrolnu skupinu su bili terapija vitaminom D ili nekim od njezinih aktivnih metabolita ili analoga u posljednjih 6 mjeseci od uključanja u istraživanje, terapija za osteoporozu, hipokalcijemija i hiperparatireoidizam.



Slika 2. Skupine ispitanika i plan istraživanja.

Etičko odobrenje za provedbu istraživanja dobiveno je od Etičkog povjerenstva Kliničkog Bolničkog Centra u Rijeci. Svi sudionici istraživanja potpisali su informirani pristanak te im je objašnjena svrha istraživanja i što se od njih traži prilikom sudjelovanja. Sudionici ovog istraživanja ispunili su upitnik za dijagnozu metaboličkog sindroma, te su jednom tijekom istraživanja dali uzorak venske krvi za određivanje razine vitamina D u Kliničkom Bolničkom Centru Rijeka. Ovo istraživanje provedeno je u skladu s etičkim i bioetičkim principima i osigurana je privatnost ispitanika uključenih u istraživanje te je zaštićena povjerljivost njihovih podataka. Pravednost i dobročinstvo istraživanja provedeno je u skladu s Nurnberškim kodeksom i posljednjom revizijom Helsinške deklaracije.

### **3.2. Anketni upitnik**

Upitnik korišten u ovom istraživanju razvijen je koristeći FINDRISK (eng. *FINnish Diabetes Risk Score*) i FRS (eng. *Framingham risk score*) alate za procjenu i koristeći "Kriterije za zajedničku izjavu" (engl. *„Joint Statement Criteria“*) iz 2009. godine za dijagnozu metaboličkog sindroma. Upitnik se sastojao od 4 dijela koji su sadržavali pitanja s otvorenim i zatvorenim odgovorom. Prvi dio je uključivao navođenje karakteristika sudionika (dob, spol, nacionalnost, bračni status, razina edukacije, zaposlenost, prebivalište, mjesečni prihod i osobno zdravlje). Drugi dio se sastojao od pitanja vezanih za visinu, težinu i opseg struka. Treći dio je uključivao pitanja o razini krvnog tlaka, glukoze u krvi natašte, ukupnog kolesterola, lipoproteina visoke gustoće C (eng. *high density lipoprotein C, HDL-C*) i triglicerida. Zadnji dio je sadržavao pitanja o pušenju cigareta, kroničnim bolestima, kroničnoj uporabi droga te pitanja iz FINDRISK upitnika o dnevnoj fizičkoj aktivnosti, dnevnom unosu povrća i voća, o povijesti uzimanja terapije antihipertenzivima, visokim razinama glukoze u

krvi i anamnezi dijabetes mellitusa tipa 2 u obitelji. Upitnik je prije korištenja za istraživanje testiran za sadržaj, dizajn, čitkost i razumljivost na 10 osoba.

### **3.3. Uzorkovanje krvi i laboratorijska mjerenja**

Uzorci krvi koji nisu bili natašte uzeti su od sudionika u obje ispitivane skupine u različitim godišnjim razdobljima, te je zbog vrijednosti za ovo istraživanje zabilježeno razdoblje godine u kojem je uzorak uzet. To je učinjeno iz razloga što se serumske koncentracije 25(OH)D spontano mijenjaju tijekom godine zbog povećanog ili smanjenog izlaganju suncu. Godinu smo podijelili u 2 glavna godišnja vremenska razdoblja; ljetno, odnosno razdoblje povećane sunčane aktivnosti i veće izloženosti ultraljubičastom zračenju tipa B (lipanj do studeni) i zimsko, odnosno razdoblje smanjene sunčane aktivnosti i manje izloženosti ultraljubičastom zračenju tipa B (prosinac do svibanj). Uzorci krvi su centrifugirani i alikvotirani te pohranjeni na -80°C do daljnje biokemijske analize. Uzorci nisu podvrgnuti nepotrebnom procesu smrzavanja i odmrzavanja. Ispitanici su odmah po vađenju venske krvi ispunili upitnik opisan pod 3.2., a čiji se rezultati nalaze prikazani u odjeljku rezultati, tablica 1.

Serumska koncentracija 25(OH)D izmjerena je pomoću ELISA (eng. *enzyme linked immunosorbent assay*) testa dobavljača Immunodiagnostic Systems (IDS, Frankfurt, Njemačka). Uzorci su razrijeđeni sa 25(OH)D označenim biotinom i inkubirani 2 sata na sobnoj temperaturi u mikrotitarskim jažicama obloženim visokospecifičnim ovčjim 25(OH)D protutijelima. Potom je dodan enzim (eng. *horseradish peroxidase*) označen avidinom, on se selektivno veže za biotinske komplekse te se nakon još jednog koraka čišćenja razvila boja koristeći kromogeni supstrat. Intenzitet boje nastao apsorpcijom iščitava se na mikrotitarskim jažicama. Intenzitet boje obrnuto je proporcionalan koncentraciji 25(OH)D.

### 3.4. Statistička analiza

Modeli logističke regresije napravljeni su kako bi se procijenio opći omjer i 95% interval pouzdanosti za karcinome mokraćnog mjehura sa koncentracijama 25(OH)D uz pomoć 4 kategorije 25(OH)D vrijednosti. Kategorije su načinjene prema postojećoj literaturi, a to su: <30 nmol/L, >30 - <50 nmol/L, >50 - <75 nmol/L i >75 nmol/L. Bazični modeli logističke regresije su uključivali samo serumske koncentracije 25(OH)D kako bi istražili glavnu povezanost između incidencije karcinoma mokraćnog mjehura u našem uzorku populacije Hrvatske. Prilagođeni logistički modeli su dalje korelirali za potencijalno važne objašnjavajuće faktore poput dobi ispitanika pri uzimanju uzorka krvi, pušenja cigareta, izloženosti suncu tijekom posla ili slobodnog vremena i godišnjeg doba tijekom uzimanja uzoraka krvi. Prehrambene navike, kao i obrasci ponašanja su isto uključeni u modele da se testira njihova značajnost. Dodatne objašnjavajuće varijable su tretirane kao kategoričke varijable u modelima, osim dobi koja je uključena kao kontinuirana varijabla. Ove varijable su dobivene iz upitnika koji su provedeni odmah nakon uzimanja uzoraka krvi. Dodatni logistički regresivni modeli su proučavali povezanost između karcinoma mokraćnog mjehura i koncentracije 25(OH)D u različitim dijelovima podataka baziranih na unaprijed definiranim kategorijama kao što su profesionalna izloženost ultraljubičastom zračenju, dob, spol, period uzimanja uzoraka krvi i pušenje cigareta. Parametrijski i ne-parametrijski testovi su korišteni za testiranje statističke značajnosti. Statistička analiza je provedena koristeći 11. inačicu STATA operativnog sustava.

## 4. REZULTATI

### 4.1. Karakteristike ispitanika

Karakteristike ispitanika s karcinomom mokraćnog mjehura i u kontroli bile su u osnovi slične, osim dužeg perioda pušenja cigareta tijekom života i manje konzumacije plave ribe u skupini ispitanika s karcinomom mokraćnog mjehura. Također, skupina ispitanika s karcinomom mokraćnog mjehura ima niže izmjerene koncentracije ukupnog kolesterola od kontrole. Sveukupno, naši ispitanici su većinom oženjeni, imaju djecu i imaju nižu ili višu srednjoškolsku edukaciju. Skoro polovina ispitanika se bavila fizičkim radom, najčešće vani, i prije i poslije 30. godine života. Ovo cjeloživotno izlaganje ultraljubičastom zračenju i fizičkom radu je gotovo jednako distribuirano između obje skupine ispitanika. Među ispitanicima s karcinomom mokraćnog mjehura, 36% su bile žene, a imali su od 31 do 90 godina, s prosjekom od 69 godina. Kontrolna skupina se sastojala pretežito od žena, starih između 34 i 82 godine s prosjekom 68 godina. Informacije prikupljene u upitniku potvrđuju rezultate ostalih istraživanja te na taj način potvrđuju teoretsku valjanost podataka. Na razini cijelog uzorka, pronađeno je da pušači u prosjeku imaju manje serumske koncentracije 25(OH)D (60 nmol/L > 52.2 nmol/L, p=0.03). Ispitanici koji su prijavili veću učestalost konzumacije plave ribe su u prosjeku imali veće serumske koncentracije 25(OH)D (61 nmol/L > 55 nmol/L, p=0.04). Ispitanici koji su bolovali od nekih drugih bolesti (komorbiditeta) i koji su uzimali lijekove za kronične bolesti (hipertenzija, dijabetes mellitus) imali su niže razine 25(OH)D u serumu (59 nmol/L > 54 nmol/L, p=0.08) od onih koji nisu uzimali nikakve lijekove.



Prikupljeni su i podaci o samoprijavljenom općem zdravlju, koristeći vizualnu analognu skalu. Općenito, pronađena je jasna linearna, rastuća veza između razina vitamina D i zdravlja ispitanika. Onim ispitanicima koji su odgovorili da su boljeg zdravlja izmjerene su više serumske koncentracije 25(OH)D. Nije bilo statistički značajnih razlika između dvije skupine ispitanika s obzirom na kategorije o dnevnoj fizičkoj aktivnosti, dnevnom unosu povrća i voća, o povijesti uzimanja terapije antihipertenzivima, visokim razinama glukoze u krvi i anamnezi dijabetes mellitusa tipa 2 u obitelji.

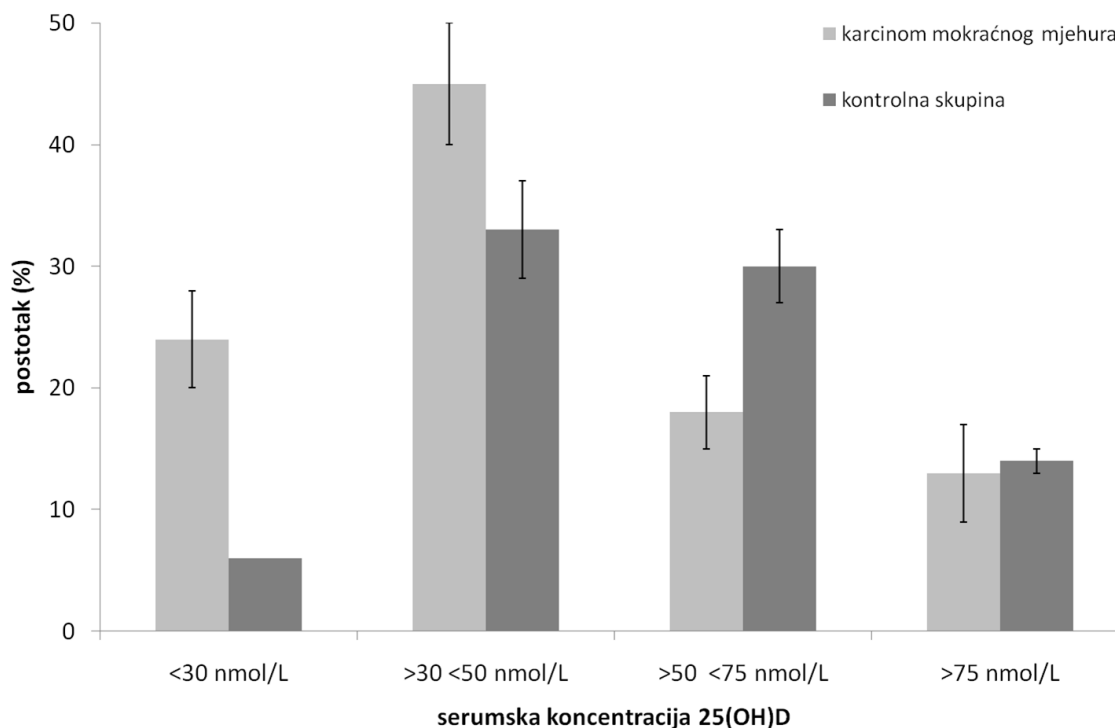
**Tablica 2. Izdvojene karakteristike ispitanika izražene medijanom (raspon vrijednosti) ili brojem (postotak) u skupini s karcinomom mokraćnog mjehura i kontroli.**

<b>Karakteristike ispitanika</b>	<b>Karcinom mokraćnog mjehura (N=236)</b>	<b>Kontrola (N=83)</b>
<b>Dob (godine)</b>	69±11 (31-90)	68±9 (34-82)
<b>Spol</b>		
Žene	84 (36)	71 (14)
Muškarci	152 (64)	12 (86)
<b>Oženjeni</b>	184 (78)	68 (83)
<b>Broj djece</b>	1.7±1 (0 - 3)	1.8±0.9 (0 - 5)
<b>Razina edukacije</b>		
Osnovna škola	50 (21)	20 (25)
Srednja škola	147 (62)	53 (63)
Fakultet	40 (17)	10 (12)
<b>Karakteristika posla</b>		
Posao vani do 30. godine života	78 (33)	42 (50)
Fizički rad do 30. godine života	78 (33)	42 (50)
Posao vani nakon 30. godine života	65 (26)	17 (20)
Fizički rad nakon 30. godine života	93 (40)	35 (42)
Rad s naftom i derivatima nafte	3 (1)	2 (1)
<b>Fizička aktivnost u dječjoj dobi</b>		
Bez	2 (1)	1 (1)
Ponešto	41 (17)	30 (36)
Često	193 (82)	52 (63)
<b>Fizička aktivnost sada</b>		
Bez	60 (25)	21 (25)
Ponešto	138 (58)	46 (55)
Često	38 (17)	16 (20)
<b>Prehrambene navike</b>		
Plava riba (g/ tjedno)	20 (0 - 200)	35 (0 – 250)
Alkohol (ml/dan)	100 (0 – 500)	120 (0 – 400)
Cigareta (broj/dan)	10 (1- 30)	12 (1 – 33)
Godine pušenja	14 (0 – 43)	11 (0 – 35)
Suplementi vitamina D	71 (30)	11 (12)
Suplementi kalcija Ca	14 (6)	5 (6)
<b>Serumski kolesterol (mmol/l)</b>	5.9 (5.5 -7.0)	6.3 (5.6 – 7.4)

#### **4.2. Serumske koncentracije 25-hidroksi vitamina D u ispitanika s karcinomom mokraćnog mjehura i u ispitanika u kontrolnoj grupi**

U prosjeku, uzorci krvi uzeti u zimskom razdoblju sadržavali su niže razine serumske koncentracije 25(OH)D od onih uzetih u ljetnom razdoblju (54.8 nmol/L > 68.6 nmol/L, p=0.00). Srednja vrijednost serumske koncentracije 25(OH)D u ispitanika s karcinomom mokraćnog mjehura je iznosila 52 nmol/L. Kontrolna skupina ispitanika imala je prosječnu serumsku koncentraciju 25(OH)D 54 nmol/L. Serumske koncentracije vitamina D su skretale ulijevo (p=0.00) u njihovoj distribuciji, kao što se moglo i očekivati. Najviša koncentracija u uzorku je bila 137 nmol/L. Postotak ispitanika s određenim rasponom vrijednosti vitamina D u svakoj od zadanih podkategorija prikazan je na slici 2. Najveći postotak ispitanika sa karcinomom mokraćnog mjehura imao je serumsku koncentraciju 25(OH)D >30 - <50 nmol/L, dok je u skupini kontrola najveći postotak ispitanika opažen uz serumsku koncentraciju 25(OH)D >30 - <50 nmol/L i >50 - <75 nmol/L. Najniži postotak ispitanika sa karcinomom mokraćnog mjehura imao je visoku koncentraciju vitamina D, u kategoriji serumske koncentracije 25(OH)D >75 nmol/L, dok je suprotno tomu najniži postotak ispitanika kontrolne skupine imao nisku koncentraciju vitamina D, u kategoriji serumske koncentracije 25(OH)D <30 nmol/L.

**Slika 3. Postotak ispitanika s karcinomom mokraćnog mjehura i kontrola u pojedinoj razini serumske koncentracije 25(OH)D. (stupci predstavljaju srednje vrijednosti  $\pm$  SEM.\*  $P < 0,05$ )**



#### **4.3. Povezanost serumske koncentracije 25-hidroksi vitamina D i rizičnih faktora za karcinom mokraćnog mjehura u prilagođenim logističkim modelima**

Povećane razine 25(OH)D u serumu su statistički povezane sa smanjenim rizikom od razvoja karcinoma mokraćnog mjehura. Drugim riječima, koncentracije 25-hidroksi vitamina D u kategoriji 2 i kategoriji 3 su statistički povezane sa smanjenim rizikom od razvoja karcinoma mokraćnog mjehura, u odnosu na koncentracije u najnižoj kategoriji 1 (75 nmol/L). Međutim, te razlike nisu statistički različito povezane s rizikom od nastanka karcinoma mokraćnog mjehura u odnosu na najnižu kategoriju 1, ( $p > 0,09$ ) (tablica 3.)

Prilagodba za kovarijante (dob ispitanika, godišnje doba vađenja krvi, razina obrazovanja, pušenje cigareta (broj na dan), godine pušenja, konzumacija alkohola i konzumacija plave ribe) (prilagođeni model <sup>+</sup> u tablici 2.) koje su dokazane u prethodnim studijama promijenile su rezultate. Povećane serumske koncentracije 25(OH)D nisu statistički povezane sa smanjenim rizikom od razvoja karcinoma mokraćnog mjehura na 5% razini. Povećane koncentracije 25(OH)D su statistički povezane s smanjenim rizikom od razvoja karcinoma mokraćnog mjehura na 10-13% razini. Iako je smjer glavnih povezanosti ostao isti, prilagođeni rezultati su manje uvjerljivi.

**Tablica 3. Omjer šansi i 95% interval pouzdanosti za serumske koncentracije 25-hidroksi vitamina D i rizičnih faktora za karcinom mokraćnog mjehura.**

Serumski 25-hidroksi vitamin D (nmol/L)					
	≤ 30	30 - ≤50	50 - ≤75	≥75	p
Karcinomi/kontrole	56/6	106/33	44/30	30/14	
OR* (95%CI)	0.22 (0.10-0.61)	0.25 (0.10-0.65)	0.27 (0.10-0.69)	0.42 (0.15-1.17)	0.09
OR <sup>+</sup> (95%CI)	0.25 (0.09-0.79)	0.26 (0.08-0.82)	0.42 (0.14-1.27)	0.68 (0.2-2.3)	0.02

Kratice: OR (eng. *odds ratio*; omjer šansi), CI (eng. *confidence interval*; interval pouzdanosti)

\*prilagođeni logistički model na dob ispitanika i godišnje doba vađenja krvi.

<sup>+</sup>prilagođeni logistički model prilagođen na dob ispitanika, godišnje doba vađenja krvi, razina obrazovanja, pušenje cigareta (broj na dan), godine pušenja, konzumacija alkohola i konzumacija plave ribe.

U analizi stratificiranoj prema razini serumske koncentracije 25(OH)D i rizičnim faktorima za razvoj karcinoma mokraćnog mjehura (tablica 4.) ispitanici su u svakoj od tri kategorije (godišnje doba, pušenje, fizička aktivnost) imali gotovo dvostruko veći rizik za razvoj karcinoma mokraćnog mjehura u odnosu na ispitanike sa 25(OH)D  $\geq$  50 nmol/L. U analizi stratificiranoj prema razdoblju u godini (tablica 4.), niže koncentracije cirkulirajućeg 25(OH)D su povezane s višim rizikom od karcinoma mokraćnog mjehura u grupi koja je uzorkovana u zimskom razdoblju ( $p < 0.05$ ). Ista povezanost nije primijećena u ljetnoj grupi.

**Tablica 4. Omjer šansi i 95% interval pouzdanosti serumske koncentracije 25-hidroksi vitamina D i rizičnih faktora za karcinom mokraćnog mjehura razdijeljeni u skupine potencijalnih modifikatora učinka**

Serumski 25-hidroksi vitamin D (nmol/L)					
	$\leq 50$ nmol/L		$\geq 50$ nmol/L		
podgrupa	karcinomi/ kontrola	OR (95%CI)	karcinomi/ kontrola	OR (95%CI)	p
<b>Godišnje doba vađenja krvi</b>					
zima	111/21	1.33 (0.24-1.95)	58/34	0.25 (0.07-0.87)	0.05
ljetno	16/11	0.14 (0.04-0.68)	51/22	0.72 (0.24-0.131)	0.42
<b>Fizička aktivnost danas</b>					
da	122/41	1.15 (0.55–2.02)	54/21	2.44 (0.73–2.90)	0.04
ne	28/9	2.76 (0.97–3.11)	32/12	1.21 (0.29–1.68)	0.29
<b>Pušenje cigareta</b>					
pušači	22/16	2.22 (0.64-3.26)	56/28	3.33 (0.82-4.54)	0.39
nepušači	101/19	0.13 (0.03-0.45)	53/20	0.38 (0.11-1.42)	0.15

Kratice: OR (eng. *odds ratio*; omjer šansi), CI (eng. *confidence interval*; interval pouzdanosti)

## 5. RASPRAVA

Rezultati ovog istraživanja pokazuju da su više razine serumske koncentracije 25(OH)D povezane s nižom incidencijom karcinoma mokraćnog mjehura u sjevernom priobalju Hrvatske. Ovi su nalazi dosljedni sa prethodnim nalazima stanične kulture, *in vivo*, i genetskim dokazima koji ukazuju da bi veća izloženost vitaminu D mogla imati ulogu u zaštiti od karcinoma mokraćnog mjehura (61,63,90). Također, naš pronalazak inverzne veze između stopa incidencija i rizika od razvoja karcinoma potvrđuju nalaze brojnih epidemioloških studija fokusiranih na ostale tipove karcinoma. Dokazi povezanosti između različitih razina vitamina D i rizika razvoja karcinoma mokraćnog mjehura nisu dovoljno istraženi te su dvosmisleni u dosadašnjoj literaturi. U studiji Amaral i sur. analizirana je povezanost između plazmatskog 25(OH)D i ukupnog rizika od uroepitelnog karcinoma. Slično našim, slučajevi u studiji su se pretežito sastojali od muškaraca s visokom učestalošću pušača cigareta. Ovi autori su pokazali da su niske serumske razine 25(OH)D povezane s povećanim rizikom od karcinoma mokraćnog mjehura. Treba naglasiti da naši rezultati ukazuju na manji rizik od karcinoma mokraćnog mjehura u ispitanika u 2. i 3. kategoriji, odnosno u onih koji imaju serumske koncentracije vitamina D manje od 75 nmol/L. Mokraćni mjehur eksprimira vitamin D receptor, i kao i prostata bi trebao biti meta za vitamin D čiji su pozitivni učinci na fiziologiju ovog organa očekivani. Koristeći stratificirane podatke, pronađena je potvrda naših glavnih pronalazaka u podacima stratificiranima za muškarce i za uzorke uzete u zimskom razdoblju. Za žene nije bilo statističkih dokaza za interakciju u grupi s karcinomom mokraćnog mjehura što može biti objašnjeno manjim brojem ispitanica. Slično, većina uzoraka je skupljena u zimskom razdoblju što je imalo povećan utjecaj na snagu povezanosti pronađenu u ljetnoj grupi.

Međutim, rezultati proširenih, prilagođenih modela nisu konkluzivni. Razlog vjerojatno leži u manjem uzorku i potencijalnim nedetektiranim vezama između kovarijanta koje mogu ići u više smjerova iako naknadna procjenska analiza nije detektirala probleme s multikolinearnošću.

Ograničenja ovog istraživanja su mjerenja samo jednog uzorka krvi. Višestruko uzorkovanje seruma je moglo dovesti do preciznijih mjerenja. Međutim, treba naglasiti da podaci iz nekoliko studija ukazuju da su koncentracije relativno stabilne kada se uzorkuju tijekom istog razdoblja u različitim godinama. Iako naši pronalasci moraju biti dodatno potvrđeni kliničkim studijama, indiciraju važnu vezu između vitamina D i rizika za rak i prevenciju.

Ovo je prva epidemiološka studija koja je istražila povezanost serumske koncentracije vitamina D i rizika razvoja karcinoma mokraćnog mjehura u hrvatskoj populaciji i prva epidemiološka studija koja je istražila bilo koji tip raka i njegovu povezanost s serumskim razinama vitamina D u sjevernom priobalju Hrvatske.



## 6. ZAKLJUČAK

Glavni zaključak ovog istraživanja je postojanje korelacija između visokih serumskih razina 25-hidroksi vitamina D i nižeg rizika za razvoj karcinoma mokraćnog mjehura u ispitanika u sjevernom priobalju Hrvatske. Ovaj pronalazak je konzistentan s rezultatima brojnih drugih studija koje su provedene na ovu temu te je našim istraživanjem još jednom potvrđeno da je visoka serumska koncentracija vitamina D jedan od važnih protektivnih čimbenika koji smanjuje rizik od razvoja karcinoma mokraćnog mjehura.

Međutim, treba naglasiti da se dobiveni rezultati odnose na ispitanike koji imaju serumске koncentracije vitamina D manje od 75 nmol/L. Isto tako, prilagođeni i prošireni rezultati ipak pokazuju manju značajnost, pretežito iz razloga što postoje i drugi važni rizični čimbenici za razvoj karcinoma mokraćnog mjehura, od kojih su najvažniji pušenje cigareta, starija dob i muški spol koji su izraženi u velikom broju naših pacijenata. Ono što je potrebno kako bi se dokazala ne samo korelacija, već i uzročno posljedična veza između serumске koncentracije vitamina D i rizika razvoja karcinoma mokraćnog mjehura su dodatne prospektivne kohortne studije na velikom broju ispitanika čime bi se isključio utjecaj drugih varijabli.

## 7. SAŽETAK

Vitamin D se smatra prohormonom čiji aktivni oblik koji nastaje u koži ljudi djelovanjem ultraljubičastog zračenja tipa B djeluje kao hormon, odnosno kao signalna molekula koja, vežući se na unutarstanične receptore za vitamin D koji se nalaze u gotovo svim tkivima u tijelu, utječe na različite fiziološke funkcije. Glavninu svojih funkcija obavlja povećavajući intestinalnu apsorpciju i renalnu reapsorpciju kalcija i fosfata sudjelujući na taj način u održavanju njihove homeostaze. U brojnim studijama je pokazano da vitamin D ima protektivni učinak u razvoju određenih malignih tumora, uključujući i maligne tumore mokraćnog mjehura koji su deveti najčešći malignitet u svijetu dok se u Hrvatskoj u muškaraca nalaze na 5. mjestu.

Sudionici ove studije su podijeljeni u dvije grupe; jedna se sastojala od 236 pacijenata oboljelih od karcinoma mokraćnog mjehura, dok je druga grupa bila kontrolna grupa od 83 sudionika koji su povezani s prvom grupom na osnovi dobi, a regrutirani su kao urološki pacijenti koji ne boluju od karcinoma mokraćnog mjehura. Svi sudionici su ispunili upitnik koji se sastojao od 4 dijela s otvorenim i zatvorenim pitanjima te su dali svoj uzorak krvi.

Cilj ovog rada bio je dokazati povezanost serumske razine 25-hidroksi vitamina D i karcinoma mokraćnog mjehura u sjevernom priobalju Hrvatske. Ovom studijom pronađena je korelacija između visoke serumske razine vitamina D i nižeg rizika razvoja karcinoma mokraćnog mjehura u grupi pacijenata koji obitavaju u sjevernom priobalju Hrvatske.

Ključne riječi: interval pouzdanosti, karcinom mokraćnog mjehura, omjer vjerojatnosti, vitamin D

## **8. SUMMARY**

Vitamin D is considered a prohormone whose active form, which is synthesized in the skin by ultraviolet light type B, acts as a hormone – a signal molecule that affects different physiological functions by binding to vitamin D receptors in different body tissues. Most of its functions are done through mediating an increase in intestinal absorption and renal reabsorption of calcium and phosphates. It has been shown in many studies that vitamin D has a certain protective effect when it comes to development of some malignant tumours, including malignant tumours of the bladder which are the ninth most common malignancy in the world and fifth in Croatia's male population.

The participants of this study were divided into two groups; one consisted of 236 patients with bladder carcinoma while the other group consisted of 83 participants which were connected with the first group based on age and were recruited as urologic patients which did not have bladder carcinoma. All participants have filled a questionnaire which consisted of 4 parts with open-ended and close-ended questions and they all gave their blood sample for analysis.

The aim of this study was to find a connection between serum level of 25-hydroxy vitamin D and bladder carcinoma in the northern coastal region of Croatia. With this study a correlation between high serum level of vitamin D and lower level of risk of development of bladder carcinoma has been found among a group of patients in the northern coastal region of Croatia.

Key words: bladder carcinoma, confidence interval, odds ratio, vitamin D

## 9. LITERATURA

1. Clifopoulos C. Vitamin D: An overview. *Mediterr J Rheumatol*. 2017; 28(4): 206-9.
2. Bikle DD. Vitamin D: an ancient hormone. *Exp Dermatol* [Internet]. 16.12.2010. [citirano 22.06.2020.]; 2010; 20(1): 7-13. Dostupno na: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1600-0625.2010.01202.x>
3. Wilson LR, Tripkovic L, Hart KH, Lanham-New SA. Vitamin D deficiency as a public health issue: using vitamin D2 or vitamin D3 in future fortification strategies. *P Nutr Soc*. 2017; 76: 392-9.
4. DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr*. 2004; 80: 1689–96.
5. Moulas AN, Vaiou M. Vitamin D Fortification of Foods and Prospective Health Outcomes. *J Biotechnol*. 2018; 285: 91-101.
6. Jaaskelainen T, Itkonen ST, Lundqvist A, Erkkola M, Koskela T, Lakkala K, et al. The Positive Impact of General Vitamin D Food Fortification Policy on Vitamin D Status in a Representative Adult Finnish Population: Evidence From an 11-y Follow-Up Based on Standardized 25-hydroxyvitamin D Data. *Am J Clin Nutr*. 2017; 105(6): 1512-20.
7. Bikle DD. Vitamin D Metabolism, Mechanism of Action, and Clinical Applications. *Chem Biol*. 2014; 21(3): 319-29.
8. Kongsbak M, Levring TB, Geisler C, Rode von Essen M. The vitamin D receptor and T cell function. *Front Immunol* [Internet]. 18.06.2013. [citirano 22.06.2020.]; 2013; 4: 1-10.
9. Zheng W, Xie Y, Li G, Kong J, Feng JQ, Chun Li Y. Critical Role of calbindin-D28k in Calcium Homeostasis Revealed by Mice Lacking Both Vitamin D Receptor and calbindin-D28k. *J Biol Chem*. 2004; 279(50): 52406-13.

10. Hoenderop JGJ, Nilius B, Bindels RJM. Calcium Absorption Across Epithelia. *Physiol Rev.* 2005; 85(1): 373-422.
11. Jones G, Strugnell SA, DeLuca HF. Current Understanding of the Molecular Actions of Vitamin D. *Physiol Rev.* 1998; 78(4): 1193-231.
12. Nimitphong H, Saetung S, Chanprasertyotin S, Chailurkit L, Ongphiphadhanakul B. Changes in circulating 25-hydroxyvitamin D according to vitamin D binding protein genotypes after vitamin D3 or D2 supplementation. *Nutr J.* 2013; 12: 39.
13. Holick MF, Biancuzzo RM, Chen TC, Klein EK, Young A, Bibuld D, et al. Vitamin D2 Is as Effective as Vitamin D3 in Maintaining Circulating Concentrations of 25-hydroxyvitamin D. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008; 93(3): 677-81.
14. Fisk CM, Theobald HE, Sanders TAB. Fortified Malted Milk Drinks Containing Low-Dose Ergocalciferol and Cholecalciferol Do Not Differ in Their Capacity to Raise Serum 25-hydroxyvitamin D Concentrations in Healthy Men and Women Not Exposed to UV-B. *J Nutr.* 2012; 142(7): 1286-90.
15. Biancuzzo RM, Young A, Bibuld D, Cai MH, Winter MR, Klein EK, et al. Fortification of Orange Juice With Vitamin D(2) or Vitamin D(3) Is as Effective as an Oral Supplement in Maintaining Vitamin D Status in Adults. *Am J Clin Nutr.* 2010; 91(6): 1621-6.
16. Armas LAG, Hollis BW, Heaney RP. Vitamin D2 Is Much Less Effective Than Vitamin D3 in Humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89(11): 5387-91.
17. Heaney RP, Recker RR, Grote J, Horst RL, Armas LAG. Vitamin D(3) Is More Potent Than Vitamin D(2) in Humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96(3): 447-52.
18. Itkonen ST, Skaffari E, Saaristo P, Saarnio EM, Erkkola M, Jakobsen J, et al. Effects of Vitamin D2-fortified Bread v. Supplementation With Vitamin D2 or D3 on

- Serum 25-hydroxyvitamin D Metabolites: An 8-week Randomised-Controlled Trial in Young Adult Finnish Women. *Br J Nutr.* 2016; 115(7): 1232-9.
19. Lehmann U, Hirche F, Stangl GI, Hinz K, Westphal S, Dierkes J. Bioavailability of Vitamin D(2) and D(3) in Healthy Volunteers, a Randomized Placebo-Controlled Trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013; 98(11): 4339-45.
  20. Logan VF, Gray AR, Peddie MC, Harper MJ, Houghton LA. Long-term Vitamin D3 Supplementation Is More Effective Than Vitamin D2 in Maintaining Serum 25-hydroxyvitamin D Status Over the Winter Months. *Br J Nutr.* 2013; 109(6): 1082-8.
  21. Oliveri B, Mastaglia SR, Brito GM, Seijo M, Keller GA, Somoza J, et al. Vitamin D3 Seems More Appropriate Than D2 to Sustain Adequate Levels of 25OHD: A Pharmacokinetic Approach. *Eur J Clin Nutr.* 2015; 69(6): 697-702.
  22. Shieh A, Chun RF, Ma C, Witzel S, Meyer B, Rafison B, et al. Effects of High-Dose Vitamin D2 Versus D3 on Total and Free 25-Hydroxyvitamin D and Markers of Calcium Balance. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016; 101(8): 3070-8.
  23. Trang HM, Cole DE, Rubin LA, Perratos A, Siu S, Vieth R. Evidence That Vitamin D3 Increases Serum 25-hydroxyvitamin D More Efficiently Than Does Vitamin D2. *Am J Clin Nutr.* 1998; 68(4): 854-8.
  24. Binkley N, Gemar D, Engelke J, Gangnon R, Ramamurthy R, Krueger D, Drezner MK. Evaluation of Ergocalciferol or Cholecalciferol Dosing, 1,600 IU Daily or 50,000 IU Monthly in Older Adults. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96(4): 981-8.
  25. Glendenning P, Chew GT, Seymour HM, Gillett MJ, Goldswain PR, Inderjeeth CA, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D Levels in Vitamin D-insufficient Hip Fracture Patients After Supplementation With Ergocalciferol and Cholecalciferol. *Bone.* 2009; 45(5): 870-5.

26. Houghton LA, Vieth R. The Case Against Ergocalciferol (Vitamin D<sub>2</sub>) as a Vitamin Supplement. *Am J Clin Nutr.* 2006; 84(4): 694-7.
27. Cheng JB, Levine MA, Bell NH, Mangelsdorf DJ, Russell DW. Genetic Evidence That the Human CYP2R1 Enzyme Is a Key Vitamin D 25-hydroxylase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004; 101(20): 7711-5.
28. Holmberg I, Berlin T, Ewerth S, Bjorkhem I. 25-Hydroxylase Activity in Subcellular Fractions From Human Liver. Evidence for Different Rates of Mitochondrial Hydroxylation of Vitamin D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub>. *Scand J Clin Lab Invest.* 1986; 46(8): 785-90.
29. Horst RL, Reinhardt TA, Ramberg CF, Koszewski NJ, Napoli JL. 24-Hydroxylation of 1,25-dihydroxyergocalciferol. An Unambiguous Deactivation Process. *J Biol Chem.* 1986; 261(20): 9250-6.
30. Fleet JC. The Role of Vitamin D in the Endocrinology Controlling Calcium Homeostasis. *Mol Cell Endocrinol.* 2017; 453: 36–45.
31. Bell TD, Demay MB, Burnett-Bowie SM. The Biology and Pathology of Vitamin D Control in Bone. *J Cell Biochem.* 2010; 111(1): 7–13.
32. Bikle DD. Vitamin D and Bone. *Curr Osteoporos Rep.* 2012; 10(2): 151-9.
33. Hall JE, Guyton, AC. *Medicinska fiziologija - udžbenik.* 12. izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2012. p. 968-9.
34. American Geriatrics Society Workgroup on Vitamin D Supplementation for Older Adults. Recommendations Abstracted From the American Geriatrics Society Consensus Statement on Vitamin D for Prevention of Falls and Their Consequences. *J Am Geriatr Soc.* 2014; 62(1): 147-52.
35. Cosman F, de Beur SJ, LeBoff MS, Lewiecki EM, Tanner B, Randall S, et al. Clinician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis. *Osteoporos Int.* 2014; 25(10): 2359-81.

36. Aranow C. Vitamin D and the Immune System. *J Investig Med.* 2011; 59(6): 881-6.
37. Bender DV, Giljević Z, Kušec V, Laktašić Žerjavić N, Bošnjak Pašić M, Vrdoljak E, et al. Smjernice za prevenciju, prepoznavanje i liječenje nedostatka vitamina D u odraslih. *Liječ Vjesn.* 2016; 138: 121-32.
38. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific opinion on dietary reference values for vitamin D. *EFSA Journal.* 2016; 14(10): 4547.
39. Apperly FL. The Relation of Solar Radiation to Cancer Mortality in North America. *Cancer Res.* 1941; 1: 191-5.
40. Grant WB, Mohr SB. Ecological Studies of Ultraviolet B, Vitamin D and Cancer Since 2000. *Ann Epidemiol.* 2009; 19(7): 446-54.
41. Jeon SM, Shin EA. Exploring vitamin D metabolism and function in cancer. *Exp Mol Med.* 2018; 50(4): 20.
42. Krishnan AV, Feldman D. Molecular Pathways Mediating the Anti-Inflammatory Effects of Calcitriol: Implications for Prostate Cancer Chemoprevention and Treatment. *Endocr Relat Cancer.* 2010; 17(1): 19-38.
43. Nonn L, Peng L, Feldman D, Peehl DM. Inhibition of p38 by Vitamin D Reduces interleukin-6 Production in Normal Prostate Cells via Mitogen-Activated Protein Kinase Phosphatase 5: Implications for Prostate Cancer Prevention by Vitamin D. *Cancer Res.* 2006; 66(8): 4516-24.
44. Chen Y, Zhang J, Ge X, Du J, Deb DK, Chun Li Y. Vitamin D Receptor Inhibits Nuclear Factor  $\kappa$ B Activation by Interacting with I $\kappa$ B Kinase  $\beta$  Protein. *J Biol Chem.* 2013; 288(27): 19450-8.



45. Bessler H, Djaldetti M.  $1\alpha,25$ -Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> Modulates the Interaction Between Immune and Colon Cancer Cell. *Biomed Pharmacother.* 2012; 66(6): 428-32.
46. Uberti F, Lattuada D, Morsanuto V, Nava U, Bolis G, Vacca G, et al. Vitamin D Protects Human Endothelial Cells From Oxidative Stress Through the Autophagic and Survival Pathways. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014; 99(4): 1367-74.
47. Swami S, Raghavachari N, Muller UR, Bao YP, Feldman D. Vitamin D Growth Inhibition of Breast Cancer Cells: Gene Expression Patterns Assessed by cDNA Microarray. *Breast Cancer Res Treat.* 2003; 80(1): 49-62.
48. Samuel S, Sitrin MD. Vitamin D's Role in Cell Proliferation and Differentiation. *Nutr Rev.* 2008; 66(10): 116-24.
49. Diaz GD, Paraskeva C, Thomas MG, Binderup L, Hague A. Apoptosis Is Induced by the Active Metabolite of Vitamin D<sub>3</sub> and Its Analogue EB1089 in Colorectal Adenoma and Carcinoma Cells: Possible Implications for Prevention and Therapy. *Cancer Res.* 2000; 60(8): 2304-12.
50. Wilson EN, Bristol ML, Di X, Maltese WA, Koterba K, Beckman MJ, et al. A Switch Between Cytoprotective and Cytotoxic Autophagy in the Radiosensitization of Breast Tumor Cells by Chloroquine and Vitamin D. *Horm Cancer.* 2011; 2(5): 272-85.
51. IARC. Vitamin D and Cancer. IARC Working Group Reports Vol.5, International Agency for research on Cancer, Lyon, 25 November 2008.
52. McCullough ML, Zoltick ES, Weinstein SJ, Fedirko V, Wang M, Cook NR, et al. Circulating Vitamin D and Colorectal Cancer Risk: An International Pooling Project of 17 Cohorts. *J Natl Cancer Inst.* 2019; 111(2): 158-69.

53. Bauer SR, Hankinson SE, Bertone-Johnson ER, Ding EL. Plasma Vitamin D Levels, Menopause, and Risk of Breast Cancer: Dose-Response Meta-Analysis of Prospective Studies. *Medicine (Baltimore)*. 2013; 92(3): 123-31.
54. Gilbert R, Martin RM, Beynon R, Harris R, Savovic J, Zuccolo L, et al. Associations of Circulating and Dietary Vitamin D With Prostate Cancer Risk: A Systematic Review and Dose-Response Meta-Analysis. *Cancer Cause Control*. 2011; 22(3): 319-40.
55. Liao Y, Huang JL, Qiu MX, Ma ZW. Impact of Serum Vitamin D Level on Risk of Bladder Cancer: A Systemic Review and Meta-Analysis. *Tumour Biol*. 2015; 36(3): 1567-72.
56. Zhang H, Wen X, Zhang Y, Wei X, Liu T. Vitamin D Deficiency and Increased Risk of Bladder Carcinoma: A Meta-Analysis. *Cell Physiol Biochem*. 2015; 37(5): 1686-92.
57. Križan Z. Kompendij anatomije čovjeka. 3. izd. 3. dio, Pregled građe grudi, trbuha, zdjelice, noge i ruke: za studente opće medicine i stomatologije. Zagreb: Školska knjiga; 1997. p 158-62.
58. Bolla SR, Odeluga N, Jetti R. Histology, Bladder. U: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 [citirano 22.06.2020.] Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK540963/>
59. Hall JE, Guyton, AC. Medicinska fiziologija - udžbenik. 12. izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2012. p 327-30.
60. Boron W, Boulpaep E. Medical Physiology. 3rd ed. Amsterdam: Elsevier; 2017. p 738
61. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieluent J, Jemal A. Global Cancer Statistic, 2012. *CA Cancer J Clin*. 2015; 65(2): 87-108.

62. Ploeg M, Aben KK, Kiemeny LA. The present and future burden of urinary bladder cancer in the world. *World J Urol.* 2009; 27(3): 289-93.
63. Parkin DM. The global burden of urinary bladder cancer. *Scand J Urol Nephrol Suppl.* 2008; 218: 12-20.
64. Wong MCS, Fung FDH, Leung C, Cheung WWL, Goggings WB, Ng CF. The global epidemiology of bladder cancer: a joinpoint regression analysis of its incidence and mortality trends and projection. *Sci Rep.* 2018; 8: 1129.
65. Pelucchi C, Bosetti C, Negri E, Malvezzi M, La Vecchia C. Mechanisms of disease: The epidemiology of bladder cancer. *Nat Clin Pract Urol.* 2006; 3(6): 327-40.
66. Mostafa MH, Sheweita SA, O'Connor PJ. Relationship between schistosomiasis and bladder cancer. *Clin Microbiol Rev.* 1999; 12(1): 97-111.
67. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Registar za rak Republike Hrvatske. Incidencija raka u Hrvatskoj 2017., Bilten 42, Zagreb, 2020.
68. Freedman ND, Silverman DT, Hollenbeck AR, Schatzkin A, Abnet CC. Association between smoking and risk of bladder cancer among men and women. *JAMA.* 2011; 306(7): 737-45.
69. Cumberbatch MG, Rota M, Catto JW, La Vecchia C. The Role of Tobacco Smoke in Bladder and Kidney Carcinogenesis: A Comparison of Exposures and Meta-analysis of Incidence and Mortality Risks. *Eur Urol.* 2016 ;70(3): 458-66.
70. Navarro Silvera SA, Rohan TE. Trace elements and cancer risk: a review of the epidemiologic evidence. *Cancer Causes Control.* 2007; 18(1): 7-27.
71. McCredie M, Stewart JH, Day NE. Different roles for phenacetin and paracetamol in cancer of the kidney and renal pelvis. *Int J Cancer.* 1993; 53(2): 245-49.

72. Jung I, Messing E. Molecular mechanisms and pathways in bladder cancer development and progression. *Cancer Control*. 2000; 7(4): 325-34.
73. Cole P, Hoover R, Friedell GH. Occupation and cancer of the lower urinary tract. *Cancer*. 1972; 29(5): 1250-60.
74. Delnay KM, Stonehill WH, Goldman H, Jukkola AF, Dmochowski RR. Bladder histological changes associated with chronic indwelling urinary catheter. *J Urol*. 1999; 161(4): 1106-9.
75. Groah SL, Weitzenkamp DA, Lammertse DP, Whiteneck GG, Lezotte DC, Hamman RF. Excess risk of bladder cancer in spinal cord injury: evidence for an association between indwelling catheter use and bladder cancer. *Arch Phys Med Rehabil*. 2002; 83(3): 346-51.
76. Rubenwolf PC, Eder F, Ebert AK, Hofstaedter F, Woodhouse CR, Roesch WH. Persistent histological changes in the exstrophic bladder after primary closure—a cause for concern?. *J Urol*. 2013; 189(2): 671-7.
77. Abern MR, Dude AM, Tsivian M, Coogan CL. The characteristics of bladder cancer after radiotherapy for prostate cancer. *Urol Oncol*. 2013; 31(8): 1628-34.
78. Travis LB, Curtis RE, Glimelius B, Holowaty EJ, Van Leeuwen FE, Lynch CF, et al. Bladder and kidney cancer following cyclophosphamide therapy for non-Hodgkin's lymphoma. *J Natl Cancer Inst*. 1995; 87(7): 524-30.
79. Talar-Williams C, Hijazi YM, Walther MM, Linehan WM, Hallahan CW, Lubensky I et al. Cyclophosphamide-induced cystitis and bladder cancer in patients with Wegener granulomatosis. *Ann Intern Med*. 1996; 124(5): 477-84.
80. O'Keane JC. Carcinoma of the urinary bladder after treatment with cyclophosphamide. *N Engl J Med*. 1988; 319(13): 871.

81. Mueller CM, Caporaso N, Greene MH. Familial and genetic risk of transitional cell carcinoma of the urinary tract. *Urol Oncol*. 2008; 26(5): 451-64.
82. Moch H, Humphrey PA, Ulbright TM, Reuter VE. (Eds): WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs (4th edition) IARC: Lyon 2016. p 77-130.
83. Amin MB, Edge SB, Greene FL, Byrd DR, Brookland RK, Wahington MK, et al. *AJCC Cancer Staging Manual*. 8. izd. New York: Springer; 2017. p 757-65.
84. Brierley J, Gospodarowicz M, O'Sullivan B. The principles of cancer staging. *Ecancermedicalsecience*. 2016; 10: ed61.
85. Bates AW, Baithun SI. Secondary neoplasms of the bladder are histological mimics of nontransitional cell primary tumours: clinicopathological and histological features of 282 cases. *Histopathology*. 2000; 36(1): 32-40.
86. Silver SA, Epstein JI. Adenocarcinoma of the colon simulating primary urinary bladder neoplasia. A report of nine cases. *Am J Surg Pathol*. 1993; 17(2): 171-8.
87. Davis R, Jones JS, Barocas DA, Castle EP, Lang EK, Leveillee RJ, et al. Diagnosis, evaluation and follow-up of asymptomatic microhematuria (AMH) in adults: AUA guideline. *J Urol*. 2012; 188(6): 2473-81.
88. Henning A, Wehrberger M, Madersbacher S, Pycha A, Martini T, Comploj E, et al. Do differences in clinical symptoms and referral patterns contribute to the gender gap in bladder cancer?. *BJU Int*. 2013; 112(1): 68-73.
89. Brinkman M, Zeegers MP. Nutrition, total fluid and bladder cancer. *Scand J Urol Nephrol Suppl*. 2008; 218: 25–36.
90. Parkin DM. The global burden of urinary bladder cancer. *Scand J Urol Nephrol Suppl*. 2008:12–20.

## 10. ŽIVOTOPIS

Frano Marinelli rođen je 15. siječnja 1996. godine u Rijeci. Završio je Osnovnu školu Kantrida i Salezijansku klasičnu gimnaziju s odličnim uspjehom, a 2014. godine upisuje studij Medicine na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Rijeci. Tijekom svojeg šestogodišnjeg obrazovanja ističe se studentskom aktivnošću u više udruga, a posebice u studentskoj udruzi CroMSIC. Kao Lokalni dužnosnik za znanstvene pa onda i profesionalne razmjene, a zadnje dvije godine studija i kao Predsjednik ove najveće studentske udruge u Hrvatskoj, organizirao je brojne lokalne, nacionalne i međunarodne projekte te je bio voditelj hrvatske delegacije na sastancima IFMSA - Međunarodne federacije udruga studenata medicine u Kanadi, Sloveniji, Tajvanu i Ruandi. Bio je i aktivni član Studentskog zbora i Fakultetskog vijeća, a svoje slobodno vrijeme je koristio za prenošenje stečenog znanja kao demonstrator na Zavodima za anatomiju, histologiju i internu medicinu. Svoje fakultetsko obrazovanje iskoristio je i za dodatno usavršavanje odlaskom na 3 jednomjesečne razmjene u Španjolsku, Tajland i Japan. Kroz cijeli studij zadržao je visok prosjek ocjena, a za svoju 3. godinu studija koju je završio s prosjekom 5,0 nagrađen je i Dekanovom nagradom za izvrsnost. Kao priznanje za šestogodišnji aktivni rad na posljednjoj godini studija dodijeljene su mu Dekanova i Rektorova nagrada za studentski aktivizam.