

Genetika rektalnog karcinoma i nove terapijske mogućnosti

Garaj, Hana

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:008681>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-13**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Hana Garaj

Genetika rektalnog karcinoma i nove terapijske mogućnosti

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2024.

Ovaj diplomski rad izrađen je u Klinici za onkologiju i nuklearnu medicinu, KBC Sestre milosrdnice pod vodstvom doc.dr.sc. Jasmine Marić Brozić i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2023/2024.

POPIS I OBJAŠNJENJE KRATICA KORIŠTENIH U RADU

18qLOH- gubitak heterozigotnosti na dugom kraku 18. kromosoma
5-FU- 5-fluorouracil
AJCC- eng. *American Joint Committee on Cancer*, Američki odbor za rak
APC - gen za adenomatoznu polipozu kolona
APE- abdominoperinealna ekstirpacija
ARAF- gen koji kodira A-Raf, serin/treonin protein kinazu
BRAF- gen koji kodira B-Raf, serin/treonin protein kinazu
BRCA1- eng. *breast cancer gene 1*, tumor supresor gen
CAPEOX- kemoterapeutski protokol, kombinacija kapecitabina i oksaliplatin
cCR- eng. *complete clinical response*, kompletan klinički odgovor
CD28- klaster diferencijacije 28, protein na površini T-stanica
CD80- klaster diferencijacije 80, protein uključen u kostimulaciju T-stanica
CD86- klaster diferencijacije 86, protein uključen u kostimulaciju T-stanica
CEA- eng. *carcinoembryonic antigen*, tumorski marker
CIMP- eng. *CpG island methylator phenotype*, fenotip CpG otoka metilatora
CIN - eng. *chromosomal instability*, kromosomska nestabilnost
c-MYC- gen koji kodira Myc protein, važan za regulaciju rasta i proliferacije stanica
CTLA-4- eng. *cytotoxic T-lymphocyte antigen*, citotoksični T-limfocitni antigen 4
CTNBN1- gen koji kodira β -katenin
DCC- eng. *deleted in colorectal carcinoma gene*, gen „izbrisan u kolorektalnom karcinomu“
DFS- eng. *disease free interval*, preživljenje bez pojave bolesti
PFS- eng. *progression-free interval*, preživljenje bez pojave progresije
dMMR- eng. *deficient mismatch repair*, nedostatak mehanizma popravka pogrešno sparenih baza
DNA- eng. *deoxyribonucleic acid*, deoksiribonukleinska kiselina
ECOG (skala)- eng. *Eastern Cooperative Oncology Group*, ECOG skalom procjenjuje se opće tjelesno stanje pacijenta i razina obavljanja svakodnevnih aktivnosti
EGFR- receptor za epidermalni faktor rasta
EPCAM- eng. *epithelial cell adhesion molecule*, epitelna adhezijska molekula
ERBB (1-4)- obitelj receptora epidermalnog faktora rasta
ERK (1 i 2)- eng. *extracellular signal-regulated kinase*, protein kinaza koja sudjeluje u unutarstaničnoj signalizaciji, alterativni naziv je MAP kinaza
ESMO- eng. *European Society for Medical Oncology*, Europska profesionalna organizacija za medicinsku onkologiju
FAP- familijarna adenomatozna polipoza
FDA- eng. *Food and Drug Administration*, Američka agencija za hranu i lijekove
FGFR- receptor faktora rasta fibroblasta
FOLFIRI- kemoterapeutski protokol koji uključuje leukovorin, 5-fluorouracil i irinotekan
FOLFIRINOX- kemoterapijski protokol koji uključuje leukovorin, 5-fluorouracil, irinotekan i oksaliplatin
FOLFOX- kemoterapijski protokol koji uključuje leukovorin, 5-fluorouracil i oksaliplatin
GDP- gvanozin difosfat
GLOBOCAN- baza podataka koja procjenjuje incidenciju, smrtnost i prevalenciju karcinoma
GTP- gvanozin trifosfat
Gy- Grey, jedinica za absorbiranu dozu zračenja
HER2- receptor epidermalnog faktora rasta 2
hMLH1 hipermetilirani gen za mut L homolog
HNPCC – hereditarni nepolipozni kolorektalni karcinom

H-RAS- eng. *Harvey Rat sarcoma virus*, gen koji kodira GTPazu H-Ras
ITM- indeks tjelesne mase
KIT- gen koji kodira c-KIT, receptorsku tirozin kinazu
KRAS- eng. *Kirsten rat sarcoma-2*, gen koji kodira K-ras
KRK- kolorektalni karcinom
KT- kemoterapija
KTRT- kemoradioterapija
LAR- eng. *low anterior resection*, niska prednja resekcija
LGR5- eng. *leucine-rich repeat containing G-protein coupled receptor*, receptor bitan u regulaciji stanične proliferacije i regeneracije, posebno u tkivima poput crijeva i kose
LOH- eng. *loss of heterozygosity*, gubitak heterozigotnosti
LV- leukovorin, folinska kiselina
MAP- eng. *MUTYH-associated polyposis*, polipoza povezana s MUTYH
MAPK- eng. *mitogen-activated protein kinase*, mitogen-aktivirana protein kinaza
MDT- multidisciplinarni tim
MEK (1 i 2)- protein kinaza koju kodira gen MAP2K1 (ili 2)
MKB- medicinska klasifikacija bolesti
mKRK- metastatski kolorektalni karcinom
MLH1- eng. *mut L homolog 1*, jedan od *mismatch repair* gena
MMR- eng. *mismatch repair*, mehanizam popravka pogrešno sparenih baza
MR- magnetna rezonancija
MSH2- eng. *mut S homolog 2*, jedan od *mismatch repair* gena
MSH6- eng. *mut S homolog 6*, jedan od *mismatch repair* gena
MSI- eng. *microsatellite instability*, mikrosatelitska nestabilnost
MSI-H- eng. *microsatellite instability-high*, visoka mikrosatelitska nestabilnost
MSI-L- eng. *microsatellite instability-low*, niska mikrosatelitska nestabilnost
MSS- eng. *microsatellite stable*, mikrosatelitska stabilnost
MUTYH - eng. *mutY homolog gen*, protein koji kodira sudjeluje u popravku oksidativnih oštećenja DNK
MWA- eng. *microwave ablation*, mikrovalna ablacija
NCCN- eng. *National Comprehensive Cancer Network*, neprofitna alijansa 33 vodeća centra za rak
N-RAS- eng. *neuroblastoma RAS viral oncogen homolog*, protein koji kodira pripada obitelji RAS GTPaza
OS- eng. *overall survival*, ukupno preživljenje
P16- gen za protein p16, tumor supresorski gen
pCR- eng. *pathologic complete response*, patološki kompletni odgovor
PD-L1- eng. *programmed death-ligand 1*,
PD-1- eng. *programmed cell death protein 1*, stanični receptor na T- i B-stanicama kojemu je uloga reguliranje odgovora imunološkog sustava na vlastite stanice tijela, imunološki *checkpoint*
PDGFR-b- receptor β -faktora rasta trombocita
PI3K- fosfatidilinozitol-3-kinaza
PIGF- faktor rasta placentae
PIK3CA- fosfatidilinozitol-4,5-bisfosfat-3-kinaza
PMS2- eng. *postmeiotic segregation increased 2*, jedan od *mismatch repair* gena
RAF- eng. *rapidly accelerated fibrosarcoma*, obitelj protoonkogenata
RAF 1- gen koji kodira serin/treonin kinazu C-Raf
RAS- eng. *Rat sarcoma virus*, obitelj onkogenata
Rb- retinoblastom protein

RET- protoonkogen koji kodira protein RET, receptorsku tirozin kinazu
RFA- radiofrekventna ablacija
RR- relativni rizik
RT- radioterapija
SBRT- eng. *stereotactic body radiation therapy*, stereotaktička terapija
SMAD (2 i 4) – eng. *mothers against decapentaplegic homolog 2* (ili 4), tumor supresorski geni
SZO- svjetska zdravstvena organizacija
TEM- transanalna endoskopska mikrokirurgija
TGF β - transformirajući čimbenik rasta β
TIE2- gen za receptor angiopoetina-1
TME- totalna mezorektalna ekscizija
TNM- eng. *tumour-node-metastasis*, tumor-limfni čvor-metastaza, sistem za klasifikaciju stadija raka
TNT- totalna neoadjuvantna terapija
TP53- tumor protein 53
VEGF- vaskularni endotelni faktor rasta
VEGFR1 i 2- receptor za vaskularni endotelni faktor rasta (1 i 2)
Wnt – eng. *Wingless-related integration site*, signalni put
WT- eng. *wild type*, divlji tip
yP- patološki stadij nakon neoadjuvantne terapije

SADRŽAJ

SAŽETAK.....	8
SUMMARY	9
1. UVOD	1
2. EPIDEMIOLOGIJA.....	2
3. ETIOLOGIJA.....	3
3.1. Okolišni čimbenici	3
3.2. Genetički čimbenici.....	4
3.2.1. Familijarna adenomatozna polipoza.....	4
3.2.2. Lynchov sindrom.....	5
4. MOLEKULARNA PATOGENEZA RAZVOJA KOLOREKTALNOG KARCINOMA.....	6
4.1. Kromosomska nestabilnost (CIN)	6
4.1.1. Mutacije u tumor supresor genima	7
4.1.1.1. APC	7
4.1.1.2. TP53	7
4.1.1.3. Gubitak heterozigotnosti u 18q	8
4.1.2. Mutacije u protoonkogenima.....	8
4.1.2.1. K-RAS.....	8
4.1.2.2. ERBB2.....	8
4.2. Mikrosatelitska nestabilnost (MSI)	9
4.3. Fenotip CpG otoka metilatora (CIMP).....	10
5. TNM KLASIFIKACIJA KARCINOMA REKTUMA	11
6. LIJEČENJE KARCINOMA REKTUMA	14
6.1. Kirurško liječenje	14
6.2. Neoadjuvantna terapija.....	15
6.3. Totalna neoadjuvantna terapija.....	16
6.4. „ <i>Watch and wait</i> “ strategija	16
6.5. Adjuvantna terapija	18
6.6. Terapija metastatske bolesti	18
7. NOVE TERAPIJSKE MOGUĆNOSTI	22
7.1. Neoadjuvantna imunoterapija <i>checkpoint</i> inhibitorima.....	22
7.2. Lokalna ablativna terapija u liječenju oligometastatske bolesti	23
7.3. Nove sustavne terapijske mogućnosti za liječenje metastatskog KRK-a	24
8. ZAKLJUČAK	26

ZAHVALE	27
LITERATURA	28
ŽIVOTOPIS	41

SAŽETAK

Genetika rektalnog karcinoma i nove terapijske mogućnosti

Hana Garaj

Kolorektalni karcinom (KRK) je treći malignitet po incidenciji, a drugi prema mortalitetu u svijetu. Uzrokuje 1 od 10 slučajeva i smrti od raka. Kolorektalni je karcinom velik socijalni, javnozdravstveni i ekonomski problem. Etiologija je multifaktorijalna, nastaje kombinacijom genetičkih i okolišnih čimbenika. Genetički čimbenici, među njima i nasljedni sindromi poput familijarne adenomatozne polipoze i Lynchova sindroma, utječu na razvoj otprilike trećine KRK-a. Okolišne čimbenike koji utječu na razvoj KRK-a dijelimo na čimbenike prehrane i čimbenike životnog stila. KRK je genetski heterogena bolest. Nastaje uglavnom postupnim stjecanjem genetskih i epigenetskih promjena koje potiču inicijaciju, promociju i progresiju normalnih epitelnih stanica u adenome, zatim karcinome te metastaze. Genomska je nestabilnost bitna karakteristika koja prati nakupljanje tih mutacija. U KRK-u opisana su najmanje 3 različita molekularna puta genomske nestabilnosti uključujući kromosomsku nestabilnost (CIN), mikrosatelitsku nestabilnost (MSI) i fenotip CpG otoka metilatora (CIMP). Kako je rektalni karcinom još uvijek bolest koju je teško liječiti, iako postoje mnoge dostupne terapijske mogućnosti među kojima su totalna neoadjuvantna terapija, „*watch and wait*“ strategija, neki oblici imunoterapije i neki drugi novi oblici sustavne terapije, ishodi su često suboptimalni. Zato se i nadalje traga za novim terapijskim mogućnostima.

Ključne riječi: kolorektalni karcinom, genomska nestabilnost, imunoterapija, neoadjuvantna terapija

SUMMARY

Genetics of rectal cancer and novel therapies

Hana Garaj

Colorectal cancer (CRC) is the third most common malignancy and the second leading cause of cancer-related death in the world. It causes 1 in 10 cancer cases and deaths. Colorectal cancer is a major social, public health and economic problem. The etiology is multifactorial, resulting from a combination of genetic and environmental factors. Genetic factors, among them hereditary syndromes such as familial adenomatous syndrome and Lynch syndrome, influence the development of about a third of CRC. Environmental factors that influence the development of CRC are divided into dietary factors and lifestyle factors. CRC is a genetically heterogeneous disease. It occurs mainly through the gradual acquisition of genetic and epigenetic changes that encourage the initiation, promotion and progression of normal epithelial cells into adenomas, then carcinomas and metastases. Genomic instability is an important characteristic that accompanies the accumulation of these mutations. At least 3 different molecular pathways of genomic instability have been described in CRC including chromosomal instability (CIN), microsatellite instability (MSI) and CpG island methylator phenotype (CIMP). Since rectal cancer is still a disease difficult to treat, although there are many available therapeutic options including total neoadjuvant therapy, watch and wait strategy, some forms of immunotherapy and some other new forms of systemic therapy, outcomes are often suboptimal. Therefore, the search for new therapeutic possibilities continues.

Key words: colorectal cancer, genomic instability, immunotherapy, neoadjuvant therapy

1. UVOD

Rak predstavlja jedan od najvećih socijalnih, javnozdravstvenih i ekonomskih izazova u 21. stoljeću. Kao jedan od vodećih uzroka smrti, rak je značajna prepreka u produljenju životnog vijeka u većini zemalja svijeta (1). Prema procjenama Svjetske zdravstvene organizacije (SZO) iz 2019., rak je prvi ili drugi uzrok preuranjene smrti (prije 70. godine) u 112 od 183 zemlje, a na trećem ili četvrtom je mjestu u još 23 zemlje (2). Prema procjenama GLOBOCAN-a 2022. godine bilo je blizu 20 milijuna novih slučajeva raka (uključujući nemelanomske karcinome kože) uz skoro 10 milijuna smrtnih slučajeva. Procjenjuje se da otprilike 1 od 5 osoba oboli od raka tijekom života, dok oko 1 od 9 muškaraca i 1 od 12 žena umire od njega. Prema predviđanjima, očekuje se značajan porast broja oboljelih od raka do 2050., sa 35.3 milijuna osoba oboljelih, a 18.5 milijuna osoba umrlih iste godine. Kolorektalni karcinom zauzima posebno mjesto unutar ove šire slike kao treći rak prema incidenciji i drugi prema mortalitetu, prema procjenama GLOBOCAN-a iz 2022 (3). Rektalni karcinom, kao dio kolorektalnog karcinoma, ozbiljna je maligna bolest koja zahvaća završni dio debelog crijeva i uzrokuje otprilike 30% slučajeva KRK-a (4).

2. EPIDEMIOLOGIJA

Prema GLOBOCAN procjeni, kolorektalni karcinom treći je rak po incidenciji u svijetu s 1,926,118 osoba ili 9,6% ukupno novooboljelih od maligniteta 2022.godine. Prema mortalitetu zauzima drugo mjesto nakon raka pluća, tj. govoreći u brojkama, procjenjuje se da je uzrokovao 903,859 ili 9,3% smrti od raka ukupno. Dakle, predstavlja 1 od 10 slučajeva i smrti od raka u svijetu. Stope incidencije su 3 do 4 puta veće u razvijenim zemljama u odnosu na zemlje u tranziciji, iako su manje varijacije vidljive u mortalitetu. Prema regijama, karcinom kolona najčešće se pojavljuje u južnoj i istočnoj Europi te u Australiji/Novom Zelandu u oba spola, dok kao pojedinačne države prednjače Danska i Norveška prema incidenciji. Rak rektuma, uključujući i anus, ima sličnu regionalnu distribuciju, najčešće se pojavljujući u istočnoj i sjevernoj Europi te u Australiji/Novom Zelandu. Stope incidencije raka debelog crijeva i rektuma relativno su niske u većini dijelova Afrike te Azije (3). Globalna incidencija kolorektalnog karcinoma stabilizirala se na visokim vrijednostima ili se čak smanjuje u nekim affluentnim zemljama zadnjih desetljeća. S druge strane, zabrinjavajuća je činjenica da se povećava incidencija u mlađih od 50 godina, posebice u distalnim lokacijama, u mnogim zemljama s visokim prihodima, uključujući Dansku, Južnu Koreju i Kanadu (5). Tumori u mladih se smatraju većinom sporadičnima, pri čemu se okolišni čimbenici ističu kao najznačajniji uzročni čimbenici (6). Zbog povećanje incidencije u mlađih od 50 godina došlo je do nove preporuke da se dob za probir snizi na 45 godina u usporedbi s dosadašnjom preporukom od 50 godina od strane American Cancer Society koju su implementirale i neke druge institucije (7). Podaci Hrvatskog registra za rak prate svjetske trendove. Kolorektalni je karcinom, ako gledamo oba spola ukupno, najčešće dijagnosticirani malignom u Republici Hrvatskoj prema najnovijim podacima za 2021.godinu. Ako razdijelimo prema spolu, treći je prema incidenciji u muškaraca (16%), nakon prostate (18%) te traheje, bronha i pluća (17%). Drugi je prema broju novooboljelih u žena (13%) nakon dojke (25%) u Republici Hrvatskoj iste godine. Prema MKB klasifikaciji, 2021. od zloćudne novotvorine debelog crijeva oboljelo je 2202 osoba, od zloćudne novotvorine rektosigmoidnog prijelaza 401 osoba, a od zloćudne novotvorine rektuma 1103 osobe u Republici Hrvatskoj (rak rektuma otprilike čini trećinu novooboljelih od kolorektalnog karcinoma). Uspoređujući podatke Registra za 2020. i 2021. godinu, 2020. je 66 osoba mlađih od 50 godina dijagnosticirano s rakom debelog crijeva, rektosigmoidnog prijelaza ili rektuma (C18-20), dok je 2021. godine 224 osobe mlađe od 50 godina dijagnosticirano pod tim dijagnozama. Za usporedbu, 2019. dijagnosticirano je 76 mlađih od 50 godina s C18-C20 stoga skok 2021. ne možemo pripisati samo COVID-19 pandemiji i smanjenim odlascima liječniku (8–10).

3. ETIOLOGIJA

Etiologija kolorektalnog karcinoma još uvijek nije točno definirana, ali postoje okolišni i genetski čimbenici koji utječu na razvoj maligniteta kolona i rektuma. Velika blizanačka studija pokazala je da nasljedni čimbenici imaju utjecaja u 35% slučajeva kolorektalnog karcinoma, dok okolišni čimbenici utječu na ostalih 65% (11).

3.1. Okolišni čimbenici

Među okolišne rizične čimbenike spadaju čimbenici prehrane i čimbenici načina života (12). Prehrambeni čimbenici koji potencijalno povećavaju rizik od kolorektalnog karcinoma uključuju nizak unos voća, povrća i vlakana, povećanu konzumaciju crvenog mesa, zasićenih masnih kiselina, kofeina i alkohola (13–17). Od ovih čimbenika, konzumacija manjeg udjela voća i povrća više je asocirana s rakom rektuma nego kolona. Više provedenih studija koje su promatrale učinak voća, povrća ili vlakana pokazuju kontradiktorne rezultate (18). Čimbenici načina života koji imaju prediktivni faktor uključuju pretilost, manjak tjelesne aktivnosti i pušenje (19). Meta-analiza prospektivnih studija pokazuje da povezanost pretilosti i kolorektalnog karcinoma varira ovisno o lokalizaciji karcinoma i spolu. Rizik raka debelog crijeva raste s povećanjem indeksa tjelesne mase (ITM), opsega struka te omjera struka i bokova u oba spola, a ta povezanost bila je izraženija u muškaraca. Kod raka rektuma rizik raste s povećanjem ITM-e kod muškaraca, dok nije primijećena ukupna povezanost kod žena (20). To može biti objašnjeno većim utjecajem inzulina u kolonu nego u rektumu (21). Fizička je aktivnost protektivni čimbenik. Jedna meta-analiza procjenjuje da je rizik razvoja KRK-a približno 25% niži među fizički najaktivnijim osobama u usporedbi s najmanje aktivnim osobama, a kao fizičku aktivnost navode fizičku aktivnost u sklopu rada, rekreativnu fizičku aktivnost i aktivnosti u kućanstvu (22). Prospektivna istraživanja pokazala su da nedostatak vitamina D može doprinijeti incidenciji KRK-a, a da nadoknada vitamina D može smanjiti rizik od KRK-a (23–26). Neke studije također pokazuju da je koncentracija vitamina D u plazmi povezana s klinički važnim razlikama u preživljenju pacijenata s KRK-om, pri čemu su veće koncentracije povezane s boljim ishodom (27,28). Jedan sustavni pregled i meta-analiza pokazuje kako su više razine vitamina D bile povezane sa značajno smanjenom smrtnošću u bolesnika s rakom dojke i KRK-om (29).

3.2. Genetički čimbenici

Razvoj kolorektalnog karcinoma u oko 35% slučajeva može se povezati s genetičkim čimbenicima. Nasljedni sindromi pri tome čine približno 3-5%, a manje penetrantni nasljedni čimbenici igraju ulogu u nastanku preostalih, vjerojatno u interakciji s čimbenicima okoliša. Geni uključeni u ovu vrstu nasljeđivanja nisu još definirani, ali predložen je niz gena kandidata. Nasljedni sindromi povezani s rakom debelog crijeva i rektuma uključuju familijarnu adenomatoznu polipozu (FAP), Lynchov sindrom (HNPCC) i nekoliko iznimno rijetkih sindroma hamartomatoznih polipoza (30).

3.2.1. Familijarna adenomatozna polipoza

FAP je genetski poremećaj koji nastaje kao posljedica mutacije gena za adenomatoznu polipozu kolona (APC). Većina pacijenata koja boluje od FAP-a ima pozitivnu obiteljsku anamnezu, ali 25-30% mutacija nastaje „*de novo*“, bez kliničkih i genetskih dokaza FAP-a u članova obitelji oboljelog (27,28). Te mutacije djelomično možemo objasniti mozaicizmom (33). Klasični FAP nasljeđuje se *germline* mutacijom za APC gen, dok jedan dio pacijenata s kliničkim značajkama FAP-a nosi mutaciju za gen MUTYH. Mutacija oba alela za mutY homolog (MUTYH) rezultira kolorektalnom polipozom koja se naziva MAP (MUTYH- associated polyposis), a nasljeđuje se autosomno recesivno. Fenotip MAP-e relativno je blag, manifestira se kao manje od 100 adenoma i prosječna dob postavljanja dijagnoze je oko 45 godina (34). APC gen je tumor supresor, mnoge studije su objavljene od otkrića ovoga gena 1991. godine koje pokazuju da mutacije u genu APC nisu važne samo za patogenezu FAP-a, već su odgovorne i za većinu sporadičnih slučajeva kolorektalnog karcinoma (35). Bialelna mutacija gena APC javlja se u 45-80% kolorektalnih karcinoma (36,37). Studije također pokazuju da se mutacije u APC genu javljaju rano u tumorigenezi, dajući mu naziv „*gatekeeper*“ (38). Najpoznatija funkcija APC proteina njegova je sposobnost interakcije s β -kateninom u citoplazmi kojom negativno regulira Wnt signalni put. Kanonski Wnt signalni put mijenja transkripciju ključnih ciljnih gena (uključujući aktivaciju gena koji kodiraju c-MYC, ciklin D i LGR5) koji pokreću proliferaciju, preživljavanje i održavanje nediferenciranog stanja u progenitorskim stanicama kolorektalnog epitela. Poremećaj ove ravnoteže inicira KRK (39). Familijarna adenomatozna polipoza karakterizirana je razvojem više (>100) adenomatoznih polipa u kolonu i rektumu, može se očitovati i razvojem polipa u gornjem intestinalnom sustavu te ekstraintestinalnim manifestacijama kao što su osteomi, dentalne abnormalnosti, epidermoidne ciste, kongenitalna hipertrofija retinealnog pigmentnog epitela te drugim malignim promjenama, npr. tumorima štitnjače ili jetre. Gardnerov sindrom, koji uključuje ekstraintestinalne značajke, klinička je i

genetska varijanta FAP-a (40,41). Većina je pacijenata asimptomatska godinama, sve dok adenomi ne postanu dovoljno veliki i mnogobrojni te uzrokuju rektalno krvarenje, anemiju ili razvoj karcinoma. Oko polovice pacijenata s FAP-om razvije adenome do 15. godine, a 95% pacijenata do 35. godine (42).

3.2.2. Lynchov sindrom

Lynchov sindrom ili hereditarni nepolipozni kolorektalni karcinom nasljedna je predispozicija za kolorektalni karcinom i neke druge tumore kao što su rak endometrija, želuca, urotela, jajnika i hepatobilijarnog sustava. Najčešći je nasljedni sindrom koji uzrokuje kolorektalni karcinom, uzrokujući 1-6% slučajeva KRK-a (43). Prosječna dob dijagnoze KRK u Lynchovom sindromu iznosi 44 godine u usporedbi s 64 godine u sporadičnim slučajevima. Oboljeli od Lynchova sindroma imaju rizik od obolijevanja od KRK-a od 70-85%, od karcinoma endometrija 50% te ispod 15% za ostale vrste tumora (44). Oboljeli od Lynchova sindroma češće imaju mucinozni i slabo diferencirani kolorektalni karcinom s predilekcijom za proksimalni kolon (proksimalno od splenične fleksure) (45). Populacijska učestalost Lynchova sindroma je oko 1 u 279 osoba, a nasljeđuje se autosomno dominantno (46). Nasljeđuju se patogene varijante jednog od 4 DNK *mismatch repair* (MMR) gena: MSH2, MLH1, MSH6 i PMS2. Također može biti posljedica patogene varijante EPCAM gena koji se nalazi neposredno uzvodo od MSH2 te njegova mutacija dovodi do metilacije i utišavanja MSH2 promotora (47). MSH2 i MLH1 mutacije najčešće su u „klasičnim“ HNPCC obiteljima koje ispunjavaju Amsterdamske kriterije i imaju visok stupanj mikrosatelitske nestabilnosti (MSI) (44).

4. MOLEKULARNA PATOGENEZA RAZVOJA KOLOREKTALNOG KARCINOMA

Više od 90% kolorektalnih karcinoma epitelni su adenokarcinomi koji potječu iz žljezdanih epitelnih stanica kolorektalne sluznice (48). Rjeđi subtipovi uključuju mucinozni adenokarcinom i karcinom stanica prstena pečatnjaka (49). Dugo se već zna da je tumorigeneza proces s više koraka (50). Prototip karcinogeneze KRK-a, koji su predložili Fearon i Vogelstein, naziva se adenom-karcinom sekvenca (51). Općenito, stvaranje kolorektalnog karcinoma počinje transformacijom normalnog epitela u benigni adenom, zatim napreduje postupnim prikupljanjem višestrukih genetskih i epigenetskih aberacija što naposljetku dovodi do invazivnih metastatskih karcinoma (52). Drugim riječima, u sporadičnim i nasljednim oblicima kolorektalnog karcinoma nastanak neoplazije rezultat je sekvencijalnog stjecanja genetskih i epigenetskih promjena koje potiču inicijaciju, promociju i progresiju normalnih epitelnih stanica kolona i rektuma u karcinome te kasnije metastaze (51,53,54). Višestruki događaji unutar genoma potrebni su za razvoj karcinoma, a genomska nestabilnost prepoznata je kao bitna značajka koja prati stjecanje tih mutacija, tj. genomska i epigenomska nestabilnost razlikuju neoplastični od normalnog epitela kolorektuma te su glavna značajka kolorektalne karcinogeneze (53). Kod kolorektalnog karcinoma opisana su najmanje 3 različita (djelomično preklapajuća) molekularna puta genomske nestabilnosti: kromosomska nestabilnost (*chromosomal instability*, CIN), mikrosatelitska nestabilnost (*microsatellite instability*, MSI) te fenotip CpG otoka metilatora (*CpG island methylator phenotype*, CIMP). Kolorektalni je karcinom, s molekularne perspektive, heterogena bolest. Genetske karakteristike tumora određuju njegov prognostički ishod i odgovor na ciljane terapije. Rana dijagnoza i učinkovite ciljane terapije temeljene na trenutnom znanju o molekularnim karakteristikama KRK-a ključni su za uspješno liječenje (55).

4.1. Kromosomska nestabilnost (CIN)

Kromosomska je nestabilnost opažena u 65-70% sporadičnih kolorektalnih karcinoma s povećanjem prevalencije što je distalnija lokalizacija tumora. Kromosomska nestabilnost opažena je i u većini humanih maligniteta uopće (56). Pojam kromosomska nestabilnost odnosi se na akceleriranu stopu gubitaka ili dobitaka cijelih ili velikih dijelova kromosoma što rezultira varijabilnošću u broju kromosoma od stanice do stanice. Posljedica CIN-a kariotipska je varijabilnost od stanice do stanice tumora, što uključuje aneuploidiju (neravnoteža u broju kromosoma), amplifikacije gena i visoku učestalost gubitka heterozigotnosti (*loss of heterozygosity*, LOH) (51). Gubitak heterozigotnosti (LOH) smatra se karakterističnim obilježjem CIN-pozitivnih tumora. Prosječno se gubi 25-30% alela u tumorima, a nije neobično ni vidjeti gubitak od 75% alela u uzorku tumora (57). CIN alteracije utječu na ekspresiju gena

povezanih s razvojem tumora, gena koji reguliraju staničnu proliferaciju ili kontrolne točke staničnog ciklusa, što onda može aktivirati puteve bitne za inicijaciju i progresiju karcinoma. Postoje različite teorije zašto dolazi do kromosomske nestabilnosti među kojima su teorije da je CIN rezultat defekta odvajanja kromosoma u mitozu, abnormalnog broja centrosoma i njihove funkcije ili defekta telomera. Zajedno s tipičnim kariotipskim abnormalnostima u CIN tumorima, karakteristično je nakupljanje tipičnih mutacija u specifičnim tumor supresorskim genima i (proto)onkogenima. Nije još jasno stvara li kromosomska nestabilnost odgovarajući okoliš za nakupljanje ovih mutacija ili obrnuto. Ipak je kombinacija ovih mutacija u kolorektalnom karcinomu u okruženju kromosomske nestabilnosti povijesno označena kao „put kromosomske nestabilnosti“ (58).

4.1.1 Mutacije u tumor supresor genima

Kromosomska je nestabilnost učinkovit mehanizam za izazivanje fizičkog gubitka divljeg tipa kopije tumor supresorskih gena kao što su APC, TP53, DCC ili SMAD4, a čije se normalne aktivnosti suprotstavljaju malignitetu (37,59).

4.1.1.1. APC

Najraniji događaj u genomu u kolorektalnoj tumorigenezi aktivacija je Wnt signalnog puta putem mutacije u APC genu na dugom kraku 5. kromosoma (35). Isti taj gen, ali s *germline* mutacijom, odgovoran je za FAP (60). Somatska mutacija u APC genu postoji u oko 5% aberantnih kriptalnih fokusa (*aberrant crypt foci*), najranije prepoznatljivih neoplastičnih lezija u karcinogenetičkom modelu debelog crijeva nakon kojih slijedi razvoj polipa (61,62). Te mutacije bilježe se dalje u 30-70% sporadičnih adenoma i čak 72% sporadičnih tumora što ukazuje da je jedan od najranijih događaja u inicijaciji tumora funkcionalni gubitak APC gena (63). Hipermetilacija APC promotora zabilježena je u 18% kolorektalnih adenoma i karcinoma te predstavlja alternativni mehanizam za inaktivaciju APC gena (64). Dok je APC gen bitan u karcinogenezi KKK-a, poznato je da je *gain-of-function* mutacija u β -kateninu (CTNNB1) identificirana u čak 50% tumora debelog crijeva s intaktnim APC-om, naglašavajući važnost Wnt signalnog puta (65).

4.1.1.2. TP53

TP53 je tumor supresor lokaliziran na kratkom kraku 17. kromosoma. Centralni je koordinator staničnog odgovora na stres, koji uključuje oštećenje DNK, nenormalne proliferativne signale i oksidativni stres (66). Mutacije u TP53 pronađene su u otprilike 50-75% KKK-a (67,68).

4.1.1.3. Gubitak heterozigotnosti u 18q

Gubitak heterozigotnosti, tj. alela na dugom kraku 18. kromosoma (18qLOH) primijećena u otprilike 70% KRK-a (69). Smatra se lošim prognostičkim čimbenikom. Visoka učestalost alelnih delecija u 18q sugerira prisutnost gena kandidata za tumor supresore, uključujući DCC, SMAD2 i SMAD4 (70,71). Većina prijavljenih podataka o gubitku i inaktivaciji DCC-a posredna je i ne pruža uvjerljive dokaze da je DCC tumor supresor (72). SMAD geni kodiraju nizvodne pretvarače signala za transformirajući čimbenik rasta β (TGF- β) i oni jesu tumor supresori (73).

4.1.2. Mutacije u protoonkogenima

Nasuprot gubitku alela tumor supresora, dobitak kromosomskog materijala u kromosomskoj nestabilnosti može uzrokovati prisutnost potencijalnih onkogenih ili gena koji pogoduju rastu i preživljavanju stanica (55).

4.1.2.1. K-RAS

K-RAS, humani homolog *Kirsten rat sarcoma-2* virusnog protoonkogena, mutiran je u 30-50% KRK-a (74). K-RAS je član obitelji RAS koja je uključena u signalne putove koji reguliraju staničnu proliferaciju, diferencijaciju ili preživljavanje, a koja uključuje H-RAS i N-RAS. Mutacija u RAS obitelji pronađena je u 30% svih tumora (75). Produkt K-RAS-a membranski je vezani GTP/GDP-vezujući protein s intrinzičnom GTPaznom aktivnošću koji odgovara na stimulaciju receptora na površini stanice kojeg aktivira i EGFR (epidermalni receptor faktora rasta), a eksprimira se u većini ljudskih stanica (76). Mutacije K-RAS-a oštećuju GTPaznu intrinzičnu aktivnost uzrokujući nakupljanje K-RAS proteina u aktivnom stanju vezanom za GTP što rezultira konstitutivnom aktivacijom nizvodnih proliferativnih signalnih puteva (77). Aktivirani RAS regulira višestruke stanične funkcije putem efektor. Najpoznatiji efektor je put Raf-MEK-ERK. Porodica Raf sastoji se od 3 serin/treonin kinaze (ARAF, BRAF i RAF1) koje aktiviraju MEK1 i MEK2 nizvodno, koje zatim fosforiliraju ERK1 i ERK2. ERK onda fosforilira citosolne i nuklearne supstrate koji reguliraju enzime kao što su ciklin D1, koji je uključenu kontrolu progresije staničnog ciklusa. Drugi najpoznatiji efektori su fosfoinozimid 3-fosfat kinaze (PI3K) (78). PIK3CA mutiran je u gotovo 20% KRK-a (79). Mutacije u K-RAS-u važan su prediktivni marker rezistencije na terapiju anti-EGFR monoklonskim protutijelima, tj. panitumumabom i cetuksimabom (80).

4.1.2.2. ERBB2

Jedna od molekularnih meta koja se istražuje posljednjih godina također je amplifikacija epidermalnog receptora rasta 2 (ERBB2 ili HER2). ERBB2 dio je obitelji EGFR koja se još

sastoji od ERBB1 (EGFR), ERBB3 i ERBB4. ERBB2 je uključen u različite stanične procese među kojima su proliferacija i inhibicija apoptoze (81). Kao i drugi članovi obitelji, ERBB2 receptorska je tirozin kinaza, ali, za razliku od drugih članova obitelji, ERBB2 nema poznati ligand. Aktivnost ERBB2 se regulira homodimerizacijom ili heterodimerizacijom s ostalim receptorima unutar EGFR obitelji, unatoč odsutnosti poznatog liganda. Dimerizacija ERBB2 dovodi do aktivacije nizvodnih procesa koji uključuju MAPK signalni put. Amplifikacija ERBB2 gena prisutna je u skoro 3% pacijenata s metastatskim KRK-om ukupno i u 5% pacijenata s KRAS i NRAS WT tumorima (82).

4.2. Mikrosatelitska nestabilnost (MSI)

Sljedeći je tip genomske nestabilnosti mikrosatelitska nestabilnost (MSI) koju pokazuje oko 15-20% sporadičnih kolorektalnih karcinoma te >95% KRK-a u pacijenata s Lynchovim sindromom (83). Dolazi do oštećenja DNK *mismatch repair* (MMR) gena koje se može dogoditi zbog mutacijske inaktivacije ili hipermetilacijom promotora gena (55). Osobe s Lynchovim sindromom razvijaju MSI tumor zbog *germline* mutacije u jednom od gena MMR, koji uključuju MLH1, MSH2, MSH6 i PMS2, a sporadični KRK-i najčešće razvijaju MSI zbog utišavanja MLH1 gena hipermetilacijom (84). Kada dođe do gubitka MMR proteina manje je vjerojatno da će se popraviti pogreške u replikaciji DNK kao što su nepodudaranje baza-baza i petlje brisanja/umetanja koja nastaju kao posljedica proklizavanja (engl. *slippage*) DNK polimeraze (85). Kada se pogreške u replikaciji DNA ne poprave u genima važnim za karcinogenezu, kao npr. u tumor supresora, povećava se rizik za razvoj raka (86). Deficit u MMR proteinima rezultira mikrosatelitskim nestabilitetom (MSI). Mikrosateliti su kratke tandemske ponovljene sekvence DNK (engl. *short tandem repeats*) od 1 do 6 parova baza raspoređene kroz cijeli humani genom, u kodirajućim i nekodirajućim regijama. Zbog svoje strukture koja se ponavlja, posebno su skloni pogreškama u replikaciji koje se inače popravljaju *mismatch repair* sistemom. Mikrosatelitske su sekvence česte u genomu, polimorfne su među pojedincima, ali su jedinstvene i jednolične dužine u svakom tkivu određene osobe. Heterogenost tih ponavljanja vrijedna je za forenzičke analize i mapiranje gena (87). U laboratoriju se MSI identificira elektroforezom amplificiranih mikrosatelitnih DNK sekvenci i pronalaskom da >30% ispitivanih markera imaju promjene u duljini u usporedbi s normalnom DNK iste osobe. Tumor se definira kao MSI-H (engl. *high frequency*, visokofrekventna) ako 2 ili više od 5 markera pokazuju nestabilnost (tj. >30-40% ako se koristi drugi broj markera), a kao MSI-L (engl. *low frequency*, niskofrekventni) ako samo 1 od 5 markera pokazuje

nestabilnost (ili manje od graničnog postotka pozitivnih markera koji se koristi za definiciju MSI-H), dok se kod MSS (mikrosatelitski stabilnih) tumora ne nađe nijedan pozitivan marker (88). MSI-H tumori tipično su loše diferencirani, desnostrani, mucinozni, histološki heterogeni, s povećanim brojem limfocita koji infiltriraju tumor i izraženom upalnom reakcijom. Također se razlikuje molekularna osnova nastanka MSI-H tumora (deficit MMR) od kromosomske nestabilnosti koja je uglavnom u podlozi nastanka KRK-a koji nisu MSI-H. Također pokazuju i bolje preživljenje u odnosu na MSS (89). Za razliku od toga, MSI-L ne pokazuje jasne kliničke, morfološke ili molekularne razlike od preostalih MSS karcinoma (84).

4.3. Fenotip CpG otoka metilatora (CIMP)

Treći je mehanizam genomske, tj. epigenomske nestabilnosti inaktivacija transkripcije hipermetilacijom DNK na promotorskim CpG otocima tumor supresora koja kao rezultat ima utišavanje gena, tj. to je epigenetsko utišavanje gena (90). CpG otoci kratke su sekvence bogate CpG dinukleotidom i mogu se naći na 5' kraju u oko polovice humanih gena, uglavnom u promotorskim regijama te tipično nisu metilirani (91). Metilacija citozina unutar 5' kraja CpG otoka povezana je s gubitkom ekspresije gena. Široko rasprostranjena metilacija CpG otoka promotora naziva se fenotip CpG otoka metilatora (engl. *CpG island methylator phenotype*, CIMP) (90). Aberantna metilacija CpG otoka otkrivena je prvi put u genetskim bolestima kao što je fragilni X sindrom (92). Otprilike polovica tumor supresorskih gena koji su mutirani u obiteljskim sindromima u zametnoj liniji, pokazuju aberantnu metilaciju u određenom dijelu sporadičnih karcinoma, a uključuju Rb, p16, hMLH1 i BRCA1 (93). Metilacija tumor supresorskih gena kod raka obično je povezana s nedostatkom transkripcije gena i odsutnošću mutacije kodirajuće regije, tj. CIMP služi kao alternativni mehanizam inaktivacije gena kod raka (90). CIMP je identificiran u 30-35% slučajeva kolorektalnih adenoma te u oko 17%- 30% kolorektalnih karcinoma (94,95). Sporadični MSI kolorektalni karcinomi gotovo su isključivo povezani s hipermetilacijom promotora gena MLH1 povezanom s CIMP-om što dovodi do utišavanja tog DNK MMR gena (94). Nije poznat točan uzrok metilacije, ali zna se da se udio metilacija povećava s dobi, ubrzan je u debelom crijevu kao odgovor na kroničnu upalu i može biti odgovor na ozljeđu (96). CIMP tumori povezani su s proksimalnom lokalizacijom KRK-a, starijom dobi i ženskim spolom, kao i lošom diferencijacijom, mucinoznim tipom, divljim tipom TP53, MSI i signifikatnim postotkom BRAF V600E mutacija. (95). Iako je CIMP ustanovljen kao značajni epigenetski fenotip KRK-a, još uvijek postoje značajne kontroverze oko kriterija definiranja CIMP-a. Najčešća je klinička svrha definiranja CIMP tumora njihova korelacija s

MSI fenotipom, MLH1 metilacijom i BRAF mutacijom što pomaže u razlikovanju Lynchova sindroma i sporadičnih MSI KKR-a (56).

5. TNM KLASIFIKACIJA KARCINOMA REKTUMA

Kolorektalni karcinom dijeli se na stadije koristeći *American Joint Committee on Cancer* (AJCC) TNM (tumor/limfni čvor/metastaza) klasifikaciju. U ovom sustavu stadiji se dodjeljuju na temelju karakteristika primarnog tumora (T) i opsega zahvaćenosti regionalnih limfnih čvorova (N) te udaljenih metastaza (M). Osim toga, metastaze se mogu definirati klinički i patološki, na temelju prijeoperativne kliničke procjene (c) ili patološke procjene metastatskog tkiva (p) (97,98). T klasifikacija ovisi o opsegu invazije tumora kroz rektalnu stijenku, Tis označava karcinom *in situ*, koji zahvaća *lamina propria*, a moguće je da invadira i *muscularis mucosa* prema najnovijoj podjeli. Prodor kroz bazalnu membranu smatra se invazivnim u bilo kojem gastrointestinalnom sijelu, ali u kolorektalnom karcinomu metastaziraju samo tumori koji invadiraju submukozu (99). T1 - tumor invadira submukozu (kroz *muscularis mucosa*, ali ne invadira *muscularis propria*), T2 - tumor invadira *muscularis propria*, T3 - tumor zahvaća perirektalno masno tkivo, T4a - tumor prodire u visceralni peritoneum (u područjima rektuma gdje nema peritonealnog pokrova, T4a nije primjenjiv), dok T4b – tumor izravno invadira ili priliježe na ostale organe/strukture. N klasifikacija ovisi o broju uključenih limfnih čvorova: N0 – u regionalnim limfnim čvorovima nema presadnica, N1 – presadnice u 1-3 regionalna limfna čvora ili bilo koji broj tumorskih depozita u subserozi, mezenteriju, perirektalnom tkivu, ali bez presadnica u limfnim čvorovima (N1a – metastaze u 1 regionalni limfni čvor, N1b metastaze u 2-3 regionalna limfna čvora, N1c- tumorski depoziti u subserozi, mezenteriju, neperitonejskom perirektalnom tkivu bez metastaza u regionalne limfne čvorove), N2 – presadnice u 4 ili više regionalna limfna čvora (N2a – metastaze u 4-6 regionalnih limfnih čvorova, N2b – metastaze u 7 ili više regionalnih limfnih čvorova). AJCC 8 pojašnjava interpretaciju diskretnih tumorskih čvorova pronađenih unutar područja limfne drenaže primarnog karcinoma rektuma. Nodule koji ne sadrže limfno tkivo ili vaskularne/neuralne strukture koje se mogu identificirati treba smatrati tumorskim depozitima i identificirati ih kao N1c. Prisutstvo N1c odmah elevira stadij karcinoma na stadij III. M klasifikacija ovisi o prisutnosti ili odsutnosti udaljenih metastaza: M0 – bez udaljenih metastaza, M1 – potvrđena distalna metastaza, a detaljnije, M1a – udaljene metastaze u 1 organ/lokalizaciju, M1b – udaljene presadnice u više od 1 organa/lokalizacije, M1c – metastaze u peritoneumu sa/bez drugih udaljenih metastaza. Nadalje, stadije dijelimo prema različitim T, N i M podjelama.

Stadij 0 odnosi se na Tis, N0, M0, to je najraniji stadij karcinoma, ovaj stadij se još naziva *carcinoma in situ*. Stadij I odnosi se na T1-2, N0, M0, znači da karcinom prodire kroz *muscularis mucosa* u submukozu (T1) ili u *muscularis propria* (T2). Stadij II dijeli se na IIA, IIB i IIC. Stadij IIA označava T3, N0, M0, tj. karcinom invadira kroz vanjski sloj rektuma u perirektalno masno tkivo, ali nije se još proširio u lokalne organe, regionalne limfne čvorove ili udaljene lokalizacije. Stadij IIB odnosi se na T4a, N0, M0, tj. karcinom je prerastao stijenku rektuma, invadirao seroznu površinu (visceralni peritoneum), ali nije invadirao organe u blizini te se također nije proširio u regionalne limfne čvorove niti udaljenja mjesta. Stadij IIC – T4b, N0, M0, označava da je karcinom prerastao stijenku rektuma i izravno invadira okolne organe/strukture bez širenja u regionalne limfne čvorove ili udaljena mjesta. Stadij III također se dijeli na IIIA – T1-2, N1/N1c, M0 kojeg opisujemo kao karcinom koji je invadirao submukozu ili *muscularis propria*, proširio se u 1-3 regionalna limfna čvora ili u subserozu, mezenterij ili perirektalno tkivo kao tumorski depozit, ali nije se proširio na udaljena mjesta. Stadij IIIA također obuhvaća i T1, N2a, M0 koji obuhvaća karcinom koji invadira submukozu i proširio se u 4-6 regionalnih limfnih čvorova, bez širenja na udaljena mjesta. Stadij IIIB odnosi se na tri različita entiteta, prvi od kojih je T3-4a, N1/N1c, M0 koji se prezetira kao karcinom koji je invadirao vanjski dio stijenke rektuma, perirektalno masno tkivo ili peritoneum bez invazije okolnih organa, proširio se u 1-3 regionalna limfna čvora ili pokazuje tumorske depozite u subserozu, mezenteriju ili perirektalnom tkivu, bez širenja na udaljena mjesta. Drugi entitet je T2/3, N2a, M0, kojeg opisujemo kao karcinom koji invadira *muscularis propria* ili kroz *muscularis propria* u perirektalno masno tkivo te se proširio u 4-6 regionalnih limfnih čvorova bez širenja na udaljene lokalizacije. Treći je entitet T1/2, N2b, M0 kojeg karakterizira karcinom koji invadira submukozu ili *muscularis propria*, zahvaća 7-9 regionalnih limfnih čvorova, a nije se proširio na udaljena mjesta. Stadij IIIC također ima tri entiteta, prvi od kojih je T4a, N2a, M0, kojeg karakterizira karcinom koji je prodrio u visceralni peritoneum, zahvatio 4-6 regionalnih limfnih čvorova i nije zahvatio udaljene lokalizacije. Drugi entitet je T3/4a, N2b, M0 kojeg opisujemo kao karcinom koji invadira kroz *muscularis propria* u perirektalno masno tkivo ili u visceralni peritoneum, zahvaća 7 ili više regionalnih limfnih čvorova, a ne zahvaća udaljene lokalizacije. Treći je entitet T4b, N1/N2, M0 kojeg karakterizira karcinom koji invadira ostale organe/strukture, proširio se bar na 1 regionalni limfni čvor i nije se proširio na udaljene lokalizacije. Zadnji, stadij IV također se dijeli na 3 entiteta, IVA, IVB i IVC koje karakterizira bilo koji T, bilo koji N i za svaki od entiteta različit M1. IVA karakterizira M1a, tj. metastaze u 1 organ ili distalnu skupinu limfnih čvorova, ali ne u distalni dio peritoneuma. IVB opisujemo kao metastaze u više od jednog organa ili distalne skupine limfnih čvora, ali ne

u distalni dio peritoneuma (M1b). IVC opisujemo kao metastaze u distalni dio peritoneuma s ili bez distalnih metastaza na drugim mjestima. Stadij IVC uveden je u AJCC 8 zbog naglaska na lošu prognozu kod peritonealne karcinomatze (97).

6. LIJEČENJE KARCINOMA REKTUMA

Odluka o načinu liječenja ovisi o stadiju bolesti. Glavni su modaliteti liječenja ranog rektalnog karcinoma kirurška terapija, radioterapija i kemoterapija. Metastatski kolorektalni karcinom liječi se sustavno, što uključuje imunoterapiju i ciljane lijekove.

6.1. Kirurško liječenje

Metoda je izbora u liječenju ranog raka rektuma kirurško liječenje. Totalna mezorektalna ekscizija (TME) univerzalno je prihvaćena kao preferirana tehnika za kiruršku eksciziju raka rektuma. Pretpostavka je da su limfni čvorovi nasumično raspoređeni u mezorektumu i nisu lako vidljivi niti opipljivi, a rektalni karcinomi imaju tendenciju širenja ekstramuralno, unutar okolnog limfovaskularnog tkiva (100). Zbog toga je TME resekcija cijelog rektuma s krvnim žilama i okolnim limfnim čvorovima unutar rektalne fascije, zajedno s njom (101). TME rezultira značajno nižim stopama lokalnih recidiva (manje od 10%) i većim stopama 5-ogodišnjeg preživljenja (102). Indikacija za TME kurativna je resekcija rektalnih tumora srednje i donje trećine rektuma, bilo kao dio LAR ili APE. Za karcinome gornjeg rektuma ili karcinoma udaljene više od 10 cm od analnog ruba izvođenje mezorektalne ekscizije specifične za tumor, gdje su rektum i mezorektum ekscidirani na istoj razini, dovoljno je i povezano sa sličnim ishodima kao TME (103,104). Dakle, ovisno o položaju tumora TME može biti kombinirana s operacijom očuvanja sfinktera kao što je niska prednja resekcija (*low anterior resection*, LAR) s kolo-analnom ili kolo-rektalnom anastomozom (restorativni postupak) ili s formiranjem trajne kolostome (Hartmannov postupak) ili TME može biti kombinirana s abdominoperinealnom ekstirpacijom (APE). Ove operacije se izvode otvorenim kirurškim postupkom ili naprednom laparoskopskom tehnikom. Za odabrane pacijente može se uzeti u obzir i transanalna endoskopska mikrokirurgija (TEM) (98). Primarni čimbenik o kojem ovisi hoće li operacija biti restorativni postupak ili APE lokacija je lezije, tj. udaljenost tumora od analnog ruba što utječe na sposobnost postizanja negativnih rubova. Podaci o kirurškim rubovima samo su ojačali argument za prednju resekciju i očuvanje sfinktera; izvorni prihvaćeni distalni rub od 5 cm smanjio se na samo 1 cm ili manje (105). Unatoč razvoju postupaka koji štede sfinkter za visoke, srednje i rane niske rektalne karcinome, APE je još uvijek neophodan u mnogih bolesnika s niskim, uznapredovalim rektalnim tumorima. Odluka o tome kada preporučiti APE povezana je i s pacijentom i s karakteristikama tumora, a različito se tumače ti čimbenici u različitim kirurga pa se stopa APE uvelike razlikuje među različitim kirurzima i ustanovama (100). Općenito, stadij I jedini je stadij koji ne zahtijeva dodatnu terapiju i indicirana je samo kirurška resekcija (106). Za dobro odabrane, visoko motivirane pacijente s tumorima vrlo niskog rizika (T1N0M0), određeni centri mogu ponuditi liječenje bazirano samo

na lokalnoj resekciji, u obliku endoskopske submukozne disekcije ili transanalne lokalne ekscizije (npr. TEM). Kako bi pacijent bio kandidat za TEM, mora ispunjavati ove uvjete: tumor zauzima manje od 30% opsega crijeva, veličina tumora manja od 3 cm, čisti rubovi (>3mm), mobilni i nefiksni tumor, unutar 8 cm od analnog ruba, samo T1, nema limfovaskularne ni perineuralne invazije, dobro do umjereno dobro diferenciran, nema dokaza o limfadenopatiji na slikovnim pretragama prije liječenja i ekscizija pune debljine mora biti izvediva (107). TEM ekscizija pune debljine s negativnim rubovima može imati prednost u smislu izbjegavanja značajnog morbiditeta disekcije zdjelice. Ograničenja ove opcije uključuju ograničenu mogućnost procjene loko-regionalnih limfnih čvorova, postoji veća stopa lokalnog recidiva, ali u isto vrijeme ova opcija nudi nižu perioperativnu smrtnost, manje postoperativnih komplikacija i manju potrebu za trajnom stomom (108). Pacijenti s T1N0 koji je se ne može ukloniti lokalnom ekscizijom ili T2N0 ili T3N0 koji su niskog rizika i nalaze se visoko u rektumu liječe se transabdominalnom resekcijom (LAR ili APE) bez prethodne neoadjuvantne terapije (107).

6.2. Neoadjuvantna terapija

Rektalni karcinomi imaju visoku stopu lokalnog recidiva zbog odsutstva seroze na dijelu rektuma, blizine stijenke rektuma drugim pelvičnim organima i posljedičnim poteškoćama u postizanju širokih kirurških rubova. Kako bi se smanjio rizik od lokalnog recidiva i morbiditeta, NCCN preporučuje totalnu neoadjuvantnu terapiju za pacijente sa stadijem II i III (T3, N bilo koji ili T4, N bilo koji ili T1-2, N1-2) nakon koje slijedi kirurška resekcija. Kod nekih pacijenata može se izbjeći kirurška resekcija ako se postigne potpuni klinički odgovor kao rezultat neoadjuvantne terapije. Neoadjuvantna terapija uključuje preoperativnu konkomitantu kemoterapiju i radioterapiju ili samo radioterapiju (109). Standardna neoadjuvantna konkomitantna kemoradioterapija uključuje administriranje kapecitabina oralno ili infuzije 5-fluorouracila na dane kada se primijenjuje zračenje tijekom standardne radioterapije (45-50,4 Gy u 25-28 dnevnih frakcija) (110). Kemoterapija služi kao radiosenzibilizator, tj. ona čini tumorske stanice osjetljivijima na oštećenja radioterapijom. Kako bi se izbjegla ozbiljna gastrointestinalna toksičnost, a održala učinkovitost, doziranje ove terapije na bazi 5-FU obično je 50-60% standardne doze adjuvantne monoterapije 5-FU (98). Razdoblje liječenja traje 5-6 tjedana nakon kojih slijedi interval od 5-10 tjedana pauze tijekom koje je potrebno učiniti novu procjenu dubine invazije (T), broja zahvaćenih regionalnih limfnih čvorova (N) te infiltracije mezorektalne fascije slikovnom obradom (najčešće MR zdjelice), a potom slijedi kirurška

resekcija (111). Alternativa neoadjuvantnoj kemoradioterapiji je hipofrakcionirana radioterapija u dozi od 25 Gy (5 Gy po frakciji u 5 dana). Kratkotrajna, hipofrakcionirana, preoperativna radioterapija i TME značajno poboljšavaju lokalnu kontrolu bolesti (112). Kod potpunog kliničkog odgovora na neoadjuvantnu terapiju, opcija je „*watch and wait*“ strategija (107).

6.3. Totalna neoadjuvantna terapija

Iako standardni tretman uznapredovalog karcinoma rektuma neoadjuvantnom kemoradioterapijom može rezultirati smanjenjem tumora (sa/bez smanjenja stadija), poboljšanom kvalitetom života i smanjenim stopama lokalnog recidiviranja, patološki potpuni odgovor (eng. *pathologic complete response*, pCR) postiže se samo u 10-30% pacijenata (113). Standardno liječenje osigurava nisku stopu lokalnog recidiva, ali stopa razvitka udaljenih metastaza i dalje je oko 30%, a morbiditet povezan s liječenjem i dalje je značajan (114,115). Nakon kirurške resekcije preporučuje se adjuvantna sustavna kemoterapija, međutim, manje od 50% potencijalnih pacijenata zapravo primi planiranu kemoterapiju zbog kašnjenja, problema s pridržavanjem planu liječenja i postoperativnih komplikacija (116,117). Kako bi se prevladali ovi problemi, totalna neoadjuvantna terapija (TNT) pruža sustavnu kemoterapiju i neoadjuvantnu kemoradioterapiju prije resekcije karcinoma rektuma, tj. pomiče sustavnu terapiju prije operacije. Za neke pacijente, operacija se može izbjeći u potpunosti („*watch and wait*“) ako se postigne klinički potpuni odgovor kao rezultat neoadjuvantne terapije. Na temelju toga, NCCN panel preporučuje TNT kao preferirani pristup za stadije II i III MSS raka rektuma (107). TNT je povezan s ranom prevencijom ili eradikacijom mikrometastaza, duljim DFS (preživljenje bez bolesti) i OS (ukupno preživljenje), boljom suradljivošću, smanjenjem toksičnosti, smanjenom potrebom za ileostomom kao i povećanom stopom očuvanja analnog sfinktera. TNT koji slijedi sekvencu kemoterapije, KTRT i zatim resekcije ima značajno veću stopu pCR od standardnog režima (107,118). Kemoterapija se daje prije (indukcija) ili nakon (konsolidacija) KTRT/RT. Nije utvrđeno je li bolje započeti kemoterapijom pa slijediti RT-om/KTRT-om ili obrnuto u TNT pristupu. TNT obično podrazumijeva kemoterapiju prema protokolu koji uključuje oksaliplatin kao što su FOLFOX ili CAPEOX u trajanju od 12 do 16 tjedana, a zatim kratkotrajnu radioterapiju/KTRT (ili obrnuto) pa kiruršku resekciju (107).

6.4. „*Watch and wait*“ strategija

Strategija „*watch and wait*“ rezervirana je, prema kriterijima ESMO-a, za bolesnike koji postignu potpuni klinički odgovor (*clinical complete response*, cCR) bez dokaza rezidualne

bolesti na digitorektalnom pregledu, rektalnoj MR snimci i izravnoj endoskopskoj procjeni nakon neoadjuvantne terapije karcinoma rektuma. Kriteriji za potpuni klinički odgovor na fleksibilnoj endoskopiji su blijedi i kratki ožiljak sa ili bez teleangiektazija, bez striktura, a sluznica nema ulceracija, nodularnosti ili nepravilnosti. Tijekom digitorektalnom pregleda osjeti se samo glatki, ravni ožiljak koji također nema nodularnosti. Na T2-mjerenju MR snimci fibrotični, linearni ožiljak mora imati niski intenzitet signala, ne smije biti sumnjivih limfnih čvorova niti ograničenja difuzije. Procjena potpunog kliničkog odgovora za pacijente koji su prvo liječeni kemoterapijom pa radioterapijom ne bi trebala biti ranije od 8 tjedana nakon završetka RT kako bi ostalo vremena za odgođeni odgovor na radioterapiju. Za pacijente koji su prvo zračeni pa su onda primili kemoterapiju klinički odgovor bi se trebao procijeniti unutar mjesec dana od završetka kemoterapije. Nakon neoadjuvantne terapije, cCR može se postići u 10-40% pacijenata kada se procjenjuje nakon intervala od 12 tjedana od početka liječenja (119). cCR značajan je prediktivni čimbenik za patološki kompletni odgovor (pCR), ali većina (75%) cCR ipak još ima žarišta tumora koja se nisu mogla otkriti (120). Inicijalno povišena razina CEA (karcinoembrionalni antigen) koja se vrati na normalnu razinu (manje od 5 ng/mL) nakon KTRT povezana je s povećanom vjerojatnošću cCR i pCR. Određeni centri izvijestili su o ohrabrujućim rezultatima ishoda za odabrane pacijente liječene standardiziranom KTRT-om i neoperativnom strategijom. Međutim, takvi su pacijenti podvrgnuti rigoroznom praćenju češćem od rutinskog nadzora kako bi se osiguralo da je kirurška resekcija, ako je potrebna, izvediva pravodobno (119,121). Sustavni pregled Martina i sur. pokazuje izvrsne ishode pacijenata koji postignu pCR nakon neoadjuvantne terapije sa stopom lokalnog recidiviranja od 0.7% i 5-ogodišnjeg preživljenja od 90,2%. Te stope mogu se usporediti s onima nakon kirurške resekcije kod stadija I rektalnog karcinoma. Problem cCR pacijenata je što nakon neoadjuvantne terapije mogu i dalje imati bolest u mezorektalnim limfnim čvorovima. Zabilježeno je da je 2-27% ypT0 tumora ipak ypN+ (yp označava patološki stadij nakon neoadjuvantne terapije) (122–124). Kirurška resekcija možda neće dovesti do poboljšanja ishoda, a može biti povezana s visokim stopama formiranja privremnih ili trajnih stoma i nepotrebnim stopama morbiditeta i mortaliteta (125). „*Watch and wait*“ strategija kod raka rektuma ima nekoliko bitnih nedostataka, uključujući nedostatak konsenzusne definicije odgovora na liječenje, nepostojanje standardiziranih protokola praćenja te nisku pouzdanost trenutnih prediktora odgovora na liječenje. Kod pacijenata koji se liječe ovim pristupom, specijalizirani centri preporučuju pažljivo praćenje kroz česte kontrolne posjete (126).

6.5. Adjuvantna terapija

Nakon transabdominalne resekcije, bolesnici stadija II i III nastavljaju liječenje u obliku adjuvantne terapije, prema NCCN smjernicama. Za pacijente s visokorizičnim stadijem II i III raka kolona, adjuvantna kemoterapija bazirana na fluoropirimidinu kao monoterapiji smanjuje rizik od recidiva i smrti za oko 20-30%, a dodavanje oksaliplatine dodatno poboljšava taj učinak. Podaci iz kliničkih ispitivanja adjuvantnog liječenja rektalnog karcinoma ne podržavaju primijenu postoperativne adjuvantne kemoterapije za pacijente koji su primili neoadjuvantnu KTRT. Ako uopće postoje, malo dokaza postoji za pozitivan učinak adjuvantne kemoterapije na ukupno preživljenje (OS) kod rektalnog karcinoma, a vide se uglavnom kod pacijenata sa stadijem III (127). Unatoč nedostatku definitivnih dokaza, najčešća je praksa u svijetu ponuditi postoperativno liječenje kemoterapijom na bazi fluoropirimidina (98). Adjuvantna terapija može se provoditi na više načina. Liječenje se može započeti konkomitantnom kemoradioterapijom pri čemu se tijekom standardne radioterapije (45-50,4 Gy) u 25-28 dnevnih frakcija aplicira infuzija 5-FU ili kapecitabin te se terapija potom nastavlja kemoterapijom po protokolima FOLFOX ili CAPEOX. FOLFOX je protokol kemoterapije koji uključuje 5-FU, oksaliplatinu i leukovorin. CAPEOX je protokol kemoterapije koji uključuje oksaliplatin i kapecitabin. Drugi je oblik adjuvantne terapije aplikacija kemoterapije po protokolima FOLFOX ili CAPEOX te potom nastavak liječenja konkomitantnom kemoradioterapijom. Treća je opcija primjena samo kemoterapije po protokolima FOLFOX ili CAPEOX (samo za pT3, N0, M0 ili pT1-3, N1, M0) (107). Kod tumora pT3, N0, M0 nakon kirurške terapije, kod dobro ili umjereno dobro diferenciranih karcinoma koji su invadirali manje od 2 mm mezorektuma, bez limfovaskularnog širenja i ako se nalaze u gornjem rektumu, moguće je samo promatrati bolesnika bez primjene adjuvantne terapije (128).

6.6. Terapija metastatske bolesti

Kod metastatske bolesti karcinoma kolona ili rektuma nema razlike među indikacijama za terapijske postupke, ali može biti upitno hoće li bolesnici s rektalnim karcinomom, s različitim obrascem metastaziranja, često s prethodnim lokalnim liječenjem i metastaziranjem nakon radioterapije, reagirati isto na sustavno liječenje kao karcinom kolona (129). Također treba odrediti RAS i BRAF status kako bi se donijela najbolja odluka o liječenju (98). Mnogi čimbenici bolesnika utječu na izbor liječenja. Treba uzeti u obzir komorbiditete, dob i opće stanje. Vidljivi su poboljšani klinički ishodi kada se svakom pacijentu s metastatskim KRK-om pristupa individualno i o opcijama liječenja raspravlja unutar multidisciplinarnog tima (MDT)

(130). Metastatska bolest dijeli se ovisno o mikrosatelitskom statusu na MSS i MSI, prema RAS i BRAF statusu na mutirane ili divlje tipove te prema zahvaćenosti organa na onu s metastazama samo u jetri ili samo u plućima, onu koja ima metastaze u abdomenu ili peritoneumu te onu koja ima metastaze na udaljenim lokacijama. Metastatska bolest može se javiti sinhrono s primarnim tumorom ili se metastaze utvrde u kasnijem tijeku bolesti. Prema NCCN smjericama kod sinhrono pojave metastaza određuje se mogućnost njihove resekcije (107). Ako postoje samo sinkrone metastaze u jetri ili samo u plućima, koje su resektabilne, liječenje se započinje se kemoterapijom prema protokolima FOLFOX, CAPEOX ili Mayo (5-FU/LV) protokolom ili monoterapijom kapecitabinom. U liječenju sinhronih metastaza može se primijeniti i lokalna ablativna terapija (npr. termalna ablacija, SBRT) uz kiruršku resekciju primarne rektalne lezije. Ako nakon primarne terapije metastaze još nisu resektabilne, a primarni tumor je progredirao, uzima se u obzir palijativna radioterapija ili kemoradioterapija (5-FU ili kapecitabin uz RT) nakon koje se pristupa sustavnoj terapiji. Ako nema progresije primarnog tumora, a metastaze su nereseptabilne, također se pristupa sustavnoj terapiji uz mogućnost lokalne terapije metastaza kod odabranih pacijenata. Osim metastaza samo u jetri ili samo u plućima, pacijent može imati abdominalne ili peritonealne metastaze. Ako postoji opstrukcija, pacijenta usmjeravamo na hitnu terapiju opstrukcije nakon koje slijedi sustavna terapija. Kod metastatske bolesti koja se utvrdi nakon liječenja primarnog tumora ili se utvrde nereseptabilne metastaze istodobno s primarnim tumorom, odmah se započinje sa sustavnim liječenjem, osim ako postoji neposredan rizik od opstrukcije, perforacije, značajnog krvarenja ili drugih značajnih simptoma povezanih s tumorom kad se prvo pristupa resekciji primarnog tumora (107). Okosnica liječenja MSS metastatskih kolorektanih karcinoma je kemoterapija. Kemoterapeutski protokoli koji se koriste u liječenju mKRK-a jesu FOLFOX (kombinacija 5-FU, oksaliplatine i leukovorina), CAPEOX (kombinacija oksaliplatine i kapecitabina), FOLFIRI (kombinacija leukovira, 5-FU i irinotekana) i FOLFIRINOX (kombinacija leukovira, 5-FU, irinotekana i oksaliplatine). 5-FU (5-fluorouracil) je antimetabolit fluoropirimidinske skupine koji inhibira enzim timidilat sintetazu, a time i posljedično nastanak timidina. Kapecitabin je oralni prolijek koji se u metabolizira u 5-FU u tijelu (131). Leukovorin se aplicira zajedno s 5-FU kako bi se pojačala citotoksičnost i smanjio toksični učinak visokih doza antifolata na zdrave stanice (132). Oksaliplatin je citostatik na bazi platine koja reagira s dušikom u gvaninu uzrokujući stvaranje kovalentne veze između dva gvanina koja inhibira replikaciju DNK, transkripciju i zaustavlja stanični ciklus, a to rezultira smrću stanice. Djeluje sinergistički s fluoropirimidinima (133). Irinotekan je inhibitor topoizomerase I koji izaziva letalni lom dvostrukog lanca DNK (134). Uz kemoterapiju u liječenju metastatskog

kolorektalnog karcinoma primjenjuje se i ciljana terapija anti-VEGF ili anti-EGFR protutijelima za koje je dokazano da poboljšavaju kliničke ishode (98). Kod metastatskih KRAS/NRAS/BRAF WT (wild type) tumora uz kemoterapiju primjenjuju se anti-EGFR lijekovi: cetuksimab ili panitumumab (107). Cetuksimab je monoklonalno protutijelo, rekombinantni (ljudski/mišji) IgG1 koji se veže za EGFR. Antitumorski učinak postiže putem više različitih mehanizama, među kojima su inhibicija napredovanja staničnog ciklusa, zaustavljanje staničnog ciklusa u fazi G1, inhibicija angiogeneze i inhibicija metastaziranja zbog smanjenja proizvodnje metaloproteinaze u izvanstaničnoj tekućini. Panitumumab je također monoklonalno protutijelo, humani IgG2 koji ima visoki afinitet za EGFR, ali nije povezan s razvojem alergijske reakcije kao cetuksimab (135). KRAS/NRAS/BRAF mutacije konstitutivno aktiviraju tipične EGFR nizvodne puteve te je dokazano da pokreću zamjenske puteve koji zaobilaze terapijsku blokadu EGFR-a, a time smanjuju učinkovitost anti-EGFR protutijela (primarna rezistencija) (136). Kod KRAS mutiranih metastatskih kolorektalnih karcinoma uz kemoterapiju primjenjuje se bevacizumab (107). Bevacizumab je anti-VEGF humanizirano monoklonalno protutijelo koje inhibira angiogenezu vežući se za cirkulirajući VEGF-A i modulira tumorom induciranu imunosupresiju, a među prvim je odobrenim ciljanim lijekovima i prvi je odobreni inhibitor angiogeneze (137). Karcinomi kolorektuma, kako je ranije rečeno, diferenciraju se na MSS i MSI karcinome. Poremećaj u mehanizmima popravka DNK, kao kod MSI, poboljšava imunološku detekciju tumora povećanjem stope mutacije i posljedično, stvaranjem tumorskih neoantigena, koje može imunološki sustav domaćina prepoznati (138). Imunoterapija u liječenju karcinoma aktivira imunološki sustav vlastitog organizma bolesnika kako bi se potaknuli objektivni odgovori i stabilizirala bolest (139). Tumori imaju mogućnost razvijanja višestrukih mehanizama za izbjegavanje imunološki posredovane destrukcije (140). Jedan od tih mehanizama uključuje ekspresiju molekula na površini stanice tumora koje učinkovito ograničavaju proliferaciju T-stanica i sposobnost uništavanja stanica tumora. Te molekule su kontrolne točke imunološkog sustava (engl. *immune checkpoints*). Dakle, kontrolne točke imunološkog sustava odnose se na mnoštvo inhibicijskih putova ugrađenih u imunološki sustav koji su ključni za održavanje samotolerancije te moduliranje trajanja i amplitude fizioloških imunoloških odgovora u perifernim tkivima. Danas je jasno da tumori koriste određene imunološke kontrolne točke kao glavni mehanizam imunološke otpornosti, osobito protiv T-stanica specifičnih za tumorske antigene. Budući da mnoge imunološke kontrole točke funkcioniraju na principu interakcije ligand-receptor, mogu se blokirati protutijelima ili modulirati rekombinantnim oblicima liganda ili receptora (141). Imunoterapija *checkpoint* inhibitorima koristi se u terapiji metastatskog

MSI-H karcinoma rektuma. U MSI-H metastatskog karcinoma rektuma sustavna terapija započinje, ako je pacijent kandidat za imunoterapiju i nije prije primao imunoterapiju s *checkpoint* inhibitorima, nivolumabom sa/bez ipilimumaba, pembrolizumabom ili dostarlimabom-gxly (107). Dostarlimab-gxly, nivolumab i pembrolizumab monoklonalna su protutijela koja se visokim afinitetom vežu za PD-1, a pripadaju IgG4 klasi (142). PD-1 povećano je izražen na iscrpljenim T-limfocitima koje progresivno gube svoje efektorske funkcije kao što su proizvodnja citokina i citotoksičnost (143). Anti-PD1 i anti-PD-L1 terapija evocira citotoksične T-stanice, posljedično pojačavajući antitumorski imunitet (141). Ipilimumab je humano monoklonalno IgG1 protutijelo protiv CTLA-4 (144). Anti-CTLA-4 terapija smanjuje aktivacijski prag naivnih T-stanica, pojačavajući imunološke odgovore na slabe antigene kao što su tumorski antigeni (145). CTLA-4 bio je prva klinički ciljane imunološka kontrolna točka. Iako su točni mehanizmi djelovanja CTLA-4 predmet rasprave, predloženo je da njegova ekspresija na površini T-stanica prigušuje aktivaciju T-stanica nadjačavajući CD28 (koji inače aktivira T-stanice) u vezanju CD80 i CD86 te aktivno isporučujući inhibitorne signale T-stanici (141). Monoklonska protutijela koja blokiraju te putove ostvaruju antitumorske učinke aktiviranjem tumor-specifičnih citotoksičnih T-stanica u tumorskom mikrookolišu (146). Nivolumab i ipilimumab pokazali su visoke stope odgovora, a neizravne usporedbe s terapijom samo nivolumabom sugeriraju da kombinirana terapija pruža poboljšanu učinkovitost i pokazuje povoljan omjer koristi i rizika. Nivolumab uz ipilimumab pruža obećavajuću novu mogućnost liječenja za pacijente s dMMR/MSI-H mKRK (147). Odgovor na *checkpoint* inhibitore sporiji je, kod mnogih pacijenata je i odgođen (do 6 mjeseci od početka liječenja), u usporedbi s odgovorom na kemoterapeutike i inhibitore tirozin kinaza koji se obično javlja unutar nekoliko tjedana od početka primjene. U nekim slučajevima metastatske se lezije povećaju na radiološkoj kontroli prije povlačenja, što se izgledno događa zbog povećane infiltracije lezije imunološkim stanicama (148). Kod ove terapije također se radi reevaluacija statusa bolesti svakih 2-3 mjeseca, a zatim se nastavlja, ovisno o nalazima, opservacijom, kratkotrajnom RT ili KRT-om. Nakon toga moguća je resekcija i/ili lokalna ablativna terapija metastaza uz resekciju primarne lezije ili opservacija. Ako je pacijent s MSI-H karcinomom prethodno primao imunoterapiju, sustavna je terapija terapija izbora (107). Bolesnici koji su progredirali na prvu liniju liječenja (kemoterapiju uz ciljanu terapiju ili imunoterapiju *checkpoint* inhibitorima) liječiti će se kombinacijom kemoterapijskih protokola koja nije bila primijenjena u prvoj liniji (FOLFOX, CAPEOX ili FOLFIRI) sa ili bez bevacizumaba ili uz cetuksimab/panitumumab. Kad intenzivna terapija nije preporučena u MSS karcinoma, pacijent se može liječiti kombinacijom 5-FU sa/bez LV sa/bez bevacizumaba ili

kapecitabinom sa/bez bevacizumaba ili cetuksimabom/panitutumumabom ili trastuzumabom uz pertuzumab/lapatinib/tukatinib. Ako nakon te terapije dođe do poboljšanja u funkcionalnom statusu pacijenta, može se primijeniti sustavna terapija koja se primijenjuje u bolesnika kojima je preporučena intenzivna terapija ili druga linija terapije. Ako nema poboljšanja u funkcionalnom statusu pacijenta, savjetuje se palijativna terapija (107).

7. NOVE TERAPIJSKE MOGUĆNOSTI

Karcinom rektuma još je uvijek bolest koju je teško liječiti. Unatoč postojanju različitih dostupnih terapija za uznapredovali rak (kolona i) rektuma, ishodi u ovoj zloćudnoj bolesti ostaju suboptimalni (149). Literaturni podaci navode da se recidiv nakon kurativne operacije javlja u 30-50% slučajeva KRK-a. Najveća stopa recidiva prijavljena je unutar 2 godine. Anatomska pozicija distalnog karcinoma utječe na rizik od recidiva, tj. rizik opada što je dalje tumor od analnog ruba. Procijenjeni rizik za donju, srednju i gornju trećinu rektuma iznosi 10-15%, 5-10%, odnosno 2-5% (150). Prema podacima Registra za rak već pri dijagnozi oko 13% novootkrivenih osoba s KRK-om imaju udaljene metastaze. Hrvatska se nalazi na 9. mjestu po incidenciji KRK-a, a na 2. mjestu prema smrtnosti. Prema podacima međunarodne studije CONCORD-3, petogodišnje je preživljenje za pacijente dijagnosticirane između 2010. i 2014. godine u Hrvatskoj iznosilo 51,5% za rak kolona, dok je za rak rektuma još manje, 48,2%, a u sjevernim i zapadnim zemljama Europe preživljenje se kreće oko 65% (151). Zbog devastirajućih podataka o incidenciji metastatske bolesti, ali i incidenciji recidiviranja, potreban je širok spektar potencijalne terapije. Zadnjih više od dva desetljeća svjedočimo velikom pomaku u razvoju terapije za pacijente s metastatskim kolorektalnim karcinomom, a to postignuće uvelike proizlazi iz napretka u translacijskim istraživanjima (152). Nove terapijske mogućnosti u liječenju karcinoma rektuma uključuju modalitete neoadjuvantne imunoterapije MSI-H tumora, lokalne ablativne terapije i novije opcije sustavne terapije.

7.1. Neoadjuvantna imunoterapija *checkpoint* inhibitorima

Neoadjuvantna imunoterapija strategija je u onkologiji koja se sastoji od primjene *checkpoint* inhibitora, bilo anti-PD-1 (programirane stanične smrti-1), njegovog liganda PD-L1 ili anti-CTLA-4 (*cytotoxic T lymphocyte-associated protein*) monoklonskog protutijela prije planirane kirurške resekcije (153). U lokalno uznapredovalim MSI-H karcinomima rektuma, prema NCCN smjernicama, preferira se primjena neoadjuvantne/definitivne imunoterapije, a alternativna je mogućnost totalna neoadjuvantna terapija. Imunoterapija *checkpoint* inhibitorima provodi se do 6 mjeseci, a provodi se dostarlimabom-gxly ili nivolumabom ili

pembrolizumabom (107). Kliničko ispitivanje faze II primjene dostarlimaba u liječenju MSI karcinoma rektuma stadija II i III pokazalo je klinički kompletan odgovor (cCR) u 100% ispitanika nakon 6 mjeseci (154). Nivolumab kao neoadjuvantna terapija u pacijenata s MSI-H lokalno uznapredovalim karcinomom rektuma pokazuje obećavajuće rezultate, dovodi do potpunog odgovora uz očuvanje fertiliteta i analne funkcije (155). Neoadjuvantna primjena pembrolizumaba rezultira visokom stopom patološki kompletnih odgovora (pCR), u 65% bolesnika s različitim lokaliziranim dMMR solidnim tumorima (77% od svih tumora su bili KRK, a KRK samostalno je pokazivao pCR od 79%). Većini ostalih pacijenata bez pCR-a koji su bili resecirani utvrđen je patološki niži stadij (156). Tijekom imunoterapije radi se reevaluacija statusa bolesti svakih 2-3 mjeseca pa se pristupa praćenju kod potpunog kliničkog odgovora (pCR), a ako bolest perzistira nakon 6 mjeseci primijenjuje se KTRT ili kratkotrajna RT. Nakon KTRT/RT radi se transabdominalna resekcija ili opservacija kod potpunog kliničkog odgovora. Poslije resekcije pacijenti mogu primiti kemoterapiju po protokolima FOLFOX ili CAPEOX. Ako je kontraindicirana resekcija, sustavna terapija je terapija izbora (107).

7.2. Lokalna ablativna terapija u liječenju oligometastatske bolesti

Hipoteza oligometastatske bolesti opisuje stanje između lokoregionalne i difuzne metastatske bolesti, zbog još uvijek ograničene sposobnosti metastaziranja (157). Oligometastatska bolest klinički se definira kao prisutnost jedne do pet metastatskih lezija (eventualno više ako je moguća potpuna eradikacija) koje se nalaze na do dvije metastaske lokacije uz kontrolirani primarni tumor (po mogućnosti resecirani), a sve metastatske lezije moraju moći biti liječene na kurativan način. Integracija lokalne terapije u plan liječenja služi kao modalitet definitivne eradikacije u ograničenoj bolesti. Obično se tada radi resekcija, ali nekirurška lokalna terapija koristi se ako karakteristike tumora (npr. lokalizacija) ili faktori pacijenta ograničavaju kirurški pristup. Lokalna ablativna terapija može se koristiti kao zamjena za kiruršku resekciju kod prognostički nejasnih situacija i kao primarni tretman za metastaze kako bi se zaustavilo daljnje širenje. To može odgoditi ili čak eliminirati potrebu za operacijom (158). Preferira se resekcija u usporedbi s lokalnom ablativnom terapijom, u nedostatku randomiziranih studija koje uspoređuju kirurško s nekirurškim liječenjem resektabilnih oligometastatskih lezija. Lokalne ablativne terapije mogu se razmotriti u slučaju jetrenih ili plućnih oligometastaza, posebno u pacijenata kod kojih se ne preporuča resekcija zbog komorbiditeta (107). Lokalna ablativna terapija uključuje modalitete kao što su stereotaktička radioterapija (SBRT) i termalna ablacija. Termalna ablacija i stereotaktička radioterapija postižu visoke stope potpune eradikacije malih

metastaza (159,160). SBRT uključuje vrlo točnu isporuku visoke doze zračenja do cilja s uskim marginama u malom broju frakcija, tipično manje od pet (161). Sustavni pregled Kobiela i suradnika u kojem su analizirani rezultati SBRT-a u liječenju oligometastaza KRK-a u jetri i plućima pokazuje kako je lokalna kontrola postignuta u do 92% slučajeva nakon 2 godine, a ukupno preživljenje je također zadovoljavajuće (do 70% nakon 2 godine) uz nisku razinu toksičnosti (162). Metode termalne ablacije uključuju radiofrekventnu ablaciju (RFA), mikrovalnu ablaciju (MWA) i krioablaciju. Ograničenje ovih terapijskih opcija je potreba da lezija bude najviše 2-3 cm (163). Neke od prednosti termalne ablacije u usporedbi s resekcijom jesu kraće trajanje hospitalizacije nakon zahvata, kraće razdoblje oporavka i smanjeno kašnjenje u započinjanju sustavne terapije ako je potrebna. Kod neresektibilnih jetrenih metastaza, termalna ablacija uz KT pokazala se superiornijom u usporedbi samo s KT u produljenju OS-a (8-ogodišnje preživljenje iznosilo je 35.9% s kombiniranom terapijom, a samo s KT 8,9%) (164,165). U plućnih metastaza prijavljena stopa R0 resekcije nakon kirurške resekcije iznosi oko 90%, a slični rezultati postižu se i toplinskom ablacijom (166,167).

7.3. Nove sustavne terapijske mogućnosti za liječenje metastatskog KRK-a

U sustavnoj terapiji mKRK, ukoliko postoji BRAF V600E mutacija primjenjuje se ciljana terapija enkorafenibom uz cetuksimab/pantitumumab (107). Enkorafenib je BRAF inhibitor čija monoterapija u BRAF-mutiranom mKRK-u ima niske stope odgovora. Taj suboptimalan odgovor povezuje se s nepotpunom inhibicijom MAPK signalnog puta u *in vitro* istraživanjima BRAF V600E-mutiranih stanica KRK-a. To dovodi do oporavka aktivacije MAPK i nastavlja staničnu proliferaciju. Kombinacija BRAF i EGFR inhibitora rezultira zato sinergističkim učinkom protiv rasta tumora (168). Ukoliko postoji HER2-amplifikacija, a tumor je RAS i BRAF WT, može se primijeniti i ciljana terapija trastuzumab uz pertuzumab/lapatinib/tukatinib (107). Trastuzumab je humano monoklonalno protutijelo koje cilja HER2, izaziva imunološki posredovani odgovor koji uzrokuje internalizaciju i recikliranje HER2. Pertuzumab je također humano monoklonalno protutijelo koje blokira heterodimerizaciju HER2. Lapatinib je dvostruki EGFR/HER2 reverzibilni inhibitor tirozin kinaze (TKI) (169). Tukatinib je oralni inhibitor tirozin kinaze visoko selektivan za HER2 (170). Kombinacija trastuzumaba i tukatiniba odobrena je od strane američkog FDA-a u siječnju 2023. godine za liječenje neresektibilnog ili metastatskog HER2-pozitivnog KRK-a ako je tumor RAS WT i pacijent je ranije liječen fluoropirimidinom, oksaliplatinom i irinotekanom (171). Bevacizumab, ziv-aflibercept i ramucirumab anti-angiogenetska su monoklonalna protutijela. Korištenje

antiangiogenih terapija u kombinaciji s kemoterapijom postalo je prihvaćeni standard u terapiji mKRR. Bevacizumab je odobren u prvoj liniji terapije mKRR uz protokole FOLFIRI, FOLFOX, CAPEOX i FOLFIRINOX, dok su ziv-aflibercept i ramucirumab odobreni u drugoj liniji terapije uz protokol FOLFIRI ili irinotekan ako je prva linija terapija bila bazirana na oksaliplatinu bez irinotekana (172). Ziv-aflibercept rekombinantni je fuzijski protein sastavljen od izvanstaničnih domena VEGFR-1 i VEGFR-2 spojenih na Fc regiju humanog IgG1, a djeluje kao mamac za faktor rasta vaskularnog endotela (VEGF-A i VEGF-B) i za faktor rasta placente (PIGF) (173,174). Ramucirumab je humano IgG1 monoklonsko protutijelo koje se s visokim afinitetom veže na izvanstaničnu domenu VEGFR-2 čime se sprječava vezanje svih VEGF liganada i aktivacija receptora (172). Prema smjernicama, ako je bolest progredirala na I. i II. liniju liječenja, u nastavku liječenja mogu se primijeniti trifluridin uz tipiracil, fruquintinib te regorafenib sa ili bez bevacizumaba (107). Kombinacija trifluridin/tipiracil oralna je citotoksična kemoterapija koja se sastoji od nukleozidnog analoga baziranog na timidinu (trifluridin) i inhibitora timidin fosforilaze (tipiracil) (175). Učinak se postiže ugradnjom fosforiliranog trifluridina u DNK, što rezultira disfunkcijom DNK, a usporedno se inhibira razgradnja trifluridina pomoću timidin fosforilaze (176). Fruquintinib predstavlja novu generaciju malih molekula inhibitora VEGFR. Snažan je, visoko selektivan i oralno aktivan inhibitor VEGFR1, 2 i 3 tirozin kinaza (177). Liječenje fruquintinibom rezultiralo je klinički značajnim poboljšanjem u ukupnom preživljenju u usporedbi s placebom (7.4 mjeseci vs 4.8 mjeseci) u pacijenata s refrakternom metastatskom bolešću tijekom 3. faze FRESCO-2 studije (178). Regorafenib je oralni multikinazni inhibitor koji cilja angiogene (VEGFR1-3, TIE2), stromalne (PDGFR-b, FGFR) i onkogene (KIT, RET, RAF) receptorske tirozin kinaze. To je prva mala molekula multikinazni inhibitor koji je postigao poboljšanje u preživljenju u refrakternom mKRR-u (medijan OS terapije regorafenibom u usporedbi s placebom, 6,4 mjeseci vs. 5,0 mjeseci), a zbog toga je odobren od strane FDA 2012. godine za tu indikaciju (179,180).

8. ZAKLJUČAK

Kolorektalni karcinom nije jedinstvena bolest; svaki slučaj je poseban i zahtijeva individualizirani pristup. Liječenje rektalnog karcinoma predstavlja velik izazov koji zahtijeva pažljivu koordinaciju između mnogih stručnjaka unutar multidisciplinarnih timova. Personalizirani pristup svakom pacijentu ključ je uspjeha, budući da je svaki tumor unikatan i ima svoj jedinstveni genski zapis. Unatoč postojanju mnogih terapijskih opcija, nijedna nije savršena. Razumijevanje bioloških mehanizama, pravovremena dijagnostika i učinkovite terapijske strategije ključne su strategije za poboljšanje prognoze i kvalitete života oboljelih. Buduće studije o podtipovima mogu doprinijeti odabiru optimalne terapije za lokaliziranu i metastasku bolest. Mnoge nove terapijske mogućnosti već su u fazama testiranja i pokazuju obećavajuće rezultate, pružajući nadu za još učinkovitije tretmane u budućnosti.

ZAHVALE

Hvala mojoj mentorici, doc. dr. sc. Jasmini Marić Brozić, na pomoći i savjetima u izradi, a posebno na strpljivosti i velikoj slobodi izražaja koju sam imala pri pisanju ovog diplomskog rada.

Hvala mami i tati na nesebičnosti, odricanju i podršci tijekom cijelog fakultetskog razdoblja.

Hvala što ste mi bili oslonac u teškim trenucima. Hvala tati što mi je pokazao kako se pojedinac bori s rakom bez posustajanja.

Hvala Petri na riječima podrške, savjetima i vitaminima.

Hvala Lovri na razumijevanju i neodustajanju u teškim trenucima. Hvala ti što si mi uljepšao i dodao boju u velik dio mog fakultetskog puta.

Hvala mojim prijateljima na kasnim satima u knjižnici, smijehu i ramenima za plakanje.

LITERATURA

1. Bray F, Laversanne M, Weiderpass E, Soerjomataram I. The ever-increasing importance of cancer as a leading cause of premature death worldwide. *Cancer*. 2021;127(16):3029–30.
2. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2021;71(3):209–49.
3. Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* [Internet]. [cited 2024 May 6];n/a(n/a). Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.3322/caac.21834>
4. Siegel RL, Miller KD, Fedewa SA, Ahnen DJ, Meester RGS, Barzi A, et al. Colorectal cancer statistics, 2017. *CA Cancer J Clin*. 2017;67(3):177–93.
5. Araghi M, Soerjomataram I, Bardot A, Ferlay J, Cabasag CJ, Morrison DS, et al. Changes in colorectal cancer incidence in seven high-income countries: a population-based study. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2019 Jul;4(7):511–8.
6. Chambers AC, Dixon SW, White P, Williams AC, Thomas MG, Messenger DE. Demographic trends in the incidence of young-onset colorectal cancer: a population-based study. *Br J Surg*. 2020 Apr;107(5):595–605.
7. Anderson JC, Samadder JN. To Screen or Not to Screen Adults 45-49 Years of Age: That is the Question. *Am J Gastroenterol*. 2018 Dec;113(12):1750–3.
8. Šekerija M, Bubanović L, Novak P, Lončar J, Čukelj P, Glibo M, et al. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Registar za rak Republike Hrvatske. Incidencija raka u Hrvatskoj 2019., Bilten 44, Zagreb, 2021. (44).
9. Šekerija M, Bubanović L, Lončar J, Čukelj P, Veltruski J, Mikolaj L, et al. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Registar za rak Republike Hrvatske. Incidencija raka u Hrvatskoj 2020., Bilten 45, Zagreb, 2022. (45).
10. Šekerija et al. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Registar za rak Republike Hrvatske. Incidencija raka u Hrvatskoj 2021., Bilten 46, Zagreb, 2024. [Internet]. [cited 2024 May 6]. Available from: <https://www.hzjz.hr/periodicne-publikacije/incidencija-raka-u-hrvatskoj-u-2021-godini/>
11. Lichtenstein Paul, Holm Niels V., Verkasalo Pia K., Iliadou Anastasia, Kaprio Jaakko, Koskenvuo Markku, et al. Environmental and Heritable Factors in the Causation of Cancer — Analyses of Cohorts of Twins from Sweden, Denmark, and Finland. *N Engl J Med*. 2000;343(2):78–85.
12. Lin OS. Acquired risk factors for colorectal cancer. *Methods Mol Biol Clifton NJ*. 2009;472:361–72.

13. Chao A, Thun MJ, Connell CJ, McCullough ML, Jacobs EJ, Flanders WD, et al. Meat consumption and risk of colorectal cancer. *JAMA*. 2005 Jan 12;293(2):172–82.
14. Bagnardi V, Rota M, Botteri E, Tramacere I, Islami F, Fedirko V, et al. Alcohol consumption and site-specific cancer risk: a comprehensive dose–response meta-analysis. *Br J Cancer*. 2015 Feb 3;112(3):580–93.
15. Slattery ML, Boucher KM, Caan BJ, Potter JD, Ma KN. Eating patterns and risk of colon cancer. *Am J Epidemiol*. 1998 Jul 1;148(1):4–16.
16. Järvinen R, Knekt P, Hakulinen T, Rissanen H, Heliövaara M. Dietary fat, cholesterol and colorectal cancer in a prospective study. *Br J Cancer*. 2001 Aug 3;85(3):357–61.
17. Giovannucci E. Meta-analysis of Coffee Consumption and Risk of Colorectal Cancer. *Am J Epidemiol*. 1998 Jun 1;147(11):1043–52.
18. Terry P, Giovannucci E, Michels KB, Bergkvist L, Hansen H, Holmberg L, et al. Fruit, vegetables, dietary fiber, and risk of colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2001 Apr 4;93(7):525–33.
19. Botteri E, Iodice S, Bagnardi V, Raimondi S, Lowenfels AB, Maisonneuve P. Smoking and colorectal cancer: a meta-analysis. *JAMA*. 2008 Dec 17;300(23):2765–78.
20. Larsson SC, Wolk A. Obesity and colon and rectal cancer risk: a meta-analysis of prospective studies. *Am J Clin Nutr*. 2007 Sep;86(3):556–65.
21. Giovannucci E. Insulin and colon cancer. *Cancer Causes Control CCC*. 1995 Mar;6(2):164–79.
22. Boyle T, Keegel T, Bull F, Heyworth J, Fritschi L. Physical Activity and Risks of Proximal and Distal Colon Cancers: A Systematic Review and Meta-analysis. *JNCI J Natl Cancer Inst*. 2012 Oct 17;104(20):1548–61.
23. Ekmekcioglu C, Haluza D, Kundi M. 25-Hydroxyvitamin D Status and Risk for Colorectal Cancer and Type 2 Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-Analysis of Epidemiological Studies. *Int J Environ Res Public Health*. 2017 Jan 28;14(2):127.
24. Gorham ED, Garland CF, Garland FC, Grant WB, Mohr SB, Lipkin M, et al. Optimal vitamin D status for colorectal cancer prevention: a quantitative meta analysis. *Am J Prev Med*. 2007 Mar;32(3):210–6.
25. Ma Y, Zhang P, Wang F, Yang J, Liu Z, Qin H. Association between vitamin D and risk of colorectal cancer: a systematic review of prospective studies. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2011 Oct 1;29(28):3775–82.
26. 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. *JNCI J Natl Cancer Inst*. 2019 Feb 1;111(2):158–69.
27. Zgaga L, Theodoratou E, Farrington SM, Din FVN, Ooi LY, Glodzik D, et al. Plasma vitamin D concentration influences survival outcome after a diagnosis of colorectal cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2014 Aug 10;32(23):2430–9.

28. Ng K, Meyerhardt JA, Wu K, Feskanich D, Hollis BW, Giovannucci EL, et al. Circulating 25-hydroxyvitamin d levels and survival in patients with colorectal cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2008 Jun 20;26(18):2984–91.
29. Maalmi H, Ordóñez-Mena JM, Schöttker B, Brenner H. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and survival in colorectal and breast cancer patients: systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *Eur J Cancer Oxf Engl 1990*. 2014 May;50(8):1510–21.
30. Burt R. Inheritance of Colorectal Cancer. *Drug Discov Today Dis Mech*. 2007;4(4):293–300.
31. Bisgaard ML, Fenger K, Bülow S, Niebuhr E, Mohr J. Familial adenomatous polyposis (FAP): frequency, penetrance, and mutation rate. *Hum Mutat*. 1994;3(2):121–5.
32. Rozen P, Samuel Z, Rabau M, Goldman G, Shomrat R, Legum C, et al. Familial adenomatous polyposis at the Tel Aviv Medical Center: demographic and clinical features. *Fam Cancer*. 2001;1(2):75–82.
33. Aretz S, Stienen D, Friedrichs N, Stemmler S, Uhlhaas S, Rahner N, et al. Somatic APC mosaicism: a frequent cause of familial adenomatous polyposis (FAP). *Hum Mutat*. 2007 Oct;28(10):985–92.
34. Mazzei F, Viel A, Bignami M. Role of MUTYH in human cancer. *Mutat Res Mol Mech Mutagen*. 2013 Mar 1;743–744:33–43.
35. Powell SM, Zilz N, Beazer-Barclay Y, Bryan TM, Hamilton SR, Thibodeau SN, et al. APC mutations occur early during colorectal tumorigenesis. *Nature*. 1992 Sep 17;359(6392):235–7.
36. Mori Y, Nagse H, Ando H, Horii A, Ichii S, Nakatsuru S, et al. Somatic mutations of the APC gene in colorectal tumors: mutation cluster region in the APC gene. *Hum Mol Genet*. 1992 Jul 1;1(4):229–33.
37. Network TCGA. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature*. 2012;487(7407):330.
38. Kinzler KW, Vogelstein B. Landscaping the Cancer Terrain. *Science*. 1998 May 15;280(5366):1036–7.
39. Hankey W, Frankel WL, Groden J. Functions of the APC tumor suppressor protein dependent and independent of canonical WNT signaling: implications for therapeutic targeting. *Cancer Metastasis Rev*. 2018 Mar;37(1):159–72.
40. Gardner EJ, Burt RW, Freston JW. Gastrointestinal Polyposis: Syndromes and Genetic Mechanisms. *West J Med*. 1980 Jun;132(6):488–99.
41. Half E, Bercovich D, Rozen P. Familial adenomatous polyposis. *Orphanet J Rare Dis*. 2009 Oct 12;4:22.
42. Petersen GM, Slack J, Nakamura Y. Screening guidelines and premorbid diagnosis of familial adenomatous polyposis using linkage. *Gastroenterology*. 1991 Jun;100(6):1658–64.
43. Aaltonen LA, Salovaara R, Kristo P, Canzian F, Hemminki A, Peltomäki P, et al. Incidence of hereditary nonpolyposis colorectal cancer and the feasibility of molecular screening for the disease. *N Engl J Med*. 1998 May 21;338(21):1481–7.

44. Abdel-Rahman W, Peltomäki P. Molecular basis and diagnostics of hereditary colorectal cancers. *Ann Med*. 2004 Jan;36(5):379–88.
45. Lynch HT, Smyrk TC, Watson P, Lanspa SJ, Lynch JF, Lynch PM, et al. Genetics, natural history, tumor spectrum, and pathology of hereditary nonpolyposis colorectal cancer: an updated review. *Gastroenterology*. 1993 May;104(5):1535–49.
46. Win AK, Jenkins MA, Dowty JG, Antoniou AC, Lee A, Giles GG, et al. Prevalence and Penetrance of Major Genes and Polygenes for Colorectal Cancer. *Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol*. 2017 Mar;26(3):404–12.
47. Cuatrecasas M, Gorostiaga I, Riera C, Saperas E, Llorca G, Costa I, et al. Complete Loss of EPCAM Immunoexpression Identifies EPCAM Deletion Carriers in MSH2-Negative Colorectal Neoplasia. *Cancers*. 2020 Sep 29;12(10):2803.
48. Fleming M, Ravula S, Tatishchev SF, Wang HL. Colorectal carcinoma: Pathologic aspects. *J Gastrointest Oncol*. 2012 Sep;3(3):153–73.
49. Huguenin N, van de Velde CJH, de Wilt JHW, Nagtegaal ID. Metastatic pattern in colorectal cancer is strongly influenced by histological subtype. *Ann Oncol*. 2014 Mar;25(3):651–7.
50. Foulds L. The natural history of cancer. *J Chronic Dis*. 1958 Jul;8(1):2–37.
51. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*. 1990 Jun;61(5):759–67.
52. Morson B. The Polyp-cancer Sequence in the Large Bowel. *Proc R Soc Med*. 1974 Jun;67(6 Pt 1):451–7.
53. Hanahan D, Weinberg RA. The Hallmarks of Cancer. *Cell*. 2000 Jan 7;100(1):57–70.
54. Grady WM. Epigenetic events in the colorectum and in colon cancer. *Biochem Soc Trans*. 2005 Aug 1;33(4):684–8.
55. Nguyen HT, Duong HQ. The molecular characteristics of colorectal cancer: Implications for diagnosis and therapy. *Oncol Lett*. 2018 Jul;16(1):9–18.
56. LeGolván MP, Taliano RJ, Resnick MB. Application of molecular techniques in the diagnosis, prognosis and management of patients with colorectal cancer: a practical approach. *Hum Pathol*. 2012 Aug;43(8):1157–68.
57. Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B. Genetic instabilities in human cancers. *Nature*. 1998 Dec;396(6712):643–9.
58. Pino MS, Chung DC. THE CHROMOSOMAL INSTABILITY PATHWAY IN COLON CANCER. *Gastroenterology*. 2010 Jun;138(6):2059–72.
59. Markowitz SD, Bertagnolli MM. Molecular Origins of Cancer. *N Engl J Med*. 2009 Dec 17;361(25):2449–60.
60. Kinzler KW, Vogelstein B. Lessons from Hereditary Colorectal Cancer. *Cell*. 1996 Oct 18;87(2):159–70.

61. Alrawi SJ, Schiff M, Carroll RE, Dayton M, Gibbs JF, Kulavlat M, et al. Aberrant crypt foci. *Anticancer Res.* 2006;26(1A):107–19.
62. Otori K, Konishi M, Sugiyama K, Hasebe T, Shimoda T, Kikuchi-Yanoshita R, et al. Infrequent somatic mutation of the adenomatous polyposis coli gene in aberrant crypt foci of human colon tissue. *Cancer.* 1998 Sep 1;83(5):896–900.
63. Miyaki M, Konishi M, Kikuchi-Yanoshita R, Enomoto M, Igari T, Tanaka K, et al. Characteristics of somatic mutation of the adenomatous polyposis coli gene in colorectal tumors. *Cancer Res.* 1994 Jun 1;54(11):3011–20.
64. Esteller M, Sparks A, Toyota M, Sanchez-Cespedes M, Capella G, Peinado MA, et al. Analysis of adenomatous polyposis coli promoter hypermethylation in human cancer. *Cancer Res.* 2000 Aug 15;60(16):4366–71.
65. Sparks AB, Morin PJ, Vogelstein B, Kinzler KW. Mutational analysis of the APC/beta-catenin/Tcf pathway in colorectal cancer. *Cancer Res.* 1998 Mar 15;58(6):1130–4.
66. Vogelstein B, Lane D, Levine AJ. Surfing the p53 network. *Nature.* 2000 Nov 16;408(6810):307–10.
67. Vogelstein Bert, Fearon Eric R., Hamilton Stanley R., Kern Scott E., Preisinger Ann C., Leppert Mark, et al. Genetic Alterations during Colorectal-Tumor Development. *N Engl J Med.* 1988 Sep 1;319(9):525–32.
68. Leslie A, Carey FA, Pratt NR, Steele RJC. The colorectal adenoma-carcinoma sequence. *Br J Surg.* 2002 Jul;89(7):845–60.
69. Fearon ER, Cho KR, Nigro JM, Kern SE, Simons JW, Ruppert JM, et al. Identification of a Chromosome 18q Gene that Is Altered in Colorectal Cancers. *Science.* 1990 Jan 5;247(4938):49–56.
70. Thiagalingam S, Lengauer C, Leach FS, Schutte M, Hahn SA, Overhauser J, et al. Evaluation of candidate tumour suppressor genes on chromosome 18 in colorectal cancers. *Nat Genet.* 1996 Jul;13(3):343–6.
71. P Z, M SS, Sp M, T B. Loss of heterozygosity for chromosome 18q and microsatellite instability are highly consistent across the region of the DCC and SMAD4 genes in colorectal carcinomas and adenomas. | *Journal of Applied Research* | EBSCOhost [Internet]. Vol. 8. 2008 [cited 2024 May 13]. p. 14. Available from: <https://openurl.ebsco.com/contentitem/gcd:105651054?sid=ebsco:plink:crawler&id=ebsco:gcd:105651054>
72. Mehlen P, Fearon ER. Role of the dependence receptor DCC in colorectal cancer pathogenesis. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2004 Aug 15;22(16):3420–8.
73. Hata A, Chen YG. TGF- β Signaling from Receptors to Smads. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2016 Sep;8(9):a022061.
74. Santini D, Loupakis F, Vincenzi B, Floriani I, Stasi I, Canestrari E, et al. High concordance of KRAS status between primary colorectal tumors and related metastatic sites: implications for clinical practice. *The Oncologist.* 2008 Dec;13(12):1270–5.

75. Adjei AA. Ras signaling pathway proteins as therapeutic targets. *Curr Pharm Des*. 2001 Nov;7(16):1581–94.
76. Vigil D, Cherfils J, Rossman KL, Der CJ. Ras superfamily GEFs and GAPs: validated and tractable targets for cancer therapy? *Nat Rev Cancer*. 2010 Dec;10(12):842–57.
77. Schubbert S, Shannon K, Bollag G. Hyperactive Ras in developmental disorders and cancer. *Nat Rev Cancer*. 2007 Apr;7(4):295–308.
78. Pruitt K, Der CJ. Ras and Rho regulation of the cell cycle and oncogenesis. *Cancer Lett*. 2001 Aug;171(1):1–10.
79. Samuels Y, Wang Z, Bardelli A, Silliman N, Ptak J, Szabo S, et al. High Frequency of Mutations of the PIK3CA Gene in Human Cancers. *Science*. 2004 Apr 23;304(5670):554–554.
80. Amado RG, Wolf M, Peeters M, Van Cutsem E, Siena S, Freeman DJ, et al. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2008 Apr 1;26(10):1626–34.
81. Yarden Y, Sliwkowski MX. Untangling the ErbB signalling network. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2001 Feb;2(2):127–37.
82. Strickler JH, Yoshino T, Graham RP, Siena S, Bekaii-Saab T. Diagnosis and Treatment of ERBB2-Positive Metastatic Colorectal Cancer: A Review. *JAMA Oncol*. 2022 May 1;8(5):760–9.
83. GRADY WM, CARETHERS JM. Genomic and Epigenetic Instability in Colorectal Cancer Pathogenesis. *Gastroenterology*. 2008 Oct;135(4):1079–99.
84. Pawlik TM, Raut CP, Rodriguez-Bigas MA. Colorectal Carcinogenesis: MSI-H Versus MSI-L. *Dis Markers*. 2004;20(4–5):199–206.
85. Kolodner RD, Marsischky GT. Eukaryotic DNA mismatch repair. *Curr Opin Genet Dev*. 1999 Feb 1;9(1):89–96.
86. Peltomäki P, Nyström M, Mecklin JP, Seppälä TT. Lynch Syndrome Genetics and Clinical Implications. *Gastroenterology*. 2023 Apr 1;164(5):783–99.
87. De' Angelis GL, Bottarelli L, Azzoni C, De' Angelis N, Leandro G, Di Mario F, et al. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Acta Bio-Medica Atenei Parm*. 2018 Dec 17;89(9-S):97–101.
88. Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, Sidransky D, Eshleman JR, Burt RW, et al. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res*. 1998 Nov 15;58(22):5248–57.
89. Popat S, Hubner R, Houlston RS. Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2005 Jan 20;23(3):609–18.
90. Toyota M, Ahuja N, Ohe-Toyota M, Herman JG, Baylin SB, Issa JPJ. CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999 Jul 20;96(15):8681–6.

91. Bird AP. CpG-rich islands and the function of DNA methylation. *Nature*. 1986 May 15;321(6067):209–13.
92. Hansen RS, Gartler SM, Scott CR, Chen SH, xLaird CM. Methylation analysis of CGG sites in the CpG island of the human *FMR1* gene. *Hum Mol Genet*. 1992;1(8):571–8.
93. Baylin SB, Herman JG, Graff JR, Vertino PM, Issa JP. Alterations in DNA methylation: a fundamental aspect of neoplasia. *Adv Cancer Res*. 1998;72:141–96.
94. Ogino S, Cantor M, Kawasaki T, Brahmandam M, Kirkner GJ, Weisenberger DJ, et al. CpG island methylator phenotype (CIMP) of colorectal cancer is best characterised by quantitative DNA methylation analysis and prospective cohort studies. *Gut*. 2006 Jul;55(7):1000–6.
95. Samowitz WS, Albertsen H, Herrick J, Levin TR, Sweeney C, Murtaugh MA, et al. Evaluation of a Large, Population-Based Sample Supports a CpG Island Methylator Phenotype in Colon Cancer. *Gastroenterology*. 2005 Sep 1;129(3):837–45.
96. Accelerated age-related CpG island methylation in ulcerative colitis - PubMed [Internet]. [cited 2024 May 14]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11325821/>
97. American Joint Committee on Cancer. Chapter 20 - Colon and Rectum. In: *AJCC Cancer Staging Manual*. 8th ed. New York, NY: Springer; 2017.
98. Goldenberg BA, Holliday EB, Helewa RM, Singh H. Rectal Cancer in 2018: A Primer for the Gastroenterologist. *Am J Gastroenterol*. 2018 Dec;113(12):1763–71.
99. Weiser MR. AJCC 8th Edition: Colorectal Cancer. *Ann Surg Oncol*. 2018 Jun 1;25(6):1454–5.
100. Holm T. Abdominoperineal Excision: Technical Challenges in Optimal Surgical and Oncological Outcomes after Abdominoperineal Excision for Rectal Cancer. *Clin Colon Rectal Surg*. 2017 Nov;30(5):357–67.
101. Enker WE. Total Mesorectal Excision – The New Golden Standard of Surgery for Rectal Cancer. *Ann Med*. 1997 Jan 1;29(2):127–33.
102. Maurer CA, Renzulli P, Kull C, Käser SA, Mazzucchelli L, Ulrich A, et al. The impact of the introduction of total mesorectal excision on local recurrence rate and survival in rectal cancer: long-term results. *Ann Surg Oncol*. 2011 Jul;18(7):1899–906.
103. Leong AF. Selective total mesorectal excision for rectal cancer. *Dis Colon Rectum*. 2000 Sep;43(9):1237–40.
104. Knol J, Keller DS. Total Mesorectal Excision Technique—Past, Present, and Future. *Clin Colon Rectal Surg*. 2020 May;33(3):134–43.
105. Mukkai Krishnamurthy D, Wise PE. Importance of surgical margins in rectal cancer. *J Surg Oncol*. 2016 Mar;113(3):323–32.
106. Wilkinson N. Management of Rectal Cancer. *Surg Clin North Am*. 2020 Jun;100(3):615–28.
107. NCCN. National Comprehensive Cancer Network Guidelines Version 2.2024. Rectal Cancer. National Comprehensive Cancer Network. Accessed 08 May 2024.

108. Kidane B, Chadi SA, Kanters S, Colquhoun PH, Ott MC. Local resection compared with radical resection in the treatment of T1N0M0 rectal adenocarcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Dis Colon Rectum*. 2015 Jan;58(1):122–40.
109. Li Y, Wang J, Ma X, Tan L, Yan Y, Xue C, et al. A Review of Neoadjuvant Chemoradiotherapy for Locally Advanced Rectal Cancer. *Int J Biol Sci*. 2016 Jul 17;12(8):1022–31.
110. De Caluwé L, Van Nieuwenhove Y, Ceelen WP. Preoperative chemoradiation versus radiation alone for stage II and III resectable rectal cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013 Feb 28;2013(2):CD006041.
111. Massaras D, Pantiora E, Sotirova E, Dellaportas D, Dafnios N, Zygogianni A, et al. Neoadjuvant chemoradiotherapy in rectal cancer and anorectal sphincter dysfunction: Review of the literature. *J BUON Off J Balk Union Oncol*. 2020;25(1):35–9.
112. Kapiteijn Ellen, Marijnen Corrie A.M., Nagtegaal Iris D., Putter Hein, Steup Willem H., Wiggers Theo, et al. Preoperative Radiotherapy Combined with Total Mesorectal Excision for Resectable Rectal Cancer. *N Engl J Med*. 2001;345(9):638–46.
113. Nahas SC, Rizkallah Nahas CS, Sparapan Marques CF, Ribeiro U, Cotti GC, Imperiale AR, et al. Pathologic Complete Response in Rectal Cancer: Can We Detect It? Lessons Learned From a Proposed Randomized Trial of Watch-and-Wait Treatment of Rectal Cancer. *Dis Colon Rectum*. 2016 Apr;59(4):255–63.
114. Ominelli J, Valadão M, Araujo RO de C, Melo AC de, Araujo LH. The Evolving Field of Neoadjuvant Therapy in Locally-advanced Rectal Cancer: Evidence and Prospects. *Clin Colorectal Cancer*. 2021 Dec 1;20(4):288–98.
115. Otegbeye EE, Mitchem JB, Park H, Chaudhuri A, Kim H, Mutch MG, et al. Immunity, Immunotherapy, and Rectal Cancer: A Clinical and Translational Science Review. *Transl Res J Lab Clin Med*. 2021 May;231:124–38.
116. Hayden DM, Pinzon MCM, Francescatti AB, Edquist SC, Malczewski MR, Jolley JM, et al. Hospital readmission for fluid and electrolyte abnormalities following ileostomy construction: preventable or unpredictable? *J Gastrointest Surg Off J Soc Surg Aliment Tract*. 2013 Feb;17(2):298–303.
117. Rödel C, Liersch T, Becker H, Fietkau R, Hohenberger W, Hothorn T, et al. Preoperative chemoradiotherapy and postoperative chemotherapy with fluorouracil and oxaliplatin versus fluorouracil alone in locally advanced rectal cancer: initial results of the German CAO/ARO/AIO-04 randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2012 Jul;13(7):679–87.
118. Liu S, Jiang T, Xiao L, Yang S, Liu Q, Gao Y, et al. Total Neoadjuvant Therapy (TNT) versus Standard Neoadjuvant Chemoradiotherapy for Locally Advanced Rectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *The Oncologist*. 2021 Sep;26(9):e1555–66.
119. Glynne-Jones R, Wyrwicz L, Tiret E, Brown G, Rödel C, Cervantes A, et al. Rectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†. *Ann Oncol*. 2017 Jul 1;28:iv22–40.
120. Hiotis SP, Weber SM, Cohen AM, Minsky BD, Paty PB, Guillem JG, et al. Assessing the predictive value of clinical complete response to neoadjuvant therapy for rectal cancer: an analysis of 488 patients. *J Am Coll Surg*. 2002 Feb;194(2):131–5; discussion 135-136.

121. Maas M, Nelemans PJ, Valentini V, Das P, Rödel C, Kuo LJ, et al. Long-term outcome in patients with a pathological complete response after chemoradiation for rectal cancer: a pooled analysis of individual patient data. *Lancet Oncol*. 2010 Sep;11(9):835–44.
122. Martin ST, Heneghan HM, Winter DC. Systematic review and meta-analysis of outcomes following pathological complete response to neoadjuvant chemoradiotherapy for rectal cancer. *Br J Surg*. 2012 Jul;99(7):918–28.
123. Bedrosian I, Rodriguez-Bigas MA, Feig B, Hunt KK, Ellis L, Curley SA, et al. Predicting the node-negative mesorectum after preoperative chemoradiation for locally advanced rectal carcinoma. *J Gastrointest Surg Off J Soc Surg Aliment Tract*. 2004 Jan;8(1):56–62; discussion 62-63.
124. Mignanelli ED, de Campos-Lobato LF, Stocchi L, Lavery IC, Dietz DW. Downstaging after chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer: is there more (tumor) than meets the eye? *Dis Colon Rectum*. 2010 Mar;53(3):251–6.
125. Habr-Gama A, Perez RO, Nadalin W, Sabbaga J, Ribeiro U, Silva e Sousa AH, et al. Operative versus nonoperative treatment for stage 0 distal rectal cancer following chemoradiation therapy: long-term results. *Ann Surg*. 2004 Oct;240(4):711–7; discussion 717-718.
126. López-Campos F, Martín-Martín M, Fornell-Pérez R, García-Pérez JC, Die-Trill J, Fuentes-Mateos R, et al. Watch and wait approach in rectal cancer: Current controversies and future directions. *World J Gastroenterol*. 2020 Aug 8;26(29):4218.
127. Carvalho C, Glynne-Jones R. Challenges behind proving efficacy of adjuvant chemotherapy after preoperative chemoradiation for rectal cancer. *Lancet Oncol*. 2017 Jun;18(6):e354–63.
128. Willett CG, Badizadegan K, Ancukiewicz M, Shellito PC. Prognostic factors in stage T3N0 rectal cancer: do all patients require postoperative pelvic irradiation and chemotherapy? *Dis Colon Rectum*. 1999 Feb;42(2):167–73.
129. Tamas K, Walenkamp AME, de Vries EGE, van Vugt M a. TM, Beets-Tan RG, van Etten B, et al. Rectal and colon cancer: Not just a different anatomic site. *Cancer Treat Rev*. 2015 Sep;41(8):671–9.
130. Prades J, Borrás JM. Shifting sands: adapting the multidisciplinary team model to technological and organizational innovations in cancer care. *Future Oncol Lond Engl*. 2014 Oct;10(13):1995–8.
131. Alfaro Alfaro ÁE, Murillo Castillo B, Cordero García E, Tascón J, Morales AI. Colon Cancer Pharmacogenetics: A Narrative Review. *Pharm J Pharm Educ Pract*. 2022 Aug 5;10(4):95.
132. Jolivet J. Role of leucovorin dosing and administration schedule. *Eur J Cancer*. 1995 Jul 1;31(7):1311–5.
133. Devanabanda B, Kasi A. Oxaliplatin. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 [cited 2024 May 22]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557690/>
134. Kciuk M, Marciniak B, Kontek R. Irinotecan—Still an Important Player in Cancer Chemotherapy: A Comprehensive Overview. *Int J Mol Sci*. 2020 Jul 12;21(14):4919.

135. You B, Chen EX. Anti-EGFR Monoclonal Antibodies for Treatment of Colorectal Cancers: Development of Cetuximab and Panitumumab. *J Clin Pharmacol*. 2012;52(2):128–55.
136. Misale S, Di Nicolantonio F, Sartore-Bianchi A, Siena S, Bardelli A. Resistance to anti-EGFR therapy in colorectal cancer: from heterogeneity to convergent evolution. *Cancer Discov*. 2014 Nov;4(11):1269–80.
137. Garcia J, Hurwitz HI, Sandler AB, Miles D, Coleman RL, Deurloo R, et al. Bevacizumab (Avastin®) in cancer treatment: A review of 15 years of clinical experience and future outlook. *Cancer Treat Rev* [Internet]. 2020 Jun 1 [cited 2024 May 22];86. Available from: [https://www.cancertreatmentreviews.com/article/S0305-7372\(20\)30055-4/fulltext](https://www.cancertreatmentreviews.com/article/S0305-7372(20)30055-4/fulltext)
138. Schumacher TN, Schreiber RD. Neoantigens in cancer immunotherapy. *Science*. 2015 Apr 3;348(6230):69–74.
139. Mellman I, Coukos G, Dranoff G. Cancer immunotherapy comes of age. *Nature*. 2011 Dec 21;480(7378):480–9.
140. Drake CG, Jaffee E, Pardoll DM. Mechanisms of immune evasion by tumors. *Adv Immunol*. 2006;90:51–81.
141. Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*. 2012 Mar 22;12(4):252–64.
142. Prasad V, Kaestner V. Nivolumab and pembrolizumab: Monoclonal antibodies against programmed cell death-1 (PD-1) that are interchangeable. *Semin Oncol*. 2017 Apr;44(2):132–5.
143. Waldman AD, Fritz JM, Lenardo MJ. A guide to cancer immunotherapy: from T cell basic science to clinical practice. *Nat Rev Immunol*. 2020;20(11):651–68.
144. Gao X, McDermott DF. Ipilimumab in combination with nivolumab for the treatment of renal cell carcinoma. *Expert Opin Biol Ther*. 2018 Sep;18(9):947–57.
145. Seidel JA, Otsuka A, Kabashima K. Anti-PD-1 and Anti-CTLA-4 Therapies in Cancer: Mechanisms of Action, Efficacy, and Limitations. *Front Oncol*. 2018 Mar 28;8:86.
146. Zou W, Chen L. Inhibitory B7-family molecules in the tumour microenvironment. *Nat Rev Immunol*. 2008 Jun;8(6):467–77.
147. Overman MJ, Lonardi S, Wong KYM, Lenz HJ, Gelsomino F, Aglietta M, et al. Durable Clinical Benefit With Nivolumab Plus Ipilimumab in DNA Mismatch Repair–Deficient/Microsatellite Instability–High Metastatic Colorectal Cancer. *J Clin Oncol*. 2018 Mar 10;36(8):773–9.
148. Hoos A, Eggermont AMM, Janetzki S, Hodi FS, Ibrahim R, Anderson A, et al. Improved Endpoints for Cancer Immunotherapy Trials. *JNCI J Natl Cancer Inst*. 2010 Sep 22;102(18):1388–97.
149. Smith KM, Desai J. Nivolumab for the treatment of colorectal cancer. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2018 Jul;18(7):611–8.
150. Guraya SY. Pattern, Stage, and Time of Recurrent Colorectal Cancer After Curative Surgery. *Clin Colorectal Cancer*. 2019 Jun;18(2):e223–8.

151. Epidemiologija raka debelog crijeva u Hrvatskoj [Internet]. [cited 2024 May 26]. Available from: <https://www.hzjz.hr/sluzba-epidemiologija-prevencija-nezaraznih-bolesti/epidemiologija-raka-debelog-crijeva-u-hrvatskoj/>
152. Johnson D, Chee CE, Wong W, Lam RCT, Tan IBH, Ma BBY. Current advances in targeted therapy for metastatic colorectal cancer - Clinical translation and future directions. *Cancer Treat Rev.* 2024 Apr;125:102700.
153. O'Donnell JS, Hoefsmit EP, Smyth MJ, Blank CU, Teng MWL. The Promise of Neoadjuvant Immunotherapy and Surgery for Cancer Treatment. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 2019 Oct 1;25(19):5743–51.
154. Cercek Andrea, Lumish Melissa, Sinopoli Jenna, Weiss Jill, Shia Jinru, Lamendola-Essel Michelle, et al. PD-1 Blockade in Mismatch Repair–Deficient, Locally Advanced Rectal Cancer. *N Engl J Med.* 2022 Jun 22;386(25):2363–76.
155. Zhang J, Cai J, Deng Y, Wang H. Complete response in patients with locally advanced rectal cancer after neoadjuvant treatment with nivolumab. *Oncoimmunology.* 2019;8(12):e1663108.
156. Ludford K, Ho WJ, Thomas JV, Raghav KPS, Murphy MB, Fleming ND, et al. Neoadjuvant Pembrolizumab in Localized Microsatellite Instability High/Deficient Mismatch Repair Solid Tumors. *J Clin Oncol.* 2023 Apr 20;41(12):2181–90.
157. Hellman S, Weichselbaum RR. Oligometastases. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 1995 Jan;13(1):8–10.
158. Cervantes A, Adam R, Roselló S, Arnold D, Normanno N, Taieb J, et al. Metastatic colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up☆. *Ann Oncol.* 2023 Jan 1;34(1):10–32.
159. Shady W, Petre EN, Do KG, Gonen M, Yarmohammadi H, Brown KT, et al. Percutaneous Microwave versus Radiofrequency Ablation of Colorectal Liver Metastases: Ablation with Clear Margins (A0) Provides the Best Local Tumor Control. *J Vasc Interv Radiol.* 2018 Feb 1;29(2):268-275.e1.
160. Baere T de, Tselikas L, Woodrum D, Abtin F, Littrup P, Deschamps F, et al. Evaluating Cryoablation of Metastatic Lung Tumors in Patients—Safety and Efficacy The ECLIPSE Trial—Interim Analysis at 1 Year. *J Thorac Oncol.* 2015 Oct 1;10(10):1468–74.
161. Lo SS, Fakiris AJ, Teh BS, Cardenes HR, Henderson MA, Forquer JA, et al. Stereotactic body radiation therapy for oligometastases. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2009 May 1;9(5):621–35.
162. Kobiela J, Spsychalski P, Marvaso G, Ciardo D, Dell'Acqua V, Kraja F, et al. Ablative stereotactic radiotherapy for oligometastatic colorectal cancer: Systematic review. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2018 Sep;129:91–101.
163. Tanis E, Nordlinger B, Mauer M, Sorbye H, van Coevorden F, Gruenberger T, et al. Local recurrence rates after radiofrequency ablation or resection of colorectal liver metastases. Analysis of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer #40004 and #40983. *Eur J Cancer Oxf Engl 1990.* 2014 Mar;50(5):912–9.
164. De Baere T, Tselikas L, Delpla A, Roux C, Varin E, Kobe A, et al. Thermal ablation in the management of oligometastatic colorectal cancer. *Int J Hyperthermia.* 2022 Dec 31;39(1):627–32.

165. Meijerink MR, Puijk RS, van Tilborg AAJM, Henningsen KH, Fernandez LG, Neyt M, et al. Radiofrequency and Microwave Ablation Compared to Systemic Chemotherapy and to Partial Hepatectomy in the Treatment of Colorectal Liver Metastases: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 2018 Aug;41(8):1189–204.
166. Lencioni R, Crocetti L, Cioni R, Suh R, Glenn D, Regge D, et al. Response to radiofrequency ablation of pulmonary tumours: a prospective, intention-to-treat, multicentre clinical trial (the RAPTURE study). *Lancet Oncol*. 2008 Jul;9(7):621–8.
167. Embún R, Fiorentino F, Treasure T, Rivas JJ, Molins L, Grupo Español de Cirugía Metástasis Pulmonares de Carcinoma Colo-Rectal (GECMP-CCR) de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR). (See appendix for membership of GECMP-CCR-SE. Pulmonary metastasectomy in colorectal cancer: a prospective study of demography and clinical characteristics of 543 patients in the Spanish colorectal metastasectomy registry (GECMP-CCR). *BMJ Open*. 2013 May 28;3(5):e002787.
168. Tabernero J, Grothey A, Van Cutsem E, Yaeger R, Wasan H, Yoshino T, et al. Encorafenib Plus Cetuximab as a New Standard of Care for Previously Treated BRAF V600E–Mutant Metastatic Colorectal Cancer: Updated Survival Results and Subgroup Analyses from the BEACON Study. *J Clin Oncol*. 2021 Feb 1;39(4):273–84.
169. Zardavas D, Cameron D, Krop I, Piccart M. Beyond Trastuzumab and Lapatinib: New Options for HER2-Positive Breast Cancer. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2013 May 31;(33):e2–11.
170. Kulukian A, Lee P, Taylor J, Rosler R, de Vries P, Watson D, et al. Preclinical Activity of HER2-Selective Tyrosine Kinase Inhibitor Tucatinib as a Single Agent or in Combination with Trastuzumab or Docetaxel in Solid Tumor Models. *Mol Cancer Ther*. 2020 Apr;19(4):976–87.
171. Casak SJ, Horiba MN, Yuan M, Cheng J, Lemery SJ, Shen YL, et al. FDA Approval Summary: Tucatinib with trastuzumab for advanced unresectable or metastatic, chemotherapy refractory, HER2 positive RAS wild type colorectal cancer. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2023 Nov 1;29(21):4326–30.
172. Tabernero J, Yoshino T, Cohn AL, Obermannova R, Bodoky G, Garcia-Carbonero R, et al. Ramucicromab versus placebo in combination with second-line FOLFIRI in patients with metastatic colorectal carcinoma that progressed during or after first-line therapy with bevacizumab, oxaliplatin, and a fluoropyrimidine (RAISE): a randomised, double-blind, multicentre, phase 3 study. *Lancet Oncol*. 2015 May 1;16(5):499–508.
173. Holash J, Davis S, Papadopoulos N, Croll SD, Ho L, Russell M, et al. VEGF-Trap: A VEGF blocker with potent antitumor effects. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Aug 20;99(17):11393–8.
174. Patel A, Sun W. Ziv-aflibercept in metastatic colorectal cancer. *Biol Targets Ther*. 2013 Dec 16;8:13–25.
175. Yoshino T, Taieb J, Kuboki Y, Pfeiffer P, Kumar A, Hochster HS. Trifluridine/tipiracil with or without bevacizumab in metastatic colorectal cancer: results of a systematic review and meta-analysis. *Ther Adv Med Oncol*. 2023 Jan 21;15:17588359221146137.
176. Lenz HJ, Stintzing S, Loupakis F. TAS-102, a novel antitumor agent: a review of the mechanism of action. *Cancer Treat Rev*. 2015 Nov;41(9):777–83.

177. Sun Q, Zhou J, Zhang Z, Guo M, Liang J, Zhou F, et al. Discovery of fruquintinib, a potent and highly selective small molecule inhibitor of VEGFR 1, 2, 3 tyrosine kinases for cancer therapy. *Cancer Biol Ther*. 2014 Oct 29;15(12):1635–45.
178. Dasari A, Lonardi S, Garcia-Carbonero R, Elez E, Yoshino T, Sobrero A, et al. Fruquintinib versus placebo in patients with refractory metastatic colorectal cancer (FRESCO-2): an international, multicentre, randomised, double-blind, phase 3 study. *The Lancet*. 2023 Jul 1;402(10395):41–53.
179. Ettrich TJ, Seufferlein T. Regorafenib. *Recent Results Cancer Res Fortschritte Krebsforsch Progres Dans Rech Sur Cancer*. 2018;211:45–56.
180. Grothey A, Van Cutsem E, Sobrero A, Siena S, Falcone A, Ychou M, et al. Regorafenib monotherapy for previously treated metastatic colorectal cancer (CORRECT): an international, multicentre, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Lond Engl*. 2013 Jan 26;381(9863):303–12.

ŽIVOTOPIS

Hana Garaj rođena je 6. rujna 1998. godine u Osijeku. Završila je Osnovnu školu „Dobriša Cesarić“ i Isusovačku klasičnu gimnaziju s pravom javnosti u Osijeku. Upisala je Medicinski fakultet u Zagrebu 2017. godine. Demonstrator je na Katedri za medicinsku biologiju od akademske godine 2021./2022. do 2023./2024. Tijekom zadnje dvije godine studiranja bila je član vodstva Studentske sekcije za onkologiju i imunologiju.