

Odnos tumorskoga pupanja i tumorskih depozita te njihova povezanost s kliničko-patološkim značajkama u bolesnika oboljelih od kolorektalnoga karcinoma

Bilić, Zdenko

Doctoral thesis / Disertacija

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:105:555693>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-12**



Repository / Repozitorij:

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



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Zdenko Bilić

**Odnos tumorskoga pupanja i tumorskih
depozita te njihova povezanost s
kliničko-patološkim značajkama u
bolesnika oboljelih od kolorektalnoga
karcinoma**

DISERTACIJA



Zagreb, 2024.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Zdenko Bilić

**Odnos tumorskoga pupanja i tumorskih
depozita te njihova povezanost s
kliničko-patološkim značajkama u
bolesnika oboljelih od kolorektalnoga
karcinoma**

DISERTACIJA

Zagreb, 2024.

Disertacija je izrađena na Klinici za kirurgiju te na Kliničkom zavodu za patologiju i citologiju "Ljudevit Jurak" Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Voditelji rada: doc. dr. sc. Mario Zovak i dr. sc. Alma Demirović, znanstveni suradnik

Zahvaljujem svojim mentorima doc. dr. sc. Mariju Zovaku i dr. sc. Almi Demirović na stručnom vodstvu i pomoći u provedbi istraživanja i izradi ove disertacije.

Posebno hvala kolegi dr. sc. Andru Košecu na pomoći pri statističkoj obradi podataka kao i svim ostalim kolegama i prijateljima na pruženoj potpori i pomoći.

Ovaj rad posvećujem svojoj obitelji kojoj se osobito zahvaljujem na nesebičnoj potpori, ljubavi i odricanju.

SADRŽAJ

Popis oznaka i kratica

1. UVOD I SVRHA RADA	1
1.1. Epidemiologija kolorektalnoga karcinoma.....	1
1.2. Etiološki i rizični čimbenici kolorektalnoga karcinoma	4
1.2.1. Sporadični oblik kolorektalnoga karcinoma	4
1.2.2. Nasljedni oblik kolorektalnoga karcinoma	7
1.2.3. Obiteljski oblik kolorektalnoga karcinoma	8
1.3. Patogeneza i molekularna genetika kolorektalnoga karcinoma	9
1.4. Morfološke i patohistološke osobine kolorektalnoga karcinoma	12
1.4.1. Tumorsko pupanje i epitelno-mezenhimalna tranzicija.....	15
1.4.2. Tumorski depoziti	17
1.5. Prognostički čimbenici i biomarkeri kolorektalnoga karcinoma	19
1.6. Prevencija kolorektalnoga karcinoma	25
1.7. Probir i dijagnostika kolorektalnoga karcinoma.....	27
1.7.1. Probir kolorektalnoga karcinoma.....	27
1.7.2. Dijagnostika kolorektalnoga karcinoma	29
1.8. Kliničko stupnjevanje kolorektalnoga karcinoma.....	31
1.9. Klinička slika kolorektalnoga karcinoma	34
1.10. Liječenje kolorektalnoga karcinoma	36
1.10.1. Kirurško liječenje	36
1.10.1.1. Uloga limfadenektomije u kirurškom liječenju kolorektalnoga karcinoma.....	39
1.10.1.2. Elektivni resekcijski zahvati u kolorektalnoj kirurgiji	41
1.10.1.3. Lokalni ekscizijski zahvati u kolorektalnoj kirurgiji.....	46

1.10.1.4. Uloga minimalno invazivne kirurgije u liječenju kolorektalnoga karcinoma	47
1.10.2. Onkološko liječenje	49
1.10.2.1. Adjuvantno liječenje.....	49
1.10.2.2. Neoadjuvantno liječenje.....	52
1.10.2.3. Inicijalno sistemsko liječenje metastatskoga kolorektalnoga karcinoma	54
1.10.3. Praćenje bolesnika nakon provedenog liječenja	56
1.11. SVRHA RADA	57
2. HIPOTEZA	58
3. CILJEVI RADA	59
4. MATERIJALI I METODE	60
4.1. Ispitanici.....	60
4.2. Metode.....	61
4.3. Statistička obrada	62
5. REZULTATI	64
6. RASPRAVA	86
7. ZAKLJUČCI.....	94
8. SAŽETAK	95
9. SUMMARY	96
10. POPIS LITERATURE.....	97
11. ŽIVOTOPIS	117

POPIS OZNAKA I KRATICA

5-FU	5-fluorouracil
AAFP	Američka akademija obiteljskih liječnika, od eng. „American Academy of Family Physicians“
ACG	Američko udruženje gastroenterologa, od eng. „The American College of Gastroenterology“
ACP	Američko udruženje liječnika, od eng. „American College of Physicians“
ACS	Američko društvo za borbu protiv raka, od eng. „American Cancer Society“
AJCC	Američki združeni komitet za rak, od eng. „The American Joint Committee on Cancer“
APC	Tumor supresorski gen, od eng. „The adenomatous polyposis coli“
ASCO	Američko društvo za kliničku onkologiju, od eng. „American Society of Clinical Oncology“
ASCRS	Američko društvo kolorektalnih kirurga, od eng. „American Society of Colon and Rectal Surgeons“
BRAF	Onkogen koji sudjeluje u kontroli staničnog ciklusa, od eng. „B-rapidly accelerated fibrosarcoma“
CEA	Karcinoembrionalni antigen, eng. „Carcinoembryonic antigen“
CIMP	Put hipermetilacije CpG otoka, od eng. „CpG island methylator phenotype“
CIN	Klasični put kromosomske nestabilnosti, od eng. „The chromosomal instability pathway“
CME	Kompletna mezokolična ekscizija, od eng. „Complete mesocolic excision“
CMS	Molekularni podtipovi kolorektalnoga karcinoma, od eng. „Consensus Molecular Subtypes“
c-Myc	Protoonkogen iz skupine myc gena koji ima važnu ulogu u kontroli staničnog ciklusa, staničnoj transformaciji i apoptozi
CONCORD-3	Međunarodna studija o preživljenju kolorektalnoga karcinoma
CRCSC	Međunarodna istraživačka skupina, od eng. „The Consensus Molecular Subtypes of Colorectal Cancer“
CRM	Cirkumferencijski resekcijski rub, od eng. „Circumferential resection margin“
CT	Kompjuterizirana tomografija, od eng. „Computed tomography“
CTFPHC	Kanadska radna skupina za preventivnu zdravstvenu skrb, od eng. „Canadian Task Force on Preventive Health Care“

CVL	Centralni podvez ishodišta krvnih žila, od eng. „Central vascular ligation“
D.F.	Stupnjevi slobode, od eng. „Degrees of freedom“
DFS	Preživljenje bez znakova povrata bolesti, od eng. „Disease free survival“
DNA	Deoksiribonukleinska kiselina (DNK), od eng. „Deoxyribonucleic acid“
EGFR	Receptor epidermalnoga čimbenika rasta, od eng. „Epidermal growth factor receptor“
EMT	Epitelno-mezenhimalna tranzicija
EMVI	Ekstramuralna vaskularna (venska) invazija, od eng. „Extramural vascular (vein) invasion“
EO-CRC	Kolorektalni karcinom u osoba mlađih od 50 godina, od eng. „Early-onset colorectal cancer“
ERAS	Protokoli za ubrzan oporavak bolesnika nakon operacijskih zahvata, od eng. „Enhanced Recovery After Surgery“
ESMO	Europsko društvo za medicinsku onkologiju, od eng. „European Society for Medical Oncology“
FAP	Obiteljska adenomatozna polipoza, od eng. „Familial adenomatous polyposis“
FIT	Fekalni imunokemijski test, od eng. „The fecal immunochemical test“
FOLFIRI	Kemoterapijski protokol (5- fluorouracil, leukovorin, irinotekan)
FOLFOX	Kemoterapijski protokol (5- fluorouracil, leukovorin, oksaliplatin)
FOLFOXIRI	Kemoterapijski protokol (5- fluorouracil, leukovorin, oksaliplatin, irinotekan)
gFOBT	Gvajakov test okultne krvi u stolici, od eng. „Guaiac-based fecal occult blood test“
GLOBOCAN	Internetska baza statističkih podataka o malignim bolestima u svijetu, od eng. „Global Cancer Observatory“
Gy	Gray, mjerna jedinica apsorbirane doze ionizirajućeg zračenja
HNPCC	Nasljedni nepolipozni kolorektalni karcinom, od eng. „Hereditary nonpolyposis colorectal cancer“
ITBCC	Međunarodni konsenzus za navođenje tumorskoga pupanja, od eng. „International Tumor Budding Consensus Conference“
JPS	Juvenilni polipozni sindrom, od eng. „Juvenile polyposis syndrome“
JSCCR	Japansko društvo za karcinom kolona i rektuma, od eng. „Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum“
KRAS	Onkogen koji sudjeluje u kontroli staničnog ciklusa, od eng. „Kirsten rat sarcoma virus“
LNR	Omjer tumorom zahvaćenih limfnih čvorova prema ukupno izoliranim limfnim čvorovima, od eng. „Lymph node ratio“

LRM	Longitudinalni resekcijski rub, od eng. „Longitudinal resection margin“
LVI	Limfovaskularna invazija, od eng. „Lymphovascular invasion“
MAP	Polipoza pridružena MUTYH mutaciji, od eng. „MUTYH-associated polyposis“
mCRC	Metastatski kolorektalni karcinom
MiNEN	Miješane neuroendokrine-ne-neuroendokrini neoplazme, od eng. „Mixed neuroendocrine-non-neuroendocrine neoplasm“
miRNA	Cirkulirajuća mikro RNK u perifernoj krvi, od eng. „Micro RNA“
MMR	Geni odgovorni za popravak defekata koji mogu nastati pri replikaciji i rekombinaciji DNK molekule, od eng. „Mismatch repair“
MP	Mucinozni bazeni, od eng. „Mucin pools“
MRI	Magnetska rezonanca, od eng. „Magnetic resonance imaging“
mSEPT9	Metilirani markeri cirkulirajuće DNK, od eng. "Methylated Septin9"
MSI	Mikrosatelitna nestabilnost, od eng. „Microsatellite instability“
MSI-H/dMMR	Visoka razina mikrosatelitne nestabilnosti uslijed deficijentnog MMR gena
MSS/pMMR	Mikrosatelitna stabilnost uz nezahvaćeni (nemutirani) MMR gen
MT-sDNA	Analiza stolice na višestruke ciljane DNK markere, od eng. „Multitarget stool DNA testing“
NCCN	Nacionalna sveobuhvatna mreža za rak, od eng. „National Comprehensive Cancer Network“
NCI	Nacionalni institut za rak, od eng. „National Cancer Institute“
NF-κB	Signalni put koji regulira imunološki odgovor i upalnu reakciju u procesu karcinogeneze
NM23H1B	Geni supresori metastaziranja
NOS	Adenokarcinom koji nije drugačije određen, od eng. „Not otherwise specified“
NSAID	Nesteroidni antireumatski lijekovi, od eng. „Non-steroidal anti-inflammatory drugs“
OS	Ukupno preživljenje, od eng. „Overall survival“
p53	Tumor supresorski gen
PDC	Slabo diferencirani klasteri, od eng. „Poorly differentiated clusters“
PET	Pozitronska emisijska tomografija, od eng. „Positron emission tomography“
PIK3CA	Onkogen uključen u stvaranje proteina koji pomaže u regulaciji rasta, diobi i preživljavanju stanica

PILLCAM 2	Endoskopska video kapsula
PNI	Perineuralna invazija, od eng. „Perineural invasion“
SEER	Statistička baza podataka, od eng. „Surveillance, Epidemiology, and End Results Program“
TAE	Transanalna ekscizija, od eng. „Transanal excision“
TAMIS	Transanalna minimalno invazivna kirurgija, od eng. „Transanal minimally invasive surgery“
TB	Tumorsko pupanje, od eng. „Tumor budding“
TD	Tumorski depoziti, od eng. „Tumor deposits“
TEM	Transanalna endoskopska mikrokirurgija, od eng. „Transanal Endoscopic Microsurgery“
TEO	Transanalna endoskopska operacija, od eng. „Transanal Endoscopic Operation“
TES	Transanalna endoskopska kirurgija, od eng. „Transanal endoscopic surgery“
TGF- β	Transformirajući faktor rasta β , od eng. „Transforming growth factor β “
TIL	Tumor-infiltrirajući limfociti, od eng. „Tumor-infiltrating lymphocytes“
TME	Totalna mezorektalna ekscizija, od eng. „Total mesorectal excision“
TNM	Međunarodni sustav za određivanje stadija proširenosti maligne bolesti, od engl. „Tumor-node-metastasis“
TRG	Stupanj tumorske regresije, od eng. „Tumor Regression Grade“
UICC	Međunarodno udruženje protiv raka, od eng. „International Union Against Cancer“
USPSTF	Američka radna skupina za preventivne usluge, od eng. „US Preventive Services Task Force“
VEGF	Vaskularni endotelni čimbenik rasta, od eng. „Vascular endothelial growth factor“
WHO	Svjetska zdravstvena organizacija, od eng. „World Health Organization“
Wnt	Signalni put odgovoran za međustanične interakcije, od eng. „Wingless-related integration site“

1. UVOD I SVRHA RADA

1.1. Epidemiologija kolorektalnoga karcinoma

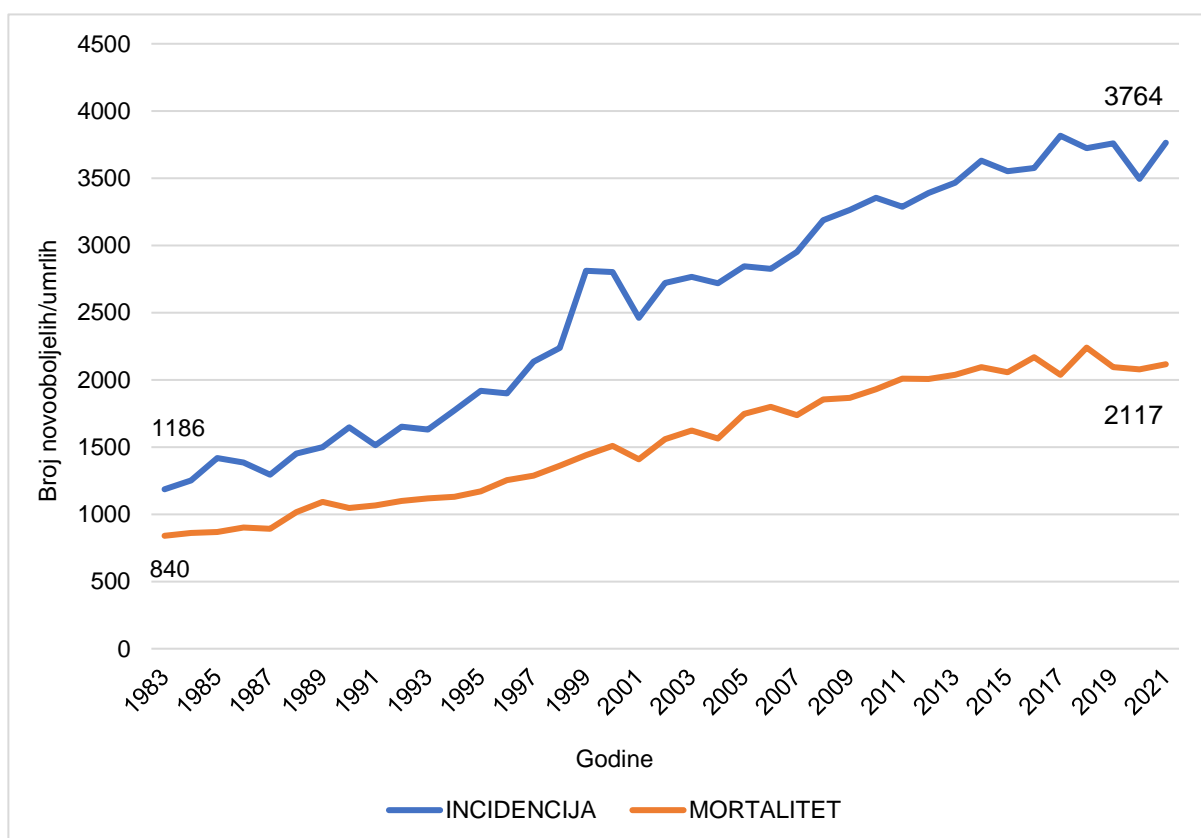
Kolorektalni karcinom predstavlja jedno od najčešćih sijela malignih bolesti u svijetu te je time kao veliki javnozdravstveni problem predmet intenzivnog istraživanja posljednjih nekoliko desetljeća. Zauzima u svijetu 3. mjesto po incidenciji u muškaraca i 2. mjesto u žena s oko 1.9 milijuna novodijagnosticiranih slučajeva i oko 900.000 umrlih godišnje (1,2). Zbog visokih stopa incidencije kolorektalnoga karcinoma te sve boljih rezultata u preživljenju oboljelih, procjenjuje se da danas u svijetu živi oko 5.2 milijuna osoba kojima je u posljednjih 5 godina postavljena dijagnoza kolorektalnoga karcinoma (3,4).

Učestalost kolorektalnoga karcinoma nije jednaka u oba spola. Nešto češće se javlja u muškaraca nego u žena (omjer 1.23:1). U oko 90% slučajeva se javlja nakon 50. godine života tako da je stopa incidencije 30 puta manja u osoba do 50. godine starosti nego u osoba starijih od 50 godina. U novije vrijeme u nekim zemljama bilježi se postupni blagi porast incidencije u mlađih osoba. Prema nekim literaturnim podacima incidencija kolorektalnoga karcinoma u osoba mlađih od 50 godina u zadnjih se 30 godina povećavala za 2% godišnje, čime je kolorektalni karcinom postao deseto najčešće sijelo zloćudnih bolesti u osoba oba spola u dobi od 10 do 29 godina starosti (4–6).

Incidencija kolorektalnoga karcinoma pokazuje značajne geografske i socioekonomske varijacije. Najviša je u zemljama srednje, sjeverne i zapadne Europe, a najniža je u Africi i Indiji. Općenito, incidencija je viša u razvijenim zemljama. Malo više od polovice svih novodijagnosticiranih kolorektalnih karcinoma u svijetu otpada na razvijene zemlje kao što su Sjedinjene Američke Države, Australija, Japan, države zapadne Europe gdje incidencija po stopama standardiziranim na svjetsku standardnu populaciju iznosi oko 40/100.000 stanovnika, dok u mnogim afričkim, južnoameričkim i azijskim zemljama u razvoju ona iznosi oko 5/100.000 stanovnika (1,2,7).

Dobno standardizirane stope mortaliteta kreću se od oko 3/100.000 u nekim afričkim i azijskim zemljama preko otprilike 10/100.000 u zemljama zapadne Europe pa do oko 20/100.000 stanovnika u zemljama srednje i istočne Europe gdje pripada i Republika Hrvatska. Trend mortaliteta od kolorektalnoga karcinoma u svijetu je stabilan u posljednjih 10 godina, no incidencija je u posljednjih 20 godina u porastu za oko 1% godišnje (1,5,6).

U Republici Hrvatskoj, kolorektalni karcinom je na trećem mjestu po incidenciji u muškaraca (iza karcinoma pluća i karcinoma prostate) te na drugom mjestu u žena (iza karcinoma dojke). Ako promatramo oba spola zajedno, kolorektalni karcinom je najčešći novodijagnosticirani rak u Republici Hrvatskoj s 3764 nova slučaja u 2021. godini (Slika 1) (8).



Slika 1. Incidencija i mortalitet od kolorektalnoga karcinoma u Republici Hrvatskoj od 1983.-2021. godine.

Modificirano i prilagođeno prema prikupljenim podacima Registra za rak pri Hrvatskom zavodu za javno zdravstvo.

Prema procjenama GLOBOCAN-a (od eng. „Global Cancer Observatory“) za 2022. godinu standardiziranima na svjetsku standardnu populaciju, incidencija kolorektalnoga karcinoma u Republici Hrvatskoj za 2022. godinu je iznosila 41.1/100.000 što svrstava Republiku Hrvatsku na 5. mjesto u Europi, ali i u svijetu po incidenciji kolorektalnoga karcinoma (iza Danske, Norveške, Mađarske i Nizozemske) (1).

Prema podacima Registra za rak pri Hrvatskom zavodu za javno zdravstvo, broj oboljelih od kolorektalnoga karcinoma (uključujući i analni kanal) u Republici Hrvatskoj u 2021. godini je bio 3764 osobe, od toga 2203 muškaraca (16% svih malignih neoplazmi u muškaraca) i 1561 žena (13% svih malignih neoplazmi u žena). Navedeni podaci predstavljaju porast incidencije od 9% u odnosu na podatke za 2020. godinu, što ukazuje na oporavak dijagnostike nakon smanjenja zbog okolnosti uvjetovanih COVID-19 pandemijom i praktički je jednak broju postavljenih dijagnoza u predpandemijskoj 2019. godini (Slika 1) (8).

Prema procjenama GLOBOCAN-a za 2022. godinu standardiziranima na standardno svjetsko stanovništvo, mortalitet je u isto vrijeme za 2022. godinu iznosio 18.5/100.000 što svrstava Republiku Hrvatsku na drugo mjesto po smrtnosti od kolorektalnoga karcinoma u Europi (ali i svijetu) iza Mađarske. Kolorektalni karcinom u Republici Hrvatskoj je drugi uzrok smrtnosti od malignih bolesti u oba spola iza karcinoma pluća koji je vodeći uzrok i kod muškaraca i kod žena (1).

Prema podacima Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo i Državnog zavoda za statistiku, broj umrlih od kolorektalnoga karcinoma (uključujući i analni kanal) u Republici Hrvatskoj u 2022. godini je iznosio 2056 osoba, od toga 1208 muškaraca i 848 žena (8).

Prema rezultatima međunarodne studije o preživljenju CONCORD-3 iz 2018. godine, prosječno petogodišnje preživljenje u Republici Hrvatskoj iznosi oko 50% za bolesnike kojima je kolorektalni karcinom bio dijagnosticiran između 2010. i 2014. godine, dok je prosječno petogodišnje preživljenje za isti promatrani period u zemljama sjeverne i zapadne Europe oko 65% (9).

1.2. Etiološki i rizični čimbenici kolorektalnoga karcinoma

Kolorektalni karcinom je složena multifaktorijalna bolest koji nastaje kao rezultat međudjelovanja brojnih nasljednih i okolišnih čimbenika. Smatra se da njegovo nastajanje i razvoj slijedi jedan od tri etiopatogenetska obrasca pa tako govorimo o sporadičnom, nasljednom i obiteljskom obliku kolorektalnoga karcinoma. Smatra se da su specifične mutacije na razini spolnih stanica odgovorne za nastajanje nasljednog oblika dok je postupno nakupljanje somatskih mutacija u osnovi većine sporadičnih slučajeva. Nasuprot tome, genetske abnormalnosti i mehanizmi koje leže u pozadini obiteljskog oblika kolorektalnoga karcinoma do danas nisu u potpunosti razjašnjene (10).

1.2.1. Sporadični oblik kolorektalnoga karcinoma

Sporadični oblik čini oko 75% svih dijagnosticiranih kolorektalnih karcinoma kod kojih se nastanak karcinoma ne može povezati sa specifičnim uzročnim čimbenikom, niti s nasljednim rizičnim faktorom. Smatra se da on nastaje dominantno pod utjecajem različitih socioekonomskih i okolišnih rizičnih čimbenika koji uključuju različite obrasce ponašanja i životnih navika, a na koje se najčešće može utjecati. Takvi čimbenici čine kod sporadičnog oblika kolorektalnoga karcinoma jedine do sada poznate faktore rizika za nastanak i razvoj karcinoma. U usporedbi s nasljednim i obiteljskim oblikom gdje ti isti rizični čimbenici također mogu doprinijeti povećanom riziku nastanka i razvoja kolorektalnoga karcinoma, u sporadičnom obliku, oni predstavljaju glavne čimbenike rizika (5,10).

Dob je glavni rizični čimbenik za nastanak sporadičnog tipa kolorektalnoga karcinoma budući da je u otprilike 90% slučajeva bolest dijagnosticirana u bolesnika starijih od 50 godina. Učestalost kolorektalnoga karcinoma u bolesnika starijih od 60 godina je 50 puta veća nego u bolesnika koji su mlađi od 40 godina. Međutim, postoji globalni epidemiološki trend prema ranijem nastanku kolorektalnoga karcinoma u osoba mlađih od 50 godina (EO-CRC, od eng. „Early-onset colorectal cancer“). U Sjedinjenim Američkim Državama, od sredine 1990-ih, incidencija je godišnje rasla za 1-2% među osobama mlađim od 55 godina. Ovo se prije svega odnosi na lijevostrane

karcinome i karcinome rektuma (11,12). Iz tih razloga, sve je veća tendencija međunarodnih stručnih društava za pomicanjem granice za probir kolorektalnoga karcinoma prema osobama mlađima od 50 godina (13).

Mnogi čimbenici prehrane su do sada proučavani i proglašeni kao rizični glede nastanka kolorektalnoga karcinoma. Prehrana bogata crvenim mesom i mesnim prerađevinama, kao i prehrana bogata životinjskim mastima, spadaju među najznačajnije (14). Smatra se da povećana količina životinjskih masti dovodi do pojačanog lučenja žučnih kiselina koje se u prisutnosti crijevnih bakterija razgrađuju do potencijalno karcinogenih spojeva kao što su sekundarne žučne kiseline, 3-ketosteroidi i drugi (15).

Svjetska zdravstvena organizacija (WHO, od eng. „World Health Organization“) je 2015. godine označila konzumaciju prerađenog mesa kao karcinogenu za ljude, a konzumaciju crvenog mesa kao vjerojatno karcinogenu za ljude (16). Smatra se da pripremanje takve hrane na visokoj temperaturi dodatno doprinosi povećanom riziku i to najvjerojatnije zbog nastanka poliaromatskih ugljikovodika i drugih kancerogenih tvari proizvedenih iz proteina u procesu karbonizacije (17).

Prekomjerna tjelesna težina i nedovoljna tjelesna aktivnost su poznati čimbenici rizika za nastanak kolorektalnoga karcinoma za koje se vjeruje da doprinose jednoj trećini svih sporadičnih oblika (18). Mehanizmi djelovanja još uvijek nisu do kraja jasni, ali se smatra da se radi o metaboličkom učinku tjelesne aktivnosti na motilitet crijeva i smanjenju inzulinske rezistencije. Pokazalo se je da je tzv. abdominalna pretilost povezana s povećanom razinom cirkulirajućih estrogena i inzulina te s povećanom inzulinskom rezistencijom za koje se smatra da povećavaju rizik od nastanka kolorektalnoga karcinoma (19).

Šećerna bolest je također povezana s povećanim rizikom nastanka kolorektalnoga karcinoma (20). Istraživanja su pokazala da oboljeli od šećerne bolesti imaju u prosjeku 30% veću vjerojatnost da će za života oboljeti od kolorektalnoga karcinoma (21). Jedno od mogućih objašnjenja povezivanja šećerne bolesti s kolorektalnim karcinomom je hiperinzulinemija budući da je inzulin važan faktor rasta stanica sluznice debelog crijeva koji također stimulira i tumorske stanice debelog crijeva (22).

Pušenje cigareta doprinosi nastanku i razvoju adenomatoznih polipa, poznatih prekursorskih lezija (23). Provedena istraživanja Botteriija i sur. su pokazala da je rizik od nastanka kolorektalnoga karcinoma povećan među pušačima u usporedbi s onima koji nikada nisu pušili cigarete (RR 1.18, 95% CI 1.11-1.25). Također, stope mortaliteta u oboljelih su bile više u pušača nego u nepušača (RR 1.25, 95% CI 1.14-1.37). Za incidenciju i za mortalitet povezanost je bila jača za karcinom rektuma nego ostalog dijela debelog crijeva (24).

Povezanost između učestale konzumacije alkohola i povećanog rizika od razvoja kolorektalnoga karcinoma je prepoznata u više provedenih istraživanja. Tako se u istraživanju Fedirka i sur. navodi da u usporedbi s osobama koje nikad ne konzumiraju alkohol postoji statistički značajan porast rizika za razvoj kolorektalnoga karcinoma za umjerene konzumente alkohola (2-3 alkoholna pića dnevno, RR 1.21, 95% CI 1.13-1.28) i učestale konzumente alkohola (≥ 4 alkoholna pića dnevno, RR 1.52, 95% CI 1.27-1.81) (25). Smatra se da bi povećani rizik mogao biti povezan sa štetnim djelovanjem metabolita alkohola npr. acetaldehida te ometanjem apsorpcije folata i općenito smanjenim unosom folata kod osoba koje učestalo konzumiraju alkohol (26).

Osobe koje su tijekom liječenja maligne bolesti u djetinjstvu ili kao odrasle osobe primile radioterapiju abdomena i/ili zdjelice imaju tijekom životnog vijeka značajno povećan rizik od nastanka gastrointestinalnih tumora i to u prvom redu kolorektalnoga karcinoma (27,28).

Upalne bolesti crijeva su danas prepoznati rizični čimbenici za razvoj kolorektalnoga karcinoma. Tu spadaju dva poznata klinička entiteta: Ulcerozni kolitis i Crohnova bolest. Za bolesnike s ulceroznim kolitisom se smatra da incidencija kolorektalnoga karcinoma u osoba s trajanjem bolesti između 10-20 godina raste za oko 0.5% godišnje, a zatim za oko 1% godišnje u slučaju trajanja bolesti 20 godina i više. Obje bolesti uzrokuju kroničnu upalnu reakciju u kojoj može doći do akumulacije genetskih alteracija i pojave displastičnih promjena te posljedično invazivnog karcinoma. Provedena istraživanja su pokazala da je u bolesnika s upalnim bolestima crijeva relativni rizik nastanka kolorektalnoga karcinoma 4-20 puta veći nego u zdravih osoba (29).

1.2.2. Nasljedni oblik kolorektalnoga karcinoma

Nasljedni oblik čini oko 10% svih oboljelih te se u tom slučaju radi o pravoj nasljednoj predispoziciji za nastanak i razvoj kolorektalnoga karcinoma. Ovaj oblik karcinoma se dalje dijeli u dvije podgrupe ovisno o tome jesu li polipi debelog crijeva glavna manifestacija bolesti. Tako u oblike bolesti koji uključuju prisutnost polipa spadaju obiteljska adenomatozna polipoza (FAP, od eng. „Familial adenomatous polyposis), MUTYH povezana polipoza (MAP, od eng. „MUTYH-associated polyposis), hamartozni polipozni sindromi (npr. Peutz-Jeghersov sindrom), juvenilni polipozni sindrom (JPS, od eng. „Juvenile polyposis syndrome“), Cowdenova bolest i drugi rjeđi sindromi (30).

Lynchov sindrom (HNPCC, od eng. „Hereditary nonpolyposis colorectal cancer“) predstavlja nasljedni nepolipozni oblik kolorektalnoga karcinoma i najčešći je oblik nasljednog tipa kolorektalnoga karcinoma općenito. Javlja se s učestalošću od 1 na 200 osoba i smatra se da čini 2-5% svih slučajeva kolorektalnoga karcinoma. Nasljeđuje se autosomno dominantno i povezan je s mutacijama u spolnim stanicama i to na razini MMR gena (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM) koji su odgovorni za popravak defekata koji mogu nastati pri replikaciji i rekombinaciji DNK molekule. Molekularni potpis nastalih MMR mutacija je nalaz mikrosatelitne nestabilnosti (MSI, od eng. „Microsatellite instability“) u tumorskim stanicama (31). Lynchov sindrom karakteriziraju brojni adenomatozni polipi kojih je ipak manje nego u slučaju FAP sindroma. U Lynchovom sindromu tendencija je povećane pojavnosti karcinoma u desnoj strani kolona, a više od 60% ih se pojavljuje proksimalno od slezenskog pregiba. Bolesnici oboljeli od Lynchovog sindroma imaju u oko 20% slučajeva povećan rizik nastajanja metakronih i sinkronih tumora. Rizik obolijevanja od kolorektalnoga karcinoma do 40. godine života je u bolesnika s Lynchovim sindromom vrlo visok i iznosi 70-80%, a medijan pojavnosti karcinoma je s oko 45 godina starosti. HNPCC također povećava rizik od razvoja drugih vrsta karcinoma uključujući karcinome endometrija, jajnika, želuca i hepatobilijarnog sustava (30–32).

FAP sindrom je drugi najčešći oblik nasljednog tipa kolorektalnoga karcinoma i čini oko 1% svih slučajeva. Javlja se s učestalošću od 1 na 7000 osoba. Nasljeđuje se autosomno dominantno, uzrokovan je mutacijom spolnih stanica i to na razini tumor

supresorskog gena APC koji se nalazi na q-kraku kromosoma 5 (5q21 lokus) (33). Tipična manifestacija FAP-a je prisustvo stotina, čak i tisuća, adenomatoznih polipa koji se počinju pojavljivati u adolescentnoj dobi i gotovo uvijek rezultiraju nastanku karcinoma do 40. godine starosti, odnosno cjeloživotni rizik nastanka kolorektalnoga karcinoma u bolesnika sa FAP sindromom je 100%. U tih bolesnika preporučuje se profilaktički kirurški zahvat u smislu proktokolektomije (30,34).

1.2.3. Obiteljski oblik kolorektalnoga karcinoma

Obiteljski oblik kolorektalnoga karcinoma predstavlja treći tip nastanka kolorektalnoga karcinoma, čini do 25% svih slučajeva i obrazac njegovog nastanka je do danas najslabije istražen. Oboljeli bolesnici imaju pozitivnu anamnezu kolorektalnoga karcinoma u bližoj obitelji, ali obrazac nastanka karcinoma nije u skladu s jednim od gore navedenih nasljednih sindroma. Međutim, smatra se da i ti bolesnici vjerojatno imaju neku od trenutačno neidentificiranih nasljednih genetskih mutacija (35). Pojedinci iz takvih obitelji imaju povećan rizik od nastanka kolorektalnoga karcinoma, ali on nije tako visok kao kod pravih nasljednih sindroma. Tako npr. činjenica da netko ima barem jednog oboljelog člana obitelji u prvom koljenu povećava rizik od nastanka kolorektalnoga karcinoma 1.7 puta u odnosu na opću populaciju (36). Rizik se dodatno povećava ako se radi o dva oboljela člana obitelji u prvom koljenu ili ako je kod oboljelog člana obitelji bolest dijagnosticirana prije 50. godine starosti (35,37).

1.3. Patogeneza i molekularna genetika kolorektalnoga karcinoma

Napredak molekularne biologije unaprijedio je naše znanje o genetskim i epigenetskim mehanizmima koji pokreću karcinogenezu u mnogim malignim bolestima. Kolorektalni karcinom je kompleksna heterogena bolest koja je uzrokovana poremećajem kontrole brojnih staničnih molekularnih signalnih putova te predstavlja idealan model za proučavanje molekularne karcinomske etiopatogeneze.

Pojedinačne i specifične mutacije na razini spolnih stanica temelj su ranije opisanih nasljednih sindroma kolorektalnoga karcinoma dok sporadični oblici bolesti nastaju najvjerojatnije uslijed dugotrajnih i postepenih akumulacija više somatskih mutacija. Kao što je već ranije spomenuto, mehanizmi koji pogoduju razvoju obiteljskog oblika kolorektalnoga karcinoma do danas nisu u potpunosti istraženi.

Klonska priroda tumora ključna je za razumijevanje mehanizma akumuliranih somatskih mutacija u humanoj karcinogenezi. Prema tom modelu, promjena koju pojedina somatska stanica stekne mutacijom omogućuje joj prednost u rastu u usporedbi s ostalim nemutiranim stanicama koje se nalaze u njenom okruženju. Unutar te klonske populacije sljedeća stanica prolazi kroz dodatnu mutaciju pružajući joj klonskoj populaciji dodatnu prednost rasta i daljnjeg širenja. Naknadni valovi klonskog ekspanzivnog rasta potaknuti su uzastopnim stjecanjem sve više mutacija koje rezultiraju daljnjom staničnom dezorganizacijom i dediferencijacijom te na kraju i sposobnošću za invaziju i metastaziranje (38).

Proces karcinogeneze se odvija kroz mnogobrojne akumulirane genske mutacije koje su obično istovremeno prisutne u više različitih patogenetskih putova, a mehanizam svake sljedeće mutacije ovisi o onoj inicijalnoj i prethodnoj. Uz opisane točkaste mutacije, identificirane su i druge genetske i epigenetske promjene koje su uključene u karcinogenezu kao što su: DNK metilacija, amplifikacija gena, prekomjerna ekspresija gena, genska delecija i različiti složeni mehanizmi preraspodjele gena (39).

Do danas su identificirana tri glavna mehanizma razvojnih genetskih i epigenetskih promjena te puteva koji dovode do nastanka kolorektalnoga karcinoma.

To su: a) klasični put kromosomske nestabilnosti (CIN, od eng. „The chromosomal instability pathway“), b) put mikrosatelitne nestabilnosti (MSI, od eng. „Microsatellite instability“) i c) put hipermetilacije CpG otoka (CIMP, od eng. „CpG island methylator phenotype“). Navedeni mehanizmi se međusobno ne isključuju i mogu biti zajednički suodgovorni za nastanak sporadičnih i nasljednih oblika kolorektalnoga karcinoma.

Klasični put kromosomske nestabilnosti poznat je još kao i „adenom-karcinom slijed“ i odgovoran je za nastanak do 80% svih slučajeva kolorektalnoga karcinoma (40). Kroz ovaj mehanizam su prvi put 1990. godine Fearon i Vogelstein opisali molekularnu osnovu nastanka kolorektalnoga karcinoma iz benignih adenoma u procesu koji može trajati i 10 godina (38).

Adenomatozni polipi inače nastaju u kolonu u slučaju poremećaja regulacije obnove crijevnog epitela. Površinske stanice epitela se ljuštenjem gube u lumenu crijeva te se moraju stalno nadoknađivati proliferacijom u kontinuiranom i balansiranom procesu pri čemu važnu ulogu ima Wnt/ β -katenin signalni put. Proliferacija se gotovo isključivo događa u dnu crijevnih kripti. Kako se stanice kreću prema lumenu, one prestaju proliferirati i konačno se diferenciraju. Ovaj proces se sve više remeti kako se adenomi povećavaju, postaju displastični i postižu invazivni potencijal (41).

Najraniji kritični događaj u ovom mehanizmu nastanka genske nestabilnosti je mutacija i inaktivacija APC gena koji su zaslužni za regulaciju Wnt/ β -katenin signalnog puta. Tako nastalom mutacijom dolazi do daljnje klonske proliferacije epitelnih stanica i akumulacije novih mutacija odgovornih za gubitak kontrole staničnog rasta od kojih su najčešće mutacije onkogena KRAS i BRAF nađene u 50% karcinoma, odnosno u 10% adenoma. Daljnja kaskadna akumulacija mutacija p53 tumor supresorskog gena javlja se kasnije u razvojnem adenom-karcinom slijedu i dodatno dovodi do gubitka kontrole apoptoze i akumulacije kromosomske nestabilnosti koja rezultira aneuploidijom (42).

Put mikrosatelitne nestabilnosti predstavlja genetsko obilježje Lynchovog sindroma i odgovoran je za nastanak oko 15% svih sporadičnih kolorektalnih karcinoma. Obilježavaju ga mutacije MMR gena (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM) koji su odgovorni za popravak defekata koji mogu nastati pri replikaciji i

rekombinaciji DNK molekule. Molekularni potpis nastalih mutacija MMR gena je akumulacija grešaka u kratkim sekvencama nukleotidnih baza koji se ponavljaju desetke do stotine puta unutar genoma, a zovu se tzv. mikrosatelitnim regijama. Takvi tumori se opisuju da imaju visoku razinu mikrosatelitne nestabilnosti (MSI-H). Klinički se takvi tumori pretežno javljaju u desnom kolonu, češće u odrasloj dobi i imaju povoljniju prognozu bolesti (43).

Put hipermetilacije CpG otoka čini mehanizam nastanka oko 15% svih kolorektalnih karcinoma. Obilježava ga hipermetilacija promotorskih regija i epigenetsko „utišavanje“ tumor supresorskih gena. Adenomatozne lezije odlikuje makroskopski izgled sesilnog „nazubljenog“ adenoma s tipičnom lokalizacijom u proksimalnom dijelu debelog crijeva (44).

Međunarodna istraživačka skupina CRCSC (od eng. „The Consensus Molecular Subtypes of Colorectal Cancer“) u koju su bila uključena 15 međunarodna istraživačka centra je 2015. godine objavila konsenzus temeljen na sistematizaciji svih poznatih genetskih i epigenetskih značajki kolorektalnoga karcinoma u cilju identifikacije njegovih molekularnih podtipova. Skupina opisuje četiri različita molekularna podtipa (CMS, od engl. Consensus Molecular Subtypes) s jedinstvenim molekularnim karakteristikama, fenotipom tumora, kliničkim implikacijama na prognozu bolesti i odgovorom na terapiju (45). To su: CMS1 s incidencijom od 14%, mikrosatelitno nestabilni (MSI) tumori, obilježeni metilacijom, hipermutacijom s izraženom BRAF mutacijom i jakom imunološkom infiltracijom tumora; CMS2, epitelni, s incidencijom 37%, koji slijede adenom-karcinom slijed, kromosomski nestabilni, s aktivacijom Wnt te Myc signalnog puta; CMS3, metabolički, s incidencijom 13% koje obilježava metabolička disregulacija s prisutnom mutacijom KRAS i PIK3CA gena te CMS4, mezenhimalni, kromosomski nestabilni, mikrosatelitno stabilni s incidencijom 23%, aktivacijom TGF- β signalnog puta, jakom stromalnom infiltracijom i izraženim proangiogenim svojstvima zbog aktivacije VEGF signalnog puta. U miješane, odnosno neklasificirane podtipove spada oko 13% tumora (46,47).

Molekularna genetika epitelno-mezenhimalne tranzicije i procesa metastaziranja brojnih tumora pa tako i kolorektalnoga karcinoma se objašnjava brojnim staničnim promjenama i promjenama u patogenezi složenih signalnih putova i regulatornih mehanizama. Signalni putevi poput Wnt/ β -katenin, TpcGF- β , Notch i

NF- κ B, TGF- β igraju ključnu ulogu u regulaciji procesa epitelno-mezenhimalne tranzicije i procesa metastaziranja. Mutacija i inaktivacija APC gena je zaslužna za regulaciju Wnt/ β -katenin signalnog puta. Transkripcijski faktori poput Snail, Slug, Twist i ZEB reguliraju represiju gena asociiranih s ekspresijom staničnih adhezivnih molekula poput E-kaderina, N-kaderina i beta-katenina. Na taj način epitelne stanice gube svoje karakteristike kao što su apikalno-bazalna polarnost i međustanična adhezivnost i poprimaju mezenhimalne karakteristike (u anglosaksonskoj literaturi opisano kao „Cadherin switching“). Provedenim istraživanjima pokazano je i da su KRAS/BRAF mutacije značajno povezane s pojavom epitelno-mezenhimalne tranzicije i nastankom tumorskoga pupanja (47,48).

1.4. Morfološke i patohistološke osobine kolorektalnoga karcinoma

Kolorektalni karcinomi se makroskopski mogu prezentirati kao gljivaste ili polipoidne egzofitične tvorbe koje su najčešće lokalizirane na desnoj strani kolona. Karcinomi koji su lokalizirani pretežno u lijevoj polovici kolona, makroskopski se najčešće prezentiraju kao ulcerirajuće i stenozirajuće lezije i tipično daju tzv. radiološki prikaz ostataka odgrizene jabuke (od eng. “Apple core sign”) (49).

Prema dosadašnjim istraživanjima, otprilike dvije trećine kolorektalnih karcinoma je lokalizirano distalno od slezenskog pregiba i klinički se neformalno ta lokalizacija skupno označava kao „lijevi kolon“ (najčešće uključuje i rektum), dok je preostala trećina kolorektalnih karcinoma lokalizirana proksimalno od slezenskog pregiba pa se skupno ta lokalizacija označava kao „desni kolon“. Još preciznije, ova uvjetno postavljena granica između navedene podjele u lokalizaciji kolorektalnoga karcinoma je distalna trećina poprečnog dijela debelog crijeva (49,50).

U posljednjih nekoliko godina je primijećen postupni porast incidencije kolorektalnoga karcinoma smještenog u desnom kolonu i to najnaglašenije u području cekuma. Smatra se da je kolonoskopija učinkovitija u ranom otkrivanju kolorektalnoga karcinoma lijevog nego desnog kolona. Iz toga razloga navedena postupna epidemiološka promjena u anatomskej distribuciji kolorektalnih karcinoma može biti

donekle povezana s napretkom u endoskopskoj dijagnostici i terapiji te većim udjelom probira i izvršenih polipektomija adenomatoznih polipa u lijevom kolonu, a najizražnije u distalnom dijelu debelog crijeva, tj. u sigmoidnom kolonu i rektumu (49,51).

Unatoč razlikama u makroskopskom izgledu, karcinomi lijevog i desnog kolona su histološki isti te imaju podjednaku prognozu u slučaju lokalno ograničene bolesti. Neka istraživanja su pokazala da u slučaju metastatske bolesti desnostrani kolorektalni karcinomi imaju lošiju prognozu (49,52).

U slučaju dva ili više istovremeno prisutna kolorektalna karcinoma koji su međusobno odvojena arealom uredne sluznice debelog crijeva i za koje se procijeni da nisu nastali zbog direktnog širenja ili metastaziranja, radi se o sinkronim primarnim kolorektalnim karcinomima koji su prisutni u 3-5% slučajeva te imaju istu prognozu kao pojedinačni karcinomi (53).

Histološka podjela tumora debelog crijeva je složena. Maligne epitelne lezije debelog crijeva dijele se u karcinome, neuroendokrine tumore, neuroendokrine karcinome i miješane neuroendokrine-ne-neuroendokrine neoplazme (MiNEN, od eng. „Mixed neuroendocrine-non-neuroendocrine neoplasm“) (54).

Patohistološki podtipovi kolorektalnoga karcinoma se prema klasifikaciji tumora probavnog sustava Svjetske zdravstvene organizacije iz 2019. godine, definiraju kao: adenokarcinom koji nije drugačije određen (NOS, od engl. „Not otherwise specified“), nazubljeni adenokarcinom (od eng. „Serrated adenocarcinoma“), mikropapilarni adenokarcinom, mucinozni adenokarcinom, slabo kohezivni karcinom, karcinom stanica prstena pečatnjaka, adenoskvamozni karcinom, adenomu-nalik adenokarcinom, medularni karcinom i karcinom sa sarkomatoidnom komponentnom (54).

Histološka slika u oko 95% slučajeva zloćudnih tumora debelog crijeva odgovara adenokarcinomu dok ostali gore navedeni tumori drugih histoloških rijetkih podtipova čine ukupno do 5% slučajeva. Određeni histološki podtipovi kolorektalnoga karcinoma su povezani s lošijom prognozom. Tako npr. karcinom stanica prstena pečatnjaka odlikuje agresivniji biološki potencijal (54,55).

Mnogi tumori proizvode sluz (mucin) koji se može nalaziti unutar stanica i kod kojih velika vakuola mucina dislocira jezgru dajući takvim tumorima tipičan mikroskopski izgled stanica prstena pečatnjaka. U mucinoznom adenokarcinomu mucin se izlučuje prvenstveno u međustanični prostor i čini najmanje 50% tumorske mase. U slučaju da tumor sadrži najmanje 25% tumorske mase radi se o tumoru koji sadrži mucinoznu komponentu. Mucinozni adenokarcinomi čine oko 11-17% svih kolorektalnih karcinoma, češće su lokalizirani na desnoj strani kolona i češće se dijagnosticiraju u uznapredovaloj fazi bolesti, imaju slabiji odgovor na kemoterapiju i generalno lošiju prognozu (54).

Histološki gradus tumora je jedan od prognostičkih čimbenika koji u obzir uzima stupanj očuvanosti žljezdane strukture tumorskih stanica promatrajući prisustvo određenih karakteristika kao što su apikalno-bazalna polarnost i međustanična adhezivnost. Što je veća prisutnost ovih karakteristika, to je veći stupanj diferencijacije tumora dok je histološki gradus obrnuto proporcionalan stupnju diferenciranosti tumora. WHO preporučuje podjelu histološkog gradusa kolorektalnoga karcinoma po dvostupanjskoj klasifikaciji na one niskog gradusa (dobro i umjereno diferencirani) te na one visokog gradusa (slabo diferencirani i nediferencirani) (54,56).

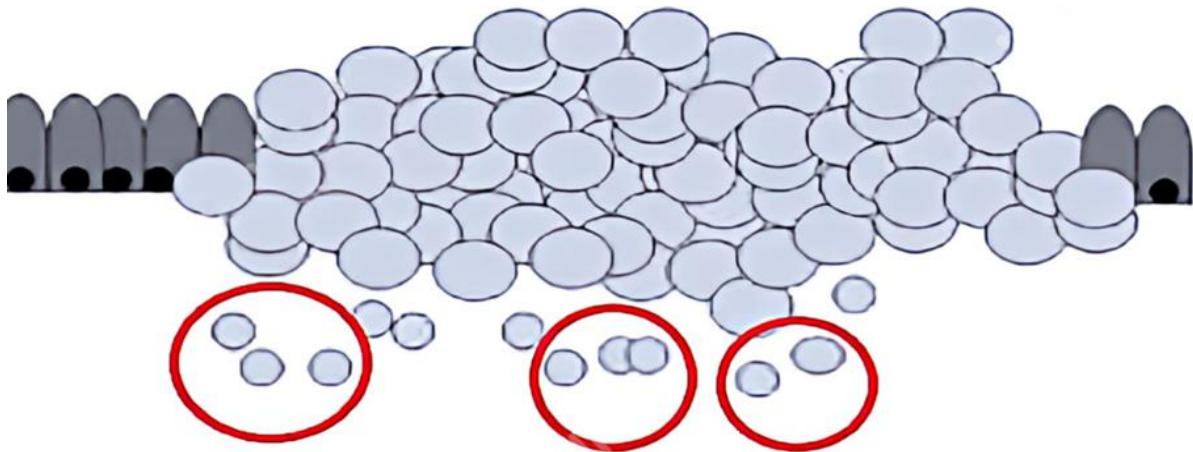
Određivanje morfoloških i patohistoloških osobina tumora kao i egzaktnog stadija bolesti omogućavaju kliničarima usvajanje što pouzdanijih algoritama liječenja i služe kao alati za prognozu tijeka bolesti bolesnika s kolorektalnim karcinomom. TNM sustav za određivanje stadija proširenosti maligne bolesti (od engl. „Tumor-node-metastasis“) izdan od strane AJCC/UICC (od eng. „The American Joint Committee on Cancer/International Union Against Cancer“) danas je globalno priznati standard za klasifikaciju opsega širenja tumora mnogih sijela pa tako i kolorektalnoga karcinoma (57–60). U toj klasifikaciji su dubina invazije tumora (T), prisutnost tumorom zahvaćenih regionalnih limfnih čvorova (N) te udaljenih tumorskih metastaza (M) tradicionalno prepoznati kao važni prognostički čimbenici.

Usprkos tome, spomenuti način klasifikacije i određivanje tradicionalnih morfoloških i patohistoloških osobina tumora u nekim kliničkim scenarijima se je pokazao nedovoljno precizan i nepouzdan zbog značajnih varijacija u krajnjim ishodima u bolesnika s istim stadijem bolesti i s istim morfološkim i patohistološkim osobinama tumora (61,62).

U posljednje vrijeme su otkrivene i druge morfološke osobitosti tumora kao važni prognostički faktori, a koji opisuju oblik interakcije tumorskoga tkiva sa susjednom stromom i utjecaj na potencijal tumorske invazije i metastaziranje. To su tumorsko pupanje (TB, od eng. „Tumor budding“), tumorski depoziti (TD, od eng. „Tumor deposits“), slabo diferencirani klasteri (PDC, od eng. Poorly differentiated clusters“), ekstramuralna vaskularna (venska) invazija (EMVI, od eng. „Extramural vascular (vein) invasion“), limfovaskularna invazija (LVI, od eng. „Lymphovascular invasion“), perineuralna invazija (PNI, od eng. „Perineural invasion“) i mucinozni bazeni (MP, od eng. „Mucin pools“) (62–66). Predmet ovog istraživanja su tumorsko pupanje i tumorski depoziti.

1.4.1. Tumorsko pupanje i epitelno-mezenhimalna tranzicija

Tumorsko pupanje je opisano u 20-40% slučajeva kolorektalnoga karcinoma (64–67). Predstavlja lokalnu migraciju male grupe dediferenciranih tumorskih stanica (manje od 5 stanica) s ruba invazivnog rasta karcinoma u okolnu peritumorsku stromu (Slika 2) (68–70).



Slika 2. Shematski prikaz tumorskoga pupanja na rubu invazivnog rasta karcinoma. Preuzeto i modificirano prema: Lugli A, Karamitopoulou E, Zlobec I. Tumour budding: a promising parameter in colorectal cancer. Br J Cancer. 2012;106(11):1713–7.

Prvi put je tumorsko pupanje opisano kao „klijanje“ na invazivnoj fronti tumorskoga rasta od strane Imaia 1954. godine (71) da bi kao pojam koji je danas uvriježen (tumorsko pupanje) definirali Jass 1987. (72) te potom Hase i sur. 1993. godine (68). Daljnjim istraživanjima se je pokazalo da stupanj tumorskoga pupanja ima negativnu prognostičku vrijednost koja je naročito istraživana u kolorektalnom karcinomu (70,73–75). Tumorsko pupanje se može podijeliti na: peritumorsko pupanje gdje su tumorski pupovi uočeni na rubu tumora i na intratumorsko pupanje gdje se oni nalaze u središtu tumora. Pokazano je da je intratumorsko pupanje povezano s peritumorskim pupanjem i svojevrsni je odraz statusa tumorskoga pupanja cijelog tumora. Do danas nije u potpunosti jasno treba li procjena tumorskoga pupanja, osim peritumorskoga pupanja na koje su se izvorne studije i referirale i na koje se odnose današnje smjernice, uključivati i intratumorsko pupanje (76,77). Provedenim istraživanjima je dokazano da je prisutnost tumorskoga pupanja, a naročito visokog stupanja pupanja nezavisni negativan prognostički čimbenik koji je povezan s povišenim rizikom lokalnog recidiva bolesti i udaljenih metastaza, nižim stopama ukupnog preživljenja, a pozitivno korelira s prisutnošću mnogih drugih negativnih kliničko-patoloških čimbenika u kolorektalnom karcinomu (69,73,76).

Danas se smatra da je tumorsko pupanje morfološka manifestacija i posljedica epitelno-mezenhimalne tranzicije (EMT), procesa u kojem karcinomske stanice gube elemente epitelnih stanica i poprimaju osobine mezenhimalnih stanica rezultirajući povećanom invazivnošću, sklonosti migraciji i rezistencijom na apoptozu. EMT je otkriven u istraživanjima embrionalnog razvoja, a danas se istražuje u razumijevanju progresije, invazije i metastaziranja malignih tumora mnogih sijela (80–83).

U tom procesu stanične plastičnosti, epitelne stanice gube svoje karakteristike kao što su: apikalno-bazalna polarnost i međustanična adhezivnost te poprimaju mezenhimalne karakteristike, kao što su: razvoj pseudopodija, elongacija stanica i povećana pokretljivost. Upravo te promjene omogućuju malignim stanicama da se odvoje od glavne tumorske mase i oblikuju stanične pupove u peritumorskom vezivnom tkivu (80,83). Pokazalo se je da tako dediferencirane tumorske stanice pokazuju povećanu rezistenciju prema kemoterapeutskim agensima te se smatra da EMT značajno pridonosi kemorezistenciji kolorektalnoga karcinoma kao i ostalih gastrointestinalnih tumora (78,79).

Na molekularnom nivou se je pokazalo da je mezenhimalna transformacija povezana s gubitkom membranske ekspresije E-kadherina i β -katenina te pojačanom ekspresijom N-kadherina, glikoproteina ekstracelularnog matriksa-fibronektina i mezenhimalnog proteina intermedijarnog filameta-vimentina (75,82,84). Gubitak ekspresije E-kadherina uz istovremenu pojačanu ekspresiju N-kadherina je u anglosaksonskoj literaturi opisano kao „Cadherin switching“ (84,85). Unatoč brojnim provedenim istraživanjima, povezanost između tumorskoga pupanja i EMT i dalje nije do kraja razjašnjena. Iako je prepoznato kao negativni prognostički čimbenik, tumorsko pupanje još uvijek nije u potpunosti adaptirano u sve kliničke smjernice niti je uvršteno kao zasebni negativni prognostički čimbenik u TNM klasifikaciju, djelomično i zbog neslaganja u njegovoj definiciji, identifikaciji i zabilježenoj velikoj varijabilnosti u subjektivnoj procjeni stupnja tumorskoga pupanja u tumorskim patohistološkim preparatima (64,86). Lugli i suradnici 2017. godine su predložili standardiziranu histološku metodu evaluacije tumorskoga pupanja kao i navođenje tumorskoga pupanja kao standardnog elementa u protokolima za izvješće patologa o kolorektalnom karcinomu, a kao rezultat međunarodnog konsenzusa ostvarenog na skupu ITBCC (od eng. “International Tumor Budding Consensus Conference”) 2016. godine (87). Po toj metodi ukupan broj pupova je podijeljen po trostupanjskoj klasifikaciji u tri stupnja: niski stupanj pupanja Bd1 (0-4 pupova), srednji stupanj pupanja Bd2 (5-9 pupova) i visoki stupanj pupanja Bd3 (≥ 10 pupova) (87).

1.4.2. Tumorski depoziti

Tumorski depoziti su ekstramuralne fokalne nakupine tumorskih stanica smještene u peritumorskom tkivu (mezokolon ili mezorektum), a koje nemaju kontinuitet s primarnom tumorskom masom i nisu povezane s okolnim limfnim čvorovima (88–90). Po nekim istraživanjima incidencija tumorskih depozita u kolorektalnim karcinomima široko varira od 4-45% (87,91,92). Tumorski depoziti se u literaturi prvi put spominju 1935. godine u radu Gabriela i sur. gdje je u 100 preparata resekiranih karcinoma rektuma primijećena podgrupa tumora s prisutnim ekstramukoznim nakupinama tumorskih stanica, a istovremeno bez zahvaćenosti limfnih čvorova (93).

Definicija tumorskih depozita se je kroz povijest mijenjala i to najviše uslijed izmjena TNM klasifikacije. Tako u petom izdanju TNM klasifikacije iz 2007. godine tumorski depoziti su bili definirani kroz kriterij veličine depozita. Lezije veće od 3 mm bile su smatrane limfnim čvorovima, a lezije manje od 3 mm su bile smatrane kao T kategorija u smislu diskontinuiranog tumorskoga rasta (57). U šestom izdanju TNM klasifikacije iz 2002. godine, uključivi kriterij je bio morfološki oblik, gdje je iregularna kontura depozita i izostanak arhitekture limfnog čvora govorila u prilog da se radi o tumorskim depozitima (58). U sedmom izdanju TNM klasifikacije iz 2009. godine, tumorski depoziti su po prvi put bili označeni kao zasebna kategorije i to kao „N1c“ i definirani kao zasebni čvorovi ili naslage malignih stanica u perirektalnom ili perikoličnom masnom tkivu bez dokaza o rezidualnom tkivu limfnog čvora (59). Najnovije osmo izdanje TNM klasifikacije iz 2017. godine pokušalo je razjasniti nejasnoće proistekle iz svih prethodnih definicija jer su zamjerke nekih od autora bile nereproducibilnost te izostanak čvrstih dokaza za opravdanje kategorije „N1c“ unutar TNM sustava (89,94). Tako su u najnovijoj TNM klasifikaciji (TNM 8) uvedeni dodatni kriteriji kojima se kod potvrde tumorskih depozita definiraju isključni kriteriji u smislu izostanka histoloških naznaka prisutnosti arhitekture limfnog čvora kao i identifikacije vaskularnih ili neuralnih struktura oko tumorskih depozita, pokušavajući pri tome učiniti jasnu distinkciju prema zasebnim entitetima koji čine ekstramuralnu vaskularnu invaziju (EMVI) i perineuralnu invaziju (PNI) (60).

U dosadašnjim istraživanjima, značaj tumorskih depozita na prognozu bolesnika oboljelih od kolorektalnoga karcinoma je opažena u više istraživanja te upućuje na lošiju prognozu bolesti (62,65,88,90,95–100). Pokazalo se je da je prisutnost tumorskih depozita povezana s većom incidencijom lokalnog recidiva bolesti općenito, ali i u oboljelih od II. stadija bolesti uspoređujući ih s oboljelim od III. stadija bolesti, a bez dokazanih tumorskih depozita, ponovno tako apostrofirajući važnost dokazivanja eventualne prisutnosti tumorskih depozita čak i u slučaju metastatski promijenjenih limfnih čvorova. Porijeklo tumorskih depozita je predmet brojnih istraživanja i još uvijek nije jasno kako oni nastaju (88,99,100).

1.5. Prognostički čimbenici i biomarkeri kolorektalnoga karcinoma

Prognostički čimbenici kolorektalnoga karcinoma su brojni i mogu se podijeliti u nekoliko velikih skupina, kao što su: patohistološke osobine tumora, kliničke osobine tumora i molekularni čimbenici odnosno biomarkeri kolorektalnoga karcinoma.

Glede patohistoloških osobina tumora, patološki stadij bolesti (TNM) je najvažniji prognostički čimbenik kolorektalnoga karcinoma. U TNM sustavu za određivanje stadija proširenosti malignih bolesti, dubina invazije tumora (T), prisutnost tumorom zahvaćenih regionalnih limfnih čvorova (N) te prisutnost udaljenih tumorskih metastaza (M) tradicionalno su prepoznati kao najvažniji prognostički čimbenici.

Dubina prodora tumora kroz stijenku crijeva (T stadij) je neovisni prognostički čimbenik koji utječe na preživljenje pri čemu je zahvaćenost seroze stijenke crijeva dodatni faktor koji dodatno pogoršava prognozu bolesti (101).

Zahvaćenost tumorom regionalnih limfnih čvorova (N stadij) je nakon prisustva udaljenih metastaza najvažniji prognostički čimbenik. U slučaju negativnih limfnih čvorova (N0), stopa petogodišnjeg preživljenja iznosi oko 90% za bolesnike s T1 i T2 tumorima i oko 80% za bolesnike s T3 tumorima. U slučaju pozitivnih limfnih čvorova (N1-2), petogodišnje preživljenje varira od 74% u slučaju N1 bolesti do 51% u slučaju N2 bolesti. U bolesnika s neoperabilnom metastatskom bolesti, petogodišnje preživljenje je znatno lošije i iznosi 10-15% (102,103). Zanimljiv je podatak da osim broja tumorom zahvaćenih limfnih čvorova, ukupan broj izoliranih limfnih čvorova u kirurškom resecciranom materijalu također izravno utječe na prognozu kako za II. stadij tako i za III. stadij bolesti.

U posljednje vrijeme predložena je upotreba omjera tumorom zahvaćenih limfnim čvorovima prema ukupnom broju izoliranih i pregledanih limfnim čvorovima (LNR, od eng. „Lymph node ratio“) kao dodatni prognostički čimbenik. U istraživanju studijske skupine INT-0089 dokazano je da ukupno petogodišnje preživljenje svih stadija karcinoma debelog crijeva u slučaju LNR <0.05 iznosi 79% dok u slučaju LNR 0.4-1.0 ono iznosi 52% (104). Isto tako, u provedenoj metaanalizi kanadske grupe

autora iz 2023. godine pokazano je da je LNR između 0.1 i 0.5 učinkoviti prediktivni čimbenik petogodišnjeg preživljenja kod karcinoma debelog crijeva (105).

Negativni kirurški resekcijski rubovi su važan prognostički čimbenik koji ukazuje na kvalitetu kirurške tehnike. Mogu biti označeni kao proksimalni i distalni longitudinalni resekcijski rub te radijalni ili cirkumferencijski resekcijski rub (CRM, od eng. „Circumferential resection margin“) koji je osobito važan za karcinom rektuma i jedan je od najvažnijih prognostičkih čimbenika nastanka lokalnog recidiva bolesti i sveukupnog preživljenja. CRM se smatra pozitivnim ukoliko je udaljenost ruba tumora od ruba mezorektalne fascije ≤ 1 mm. U tom slučaju, ti bolesnici kandidati su za poslijeoperacijsku radioterapiju neovisno o ostalim parametrima lokalne proširenosti primarnog tumora. (106,107).

Prisustvo rezidualnog tumorskoga tkiva nakon kirurške resekcije je negativan prognostički čimbenik i povećava rizik lokalnog recidiva bolesti kao i pojave udaljenog povrata bolesti (108). Oznakom „R“ označava se lokalna rezidualna bolest nakon učinjene kirurške resekcije. Tako oznaka R0 označava potpunu resekciju tumora sa svim histološki negativnim rubovima. Oznaka R1 označava nepotpunu resekciju tumora sa zahvaćenim resekcijskim rubovima tumorskim stanicama koje se vidljive samo pod mikroskopskim uvećanjem. Oznaka R2 označava nepotpunu kiruršku resekciju tumora s makroskopski vidljivim rezidualnim tumorskim tkivom (109).

Nodalne mikrometastaze predstavljaju pojedinačne tumorske stanice ili male skupine tumorskih stanica s najvećim promjerom $\leq 0,2$ mm. Klinički im je značaj još uvijek nejasan. U nekim, ali ne i svim provedenim istraživanjima je pokazano da negativno utječu na daljnju prognozu bolesti (110).

Limfovaskularna invazija (LVI) i ekstramuralna vaskularna (venska) invazija (EMVI) označavaju prodor tumorskih stanica u krvne ili limfne žile, bilo da se radi o venama u submukoznom i/ili mukoznom sloju ili o većim krvnim žilama unutar perikoličnog ili perirektalnog masnog tkiva. Njihova prisutnost ima značajnu ulogu u daljnjem metastatskom procesu. Oba morfološka nalaza su izrazito negativni prognostički čimbenici. LVI je jedan od čimbenika koji je uključen u definiciju "visokog rizika" II. stadija kolorektalnoga karcinoma od strane međunarodnih stručnih društava kao što su ESMO (od eng. „European Society for Medical Oncology“), ASCO (od eng.

, American Society of Clinical Oncology“) i NCCN (od eng. „National Comprehensive Cancer Network“), a čija prisutnost utječe na odluku o primjeni adjuvantne kemoterapije u II. stadiju bolesti (111–114).

Perineuralna invazija označava invaziju tumorskih stanicama u živce i/ili širenje tumora duž ovojnice živaca. Kao i u slučaju LVI i tumorskoga pupanja, radi se o rizičnom čimbeniku koji je također uključen u definiciju "visokog rizika" II. stadija kolorektalnoga karcinoma (111–114).

Histološki tip tumora se nije pokazao neovisnim negativnim prognostičkim čimbenikom uz iznimku nekoliko histoloških podtipova visokog rizika (npr. karcinom stanica prstena pečatnjaka, slabo diferencirani i nediferencirani tumori) (65,115).

Histološki gradus tumora je jedan od prognostičkih čimbenika koji u obzir uzima stupanj očuvanosti žljezdane strukture tumorskih stanica. Histološki gradus obrnuto je proporcionalan stupnju diferenciranosti tumora. WHO preporuča podjelu histološkog gradusa kolorektalnoga karcinoma po dvostupanjskoj klasifikaciji na one niskog gradusa (dobro i umjereno diferencirani) te na one visokog gradusa. U provedenim istraživanjima je dokazana uloga histološkog gradusa kao neovisnog negativnog prognostičkog čimbenika koji je povezan s lošijom prognozom bolesti (116).

Tumorska regresija (TRG, od eng. „Tumor Regression Grade“) nakon neoadjuvantne terapije označava procjenu bolesti nakon provedene neoadjuvantne terapije i u nekih je bolesnika povezana s značajnim regresivnim odgovorom tumorskoga tkiva i smanjenjem stupnja bolesti. Danas se najčešće koristi klasifikacija tumorske regresije po Ryanu na tri stupnja regresije tumora, a novo patološko stupnjevanje nakon neoadjuvantnog onkološkog liječenja definira se kao postterapijski stadij i označava se s prefiksom „yp“ (117).

Tumorsko pupanje koje je ranije opsežno opisano, predstavlja lokalnu migraciju male grupe dediferenciranih tumorskih stanica (manje od 5 stanica) s ruba invazivnog rasta karcinoma u okolnu peritumorsku stromu. Prisutnost tumorskoga pupanja, a naročito visokog stupnja (Tb3) je prepoznato kao nezavisni negativan prognostički čimbenik koji pozitivno korelira s prisutnošću mnogih drugih negativnih kliničko-patoloških prognostičkih čimbenika u kolorektalnom karcinomu (69,73,76). Prisutnost visokog stupnja tumorskoga pupanja je uključeno u definiciju "visokog rizika" II. stadija

kolorektalnoga karcinoma od strane Američkog društva za kliničku onkologiju (ASCO), a prisutnost tumorskoga pupanja nakon endoskopske resekcije u malignom pT1 polipu debelog crijeva i rektuma je prepoznati prognostički i rizični čimbenik daljnjeg širenja tumorskih stanica u regionalne limfne čvorove te se u tom slučaju preporučuje daljnje kirurško liječenje (112–114).

Lokalni upalni odgovor označava rezultat imunoloških procesa domaćina prema invazivnoj fronti rasta tumora. Pokazalo se je da je prisutnost tumor-infiltrirajućih limfocita (TIL, od eng. „Tumor-infiltrating lymphocytes“) povoljan prognostički čimbenik (118). Tumori koji sadrže brojne limfocitne stanice često su povezani s mikrosatelitno nestabilnim tumorima i mutacijama MMR gena (MSI-H/dMMR). Posebno je značajno da je velika prisutnost CD8+, CD4+/CD45RO+ i CD4+CD25+ regulatornih T stanica povezana s izostankom ranih znakova tumorske invazije te s višim stopama ukupnog preživljenja bolesnika (119).

Glede kliničkih osobina tumora, lokalizacija primarnog tumora u debelom crijevu se je pokazala kao prognostički čimbenik. U metaanalizi 66 retrospektivnih i prospektivnih studija provedenih na nešto manje od 1.5 milijuna bolesnika je dokazano da je lokalizacija tumora u lijevoj strani kolona (distalno od slezenskog pregiba) povezana sa smanjenim rizikom smrtnog ishoda (HR, 0.82; 95% CI, 0.79-0.84; $p < .001$) (120). Razlike u prognozi bolesti glede lokalizacije tumora mogle bi biti odraz razlike u molekularnoj biologiji tumora. Na primjer, u jednoj studiji, KRAS/BRAF mutacije, a koje su povezane s lošijom prognozom bile su češće prisutne kod tumora smještenih u desnom kolonu (121).

Vrijednost serumskog CEA (eng. „Carcinoembryonic antigen“) je potrebno odrediti kod svakog bolesnika prije početka liječenja. Postoji dokazani prognostički značaj povišene prijeoperacijske vrijednosti serumskog CEA. U većini studija, razine serumskog CEA $\geq 5,0$ ng/mL imaju, neovisno o stadiju bolesti, negativnu prognostičku vrijednost s povećanim rizikom smrtnog ishoda (HR 1.60, 95% CI 1.46-1.76; $p < .001$) (122,123). Povišenje razine serumskog CEA u poslijeoperacijskom praćenju kao i povišena vrijednost koja ne pokazuje regresivnu dinamiku nakon kirurške resekcije, može ukazivati na nastanak recidiva bolesti, odnosno na rezidualnu bolest nakon učinjene kirurške resekcije (124).

Opstrukcija lumena debelog crijeva i rektuma i/ili perforacija stijenke crijeva tumorom često ukazuju na agresivniji patohistološki profil tumora. I opstrukcija i perforacija se smatraju negativnim kliničkim prognostičkim čimbenicima koji su uključeni u definiciju "visokog rizika" II. stadija kolorektalnoga karcinoma od strane međunarodnih stručnih društava, kao što su ESMO, ASCO, NCCN, a čija prisutnost utječe na odluku o primjeni adjuvantne kemoterapije u II. stadiju bolesti (111–114).

Prediktivni biomarkeri predstavljaju specifične ciljane molekularne promjene koje se nalaze u kolorektalnom karcinomu, a prognostička vrijednost brojnih obećavajućih i potencijalno klinički primjenjivih molekularnih biomarkera je u posljednje vrijeme intenzivno proučavana u istraživanju kolorektalnoga karcinoma. Međutim, u donošenju klinički relevantnih odluka, za sada se više ili manje rutinski koristi samo njih nekoliko. To su detekcija mutacija MMR gena kod mikrosatelitno nestabilnih tumora (MSI-H/dMMR), određivanje mutacijskog statusa RAS (KRAS i NRAS) gena prije primjene imunoterapije inhibitorima receptora epidermalnoga čimbenika rasta (EGFR, od eng. „Epidermal growth factor receptor) te određivanje mutacijskog statusa gena BRAF koji također ima sličnu prognostičku vrijednost.

Nalaz mikrosatelitne nestabilnosti (MSI-H/dMMR) u kolorektalnom karcinomu je odraz mutacija MMR gena koji su odgovorni za popravak defekata koji mogu nastati pri replikaciji i rekombinaciji DNK molekule u kratkim sekvencama nukleotidnih baza, a koji se ponavljaju desetke do stotine puta unutar genoma i zovu se tzv. mikrosatelitnim regijama. Takvi tumori se opisuju da imaju visoku razinu mikrosatelitne nestabilnosti (MSI-H) s nestabilnošću u $\geq 30\%$ mikrosatelitnih regija, nasuprot mikrosatelitno stabilnim tumorima (MSS/pMMR). Mutacije MMR gena i nalaz mikrosatelitne nestabilnosti je molekularni potpis Lynchovog sindroma, ali se isti obrazac nalazi i u oko 15-20% sporadičnih kolorektalnih karcinoma. Bolesnici s mikrosatelitno nestabilnim tumorima imaju, u usporedbi s mikrosatelitno stabilnim tumorima, oko 50% niži rizik za nastanak recidiva bolesti i relativno višu stopu ukupnog preživljenja. Mikrosatelitni status tumora je važan prediktivni biomarker kliničkog odgovora na primjenu kemoterapeutskih protokola koji se baziraju na fluoropirimidinima. Tako se je pokazalo da su MSI-H/dMMR tumori rezistentniji na terapiju fluoropirimidinima uz održanu osjetljivost na oksalplatinu (43,125–128).

Određivanje mutacijskog statusa RAS (KRAS i NRAS) i BRAF gena ima negativnu prognostičku vrijednost. Testiranje mutacijskog statusa RAS i BRAF postalo je dio rutinske patološke evaluacije kolorektalnoga karcinoma većeg od I. stadija, a njihovo određivanje je osobito bitno u slučaju metastatskoga oblika bolesti (129). Mutacije RAS gena su prisutne u oko 50%, a mutacije BRAF gena u oko 10% svih kolorektalnih karcinoma. U liječenju metastatskoga oblika kolorektalnoga karcinoma, a u svrhu povećanja učinkovitost standardne kemoterapije, dodatno se primjenjuju i monoklonska protutijela usmjerena protiv EGFR-a (cetuksimab i panitumumab). Aktivacija KRAS gena putem mutacija dovodi do aberantne aktivacije signalnog puta povezanog s EGFR, ali dalje od mjesta ciljne imunoterapije monoklonskim protutijelima usmjerenim protiv EGFR. Tako su tumori u kojima je dokazana mutacija gena KRAS i NRAS rezistentni na primjenu navedene biološke terapije, za razliku od tumora gdje nije dokazana mutacija KRAS i NRAS gena (tzv. „Divlji tipovi“, od eng. „Wild types“) (48,130).

Ostali prediktivni biomarkeri koji se intenzivno proučavaju su: tumor supresorski geni TP53, SMAD4, ostali onkogeni kao npr. c-myc, ciklini i geni za inhibitore ciklin-ovisnih kinaza (p27, p21), prekomjerna ekspresija mikroRNK, geni povezani s angiogenezom (VEGF, od eng. „Vascular endothelial growth factor“), geni supresori metastaziranja (NM23H1B), geni za adhezijske molekule i glikoproteine (CD44, E-kadherin), epigenetske aberacije i drugi (130,131).

1.6. Prevencija kolorektalnoga karcinoma

Prevencija kolorektalnoga karcinoma izravno je povezana s dobro poznatim etiološkim i rizičnim čimbenicima. U smislu primarne prevencije, ona se temelji na poduzimanju mjera prema čimbenicima rizika koji su potencijalno promjenjivi, posebno u vezi s okolišnim čimbenicima i različitim obrascima ponašanja i životnih navika.

Smatra se da redovita tjelesna aktivnost i smanjenje prekomjerne tjelesne težine djeluje protektivno na razvoj kolorektalnoga karcinoma (18). Isto vrijedi i za izbjegavanje prekomjernog unosa crvenog mesa i općenito hrane pripremane na visokoj temperaturi zbog negativnog utjecaja karbonizacijom proizvedenih kancerogenih nusprodukata na sluznicu debelog crijeva (15,17). Brojna istraživanja su pokazala da izbjegavanje prekomjerne konzumacije alkohola i prestanak pušenja djeluju protektivno na pojavu kolorektalnoga karcinoma (24,25,132).

Adekvatan unos vitamina D mogao bi djelovati preventivno na razvoj kolorektalnoga karcinoma. Brojne studije pokazale su povezanost između niske razine vitamina D i njegovih metabolita i rizika od pojave mnogih malignih bolesti, uključujući i kolorektalni karcinom. Svjetska zdravstvena organizacija je utvrdila da je karcinom debelog crijeva ona vrsta karcinoma koja nosi najveći rizik povezan s nedostatkom vitamina D (133–135).

Upotreba acetilsalicilne kiseline i drugih nesteroidnih antireumatika (NSAID) može djelovati protektivno na nastanka adenoma debelog crijeva, a njihova upotreba je po nekim istraživanjima povezana sa smanjenim dugoročnim rizikom od nastanka kolorektalnoga karcinoma za 20-40% (136,137).

Neki literaturni izvori ukazuju na to da prehrana bogata voćem, povrćem, vlaknima iz integralnih žitarica, mliječnim proizvodima i ribom, kao i terapija statinima, može također imati protektivni učinak na razvoj kolorektalnoga karcinoma (138–141).

Drugi pravac preventivnog djelovanja je u vidu sekundarne prevencije, odnosno primjene različitih modaliteta ranog otkrivanja premalignih lezija (adenoma) koje su najčešće pogodne za odstranjivanje endoskopskim putem kao i dijagnosticiranje karcinomskih lezija u raznoj fazi kada je uspješnost liječenja i najveća (51,142).

Postoje tri različite skupine osoba s obzirom na razinu rizika za nastanak kolorektalnoga karcinoma. Osobe prosječnog rizika su one osobe starije od 50 godina s negativnom anamnezom za adenom ili kolorektalni karcinom kao i one osobe s negativnom anamnezom za upalne bolesti crijeva. Takve osobe su ciljna populacija preventivnih nacionalnih programa probira pa tako i hrvatskog Nacionalnog programa ranog otkrivanja raka debelog crijeva (143).

Osobe povišenog rizika su sve one osobe s obiteljskom anamnezom adenoma ili kolorektalnoga karcinoma u najbližoj obitelji u dobi mlađoj od 60 godina ili kod dvoje ili više bliskih rođaka bez obzira na dob. Kod njih se probir provodi na isti način, s time da je probir preporučljivo započeti u osoba s navršениh 40. godine života ili u dobi 10 godina mlađoj od najmlađeg slučaja pojave kolorektalnoga karcinoma u obitelji. Kod njih se preporuča učiniti kolonoskopiju svakih pet godina. U slučaju kontraindikacije ili odbijanja kolonoskopije kao načina probira, takvim osobama je potrebno ponuditi godišnje testiranje fekalnim imunokemijskim testom (FIT) ili analizu stolice na višestruke ciljane DNK markere (MT-sDNA, od eng. „Multitarget stool DNA testing) (51,144).

Osobe s visokim rizikom su one osobe s anamnezom već preboljelog kolorektalnoga karcinoma, ranijom anamnezom kolorektalnoga adenoma, bolesnici s nasljednim polipoznim sindromima, upalnim bolestima crijeva, naročito s dugotrajnim ulceroznim kolitisom i trajanjem bolesti duljim od 10 godina. Kod takvih bolesnika je potrebno program ranog otkrivanja kolorektalnoga karcinoma započeti u ranoj životnoj dobi. Uz individualni pristup (npr. gensko testiranje), u njih se bolest dijagnosticira, prati i liječi ovisno o podložećem stanju i specifičnosti svakog od gore navedenog stanja (145–147).

1.7. Probir i dijagnostika kolorektalnoga karcinoma

1.7.1. Probir kolorektalnoga karcinoma

Općenito govoreći, probir (od eng. "Screening") je preventivni medicinski postupak koji se primjenjuje kod osoba koje nemaju simptome bolesti, ali su izložene određenim rizicima nastanka bolesti, a sve u svrhu otkrivanja bolest u ranoj fazi kada je liječenje najuspješnije.

Prema američkom USPSTF modelu (od eng. „US Preventive Services Task Force“) kao i prema preporukama Američkog udruženja gastroenterologa (ACG, od eng. „The American College of Gastroenterology“), preporuča se početi s probirom osoba prosječnog rizika za nastanak kolorektalnoga karcinoma s navršениh 45 godina starosti (13,148). Neka druga međunarodna stručna društva su manje konzervativna u tom pogledu. Tako, npr. Kanadska radna skupina za preventivnu zdravstvenu skrb (CTFPHC, od eng. „Canadian Task Force on Preventive Health Care“), Američka akademija obiteljskih liječnika (AAFP, od eng. „American Academy of Family Physicians“) i Američko udruženje liječnika (ACP, od eng. „American College of Physicians“) preporučuju početak probira u dobi od 50 godina za odrasle osobe s prosječnim rizikom (149–151).

Hrvatsko gastroenterološko društvo i Hrvatsko onkološko društvo također preporučuju započeti probir kod asimptomatskih osoba s prosječnim rizikom u dobi od 50 do 75 godina. Kao metoda probira se savjetuje popunjavanje anketnog upitnika i testiranje okultnog fekalnog krvarenja najmanje jedanput svake dvije godine. Kod osoba s pozitivnim testom okultnog fekalnog krvarenja, potrebno je učiniti dijagnostičku kolonoskopiju, a po potrebi i terapijsku polipektomiju. U slučaju urednog nalaza, sljedeća se kontrola preporučuje za 3 godine, a zatim svakih 5 godina. Kod osoba s povišenim rizikom potrebno je provoditi probir na isti način, s time da je probir potrebno započeti u osoba s navršениh 40. godine života ili u dobi 10 godina mlađoj od najmlađeg slučaja pojave kolorektalnoga karcinoma u obitelji (152).

Temeljem preporuka navedenih stručnih društava, Vlada Republike Hrvatske usvojila je Nacionalni program ranog otkrivanja raka debelog crijeva 2007. godine (143).

Postoje više različitih testova probira kolorektalnoga karcinoma koji se koriste za identifikaciju adenomatoznih polipa i kolorektalnoga karcinoma prije nego se pojave simptomi maligne bolesti. Testovi se razlikuju po svojoj osjetljivosti i specifičnosti, učestalosti testiranja, efikasnosti, praktičnosti, komplikacijama te logističkim aspektima u smislu dostupnosti i troškova provedbe. Izbor testa probira se prilagođava procjeni individualnog rizika svake osobe.

Glavna podjela testova probira je na: testove koji se izvode na osnovi uzorka stolice, kao npr. gvajakov test okultne krvi u stolici (gFOBT, od eng. Guaiac-based fecal occult blood test), fekalni imunokemijski test (FIT, od eng. „Fecal immunochemical test“), analizu stolice na višestruke ciljane DNK markere (MT-sDNA, od eng. „Multitarget stool DNA testing“), endoskopske testove (kolonoskopija, sigmoidoskopija) te na ostale dijagnostičke testove (CT kolonografija, endoskopija debelog crijeva kapsulom) (153,154).

Jedna od najčešćih korištenih metoda probira na osnovi uzorka stolice je gvajakov test okultne krvi u stolici (gFOBT). Test se temelji na kemijskoj reakciji testnog papira koji je impregniran gvajakovom smolom i hemoglobina. U slučaju pozitivnog nalaza, testni papir peroksidacijskom reakcijom poprima plavu boju. Osjetljivost testa za kolorektalni karcinom je 64-80%, a specifičnost 87-99%, dok pozitivna prediktivna vrijednost varira od 10-60%, a negativna prediktivna vrijednosti testa iznosi 97-99.5%. Postotak pozitivnih gFOBT testova je oko 3% (154–157). Osobe s pozitivnim testom okultne krvi u stolici je potrebno dalje uputiti na kolonoskopiju.

Fekalni imunokemijski test za okultno krvarenje (FIT) se bazira na detekciji antitijela usmjerenih na ljudski hemoglobin. Ima nešto veću osjetljivost od gFOBT koja iznosi 73.8%, uz specifičnost testa od oko 96%. Glavna primjena tog testa bi mogla biti u probiru simptomatskih bolesnika kod kojih je potrebna žurnija kolonoskopija. Iz tog razloga, sve je veći interes za korištenjem FIT-a za okultno krvarenje s niskim pragom detekcije fekalnog hemoglobina. Istraživanjima je pokazano da je kod niže granice detekcije fekalnog hemoglobina (≥ 2 mikrograma/g fecesa) osjetljivost testa iznosila 97%, a negativna prediktivna vrijednost je bila iznad 98% time sugerirajući da jedan kvantitativni FIT test može s značajnom sigurnošću isključiti kolorektalni

karcinom kod simptomatskih bolesnika i omogućiti prioritizaciju resursa kolonoskopije u sredinama gdje ona nije lako dostupna (158).

1.7.2. Dijagnostika kolorektalnoga karcinoma

Proces dijagnosticiranja kolorektalnoga karcinoma se može odviti kroz nekoliko kliničkih scenarija. Prvi scenarij je onaj sekundarne prevencije i testa probira asimptomatskih bolesnika prosječnog rizika kod osoba starijih od 50 godina. Takve osobe se obično nakon pozitivnog testa probira na osnovi uzorka stolice upućuju na daljnju kolonoskopiju. Drugi scenarij je onaj kod asimptomatskih osoba povišenog i visokog rizika kod kojih se na redovitim i frekventnim kolonoskopskim pregledima može otkriti tumorska tvorba u debelom crijevu. Treći način otkrivanja kolorektalnoga karcinoma je u bolesnika koji imaju simptomatsku bolest sa simptomima koji obično potaknu kliničare na daljnje upućivanje bolesnika na kolonoskopski pregled i drugu dijagnostičku obradu. Četvrti način otkrivanja je u bolesnika koji zbog uznapredovale bolesti i novonastalog hitnog stanja poput ileusa i/ili perforacije potraže pomoć u hitnoj službi.

Iz kojeg god kliničkog scenarija (osim novonastalog hitnog stanja) da se pojavi u bolesnika sumnja na kolorektalni karcinom, sljedeći dijagnostički korak je najčešće kolonoskopski pregled. Kolonoskopija je najosjetljiviji i najsvestraniji dijagnostički test za otkrivanje kolorektalnoga karcinoma i premalignih polipa kojim se uz točnu lokalizaciju jedne ili čak više lezija duž cijelog debelog crijeva može učiniti i polipektomija koja uz dijagnostičku ima često i terapijsku svrhu. Prema mnogim provedenim istraživanjima, osjetljivost kolonoskopije za detekciju kolorektalnoga karcinoma u asimptomatskih bolesnika kod iskusnih endoskopičara je oko 95%, uz specifičnost od oko 86%, a postotak kolonoskopijom neprepoznatih kolorektalnih karcinoma iznosi 2-6% (159,160). U bolesnika kod kojih postoji opravdani razlog za neprovođenje kolonoskopije, onih koji odbijaju pretragu ili onih kod kojih zbog nekih drugih razloga nije moguće pretragu u cijelosti provesti, u obzir dolazi učiniti kompjuteriziranu kolonografiju (virtualnu kolonoskopiju) koja nudi CT-om računalno simulirani endoluminalni pregled debelog crijeva. Osjetljivost CT kolonografije za detekciju kolorektalnoga karcinoma u asimptomatskih bolesnika je nešto niža od

kolonoskopije i iznosi oko 84% dok specifičnost pretrage iznosi oko 88% (160). U izoliranim slučajevima u obzir dolazi i primjena endoskopske video kapsule (PILLCAM 2). Iako je kao dijagnostička metoda odobrena od strane europskih i američkih regulatornih tijela, indikacijsko područje nije još u potpunosti definirano.

Određivanje karcinoembrionalnog antigena (CEA) može biti korisno u praćenju učinka provedenog operacijskog zahvata i onkološkog liječenja te ne postoji medicinska opravdanost rutinske upotrebe u probiru kolorektalnoga karcinoma. U posljednje vrijeme se intenzivno istražuju krvni testovi za rano otkrivanje kolorektalnoga karcinoma i ranog poslijeoperacijskog recidiva kao što su metilirani markeri cirkulirajuće DNK (npr. mSEPT9, od eng. "Methylated Septin9") te cirkulirajuća mikro RNK u perifernoj krvi (miRNA, od eng. „Micro RNA“) (161,162).

Definitivna dijagnoza kolorektalnoga karcinoma se postavlja na temelju patohistološke analize uzorka tkiva dobivenog biopsijom pri kolonoskopskom pregledu. Jednom kada je definitivno postavljena dijagnoza kolorektalnoga karcinoma, slijedi određivanje opsega proširenosti bolesti u svrhu optimizacije daljnjeg liječenja i prognoze daljnjeg tijeka bolesti. U slučaju prisustva sinkronih presadnica i/ili recidivne bolesti, preporučuje se učiniti i molekularnu analizu mutacije KRAS i NRAS gena kao i ispitati prisutnost mikrosatelitne nestabilnost budući da rezultati dobivene analize definiraju daljnji tijek onkološkog liječenja (47).

U svrhu prijeoperacijske procjene proširenosti bolesti radi se široka dijagnostička obrada koja uključuje kombinaciju kliničkog pregleda bolesnika (uključujući digitorektalni pregled), kompletnu laboratorijsku dijagnostiku, radiološku dijagnostiku koja najčešće uključuje ultrazvučni pregled abdomena, a ponekad i transrektalni ultrazvučni pregled. Dalje se rutinski koristi kompjuterizirana tomografija (CT, od eng. „Computed tomography“) prsišta, abdomena i zdjelice, magnetska rezonanca (MRI, od eng. „Magnetic resonance imaging“) u slučaju daljnje radiološke evaluacije karcinoma rektuma i u slučaju jetrenih presadnica te ponekad i pozitronska emisijska tomografija (PET, od eng. „Positron emission tomography“) u kombinaciji sa CT-om (PET/CT) (113,114). Dobivenim dijagnostičkim podacima određuje se klinički stadij bolesti koji se označava prefiksom „c“ ispred oznake TNM stadija.

1.8. Kliničko stupnjevanje kolorektalnoga karcinoma

Prvi razvijeni i globalno prihvaćeni sustav za određivanje proširenosti kolorektalnoga karcinoma objavljen je 1932. godine od strane britanskog patologa Dukeša (163). Navedena klasifikacija je doživjela reviziju i nadgradnju od strane američkih autora Astlera i Collera 1954. godine (164). Navedene klasifikacije danas imaju uglavnom samo povijesni značaj te su zamijenjene krajem sedamdesetih godina dvadesetog stoljeća TNM sustavom klasifikacije tumora.

TNM sustav za određivanje stadija proširenosti maligne bolesti danas je globalno priznati standard za klasifikaciju opsega širenja tumora mnogih sijela pa tako i kolorektalnoga karcinoma kod kojeg su dubina invazije tumora, prisutnost tumorom zahvaćenih regionalnih limfnih čvorova te prisutnost udaljenih tumorskih metastaza tradicionalno prepoznati kao važni prognostički faktori (Tablica 1) (57–60).

Određivanje egzaktnog stadija bolesti pomoću TNM sustava omogućava kliničarima provođenje standardiziranih algoritama liječenja, a koji se potom mogu međunarodno i interinstitucionalno uspoređivati (Tablica 2). Primjena navedenog sustava također omogućava procjenu daljnjeg tijeka bolesti koja je najpouzdanija u bolesnika s ranim i uznapredovalim stadijem bolesti (165).

Dobivenim podacima radiološke i endoskopske obrade definira se klinički stadij bolesti koji se označava s prefiksom „c“ ispred oznake TNM stadija (tj. cT, cN, cM). Procjena patološkog stadija bolesti do koje se dolazi nakon histološkog pregleda resekcijskog uzorka označava i definitivni stadij bolesti na koji se oslanjamo pri planiranju daljnjeg liječenja i procjeni prognoze te se naglašava s prefiksom „p“ ispred oznake TNM stadija (tj. pT, pN, pM). Dodatno treba naglasiti da ponekad rezultati provedenog neoadjuvantnog onkološkog liječenja mogu dovesti do značajne kliničke regresije bolesti i promjene u prethodno definiranom kliničkom stadiju bolesti. Patološko stupnjevanje nakon provedenog neoadjuvantnog onkološkog liječenja definira se kao poslijeterapijski stadij i označava se s prefiksom „yp“ (tj. ypT, ypN) (60,113,114).

Tablica 1. Kliničko stupnjevanje kolorektalnoga karcinoma prema osmom AJCC/UICC izdanju TNM klasifikacije malignih tumora iz 2017. godine

Primarni tumor	
TX	Primarni tumor se ne može procijeniti
T0	Bez dokaza primarnog tumora
Tis	Karcinom in situ, intramukozni karcinom (zahvaćenost lamine proprije bez širenja kroz muskularis mukozu)
T1	Tumor zahvaća submukozu (kroz muskularis mukozu, ali ne u muskularis propriju)
T2	Tumor zahvaća muskularis propriju
T3	Tumor prodire kroz muskularis propriju u perikolorektalno tkivo
T4a	Tumor prodire kroz visceralni peritoneum (uključujući makroskopski vidljivu perforaciju crijeva kroz tumor i kontinuiranu invaziju tumora kroz područje upale do površine visceralnog peritoneuma)
T4b:	Tumor direktno zahvaća ili adherira na druge susjedne organe ili strukture
Regionalni limfni čvorovi	
Nx	Regionalni limfni čvorovi se ne mogu odrediti
N0	Bez metastaza u regionalnim limfnim čvorovima
N1	Jedan do tri pozitivna regionalna limfna čvora
N1a	Jedan pozitivan regionalni limfni čvor
N1b	Dva ili tri pozitivna regionalna limfna čvora
N1c	Nema pozitivnih regionalnih limfnih čvorova, ali su prisutni tumorski depoziti u subserozi, mezenteriju ili neperitonealiziranim perikoličnim ili perirektalnim i mezorektalnim tkivima
N2	Četiri ili više pozitivnih regionalnih limfnih čvorova
N2a	Četiri do šest pozitivnih regionalnih limfnih čvorova
N2b	Sedam ili više pozitivnih regionalnih limfnih čvorova
Udaljene metastaze	
M0	Slikovnim pretragama bez udaljenih metastaza, bez dokaza tumora na drugim mjestima ili organima (ovu kategoriju ne određuje patolog)
M1	Metastaze na jednom ili više udaljenih mjesta ili organa
M1a	Metastaze na jednom mjestu ili organu bez peritonealnih metastaza
M1b	Metastaze na dva ili više mjesta ili organa bez peritonealnih metastaza
M1c	Metastaze samo peritonealne površine ili i drugih mjesta ili organa

Tablica 2. Klinički i prognostički stadiji kolorektalnoga karcinoma prema osmom AJCC/UICC izdanju TNM klasifikacije malignih tumora iz 2017. godine

Klinički stadij	T	N	M
Stadij 0	Tis	N0	M0
Stadij I	T1 - T2	N0	M0
Stadij IIA	T3	N0	M0
Stadij IIB	T4a	N0	M0
Stadij IIC	T4b	N0	M0
Stadij IIIA	T1 - T2	N1 / N1c	M0
	T1	N2a	M0
	T3 - T4a	N1 / N1c	M0
Stadij IIIB	T2 - T3	N2a	M0
	T1 - T2	N2b	M0
Stadij IIIC	T4a	N2a	M0
	T3 - T4a	N2b	M0
	T4b	N1 - N2	M0
Stadij IVA	Bilo koji T	Bilo koji N	M1a
Stadij IVB	Bilo koji T	Bilo koji N	M1b
Stadij IVC	Bilo koji T	Bilo koji N	M1c

Prosječno petogodišnje preživljenje za sve stadije kolorektalnoga karcinoma (objedinjeni podaci za karcinom debelog crijeva i karcinom rektuma) prema izvještaju Američkog društva za borbu protiv raka (ACS, od eng. „American Cancer Society“) iznosi oko 65% (3).

Stope preživljenja bolesnika ovisno o dijagnosticiranom stadiju bolesti prema podacima prikupljenih iz SEER baze podataka (od eng. „Surveillance, Epidemiology, and End Results Program“) Nacionalnog instituta za rak (NCI, od eng. „National Cancer Institute“) iz Sjedinjenih Američkih Država iznosi 91% za lokalizirani oblik, 74% za lokalno prošireni i 15% za prošireni oblik kolorektalnoga karcinoma (166).

Nasuprot tome, u istraživanu Honga i suradnika iz 2020. godine, prikazani su još bolji rezultati petogodišnjeg preživljenja i to: 94.7% za I. stupanj, 88.4% za II. stupanj, 74.3% za III. stupanj i 31.5% za IV. stupanj bolesti po TNM klasifikaciji (103).

1.9. Klinička slika kolorektalnoga karcinoma

Kako je već ranije navedeno, proces postavljanja dijagnoze kolorektalnoga karcinoma može se odviti kroz nekoliko kliničkih scenarija. Ako se izuzmu ranije spomenuti scenariji sekundarne prevencije te scenarij kod osoba povišenog i visokog rizika kod kojih se na redovitim i kolonoskopskim pregledima može otkriti tumorska tvorba u debelom crijevu, sljedeći scenarij postavljanja dijagnoze je onaj kod simptomatskih bolesnika koji mogu, ali i ne moraju, biti popraćeni prisustvom hitnog stanja poput nastanka perforacije ili ileusa.

Najčešći simptomi kolorektalnoga karcinoma su neki od oblika pojave krvi na analni otvor, bol ili općenito nelagoda u abdomenu, bol u anorektalnom području koja može biti praćena tenezmima, promjene u ritmu pražnjenja stolice i kronični umor zbog anemije. Pojava krvi na analni otvor može se prezentirati kao hematohezija ili rektoragija. Hematohezija je pojava crvene ili smeđe neprobavljene krvi pomiješane sa stolicom i može biti simptom tumorske bolesti debelog crijeva, obično smještene proksimalnije od anorektalne regije. Rektoragija predstavlja evakuaciju svijetlocrvene krvi na analni otvor koja nije pomiješana sa stolicom i može biti simptom tumorske bolesti debelog crijeva u području same anorektalne regije.

Postoje neke razlike u kliničkoj prezentaciji simptomatskog kolorektalnoga karcinoma ovisno o lokalizaciji. Tako tumori smješteni u desnom kolonu (cekum, uzlazni dio debelog crijeva, poprečni dio debelog crijeva do razine slezenskog pregiba) najčešće se kasnije prezentiraju zbog egzofitičnog rasta i kasne pojave znakova opstrukcije lumena. Najčešći simptomi su nekarakteristična i nespecifična tupi bol, a ponekad u kasnijoj fazi bolesti i palpabilna tumorska masa u području desne strane abdomena, tamnija stolica s tragovima stare i tamne krvi te kronični umor zbog anemije.

Tumori smješteni u lijevoj strani kolona (distalno od slezenskog pregiba) najčešće se prezentiraju s grčevitim bolovima obično u području lijeve strane abdomena, svijetlom krvi pomiješanom sa stolicom kao i promjenama u ritmu pražnjenja stolice, a ponekad i sa suženim kalibrom stolice. Najčešći simptomi tumora smještenih u rektumu uključuju rektoragiju ili pojavu svijetle krvi u stolici, osjećaj nepotpunog pražnjenja crijeva nakon defekacije i tenezme. Daljnjom progresijom

bolesti može doći do razvoja potpune opstrukcije prolaska sadržaja kroz debelo crijevo, tj. do razvoja mehaničkog ileusa, a ponekad i do nastanka perforacije, peritonitisa i sepse.

Načelno govoreći, kolorektalni karcinom u svojoj ranoj fazi je najčešće asimptomatska bolest i njegovo otkrivanje je najčešće rezultat nekog od testova probira. Smatra se da se oko 70-80% kolorektalnih karcinoma dijagnosticira u simptomatskoj fazi bolesti. Lokalizacija tumora u debelom crijevu i njegova veličina su dva najvažnija faktora o kojem ovisi klinička slika kod simptomatskih bolesnika. Također, potrebno je reći da se kod simptomatskih bolesnika najčešće radi o uznapredovalijem stadiju bolesti, a time i najčešće i o lošijoj prognozi bolesti (167).

U istraživanju Amri i sur. pokazalo se je da su bolesnici koji su se prezentirali sa simptomatskom bolesti i kod kojih dijagnoza kolorektalnoga karcinoma nije postavljena putem testova probira bili u većem riziku za prisustvo lokalno uznapredovalijeg tumora ($\geq T3$) (RR 1.96; $p < .001$), zahvaćenost limfnih čvorova (RR 1,92; $p < .001$) i metastatski oblik bolesti (RR 3.37; $p < .001$) (168).

1.10. Liječenje kolorektalnoga karcinoma

Važan napredak u liječenju kolorektalnoga karcinoma je postignut u razvoju multidisciplinarnog pristupa kroz suradnju različitih medicinskih specijalnosti. Svaki novootkriveni slučaj kolorektalnoga karcinoma trebao bi se razmotriti unutar multidisciplinarnog tima koji obično uključuje abdominalnog kirurga, onkologa, gastroenterologa, radiologa i patologa. Kroz suradnju i koordinaciju različitih stručnjaka, multidisciplinarni pristup osigurava da bolesnici dobiju sveobuhvatnu i personaliziranu skrb koja odražava najnovija medicinska saznanja i najbolje prakse zasnovane na dokazima iz recentne medicinske literature. Istraživanja su pokazala da je donošenje odluka o optimalnom modalitetu liječenja bolesnika oboljelih od kolorektalnoga karcinoma putem odluka multidisciplinarnog tima povezano s boljim ishodima liječenja (169,170).

1.10.1. Kirurško liječenje

Kirurško liječenje kolorektalnoga karcinoma u slučaju lokalizirane bolesti je jedini potencijalno kurabilan način liječenja. Smatra se da se u 70-80% bolesnika s novootkrivenim kolorektalnim karcinomom radi o resektabilnim oblikom bolesti gdje se kirurškoj resekciji pristupa s potencijalno kurabilnom namjerom (113,114,171). Za razumijevanje principa kirurškog liječenja kolorektalnoga karcinoma potrebno je temeljito poznavanje arterijske, venske i limfne anatomije debelog crijeva i rektuma. Cilj kirurške resekcije je potpuno odstranjenje tumora zajedno s pripadajućim mezenterijem debelog crijeva ili kolorektuma, a koji uključuje limfni drenažni sustav i ishodišta krvnih žila koje dreniraju odnosno opskrbljuju pripadajući segment debelog crijeva, odnosno rektuma (172).

Navedeno se postiže primjenom kompletne mezokolične ekscizije (CME, od eng. „Complete mesocolic excision“) zajedno s centralnim podvezom ishodišta krvnih žila (CVL, od eng. „Central vascular ligation) (172,173). U slučaju infiltracije tumorom ostalih susjednih anatomskih organa ili struktura, potrebno je učiniti tzv. „En block“ resekciju koja uz resekciju zahvaćenog segmenta debelog crijeva ili rektuma uključuje

i kiruršku resekciju zahvaćenog susjednog organa ili tkiva kao jedinstvenog i neodvojivog kirurško-patološkog preparata. (102,172–174).

Osim navedenih osnovnih principa onkološke kirurgije, potrebno je pri kirurškoj resekciji postići mikroskopski dokazanu odsutnost tumorskih stanica na resekcijskom rubu (tzv. R0 resekcija). Kirurški resekcijski rubovi u liječenju kolorektalnoga karcinoma uključuju proksimalni i distalni longitudinalni resekcijski rub (LRM, od eng. „Longitudinal resection margin“) te radijalni ili cirkumferencijski resekcijski rub (CRM, od eng. „Circumferential resection margin“).

Smatra se da je za kolon potrebno postići negativan proksimalni i distalni longitudinalni resekcijski rub u duljini od najmanje 5 cm. U kirurškom liječenju karcinoma rektuma, potrebno je postići negativan proksimalni resekcijski rub od barem 5 cm i distalni resekcijski rub od barem 1-2 cm u slučaju sfinkter-prezervirajućeg operacijskog zahvata uz negativan cirkumferencijski resekcijski rub od najmanje 1 mm udaljenosti od mezorektalne fascije. Dokazano je da CRM jedan je od najvažnijih prognostičkih čimbenika pojave lokalnog recidiva i sveukupnog preživljenja kod karcinoma rektuma (106,107,175,176).

Radikalni kirurški zahvati u liječenju karcinoma rektuma uključuju sfinkter-prezervirajuće operacijske zahvate (visoka prednja resekcija, niska prednja resekcija, ultra-niska prednja resekcija) i abdominoperinealnu ekstirpaciju rektuma. Sfinkter-prezervirajući operacijski zahvati su metoda izbora za one bolesnika koji ne ispunjavaju uvjete za lokalnu eksciziju tumora, a ispunjavaju sve sljedeće kriterije: karcinom rektuma stadija T2-T4 s negativnim distalnim rubom od najmanje 1-2 cm i očuvana funkcija analnog sfinktera (102,172).

Abdominoperinealna ekstirpacija rektuma prethodno je bila zlatni standard u kirurškom liječenju karcinoma niskog rektuma. Razvojem kirurške tehnike, naročito uređaja za mehaničko šivanje (staplera) i primjenom neoadjuvantne kemoradioterapije, ovaj kirurški zahvat sve više ustupa mjesto prethodno opisanim sfinkter-prezervirajućim operacijskim zahvatima. Međutim, abdominoperinealna ekstirpacija rektuma još uvijek služi kao metoda izbora za sve one bolesnike s karcinomom niskog rektuma stadija T2-T4 kod kojih nije moguće postići slobodan distalni resekcijski rub od najmanje 1-2 cm kao i kod lokalno uznapredovalog

karcinoma rektuma s infiltracijom analnog sfinkternog mehanizma i kod onih bolesnika s lošom prijeoperacijskom funkcijom analnog sfinkternog mehanizma (102,172).

Adekvatna kirurška tehnika podrazumijeva i minimalnu manipulaciju tumorom zahvaćenog segmenta debelog crijeva ili rektuma (tzv. „No-touch“ tehnika). Pokazalo se je da primjena navedenih kirurških principa utječe na uspjeh liječenja u smislu smanjenja postotka lokalnih recidiva, udaljenih metastaza te povećanje stope ukupnog preživljenja. Pri pripremi debelog crijeva za resekciju, potrebno je postići maksimalnu mobilizaciju kolona iz inicijalne anatomske pozicije kolona koji je prirastao svojim mezenterijem za retroperitoneum i stvorio polja tzv. „sekundarnog peritoneuma“ (172,177,178).

Ukupna duljina reseciranog segmenta debelog crijeva nije određena onkološkim zahtjevom za udaljenosti resekcijskih rubova od tumora, već je uvjetovana opskrbnim područjem krvnih žila koje opskrbljuju preostali dio debelog crijeva, a nakon prethodno učinjenog visokog podveza krvnih žila zbog poštivanja onkološkog principa centralne limfadenektomije. Poštivanje ovih načela osigurava adekvatnu vaskularizaciju stijenke crijeva buduće anastomoze koja mora biti dobro vaskularizirana i bez napetosti (102,172).

Izbor najadekvatnijeg kirurškog pristupa i strategije prilagođava se općem stanju bolesnika i procjeni rizika operacijskog zahvata, stupnju uznapredovalosti tumorske bolesti, hitnosti zahvata (elektivni ili hitni), kliničkom iskustvu operatera kao i dostupnosti napredne (npr. minimalno invazivne) kirurške opreme i rane poslijeoperacijske skrbi.

1.10.1.1. Uloga limfadenektomije u kirurškom liječenju kolorektalnoga karcinoma

Limfni sustav debelog crijeva počinje u stijenci crijeva kao pleksus koji se nalazi ispod lamine proprije i drenira se u submukozni intramuskularni limfatični sustav crijevne stijenke. Subserozni sloj se drenira preko epikoličnih limfnih čvorova koji su smješteni na seroznoj strani, između stijenke crijeva i arterijskih arkada i dreniraju se u parakolične limfne čvorove koji slijede tijekom marginalnih arterija. Epikolični i parakolični limfni čvorovi kao najvjerojatnija mjesta regionalne metastatske bolesti predstavljaju većinu limfnih čvorova debelog crijeva. Parakolični limfni čvorovi se dreniraju dalje u intermedijarne čvorove koji slijede glavne opskrbe krvne žile debelog crijeva (ileokolična arterija, desna, srednja i lijeva količna arterija). Intermedijarni čvorovi se naposljetku dreniraju u centralne limfne čvorove koji se nalaze uz ishodište gornje i donje mezenterične arterije. Razinom iznad razine centralnih limfnih čvorova se smatraju retroperitonealni, paraaortalni i parakavalni limfni čvorovi. Njihova limfadenektomija se ne radi rutinski i ne smatra se potencijalno kurabilnim tretmanom. Svrha joj je u preciznijem određivanju stadija bolesti, budući da se po najnovijoj TNM klasifikaciji (TNM 8) smatra da se u tom slučaju radi o proširenoj bolesti u neregionalne limfne čvorove (M1a) (60). Limfna drenaža gornje 1/3 rektuma odvija se preko pararektalnih limfnih čvorova koji se ulijevaju u donje mezenterične čvorove, a limfna drenaža donje 2/3 rektuma otječe u unutarnje ilijačne limfne čvorove.

Cilj limfadenektomije u kolorektalnoj kirurgiji je u što točnijem određivanju stadija bolesti i u odstranjenju što većeg broja, tumorskim stanicama zahvaćenih, limfnih čvorova i na taj način pokušaja postizanja kontrole bolesti već pri samom operacijskom zahvatu. Broj limfnih čvorova odstranjenih u bloku zajedno s pripadajućim mezenterijem debelog crijeva ili kolorektuma je mjerilo kvalitete kirurške tehnike, ali i mjerilo kvalitete patohistološke analize u pregledu reseciranog kirurškog preparata.

Pokazalo se je da postoji izravna korelacija između broja izoliranih limfnih čvorova nakon kirurške resekcije i ukupnog preživljenja bolesnika (179). Odstranjenje i izoliranje manje od 12 limfnih čvorova u reseciranom preparatu prepoznato je kao visokorizični čimbenik za kolorektalni karcinom II. stadija (111–114,180). Preporuka je međunarodnih stručnih smjernica limfadenektomija i procjena najmanje 12 izoliranih limfnih čvorova radi adekvatnog određivanja stadija bolesti (181–183). U slučaju

pozitivnih limfnih čvorova (N1-2), petogodišnje preživljenje iznosi oko 74% u slučaju N1 bolesti i 51% u slučaju N2 bolesti. Zanimljivo je i da navedeni podaci također variraju ovisno o ukupnom broju odstranjenih i pregledanih limfnih čvorova u kirurškom uzorku pri čemu se bolje preživljenje povezuje s većim brojem pregledanih limfnih čvorova (102). U slučaju manje od 12 izoliranih limfnih čvorova II. stadija, bolesnicima je potrebno ponuditi adjuvantnu kemoterapiju čak i ako nemaju dokazanu metastatsku bolest u ostatku pregledanih limfnih čvorova (179,184).

Koncept totalne mezorektalne ekscizije kod karcinoma rektuma (TME, od eng. „Total mesorectal excision“) je predstavljen od strane Healda 1982. godine i označava odstranjenje rektuma zajedno s mezorektumom i intaktnom mezorektalnom fascijom s mikroskopski negativnom cirkumferencijskom marginom. Uvođenjem totalne mezorektalne ekscizije značajno je smanjena stopa lokalnog recidiva bolesti nakon kirurškog zahvata u bolesnika s karcinomom rektuma. Tako je Heald 1986. godine prikazao rezultate petogodišnjeg praćenja operiranih bolesnika s karcinomom rektuma i sa stopom recidiva od 4% te ukupnim petogodišnjim preživljenjem od 87% (185). Kao ekvivalent ranije predstavljenom konceptu totalne mezorektalne ekscizije kod karcinoma rektuma od strane Hohenbergera je 2009. godine predstavljen precrtani koncept kompletne mezokolične ekscizije (CME, od eng. „Complete mesocolic excision“) i na ostatak debelog crijeva. Isti podrazumijeva preciznu kiruršku disekciju i odvajanje visceralne fascije mezokolona od parijetalne fascije uz kompletnu mobilizaciju intaktnog mezokolona, zajedno s centralnim podvezom magistralnih arterija kolona i centralnom limfadenektomijom. Primjenom navedenog koncepta osigurava se bolja kvaliteta reseciranog preparata koja uz dulji resecirani segment debelog crijeva i višom razinom podveza krvnih žila, u pravilu, nosi i značajno veći broj odstranjenih limfnih čvorova (173,186). Pokazalo se je da navedeni kirurški koncept također dovodi i do smanjena stope lokalnog recidiva bolesti (11% nasuprot 16%, $p=0.028$) i povećanja stope preživljenja bez znakova povrata bolesti (73.4% nasuprot 85.8%, $p=0.0014$) (187).

Od strane Japanskog društva za karcinom kolona i rektuma (JSCCR, od eng. „Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum“) predstavljen je sličan koncept „D3 limfadenektomije“ koji podrazumijeva ekstenzivno uklanjanje limfnih čvorova u području ishodišta magistralnih arterija kolona zajedno u jedinstvenom kirurško-patološkom preparatu obavijenom fascijom mezokolona (188). Provedenim

metaanalizama je dokazano da primjena navedenih kirurških principa (CME+CVL/D3) dovodi do statistički značajnog smanjenja stope lokalnog recidiva bolesti i značajno poboljšanja stope ukupnog preživljenja bolesnika (187,189). Navedeni kirurški koncepti liječenja (CME+CVL/D3) označavaju ekstenzivnije operacijske zahvate koji često mogu biti praćeni većom stopom poslijeoperacijskog morbiditeta i mortaliteta (190,191).

Nasuprot D3 limfadenektomiji, manje radikalni kirurški pristupi su „D1 limfadenektomija“ (odstranjenje epikoličnih i parakoličnih limfnih čvorova unutar 5cm od tumora) i D2 limfadenektomija koja podrazumijeva odstranjenje epikoličnih i parakoličnih limfnih čvorova 5-10 cm od tumora i odstranjenje intermedijarnih, ileokoličnih limfnih čvorova te limfnih čvorova uz desnu, srednju i lijevu količnu arteriju. Uzimajući u obzir veću stopu poslijeoperacijskog morbiditeta i mortaliteta, D2 limfadenektomija bi mogla biti alternativa u liječenju cT2N0NO tumora u starijih bolesnika s većim perioperacijskim rizikom (192).

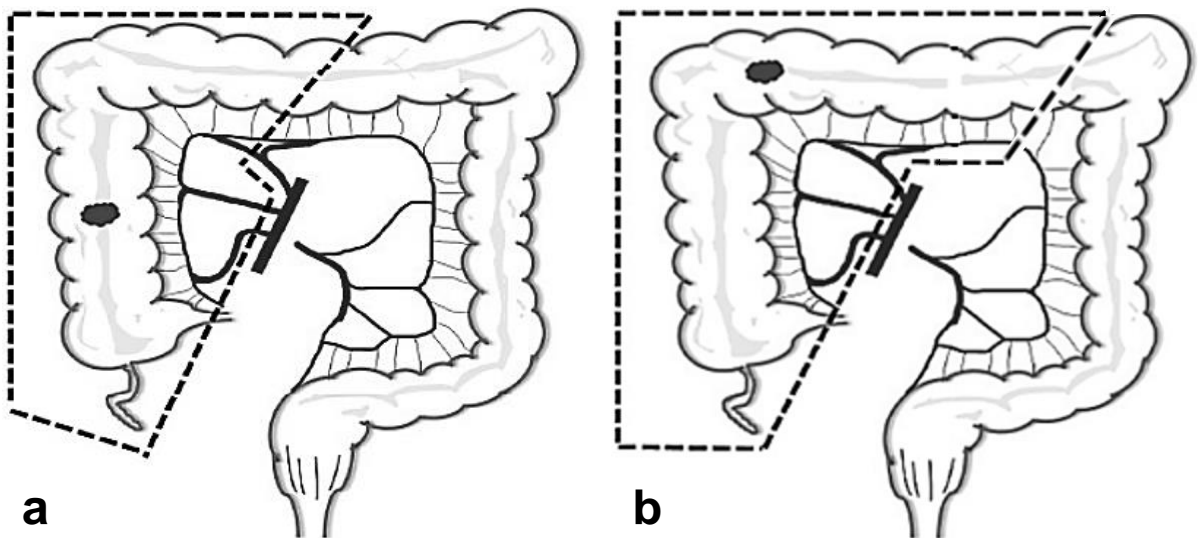
1.10.1.2. Elektivni reseksijski zahvati u kolorektalnoj kirurgiji

U resekcijama kolorektalnoga karcinoma koriste se više-manje standardizirani kirurški zahvati koji ovise o lokalizaciji tumora, vaskularnoj opskrbi i limfnoj drenaži zahvaćenog segmenta debelog crijeva ili rektuma. Za tehnički kvalitetno izvedenu anastomozu potrebno je osigurati adekvatnu vaskularizaciju stijenke crijeva kao i adekvatnu mobilizaciju kolona iz inicijalne anatomske pozicije kolona koji je prirastao svojim mezenterijem za retroperitoneum čime se prevenira napetost buduće anastomoze. Kako je već ranije naglašeno, ukupna duljina reseciranog segmenta debelog crijeva nije određena onkološkim zahtjevom za udaljenosti reseksijskih rubova od tumora, već je uvjetovana opskrbnim područjem krvnih žila koje opskrbljuju preostali dio debelog crijeva, a nakon prethodno učinjenog visokog podveza krvnih žila zbog poštivanja onkološkog principa centralne limfadenektomije (172,181).

Kod desne hemikolektomije koja se koristi u kirurškom liječenju tumora cekuma i uzlaznog dijela debelog crijeva, radi se resekcija najdistalnijih 10-15 cm terminalnog ileuma, cekuma, uzlaznog dijela debelog crijeva, jetrenog pregiba (hepatalne fleksure) i poprečnog dijela debelog crijeva proksimalno od ishodišta srednje količne arterije.

Pri tome se radi visoki podvez na ishodištu ileokolične arterije, desne količne arterije i desne grane srednje količne arterije zajedno s pripadajućim magistralnim venama uz centralnu limfadenektomiju. Kontinuitet probavne cijevi se obično uspostavlja formiranjem latero-lateralne ileokolotransverzalne anastomoze (Slika 3a) (102,172).

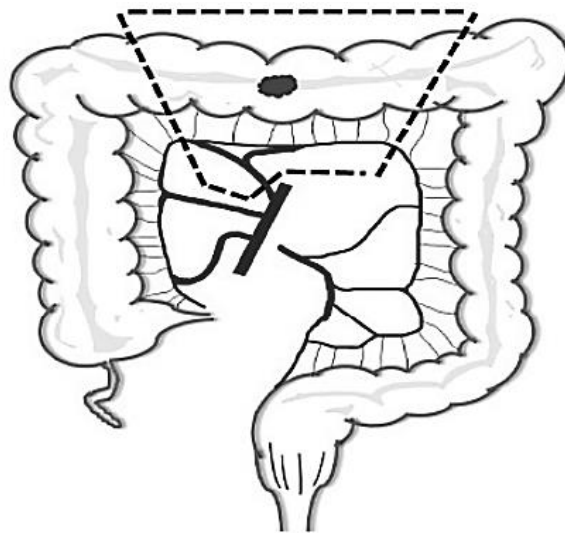
U slučaju tumora jetrenog pregiba i proksimalnog dijela poprečnog dijela debelog crijeva mora se učiniti proširena desna hemikolektomija s visokim podvezom glavnog debla srednje količne arterije i srednje količne vene uz centralnu limfadenektomiju. Time se mjesto resekcije pomiče više prema distalnom dijelu poprečnog dijela debelog crijeva, a kontinuitet probavne cijevi se također uspostavlja formiranjem latero-lateralne ileokolotransverzalne anastomoze (Slika 3b) (102,172).



Slika 3. (a) Prikaz opsega resekcije desne hemikolektomije zbog karcinoma uzlaznog dijela debelog crijeva; **(b)** Prikaz opsega resekcije proširene desne hemikolektomije zbog karcinoma jetrenog pregiba
Preuzeto i modificirano prema: Huang Z-X, Zhou Z, Shi H-R, Li T-Y, Ye S-P. Postoperative complications after robotic resection of colorectal cancer: An analysis based on 5-year experience at a large-scale center. WJGS. 2021;13(12):1660–72.

Kod resekcije poprečnog dijela debelog crijeva postoje kontroverze i neslaganja glede zadovoljavanja onkoloških principa pri izvođenju ovakvog oblika resekcije te se u tom slučaju često preferira proširena desna ili proširena lijeva hemikolektomija. Međutim, resekcija transverznog kolona može biti metoda izbora u odabраних bolesnika starije dobi, s izraženim komorbiditetima, kojom se želi smanjiti rizik od

poslijeoperacijske dijareje ili smanjiti rizik od dehiscence anastomoze. Postupak često zahtijeva mobilizaciju desnog i lijevog kolona, zajedno s jetrenim i slezenskim pregibom kako bi se stvorili uvjeti za dobro vaskulariziranom anastomozom uzlaznog i silaznog kolona bez napetosti. Kontinuitet probavne cijevi se u tom slučaju obično uspostavlja formiranjem termino-terminalne kolokoloične anastomoze (Slika 4) (102,172,193).

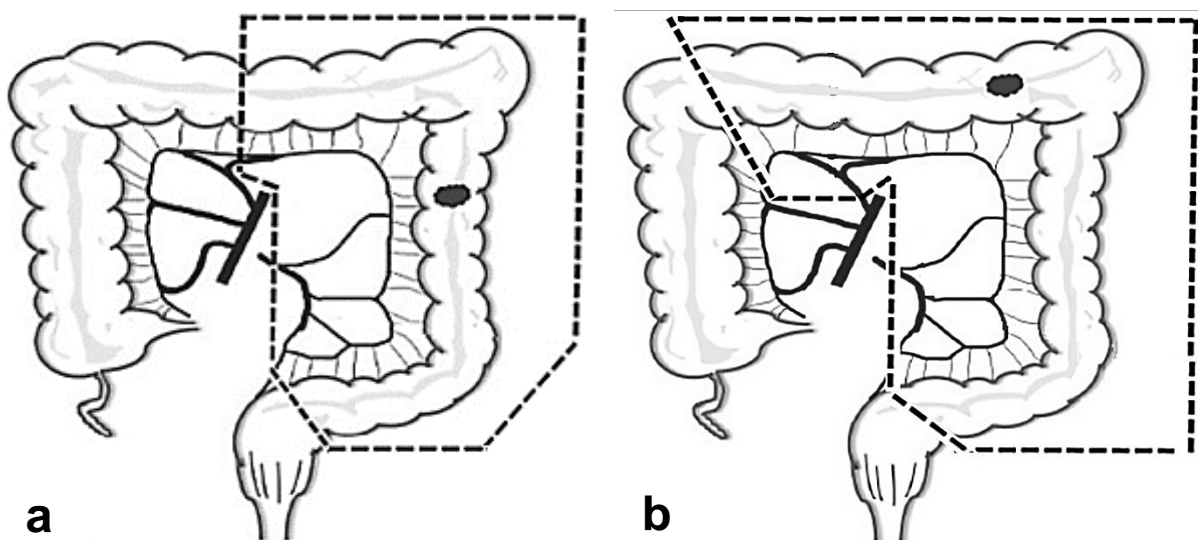


Slika 4. Prikaz opsega resekcije poprečnog dijela debelog crijeva zbog karcinoma

Preuzeto i modificirano prema: Huang Z-X, Zhou Z, Shi H-R, Li T-Y, Ye S-P. Postoperative complications after robotic resection of colorectal cancer: An analysis based on 5-year experience at a large-scale center. WJGS. 2021;13(12):1660–72.

Lijeva hemikolektomija se koristi u kirurškom liječenju karcinoma silaznog dijela debelog crijeva i sigmoidnog kolona te označava resekciju poprečnog dijela debelog crijeva distalno od desnog ogranka srednje količne arterije, silaznog dijela debelog crijeva, sigmoidnog kolona i rektosigmoidnog prijelaza do razine proksimalnog rektuma. Pri tome se radi podvez lijevog ogranka srednje količne arterije te visoki podvez donje mezenterične arterije na ishodištu iz aorte, kao i visoki podvez donje mezenterične vene uz donji rub gušterače, uz centralnu limfadenektomiju i prezervaciju hipogastričnih živaca. Pri tome, distalna razine resekcije debelog crijeva je u području proksimalnog rektuma, a kontinuitet probavne cijevi se obično uspostavlja formiranjem staplerske termino-terminalne kolorektalne anastomoze (Slika 5a) (172,173,193).

U slučaju tumora smještenih u području slezenskog pregiba, kao i u slučajevima nedovoljno kvalitetne vaskularne opskrbe preostalog dijela debelog crijeva, potrebno je učiniti proširenu lijevu hemikolektomiju uz visoki podvez srednje količne arterije i vene, pomičući proksimalnu razinu resekcije prema jetrenom pregibu ili čak uzlaznom dijelu debelog crijeva koje ostaje vaskularno opskrbljeno putem ileokolične arterije, odnosno desne količne arterije. I kod ovog oblika resekcije, radi se visoki podvez donje mezenterične arterije na ishodištu iz aorte, kao i visoki podvez donje mezenterične vene uz donji rub gušterače, uz centralnu limfadenektomiju i prezervaciju hipogastričnih živaca. Distalna razina resekcije debelog crijeva je obično u području proksimalnog rektuma, a kontinuitet probavne cijevi se obično uspostavlja formiranjem staplerske termino-terminalne kolorektalne anastomoze (Slika 5b) (172,193).



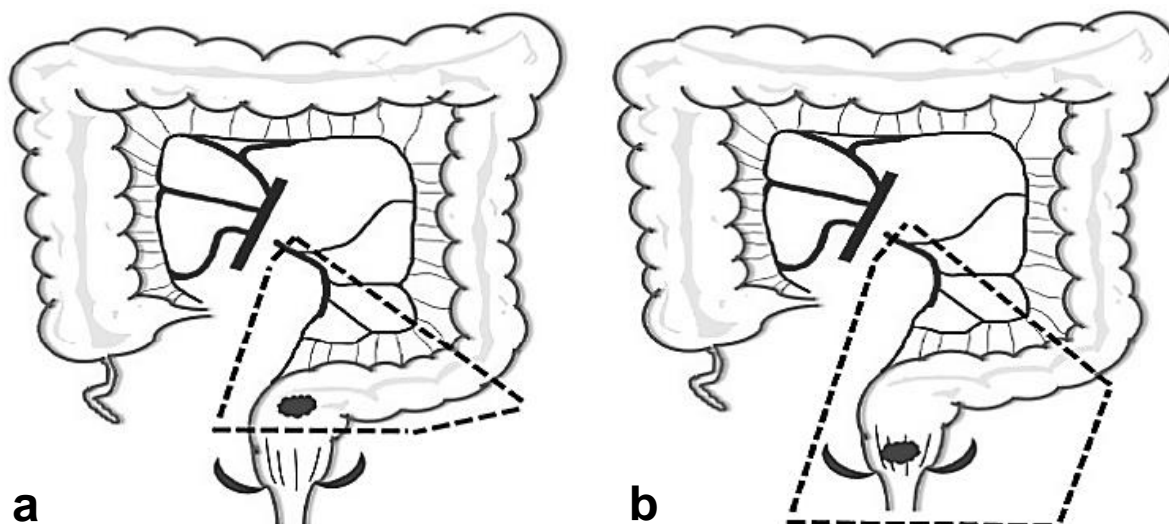
Slika 5. (a) Prikaz opsega resekcije lijeve hemikolektomije zbog karcinoma silaznog dijela debelog crijeva **(b)** Prikaz opsega resekcije proširene lijeve hemikolektomije zbog karcinoma slezenskog pregiba

Preuzeto i modificirano prema: Huang Z-X, Zhou Z, Shi H-R, Li T-Y, Ye S-P. Postoperative complications after robotic resection of colorectal cancer: An analysis based on 5-year experience at a large-scale center. WJGS. 2021;13(12):1660–72.

Prednja resekcija rektuma se koristi u kirurškom liječenju karcinoma rektosigmoidnog prijelaza i rektuma te označava resekciju rektosigmoidnog kolona i rektuma uz visoki podvez donje mezenterične arterije na ishodištu iz aorte, kao i visoki

podvez donje mezenterične vene uz donji rub gušterače, uz centralnu limfadenektomiju, prezervaciju hipogastričnih živaca te totalnu mezorektalnu eksciziju i očuvanje mezorektalne fascije koja mora ostati intaktna. Prednja resekcija rektuma je indicirana kod svih onih bolesnika koji ne ispunjavaju uvjete za lokalnu eksciziju tumora, a ispunjavaju sve sljedeće kriterije: karcinom visokog, srednjeg ili niskog rektuma stadija T2-T4 s negativnim distalnim rubom od najmanje 1-2 cm i očuvanom funkcijom analnog sfinktera. Za karcinome srednjeg i niskog rektuma, potrebno je učiniti totalnu mezorektalnu eksciziju sve do razine anorektalnog prijelaza, a za karcinome visokog rektuma je dopušteno učiniti mezorektalnu eksciziju najmanje 5 cm distalno od donjeg ruba tumora. Distalna reseksijska margina na stijenci crijeva od 1-2 cm je prihvatljiva u slučaju niskih karcinoma rektuma koji su smješteni unutar 5 cm od anokutane granice. Proksimalno je potrebno učiniti mobilizaciju debelog crijeva u području slezenskog pregiba osiguravajući time dovoljnu duljinu debelog crijeva za stvaranje anastomoze bez napetosti na razini silaznog dijela debelog crijeva, a koje je obično vaskularno dobro opskrbljeno ograncima srednje količine arterije. Kontinuitet probavne cijevi se obično uspostavlja formiranjem staplerske termino-terminalne koloanalne anastomoze (Slika 6a) (172,173,181,193).

Abdominoperinealna ekstirpacija rektuma je metoda izbora za sve one bolesnike s karcinomom niskog rektuma stadija T2-T4 kod kojih nije moguće postići slobodan distalni reseksijski rub od najmanje 1-2 cm kao i kod lokalno uznapredovalog karcinoma niskog rektuma sa infiltracijom analnog sfinkternog mehanizma te kod onih bolesnika s lošom prijeoperacijskom funkcijom analnog sfinkternog mehanizma. Abdominoperinealnom ekstirpacijom nakon visokog podveza donje mezenterične arterije na ishodištu iz aorte, visokog podveza donje mezenterične vene uz donji rub gušterače, uz centralnu limfadenektomiju, prezervaciju hipogastričnih živaca te totalnu mezorektalnu eksciziju, resekira se rektosigmoidni kolon i anus sa sfinkternim mehanizmom, a proksimalni dio preostalog silaznog dijela debelog crijeva se izvede na prednju trbušnu stijenku kao trajna terminalna kolostoma (Slika 6b) (172,193).



Slika 6. (a) Prikaz opsega visoke prednje resekcije rektuma zbog karcinoma visokog rektuma **(b)** Prikaz opsega abdominoperinealne ekstirpacije rektuma zbog karcinoma niskog rektuma

Preuzeto i modificirano prema: Huang Z-X, Zhou Z, Shi H-R, Li T-Y, Ye S-P. Postoperative complications after robotic resection of colorectal cancer: An analysis based on 5-year experience at a large-scale center. WJGS. 2021;13(12):1660–72.

1.10.1.3. Lokalni ekscizijski zahvati u kolorektalnoj kirurgiji

Većina kolorektalnih karcinoma potječe iz polipa (adenoma). Benigni adenomi, kao i oni adenomi s teškom displazijom ili karcinomi in situ, mogu se učinkovito liječiti endoskopskom polipektomijom sve dok su resekcijski rubovi slobodni od tumorskih stanica. U slučaju invazivnog karcinoma, kod kojeg se maligne stanice šire kroz muskularis mukoze u submukozu (T1) postoji određeni maligni potencijal za daljnje širenje u regionalne limfne čvorove. Provedenim istraživanjima je dokazano da u T1 sm1 malignih polipa vjerojatnost za prisutnost metastaza u limfnim čvorovima iznosi 3-4%, a u slučaju T1 sm3 malignih polipa ona iznosi preko 23% (188,194).

U smjernicama Američkog društva kolorektalnih kirurga (ASCRS, od eng. „American Society of Colon and Rectal Surgeons“) iz 2022. preporučuje se daljnje kirurško liječenje za bolesnike s pT1 karcinomom debelog crijeva nakon pokušaja endoskopske resekcije kada je prisutan barem jedan od sljedećih histoloških rizičnih čimbenika: slabo diferencirani tumor (HG), limfovaskularna invazija (LVI), perineuralna invazija (PNI), tumorsko pupanje, pozitivne tumorske stanice na resekcijskoj margini (≤ 2 mm od ruba), submukozna invazija ≥ 1 mm (148,174).

Transanalne ekscizije u kolorektalnoj kirurgiji predstavljaju metodu izbora za bolesnike oboljele od ranog oblika karcinoma rektuma niskog malignog potencijala, kao i za one bolesnike koji boluju od uznapredovalog oblika bolesti, a loše opće stanje onemogućuje izvođenje radikalnog operacijskog zahvata. Zbog većeg rizika od nastanka recidiva bolesti u usporedbi s radikalnom kirurškom resekcijom, prije planirane lokalne ekscizije, moraju se u prijeoperacijskoj dijagnostičkoj obradi zadovoljiti svi navedeni kriteriji: površinski Tis i T1 rektalni karcinom bez znakova fiksacije tumora za površinu stijenke crijeva, promjer tumora manji od 3 cm sa zahvaćenošću manjom od 30% opsega lumena crijeva, mogućnost postizanja slobodnih resekcijskih rubova bez radioloških znakova proširenosti bolesti, povoljan patohistološki poslijeoperacijski nalaz, dobra suradljivost bolesnika i spremnost za intenzivno poslijeoperacijsko praćenje (195,196).

Tehnike lokalne ekscizije su transanalna ekscizija (TAE, od eng. „Transanal excision“) i transanalna endoskopska kirurgija (TES, od eng. „Transanal endoscopic surgery“). Transanalna endoskopska kirurgija podrazumijeva suvremenije kirurške tehnike gdje se posrednim optičkim sustavom te posebno dizajniranim kirurškim instrumentima ostvaruje transanalni pristup nisko smještenim tumorima rektuma. U usporedbi s konvencionalnom transanalnom ekscizijom, transanalna endoskopska kirurgija omogućuje bolju vizualizaciju i pristup te je povezana s manjom učestalošću lokalnog recidiva bolesti. Kirurške tehnike transanalne endoskopske kirurgije su: transanalna endoskopska mikrokirurgija (TEM, od eng. „Transanal Endoscopic Microsurgery“), transanalna endoskopska operacija (TEO, od eng. „Transanal Endoscopic Operation“) i transanalna minimalno invazivna kirurgija (TAMIS, od eng. „Transanal minimally invasive surgery“) (196–199).

1.10.1.4. Uloga minimalno invazivne kirurgije u liječenju kolorektalnoga karcinoma

Radikalna kirurška resekcija kolorektalnoga karcinoma danas se može izvesti otvorenim kirurškim zahvatom, laparoskopskim putem i primjenom robotske kirurgije. Razvojem laparoskopske i robotske kirurgije, tradicionalna otvorena kirurška metoda za liječenje kolorektalnoga karcinoma postupno je ustupila mjesto naprednijim

minimalno invazivnim kirurškim pristupima. Minimalno invazivni pristupi posebno u kombinaciji s primjenom ERAS protokola za ubrzan oporavak bolesnika nakon operacijskih zahvata (ERAS, od eng. „Enhanced Recovery After Surgery“) nose sa sobom prednosti kao što su: brži oporavak bolesnika nakon operacijskog zahvata, kraći boravak u bolnici, smanjena potreba za analgetskom terapijom, smanjena učestalost poslijeoperacijskih komplikacija, estetski prihvatljiviji ožiljak nakon operacije, smanjeni rizik od razvoja poslijeoperacijskih adhezija i intestinalnih opstrukcija te općenito veće zadovoljstvo operiranih bolesnika (200,201). Brojnim provedenim istraživanjima nisu zabilježene statistički značajne razlike između laparoskopskog i otvorenog kirurškog pristupa glede krajnjih onkoloških ishoda. Tako i u rezultatima multicentričnog randomiziranog istraživanja u COST studiji provedenoj u SAD-u su uspoređujući dva navedena kirurška pristupa ostvareni gotovo identični rezultati glede petogodišnjeg preživljenja bez znakova povrata bolesti (69% nasuprot 68%, $p=0.94$) i u ukupnog preživljenja (76% nasuprot 75%, $p=0.93$) (202).

Robotska kirurgija predstavlja najnoviji tehnološki napredak koji kombinira prednosti laparoskopskog pristupa s nekim prednostima otvorene (klasične) kirurške tehnike. Razvijena je kako bi prevladala ograničenja laparoskopske kirurgije i omogućila kirurzima još veći spektar naprednih tehničkih mogućnosti tijekom izvođenja operacijskih zahvata. Osim toga, ovi postupci će u budućnosti omogućiti kirurške zahvate na velike udaljenosti kao jednu od prednosti ovog naprednog sustava (203,204).

Minimalno invazivni pristupi također imaju svoje nedostatke poput: duže krivulje učenja, većih troškova korištenja i održavanja opreme te ograničenja nametnuta od samih bolesnika (kao što su pretilost ili teške intraabdominalne adhezije zbog ranijih operacijskih zahvata). Važno je istaknuti da odabir kirurškog pristupa treba biti utemeljen na individualnim karakteristikama bolesnika, osobinama tumora, kirurškom iskustvu operatera i njegovog tima te logističkim i tehničkim uvjetima svake pojedine ustanove. Za sve kirurške tehnike, bez obzira radi li se o klasičnim (otvorenim) kirurškim zahvatima, laparoskopskim ili robotskim resekcijama, trebaju vrijediti isti ranije navedeni kirurški i onkološki principi.

1.10.2. Onkološko liječenje

Svrha onkološkog liječenja kolorektalnoga karcinoma je sprečavanje umnažanja, lokalnog širenja i metastaziranja zloćudnih tumorskih stanica. Onkološko liječenje u slučaju kolorektalnoga karcinoma može biti adjuvantno liječenje, neoadjuvantno liječenje te inicijalno onkološko liječenje u slučaju proširene, odnosno metastatske bolesti (mCRC, od eng. „Metastatic colorectal cancer“). Uspješnost onkološkog liječenja se iskazuje kroz statističku analizu preživljenja i to kroz podatke ukupnog preživljenja (OS, od eng. „overall survival“) te preživljenja bez znakova povrata bolesti (DFS, od eng. „disease free survival“).

1.10.2.1. Adjuvantno liječenje

Adjuvantno onkološko liječenje (od lat. „adjuvāre“ = pomoći) predstavlja onaj oblik liječenja koji se pridodaje primarnom liječenju, odnosno kirurškoj resekciji. Cilj adjuvantnog liječenja, nakon kirurške resekcije, je eradikacija zaostalih i okultnih mikrometastaza, a u svrhu smanjenja vjerojatnosti nastanka recidiva bolesti, povećanja stope preživljenja bez znakova povrata bolesti i povećanja stope ukupnog preživljenja bolesti. U adjuvantnom liječenju najčešće se koriste kemoterapeutski protokoli koji se baziraju na fluoropirimidinima, od kojih je u najširoj primjeni 5-fluorouracil (5-FU). Alternativa 5-FU je kapecitabin, peroralni fluoropirimidin koji se u tumorskim stanicama metabolizira u 5-FU, stvarajući učinak koji je po učinkovitosti sličan kontinuiranoj infuziji 5-FU-a. U liječenju se koristi još i oksalplatina, citostatik koji se obično kombinira s 5-fluorouracilom i folatnom kiselinom u različitim polikemoterapeutskim protokolima.

Obično se započinje s adjuvantnim liječenjem nakon potpunog oporavka bolesnika od kirurške resekcije. Iako su literaturni podaci o učinku odgađanja početka adjuvantnog liječenja na ukupno preživljenje i preživljenje bez znakova povrata bolesti kontradiktorni, danas se smatra da ga je ipak optimalno započeti 6 do 8 tjedana nakon učinjenog kirurškog zahvata (111,205,206).

Dobrobiti primjene adjuvantne kemoterapije najjasnije su pokazane za bolesnike oboljele i operirane od III. stadija bolesti kod kojih u regionalnim limfnim

čvorovima postoji prisutnost tumorskih stanica pri čemu se rizik od pojave recidiva primjenom adjuvantne kemoterapije smanjuje za otprilike 30%, a smrtnost za oko 20-30% (207).

Najčešće se kod osoba dobrog općeg stanja, mlađih od 70 godina i kod mikrosatelitno nestabilnih tumora s detektiranim mutacijama MMR gena (MSI-H/dMMR) preporučuje polikemoterapija fluoropirimidinima i oksalpatine uz dodatak leukovorina (folatne kiseline) u trajanju od 3 mjeseca (T1-3, N1) ili 6 mjeseci (T4N2). Ovisno o kombinacijama kemoterapeutika i duljini primjene terapije, međunarodna onkološka stručna društava razvila su različite terapijske protokole kao što su: FOLFOX6, FOLFOX7, CAPOX, FLOX (113,114).

Provedenim studijama MOSAIC i NSABP C-07 dokazana je korist dodavanja oksalplatine FU/LV-u u smislu povećanja stope petogodišnjeg preživljenja bez znakova bolesti za 6.2-7.5% te povećanja stope ukupnog preživljenja za 2.7- 4.2% (208,209). U starijih bolesnika (>70 godina) s mikrosatelitno stabilnim tumorima bez detektiranih mutacija MMR gena (MSS/pMMR) i s kontraindikacijom za primjenu oksalplatine, monoterapija fluoropirimidinom s ili bez primjene leukovorina je prihvatljivi kompromis uz nešto lošije rezultate u usporedbi s polikemoterapijom oksalplatinom (210).

Pitanje primjene adjuvantne kemoterapije za II. stadij bolesti je kontroverzno i još uvijek nije potpuno jasno definirano, budući da je istražena dobrobit takvog pristupa i danas nejasna, a u najmanju ruku skromnija nego u primjeni adjuvantnog liječenja u III. stadiju bolesti. Odluka o primjeni adjuvantne kemoterapije za II. stadij bolesti se bazira na podatku je li u analiziranom tumorskom tkivu prisutna mutacija MMR gena odnosno znakovi mikrosatelitne nestabilnosti i je li prisutna neka od visokorizičnih kliničko-patoloških značajki kao što su: primarni T4 tumor (pT4), slabo diferencirani ili nediferencirani tumor (samo za MSS/pMMR), manje od 12 izoliranih limfnih čvorova, ektramuralna vaskularna invazija (EMVI), perineuralna invazija (PNI), klinički znakovi tumorske opstrukcije ili perforacije tumora i visoki stupanj tumorskoga pupanja (Tb3) (111–114).

Bolesnici s mikrosatelitno nestabilnim tumorima (MSI-H/dMMR) imaju u usporedbi s mikrosatelitno stabilnim tumorima (MSS/pMMR) oko 50% niži rizik za

nastanak recidiva bolesti i relativno višu stopu ukupnog preživljenja (127,128). Literaturni podaci ukazuju i na to da mikrosatelitni status tumora je važan prediktivni biomarker kliničkog odgovora na primjenu kemoterapeutskih protokola koji se baziraju na fluoropirimidinima. Tako se je pokazalo da su MSI-H/dMMR tumori rezistentniji na terapiju fluoropirimidinima uz održanu osjetljivost na oksalplatinu (125,126). Odluka o provođenju adjuvantne kemoterapije u kolorektalnom karcinomu II. stadija mora biti individualizirana i prilagođena svakom bolesniku zasebno, uzimajući u obzir prisutnost visokorizičnih značajki tumora kao i dob i opće stanje bolesnika.

Adjuvantna radioterapija se standardno ne primjenjuje u liječenju karcinoma debelog crijeva (ne uključujući rektum). U prospektivnom istraživanju provedenom u SAD-u pokazalo se je da su bolesnici koji su primali adjuvantnu kemoradioterapiju, u usporedbi s onima koji su primili samo adjuvantnu kemoterapiju, imali slično ukupno preživljenje (58% nasuprot 62%, $p>0.5$) i slično preživljenje bez znakova povrata bolesti (51% nasuprot 51%, $p>0.5$) uz znatno veću toksičnost među bolesnicima koji su primili kemoradioterapiju (54% nasuprot 42%, $p=0.04$). Spomenuti način liječenja dolazi u obzir samo u odabranim slučajevima lokalno uznapredovalih (T4a) tumora uzlaznog ili silaznog kolona, sa zadržanom perforacijom, formiranjem fistula i/ili peritumorskoga apscesa ili u slučaju pozitivnih resekcijskih rubova (211,212).

Iako se je do sada kroz više istraživanja u liječenju uznapredovalog karcinoma rektuma nedvosmisleno pokazala prednost neoadjuvantne nad adjuvantnom kemoradioterapijom u smislu smanjenja stope lokalnog recidiva bolesti (10.1% nasuprot 7.1%, $p=.048$) i duljeg preživljenja bez znakova povrata bolesti (65% nasuprot 53%, $p=0.011$), adjuvantna radioterapija i dalje ima svoju ulogu u liječenju (213,214). Adjuvantna radioterapija uz konkomitantnu kemoterapiju se preporučuje svim bolesnicima kod kojih je učinjena radikalna kirurška resekcija karcinoma rektuma (TME), a kod kojih nije provedena neoadjuvantna kemoradioterapija. Optimalan protokol adjuvantne kemoradioterapije u tom slučaju još nije konačno utvrđen. Obično se provode dva mjeseca kemoterapije nakon čega slijedi šest tjedana konkomitantne kemoradioterapije bazirane na fluoropirimidinima te potom još dva dodatna mjeseca kemoterapije (215).

1.10.2.2. Neoadjuvantno liječenje

Neoadjuvantno liječenje označava prijeoperacijsko liječenje najčešće lokalno uznapredovalih tumora, a u svrhu smanjenja tumorske mase i smanjenja stadija tumorske bolesti (eng. „Downgrading“). Navedeni pristup u liječenju se koristi s ciljem veće vjerojatnosti intraoperacijskog postizanja histološki negativnih resekcijskih rubova, bolje poslijeoperacijske kontrole bolesti, manje vjerojatnosti nastanka lokalnog recidiva te u slučaju nisko položenih karcinoma rektuma i veće vjerojatnosti za sfinkter-prezervirajući operacijski zahvat (npr. prednja niska resekcija rektuma s koloanalnom anastomozom umjesto abdominoperinealne ekstirpacije rektuma). Indikacije za neoadjuvantno liječenje su stručno i znanstveno utemeljenije u slučaju liječenja uznapredovalih karcinoma rektuma nego karcinoma kolona.

Kod karcinoma rektuma od iznimne je važnosti da se bolesnicima s novodijagnosticiranim karcinomom rektuma prije liječenja ispravno dijagnosticira stadij bolesti (CT toraksa, abdomena i zdjelice, MRI zdjelice po protokolu za tumore rektuma) te da se rezultati dijagnostičke obrade rasprave u sklopu multidisciplinarnog tima. Neoadjuvantna je kemoradioterapija, nakon koje slijedi radikalna kirurška resekcija, danas standardni modalitet liječenja uznapredovalog karcinoma rektuma.

Publikacijom rezultata njemačke studije CAO/ARO/AIO-94 iz 2004., a kasnije i 2012. godine nedvosmisleno je dokazana prednost neoadjuvantne kemoradioterapije nasuprot adjuvantne kemoradioterapije u slučaju lokalno proširenog karcinoma rektuma. Između ostalog, rezultati iz navedenih studija su još 2004. godine pokazali da je stopa lokalnog recidiva bolesti u bolesnika oboljelih od karcinoma rektuma III. stadija kod kojih je učinjena TME nakon neoadjuvantne kemoradioterapije 9% nasuprot 19% u bolesnika koji nisu primali neoadjuvantnu terapiju (213).

U slučaju lokalno uznapredovalog karcinoma rektuma, postoji nekoliko terapijskih pristupa. Neoadjuvantna kemoterapija FOLFOX protokolom dolazi u obzir u slučaju T2N1, T3N0 ili T3N1 tumora te potom dodatna radioterapija po procjeni kliničkog odgovora na liječenje. U slučaju istih kliničkih stadija, ali i u slučaju T4 i N2 tumora u obzir može doći i prijeoperacijska dugotrajna radioterapija (eng. „Long course“) u istodobnoj primjeni s radiosenzibilizirajućom kemoterapijom 5-FU ili kapecitabinom. Prijeoperacijska kratkotrajna radioterapija (eng. „Short course“) je

prihvatljiva alternativa za T2N1, T3N0 ili T3N1 s primjenom zračenja od 25 Gy u 5 frakcija nakon čega slijedi adjuvantna poslijeoperacijska kemoterapija FOLFOX protokolom. Totalna neoadjuvantna terapija s indukcijskom kemoterapijom, nakon čega slijedi kemoradioterapija, se preporuča u slučaju bilo kojeg od navedenih faktora: T4 tumor, N2 tumor, nisko položeni tumor ≤ 5 cm od anokutane granice, zahvaćenost ili prijeteća zahvaćenost (1-2 mm od ruba) mezorektalne fascije (MRF) i ektramuralna vaskularna (venska) invazija (114,188,216,217).

Većina bolesnika s lokaliziranim, resektabilnim karcinomom debelog crijeva trebala bi biti podvrgnuta inicijalnom radikalnom kirurškom zahvatu, nakon čega slijedi adjuvantna kemoterapija. Međutim, u ponekim dobro odabranim slučajevima dolazi u obzir i primjena neoadjuvantne terapije u liječenju karcinoma debelog crijeva kao npr. u slučaju lokalno uznapredovalih tumora (T4b), tumora s unaprijed anticipiranim kompromitiranim kirurškim rubovima i u onih s granično operabilnim ili neoperabilnim tumorima, a bez znakova sistemske proširenosti bolesti. U takvih bolesnika s mikrosatelitno nestabilnim tumorima (MSI-H/dMMR) imunoterapija je prikladna alternativa klasičnoj kemoterapiji i to idealno u kontekstu kliničkog ispitivanja. Tako su neki od rezultata iz recentnijih istraživanja vrlo obećavajući po tom pitanju.

Rezultati NICHE-2 studije iz 2022. godine su pokazali na uzorku od 112 bolesnika s lokalno uznapredovalim karcinomom debelog crijeva (T4 tumori u 64% slučajeva) liječenim samo imunoterapijom ipilimumabom i nivolumabom prije kirurške resekcije, kompletni patološki odgovor u 67% slučajeva, a umjereni patološki odgovor (rezidualne tumorske stanice u $\leq 10\%$ analiziranog tkiva) u 99% slučajeva. Navedeni rezultati sugeriraju snažan i još nepotpuno istražen potencijal (neoadjuvantne) imunoterapije koja se tek treba ispitati u daljnjim randomiziranim multicentričnim istraživanjima na većem uzorku bolesnika (218).

Velika većina bolesnika koji se prezentiraju s metastatskom bolešću nisu kandidati za kirurški zahvat, već su kandidati za palijativnu kemoterapiju. Međutim, u ponekim slučajevima, za odabrane bolesnike s ograničenom metastatskom bolešću (uglavnom u jetri i plućima) kirurška resekcija nakon neoadjuvantne terapije može predstavljati potencijalnu kurabilnu opciju (113,216).

1.10.2.3. Inicijalno sistemsko liječenje metastatskoga kolorektalnoga karcinoma

U posljednjih dvadesetak godina postignut je značajan napredak u liječenju bolesnika s metastatskim kolorektalnim karcinomom iako rezultati liječenja još uvijek nisu zadovoljavajući. Prosječno petogodišnje preživljenje za bolesnike s metastatskim kolorektalnim karcinomom iznosi 10-15%, a 30-35% bolesnika preživi 3 godine nakon potvrde proširene maligne bolesti (103,219). Smatra se da kod novodijagnosticiranih kolorektalnih karcinoma 20% bolesnika ima metastatsku bolest već pri postavljanju dijagnoze, a još oko 25% bolesnika će razviti metastatsku bolest u tijeku daljnjeg onkološkog praćenja kod kojeg se u 80-90% slučajeva radi o neresektabilnim jetrenim presadnicama (220).

Iako su u posljednje vrijeme razvijeni brojni onkološki protokoli u liječenju metastatskoga kolorektalnoga karcinoma zbog heterogenosti populacije bolesnika koja uključuje i različite molekularne podtipove kolorektalnoga karcinoma, odabir optimalnog protokola liječenja je kompleksan. Dodatni faktori koji utječu na odluku o načinu liječenja su: opće stanje bolesnika, radiološka procjena proširenosti bolesti, procjena potencijalno resektabilnih presadnica te brzina progresije bolesti (219,221).

U liječenju metastatskoga kolorektalnoga karcinoma na raspolaganju su brojni terapijski protokoli. Tako se za bolesnike bez komorbiditeta prva linija liječenja sastoji od terapije 5-FU u kombinaciji s leukovorinom i irinotekanom (FOLFIRI) ili kombinacije 5-FU s leukovorinom i oksaliplatinom (FOLFOX). Trostruka kemoterapijska kombinacija je primjena 5-FU u kombinaciji s oksaliplatinom, irinotekanom i leukovorinom (FOLFOXIRI). Uz navedene kemoterapijske kombinacije, u liječenju se koristi imunoterapija monoklonskim protutijelima usmjerenim protiv EGFR-a (cetuximab i panitumumab), imunoterapija monoklonskim protutijelima protiv VEGF-a (bevacizumab), terapija inhibitorima imunoloških kontrolnih točaka (od engl. "Immune checkpoint inhibitor") na PD-1 i PD-2 receptore (pembrolizumab) (219,220).

U odabiru optimalnog načina liječenja od velike je važnost detekcija specifičnih ciljanih molekularnih promjena koje se nalaze u kolorektalnom karcinomu, odnosno ranije spomenutih prediktivnih biomarkera. Navedeno uključuje u prvom redu određivanje mutacijskog statusa RAS (KRAS i NRAS) gena prije eventualne primjene

imunoterapije inhibitorima receptora epidermalnoga čimbenika rasta (EGFR). Naime, u liječenju metastatskoga oblika kolorektalnoga karcinoma, a u svrhu povećanja učinkovitost standardne kemoterapije, dodatno se primjenjuju i imunoterapija monoklonskim protutijelima usmjerenim protiv EGFR-a (cetuksimab i panitumumab), ali samo u liječenu metastatske bolesti gdje nije dokazana mutacija KRAS i NRAS gena, budući da su u slučaju mutacije KRAS i NRAS gena takvi tumori rezistentni na primjenu navedene biološke terapije. Isti princip vrijedi i za mutaciju BRAF (V600E) gena. Dalje se radi procjena mutacije MMR gena za potvrdu mikrosatelitno nestabilnih tumora. Istraživanjima je pokazano da su kolorektalni karcinomi s dMMR/MSI-H osjetljiviji na terapiju inhibitorima imunoloških kontrolnih točaka što je terapija prvog izbora za takve bolesnike (129,131,219).

U bolesnika kod kojih se prati dobar klinički odgovor i dobro podnošenje terapije savjetuje se nastavak istog tretmana dok se u onih bolesnika s progresijom bolesti savjetuje prelazak na sljedeću liniju liječenja (221).

U inicijalnom sistemskom liječenju metastatskoga kolorektalnoga karcinoma, u većine bolesnika, radi se o palijativnom liječenju u svrhu produljenja ukupnog preživljenja i održavanje kvalitete života što je to dulje moguće. U manjeg broja bolesnika u IV. stadiju bolesti radi se o potencijalno resekabilnim jetrenim presadnicama kod kojih se primjenom inicijalne kemoterapije može postići značajan klinički odgovor i preduvjet za pokušaj potencijalno kurabilne kirurške resekcije jetrenih presadnica (102,219,221).

1.10.3. Praćenje bolesnika nakon provedenog liječenja

Bolesnici kod kojih je provedeno liječenje kolorektalnoga karcinoma zahtijevaju pomni nadzor i praćenje. Glavna svrha praćenja bolesnika nakon provedenog liječenja je u poboljšanju ukupnog preživljenja bolesti otkrivanjem recidiva u asimptomatskom stadiju kada bi radikalno kirurško liječenje još uvijek moglo biti potencijalno kurabilno i s najboljim rezultatima. Također, redovito praćenje omogućuje rano otkrivanje i pravodobno liječenje novog primarnog tumora debelog crijeva ili metakronih presadnica (171,222).

Većina recidiva javlja se unutar prve 3 godine nakon operacijskog zahvata primarnog tumora, a u 95% slučajeva unutar prvih 5 godina. Približno 40% bolesnika s inicijalno lokaliziranom bolešću i provedenim potencijalno kurabilnim liječenjem doživjet će tijekom životnog vijeka recidiv bolesti. Najčešća mjesta recidiva su jetra, pluća ili se radi o regionalnom povratu bolesti, češće u slučaju karcinoma rektuma. (222,223).

Načelno govoreći, praćenje se provodi na način da se kontrolni ambulanti pregledi koji uključuju fizikalni pregled, standarde laboratorijske pretrage, CA 19-9, CEA, ultrazvuk abdomena i RTG snimke prsnih organa provode svakih 3 do 6 mjeseci unutar prve 2 godine, a kasnije svakih 6 mjeseci do navršenih 5 godina od završenog liječenja. Nakon toga se kontrolno praćenje provodi jedanput godišnje. Kolonoskopiju je obično preporučeno učiniti godinu dana nakon operacijskog zahvata. U slučaju urednog nalaza, preporuča se ponoviti kolonoskopiju svakih 3 do 5 godina. CT skeniranje prsišta, abdomena i zdjelice se preporuča također redovito učiniti svakih 3 do 6 mjeseci za prve 2 do 3 godine, a potom svakih 6 do 12 mjeseci do navršenih 5 godina od operacijskog zahvata (102,102,113,114,223).

1.11. SVRHA RADA

Svrha ovog istraživanja je ispitati postoji li u kolorektalnom karcinomu povezanost nazočnosti tumorskih depozita s nazočnošću tumorskoga pupanja te postoji li povezanost navedenih čimbenika s kliničko-patološkim značajkama u bolesnika oboljelih od kolorektalnoga karcinoma.

Dobiveni rezultati mogli bi biti korisni u boljem razumijevanju zbivanja na infiltrativnoj fronti tumorskoga rasta u samim počecima tumorske ekspanzije.

Takva nova saznanja bi mogla utjecati na promjenu dijagnostičkih modaliteta, u smislu stratifikacije bolesnika u preciznije prognostičke skupine te bi mogla poslužiti i kao potencijalna meta u budućim istraživanjima novih terapijskih opcija u liječenju kolorektalnoga karcinoma.

2. HIPOTEZA

Tumorski depoziti se češće pojavljuju u bolesnika oboljelih od kolorektalnoga karcinoma s izraženim tumorskim pupanjem.

3. CILJEVI RADA

OPĆI CILJ:

Analizirati nazočnost tumorskih depozita te povezanost s nazočnošću tumorskoga pupanja u uzorcima dobivenima od bolesnika oboljelih od kolorektalnoga karcinoma.

SPECIFIČNI CILJEVI:

1. Utvrditi nazočnost i stupanj tumorskoga pupanja na preparatima bojenim hemalaun-eozinom i imunohistokemijski analiziranim s PAN-CK.
2. Utvrditi nazočnost i veličinu tumorskih depozita.
3. Utvrditi povezanost stupnja tumorskoga pupanja s veličinom tumorskih depozita.
4. Analizirati povezanost tumorskoga pupanja i tumorskih depozita s kliničko-patološkim parametrima bolesnika oboljelih od kolorektalnoga karcinoma.

4. MATERIJALI I METODE

4.1. Ispitanici

Provedeno je retrospektivno kohortno istraživanje u kojem je bilo uključeno 90 bolesnika koji su bili liječeni radikalnom kirurškom resekcijom na Klinici za kirurgiju Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice, u razdoblju između 1. siječnja 2009. i 31. prosinca 2013. godine, s patohistološki potvrđenom dijagnozom kolorektalnoga karcinoma.

U istraživanje nisu bili uključeni oni bolesnici kod kojih su patohistološkom analizom reseciranih tumora dokazani rijetki histološki podtipovi kao što su: medularni karcinom, mikropapilarni karcinom, adenoskvamozni karcinom, nediferencirani ili miješani podtipovi karcinoma. U istraživanje nisu bili uključeni niti oni bolesnici bez potvrde R0 resekcije s histološkim dokazom negativnog resekcijskog ruba, bolesnici kod kojih je provedena neoadjuvantna kemoradioterapija, bolesnici s poznatom metastatskom bolešću u vrijeme operacije, bolesnici sa sinkronim primarnim ili metastatskim tumorom nekog drugog sijela kao i oni koji su bili podvrgnuti hitnom operacijskom zahvatu.

Svi prikupljeni podaci su unošeni u posebno dizajniranu elektronsku bazu podataka. Klinički podaci o bolesnicima prikupljeni su iz Bolničkog informacijskog sustava (BIS) Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice. Pri tome su korišteni anamnestički podaci iz povijesti bolesti i ambulantnih nalaza, patohistološki nalazi i operacijski protokoli. Podaci o preživljenju su dobiveni iz baza podataka Registra za rak pri Hrvatskom zavodu za javno zdravstvo. Prikupljanje kliničkih podataka i arhivskih patohistoloških materijala bolesnika provedeno je uz poštivanje svih etičkih dozvola za ovo istraživanje. Etička odobrenja dobivena su od Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (641-01/23-02/01, od 18. siječnja 2023. godine) kao i od Etičkog povjerenstva Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice (EP-2823/19-1, od 14. veljače 2019. godine). Svaki bolesnik dobio je jedinstveni broj s kojim je bio uključen u istraživanje, a pravi identitet ispitanika, radi zaštite osobnih podataka bolesnika, bio je poznat samo istraživačima.

4.2. Metode

Za svakog bolesnika uključenog u istraživanje, analizirani su svi arhivski patohistološki preparati bojeni hemalaun-eozinom kako bi se učinio ponovni uvid u patohistološke osobitosti tumora (histološki gradus, patološki TNM stadij, limfovaskularna invazija, perineuralna invazija, ekstramuralna vaskularna invazija, postotak mucinozne komponente, prisutnost tumorskih depozita (sukladno najnovijem osmom AJCC/UICC izdanju TNM klasifikacije malignih tumora), promjer najvećeg tumorskoga depozita u milimetrima i stupanj tumorskoga pupanja. Kod svih operiranih bolesnika koji su bili uključeni u istraživanje bila je učinjena R0 resekcija s histološkim dokazom negativnog resekcijskog ruba. Svi patohistološki parametri procijenjeni su od strane dva neovisna patologa koja nisu bila upoznata s kliničkim podacima ispitanika, a razlike u interpretaciji su riješene zajedničkim pregledom i dogovorom koncensusom.

Ovisno o prisutnosti tumorskih depozita, patohistološki uzorci su bili podijeljeni u dvije približno jednako velike skupine. Tako smo uz skupinu s prisutnim tumorskim depozitima (N=39) koja se sukladno zadnja dva izdanja TNM klasifikacije malignih tumora definira kao „N1c“ i spada u III. stadij bolesti, definirali i kontrolnu skupinu bez prisutnih tumorskih depozita (N=51) koja je bila uparena na temelju patohistoloških čimbenika odnosno TNM stadija, pa su tako u tu skupinu uključeni samo bolesnici oboljeli od III. stadija bolesti, a bez prisutnih tumorskih depozita (N1-2).

U skupini s prisutnim tumorskim depozitima, određen je ukupni broj i promjer najvećeg tumorskoga depozita u milimetrima. Promjer najvećeg tumorskoga depozita izmjeren je računalnim digitalnim sustavom s mikroskopom Olympus BX51 (Olympus Corporation, Tokyo, Japan), fotoaparatom Olympus Camedia Camera C 5050 (Olympus Corporation, Tokyo, Japan) i programskom podrškom za analizu snimljenih fotografija QuickPHOTO CAMERA, verzija 3.0 (PROMICRA, Prag, Češka).

Prisutnost i stupanj tumorskoga pupanja dodatno su analizirani u ovim skupinama i uspoređeni s ostalim kliničko-patološkim značajkama. Tumorsko pupanje određeno je sukladno detaljnim preporukama Luglija i suradnika (87). Prema navedenim preporukama odabran je prerez tumora bojen hemalaun-eozinom na kojemu je na invazivnoj fronti tumora procijenjen najviši stupanj tumorskoga pupanja i

određeno žarište s najvećim brojem pupova (od eng „Hot spot“) i to pregledavanjem preparata pod povećanjem objektiva 10x. U svrhu preciznijeg određivanja broja tumorskih pupova, odabrani preparat je dodatno imunohistokemijski analiziran upotrebom protutijela na PAN-CK (proizvođač DAKO, clone MNF116, standardizirana procedura). U odabranom „Hot spotu“ izbrojani su tumorski pupovi pod povećanjem objektiva 20x s poljem promjera 22 mm. Tako izbrojan broj tumorskih pupova podijeljen je s normalizacijskim faktorom 1.210 u cilju dobivanja standardiziranog stupnja tumorskih pupova. Stupnjevi tumorskoga pupanja definirani su kao: niski stupanj Bd1 (0-4 pupova), srednji stupanj Bd2 (5-9 pupova) i visoki stupanj Bd3 (≥ 10 pupova).

4.3. Statistička obrada

Za statističku obradu podataka trenutak uzimanja uzorka tijekom operacijskog zahvata bio je početna točka istraživanja. Završna točka je bila ukupno preživljenje bolesnika. Cilj analize podataka je bio analizirati nazočnost tumorskih depozita te povezanost s nazočnošću tumorskoga pupanja u uzorcima dobivenima od bolesnika oboljelih od kolorektalnoga karcinoma. Uspoređena je nazočnost tumorskih depozita i tumorskoga pupanja s patohistološkim karakteristikama tumora: gradus, patološki TNM stadij, limfokapilarna invazija (LVI), ekstramuralna vaskularna invazija (EMVI), perineuralna invazija (PNI), postotak mucinozne komponente, promjer tumora te s varijablama kirurškog liječenja: brojem izoliranih limfnih čvorova, brojem pozitivnih limfnih čvorova i duljinom resektiranog kolona.

Patohistološke varijable su uspoređene i s kliničkim karakteristikama bolesnika: dobi, spolom, lokalizacijom tumora i preživljenjem. Analiza normalnosti raspodjele podataka je provjerena testom Smirnov-Kolmogorov te su se shodno dobivenim rezultatima koristili parametrijski, odnosno neparametrijski testovi i odgovarajući prikaz kontinuiranih vrijednosti (aritmetičke sredine i standardne devijacije, odnosno medijan). Censusom je označen binarni ishod (živ ili preminuo). Predviđen je veliki broj varijabli te su korišteni testovi koji mogu kompenzirati nepovoljne omjere broja ispitanika i varijabli. Kako bi se smanjio potencijalno negativni utjecaj malog broja ispitanika na testiranje većeg broja varijabli, uz Mann-Whitney U test, korištena je

binarna logistička regresija koja je metoda izbora u slučaju velikog broja varijabli, a pruža mogućnost uspostave kauzalnih odnosa između zavisnih i testiranih varijabli. U analizi preživljenja je korištena multivarijatna Coxova regresijska analiza (s vremenom do događaja kao vremenom praćenja u mjesecima).

Potom je za svaku varijablu koja je pokazala statistički značajnu povezanost s preživljenjem, učinjena ROC analiza i određena je „cut-off“ vrijednost pomoću Youden J faktora kako bi se kontinuirane varijable pretvorile u kategoričke, kao 0 = ispod „cut-off“ vrijednosti i 1 = iznad „cut-off“ vrijednosti. Koristeći tako posložene kategoričke varijable, rezultati su prikazani Kaplan Meierovom krivuljom preživljenja. Kao konfirmatorna metoda, učinjena je i analiza glavnih komponenti (od engl. „Principal component analysis“) s Obliminovom kosom rotacijom kako bi se izdvojile skupine varijabli koje se pojavljuju zajedno te potvrdili rezultati multivarijatne regresijske analize. Varijable su uspoređene međusobno uz pomoć χ^2 testa, Pearsonovim koeficijentom korelacije te Spearmanovim rho rank koeficijentom korelacije. Svi statistički testovi su bili dvosmjerni. Vrijednosti p manje od i jednake 0.05 određene su statistički značajnima. Statistička obrada podataka je učinjena uz pomoć programa MedCalc (Verzija 11.2.1 © 1993-2010. MedCalc Software bvba Software, Broekstraat 52, 9030 Mariakerke, Belgium) te programa SPSS (Verzija 22.0. izdana 2013. IBM SPSS Statistics for Windows, Armonk, NY: IBM Corp.).

5. REZULTATI

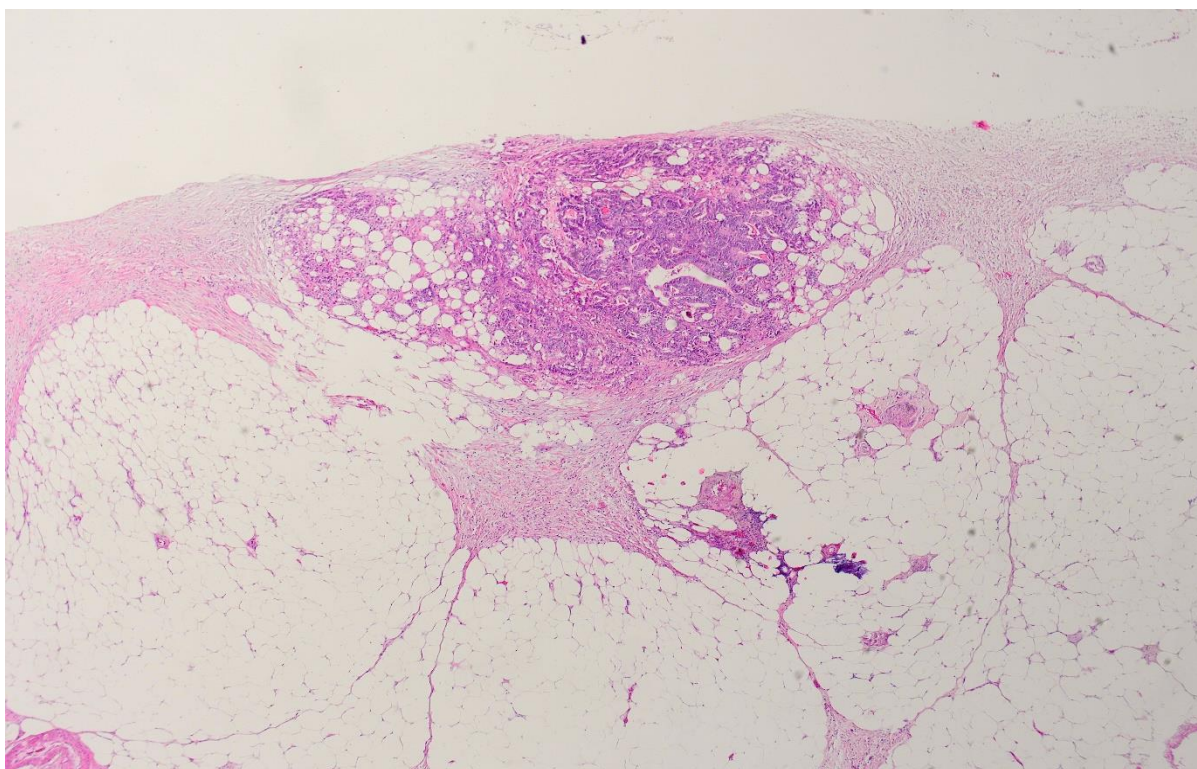
U istraživanje je bio uključeno 90 ispitanika koji su kirurški liječeni zbog patohistološki potvrđenog kolorektalnoga karcinoma u Klinici za kirurgiju, Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice, u razdoblju između 1. siječnja 2009. i 31. prosinca 2013. godine. Bolesnici su poslijeoperacijski praćeni i evidentiran im je onkološki status. Bolesnici su u vrijeme postavljanja dijagnoze bili bez klinički detektibilne druge maligne bolesti. U istraživanju je bilo ukupno 55 muških i 35 ženskih ispitanika što čini muško-ženski omjer od 1.57.

Prosječna dob je bila 65.78 godina, s rasponom od 35 do 85 godina starosti i sa standardnom devijacijom od 10.6 godina. Zabilježena je raspodjela demografskih i patohistoloških varijabli (Tablica 3). Prosječna dob muškaraca je bila 66 ± 10.4 godina s medijanom od 69 godina, a žena 66 ± 10.9 godina s medijanom od 66.2 godine.

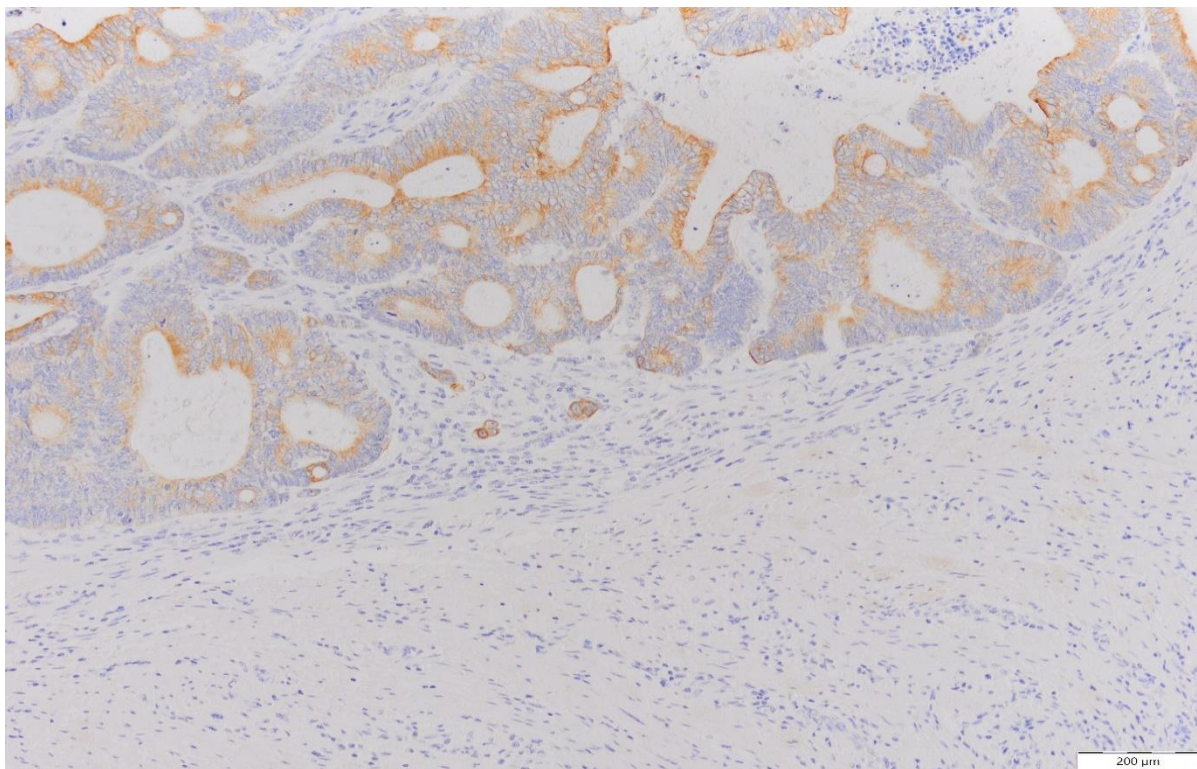
Tablica 3. Deskriptivna statistika varijabli u uzorku

Klinička obilježja		Ukupno (N)	Postotak (%)
Svi ispitanici		90	100%
Dob	< 65 godina	36	40.0%
	≥ 65 godina	54	60.0%
	Prosjek ± SD	65.8±10.6 godina	
	Medijan	67.5 godina	
Spol	Muškarci	55	61.1%
	Žene	35	38.9%
Lokalizacija tumora	Desni kolon	21	23.3%
	Lijevi kolon	35	38.9%
	Rektum	34	37.8%
Broj preminulih bolesnika tijekom praćenja (kritični događaj)		58	64.4%
Broj bolesnika s cenzoriranim praćenjem (cenzus)		32	35.6%
Praćenje ispitanika u mjesecima	Medijan	57.5 mj.	
	Raspon	2-163 mj.	
Prosječna duljina reseciranog kolona		25.7 cm	
Prosječna udaljenost tumora od resekcijskog ruba		6.4 cm	
Prosječni promjer tumora		4.7 cm	

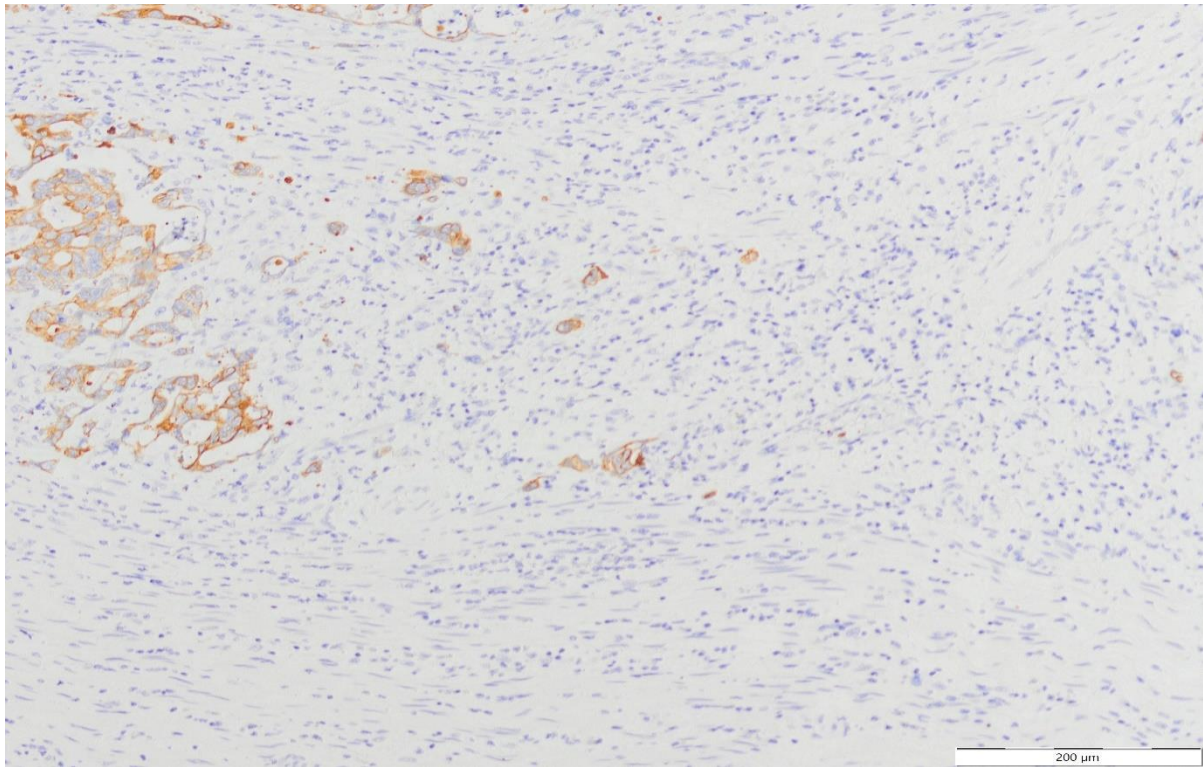
Patohistološka obilježja			
TNM Stadij	IIIA	9	10.0%
	IIIB	69	76.7%
	IIIC	12	13.3%
pT	T1	1	1.1%
	T2	7	7.8%
	T3	78	86.7%
	T4	4	4.4%
pN	N1	58	64.4%
	N2	32	45.6%
Histološki gradus	Niski gradus (LG)	73	81.1%
	Visoki gradus (HG)	17	18.9%
Limfokapilarna invazija (LVI)		35	38.9%
Ekstramuralna vaskularna invazija (EMVI)		17	18.9%
Perineuralna invazija (PNI)		22	24.4%
Prosječni postotak mucinozne komponente		5.7%	
Tumorski depoziti	Da	39	43.3%
	Ne	51	56.7%
Prosječan broj ± SD		2.25±1.70	
Raspon		1-10	
Prosječan promjer + SD		5.6 mm±3.4 mm	
Raspon		1.0-13.0 mm	
Tumorsko pupanje	Da	85	94.4%
	Ne	5	5.6%
Prosječan broj pupova		22.5±24.2	
Raspon		0-138	
Niski stupanj (Bd1)		23	25.6%
Srednji stupanj (Bd2)		20	22.2%
Visoki stupanj (Bd3)		47	52.2%



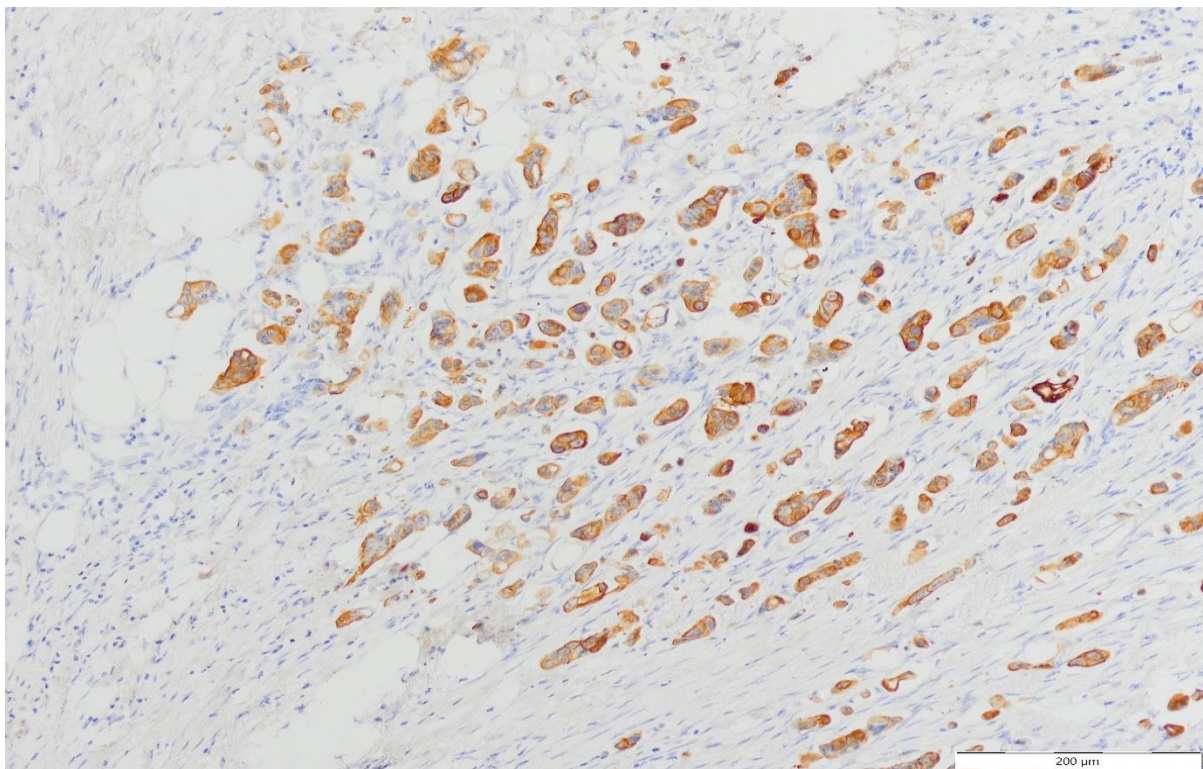
Slika 7. Prikaz tumorskoga depozita, definirano prema kriterijima osmog AJCC/UICC izdanja TNM klasifikacije malignih tumora.



Slika 8. Prikaz imunohistokemijske reakcije na CK-PAN; Tumorsko pupanje niskog stupnja (Bd1), x200

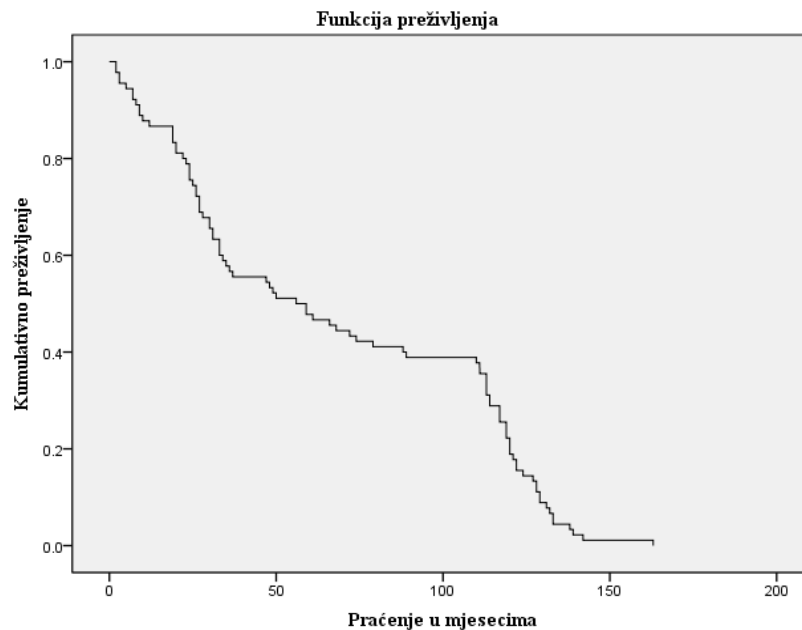


Slika 9 . Prikaz imunohistokemijske reakcije na CK-PAN; Tumorsko pupanje srednjeg stupnja (Bd2),
x200



Slika 10. Prikaz imunohistokemijske reakcije na CK-PAN; Tumorsko pupanje visokog stupnja (Bd3),
x200

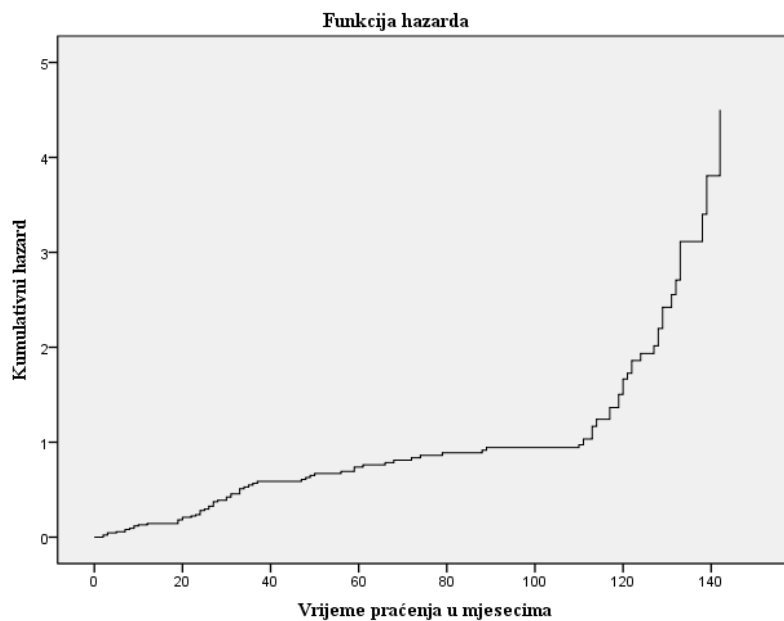
Prosječna dužina praćenja bolesnika, izražena kao aritmetička sredina i standardna devijacija, bila je 68 ± 47.9 mjeseci. Zbog velike standardne devijacije medijan je preciznija mjera dužine praćenja i iznosi 57.5 mjeseci uz raspon od 2-163 mjeseci. Detalji deskriptivne statistike za praćenje bolesnika prikazani su na histogramu duljine praćenja bolesnika dobivenom Kaplan Meier krivuljom preživljenja (Slika 11).



Slika 11. Kaplan Meier krivulja praćenja preživljenja

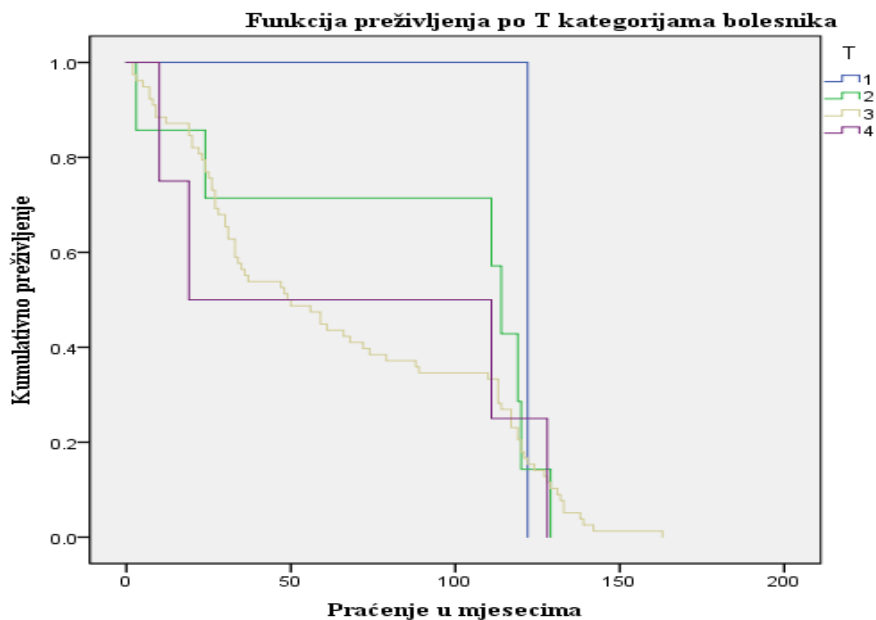
Kompletnost praćenja izražava se kao cenzorirano ili kompletno. Kompletno praćenje je ono kod kojeg je kritični događaj, u ovom slučaju smrt ispitanika, zabilježen u zadanom vremenu praćenja. Cenzorirano praćenje označava ono kod kojeg u tom vremenu, kritični događaj nije nastupio, odnosno bolesnici su živi.

U skupini ispitanika bilo je 58 kritičnih događaja, a 32 cenzoriranih. Vidljiv je porast hazarda obrnuto proporcionalan preživljenju (Slika 12).

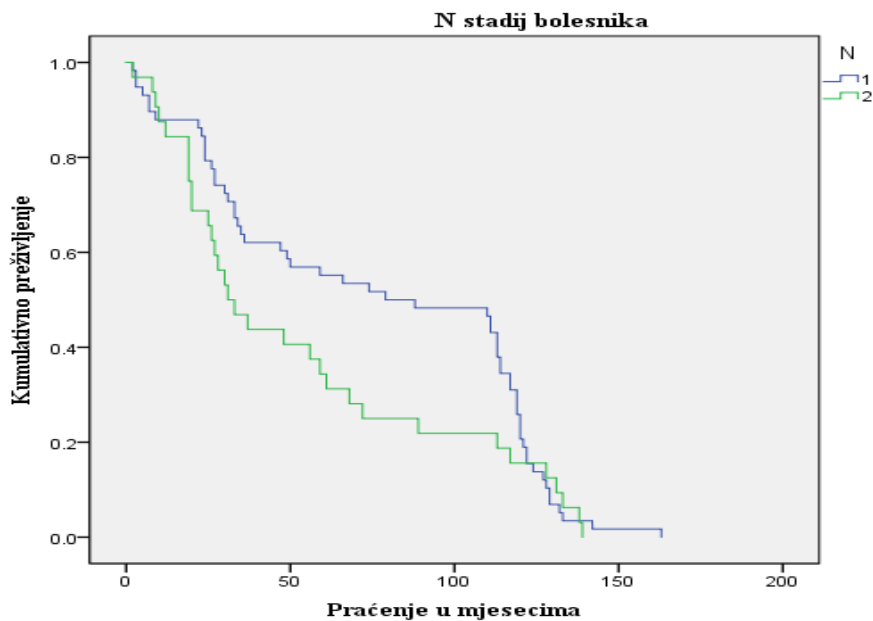


Slika 12. Krivulja porasta hazarda u odnosu na praćenje preživljenja

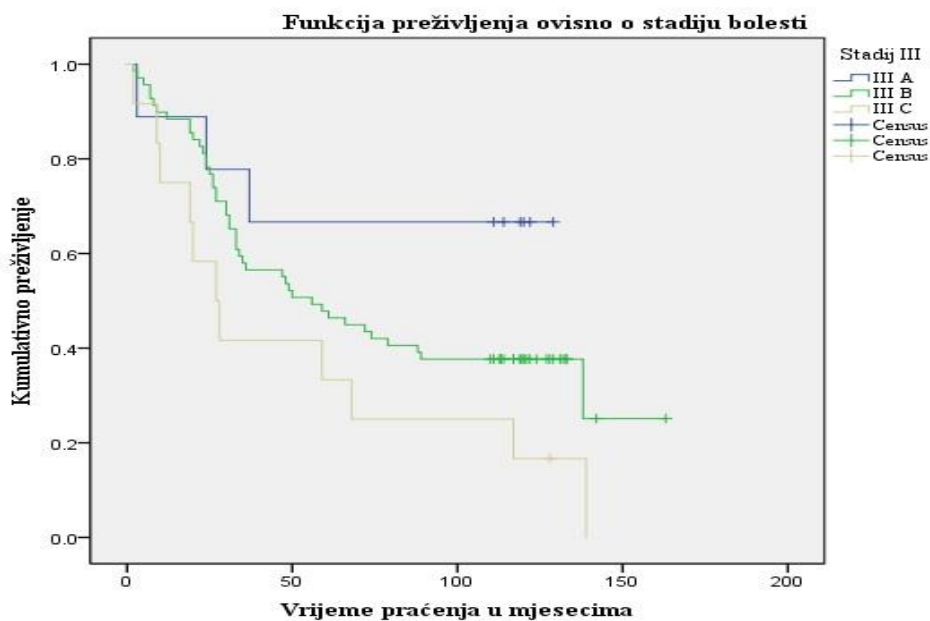
Vidljivo je slabije preživljenje bolesnika u višim T kategorijama, višem N stadiju bolesti kao i u višem stadiju bolesti po TNM klasifikaciji što je u skladu s poznatim podacima i validira ovaj statistički model na skupu podataka (Slike 13-15).



Slika 13. Kaplan Meierova krivulja preživljenja po T kategoriji bolesti ($p=0.002$)



Slika 14. Kaplan Meierova krivulja preživljenja po N kategoriji bolesti ($p=0.009$)



Slika 15. Kaplan Meierova krivulja preživljenja po TNM stadiju bolesti ($p=0.01$)

Učinjena je statistička analiza povezanosti prisustva tumorskih depozita s tumorskim pupanjem Mann-Whitney U testom, koji je pokazao da je prisustvo tumorskih depozita značajno povezano s većim brojem tumorskih pupova ($p=0.001$),

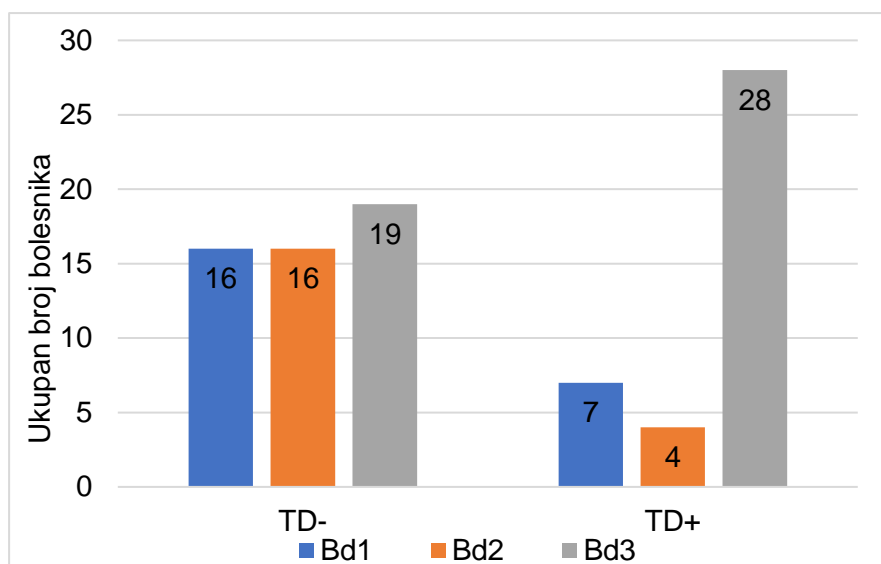
što je potvrđeno u modelu binarne logističke regresije u kojoj je prisutnost tumorskih depozita bila zavisna varijabla ($p < 0.001$, OR 16.3), pri čemu je prisutnost tumorskih depozita pozitivno povezana i sa stupnjem pupanja po trostupanjskoj klasifikaciji pupanja ($p = 0.004$, OR 11.04) te sa stupnjem pupanja po dvostupanjskoj klasifikaciji pupanja ($p = 0.01$, OR 10.57) sukladno radu Grahama i suradnika (224).

Povezanost prisustva tumorskih depozita s tumorskim pupanjem je prikazana i uz pomoć χ^2 testa kojim je također pokazano da je prisustvo tumorskih depozita značajno povezano s višim stupnjem tumorskoga pupanja. (Tablica 4, Slika 16).

Tablica 4. Usporedba zastupljenosti stupnja tumorskoga pupanja u bolesnika bez prisustva tumorskih depozita (TD-) i s prisutnim tumorskim depozitima (TD+)

	Bez prisustva tumorskih depozita (TD-)	Prisutnost tumorskih depozita (TD+)	UKUPNO
Bd1 (0-4 pupova)	16 (13.03) [0.68]	7 (9.97) [0.88]	23
Bd2 (5-9 pupova)	16 (11.33) [1.92]	4 (8.67) [2.51]	20
Bd3 (≥ 10 pupova)	19 (26.63) [2.19]	28 (20.37) [2.86]	47
UKUPNO	51	39	90

($\chi^2 = 11.0414$, $df = 2$, $p = 0.004$)



$$\chi^2=11.0414, df=2, p=0.004$$

Slika 16. Distribucija stupnja tumorskoga pupanja s obzirom na prisutnost tumorskih depozita u patohistološkim uzorcima

Analizom distribucije tumorskih depozita i različitih stupnjeva tumorskoga pupanja ovisno o lokalizaciji tumora u debelom crijevu (desni kolon, lijevi kolon, rektum) nije nađena statistički značajna razlika za tumorske depozite ($\chi^2=3.5819$, $df=2$, $p=0.167$), kao ni za različite stupnjeve tumorskoga pupanja ($\chi^2=3.1838$, $df=4$, $p=0.528$). Navedeni rezultati su prikazani u dolje navedenim tabličnim prikazima (Tablica 5 i Tablica 6).

Tablica 5. Usporedba lokalizacije tumora debelog crijeva u bolesnika bez prisustva tumorskih depozita (TD-) i sa prisutnim tumorskim depozitima (TD+)

	Bez prisustva tumorskih depozita (TD-)	Prisutnost tumorskih depozita (TD+)	UKUPNO
Lijevi kolon	14 (11.90) [0.37]	7 (9.10) [0.48]	21
Desni kolon	22 (19.83) [0.24]	13 (15.17) [0.31]	35
Rektum	15 (19.27) [0.94]	19 (14.73) [1.24]	34
UKUPNO	51	39	90

$$(\chi^2=3.5819, df=2, p=0.167)$$

Tablica 6. Usporedba lokalizacije tumora debelog crijeva u bolesnika s različitim stupnjevima tumorskoga pupanja

	Bd1 (0-4 pupova)	Bd2 (5-9 pupova)	Bd3 (≥ 10 pupova)	UKUPNO
Lijevi kolon	6 (5.37) [0.07]	2 (4.67) [1.52]	13 (10.97) [0.38]	21
Desni kolon	10 (8.94) [0.12]	9 (7.78) [0.19]	16 (18.28) [0.28]	35
Rektum	7 (8.69) [0.33]	9 (7.56) [0.28]	18 (17.76) [0.00]	34
UKUPNO	23	20	47	90

($\chi^2=3.1838$, $df=4$, $p=0.528$)

Učinjena je i analiza preživljenja ispitanika s mjesecima praćenja označenim kao vremenom do kritičnog događaja multivarijatnom Coxovom regresijom ($\chi^2=110.008$, $df=34$, $p<0.001$) koja je pokazala koje su varijable statistički značajno povezane s kraćim preživljenjem (Tablica 7).

Kako je dobro poznato da rastuća dob, tip i opseg operacije, lokalizacija tumora, rastuće T i N kategorije i rastući patološki TNM stadij bolesti te prisutnost ekstramuralne vaskularne i limfovaskularne invazije uz rastuću mucinoznu komponentu tumora i broj pozitivnih limfnih čvorova negativno utječu na preživljenje, dalje je analizirana uloga prisutnosti i broja tumorskih depozita i tumorskoga pupanja na preživljenje ancilijarnom statističkom analizom (Slike 17-24).

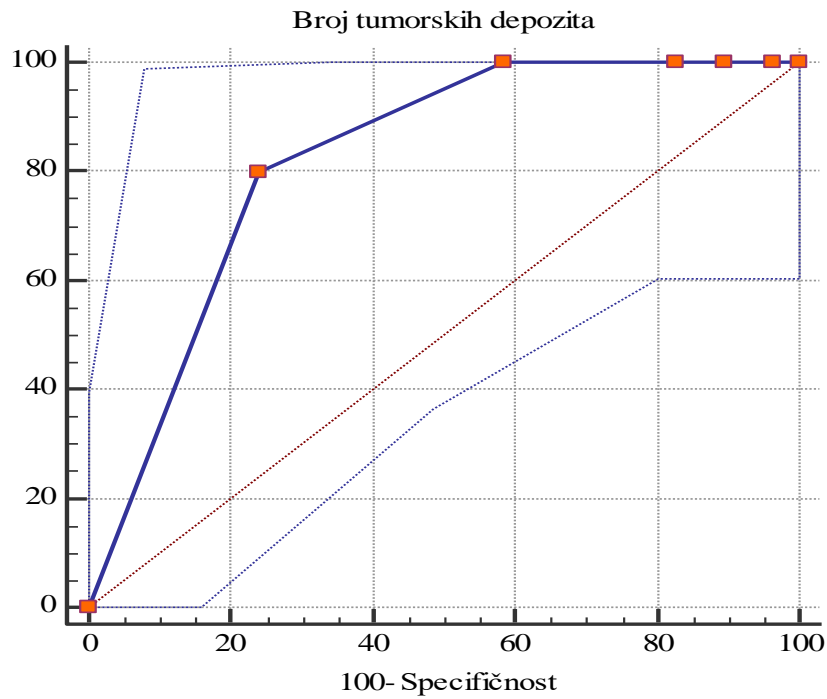
Tablica 7. Multivarijatna Coxova regresijska analiza preživljenja ispitanika

Varijable	HR	95% CI	p
Dob	1.31	1.1-1.08	.001
Spol	0.281	0.27-1.56	.092
Lokalizacija tumora	3.227	2.5-5.51	.001
Gradus	0.9	0.45-1.82	.107
T	3.5	3.32-37.4	.002
N	8.55	2.65-8.64	.009
Stadij IIIA-C	3.2	1.13-4.09	.016
EMVI	1.92	1.417-8.85	.016
LVI	1.34	1.148-1.76	.049
PNI	0.49	0.27-0.89	.980
Mucinozna komponenta	1.3	1.09-2.01	.000
Prisutnost tumorskih depozita	2.1	1.9-2.92	.010
Broj tumorskih depozita	1.52	1.09-2.1	.014
Broj pupova	1.9	1.36-3.74	.002
Stupanj pupanja	2.28	1.93-4.76	.001
Broj pozitivnih I.č.	1.83	1.2-3.24	.025
Duljina reseciranog kolona	0.997	0.97-1.02	.329
Resekcijski rub	0.99	0.94-1.04	.401
Promjer tumora	0.98	0.89-1.07	.112

U slijedećem koraku je učinjena ROC analiza (od eng. „Receiver operating characteristic“) koja je pomoću Youdenovog indeksa pokazala „cut-off“ vrijednost područja najveće osjetljivosti i specifičnosti za prediktorske varijable broja tumorskih pupova i broja tumorskih depozita.

ROC analiza rastućeg broja tumorskih depozita i povezanosti s preživljenjem ispitanika je pokazala da je „cut-off“ vrijednost izražena uz pomoć Youdenovog indeksa (0.5586) pri kojoj su specifičnost i osjetljivost najveće iznosi 1 (osjetljivost 80%, specifičnost 75.86% s 95%-tnim intervalom pouzdanosti od 44.4 - 97.5% za osjetljivost i 56.5 - 89.7% za specifičnost) (Slika 17).

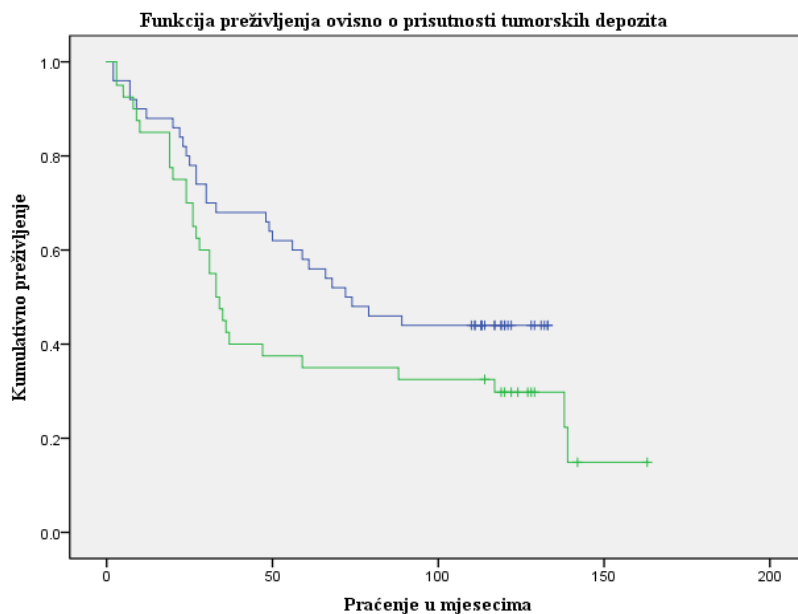
Pozitivna i negativna prediktivna vrijednost su prikazane zasebno (Tablica 8).



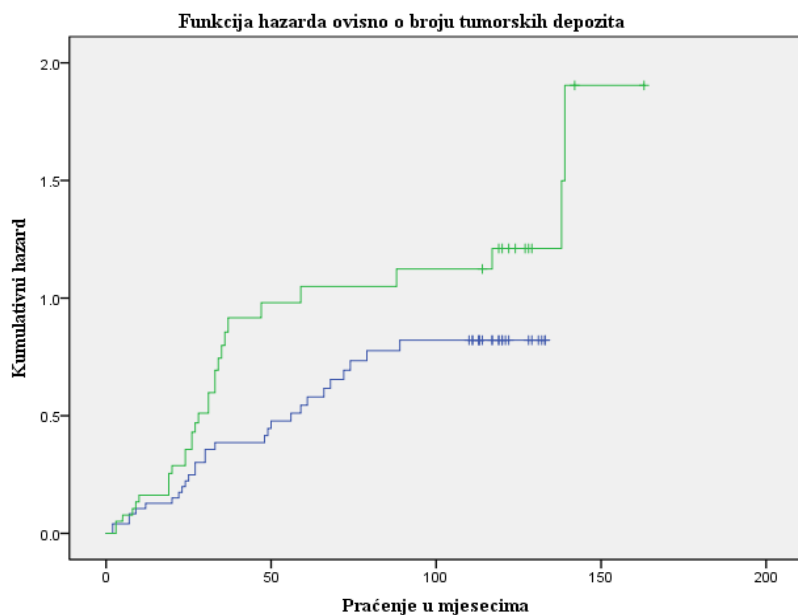
Slika 17. ROC analiza broja tumorskih depozita i povezanosti s preživljenjem ispitanika.

Tablica 8. Pozitivna i negativna prediktivna vrijednost povezanosti broja tumorskih depozita i preživljenja bolesnika s kolorektalnim karcinomom.

Pozitivna prediktivna vrijednost (%)	82.1
95% CI	60.0 - 94.9
Negativna prediktivna vrijednost (%)	73.3
95% CI	46.8 - 91.4



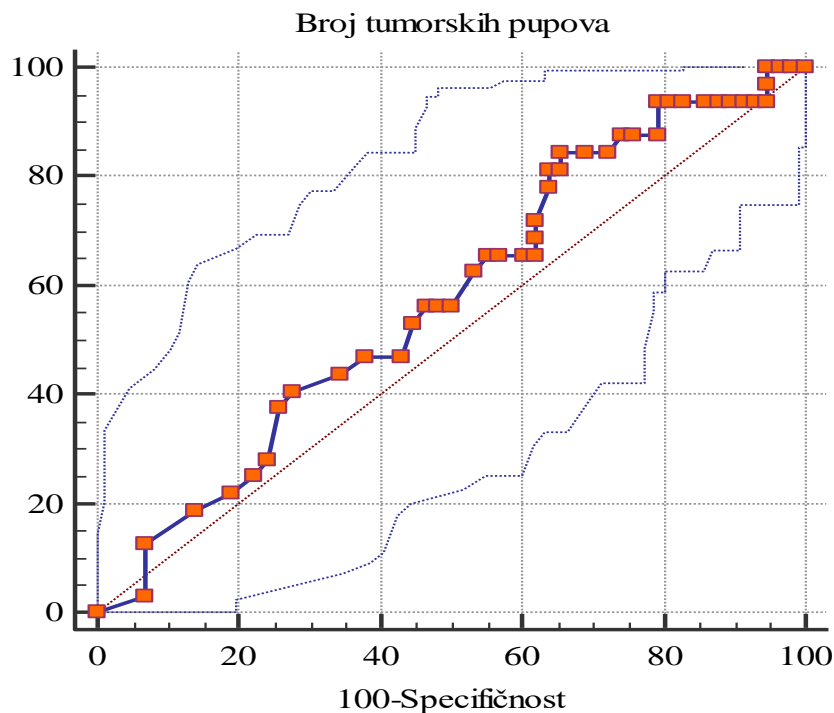
Slika 18. Funkcija preživljenja bolesnika s prisutnim tumorskim depozitima (zelena krivulja) u odnosu na bolesnike bez prisutnih tumorskih depozita (plava krivulja) izražena Kaplan-Meier krivuljom ($p=0.01$)



Slika 19. Povezanost prisutnosti tumorskih depozita i porasta hazarda u odnosu na preživljenje bolesnika (broj tumorskih depozita ≥ 1 izražen je zelenom krivuljom, a broj tumorskih depozita < 1 izražen je plavom krivuljom)

ROC analiza broja tumorskih pupova i povezanosti s preživljenjem ispitanika je pokazala da je „cut-off“ vrijednost izražena uz pomoć Youdenovog indeksa (0.1886) pri kojoj su specifičnost i osjetljivost najveće iznosi 30 (osjetljivost 84.37%, specifičnost 34.48% s 95%-tnim intervalom pouzdanosti od 67.2 - 94.7% za osjetljivost i 22.5 - 48.1% za specifičnost) (Slika 20).

Pozitivna i negativna prediktivna vrijednost su prikazane zasebno (Tablica 9).



Slika 20. ROC analiza broja tumorskih pupova i povezanosti s preživljenjem ispitanika

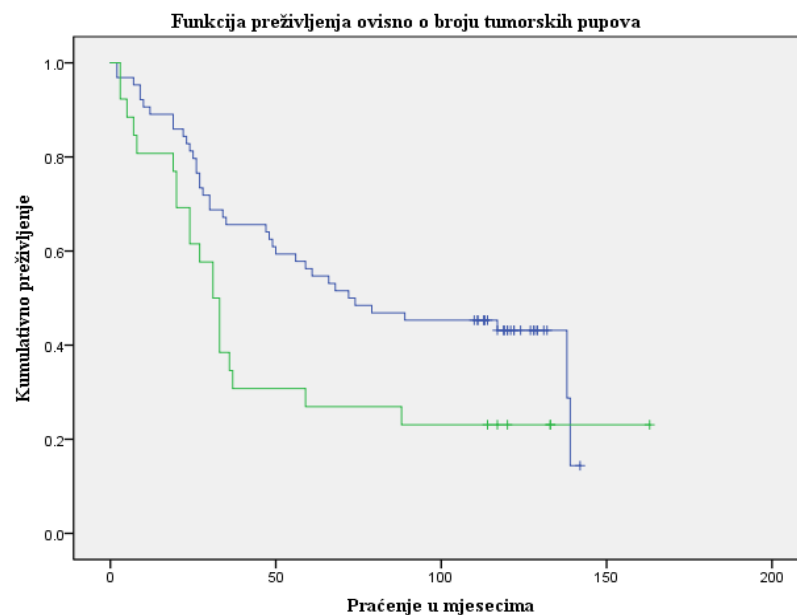
Tablica 9. Pozitivna i negativna prediktivna vrijednost povezanosti broja tumorskih pupova i preživljenja bolesnika s kolorektalnim karcinomom

Pozitivna prediktivna vrijednost (%)	64
95% CI	51.5 - 75.2
Negativna prediktivna vrijednost (%)	61.5
95% CI	38.2 - 81.5

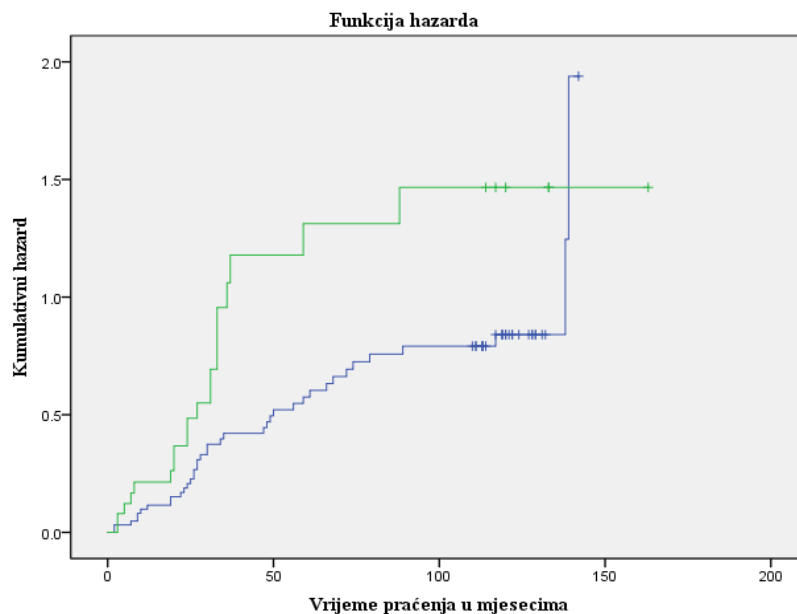
Potom su vrijednosti broja tumorskih pupova pretvorene u kategoričke. Ukoliko je vrijednost u uzorku ispitanika bila ≥ 30 , pretvorena je u kategoričku varijablu s vrijednošću 1, a ukoliko je vrijednost u uzorku ispitanika bila < 30 , pretvorena je u kategoričku varijablu s vrijednošću 0.

Povezanost broja tumorskih pupova i preživljenja bolesnika je prikazana koristeći Kaplan Meier krivulju preživljenja (Slika 21) te grafikon funkcije hazarda (Slika 22).

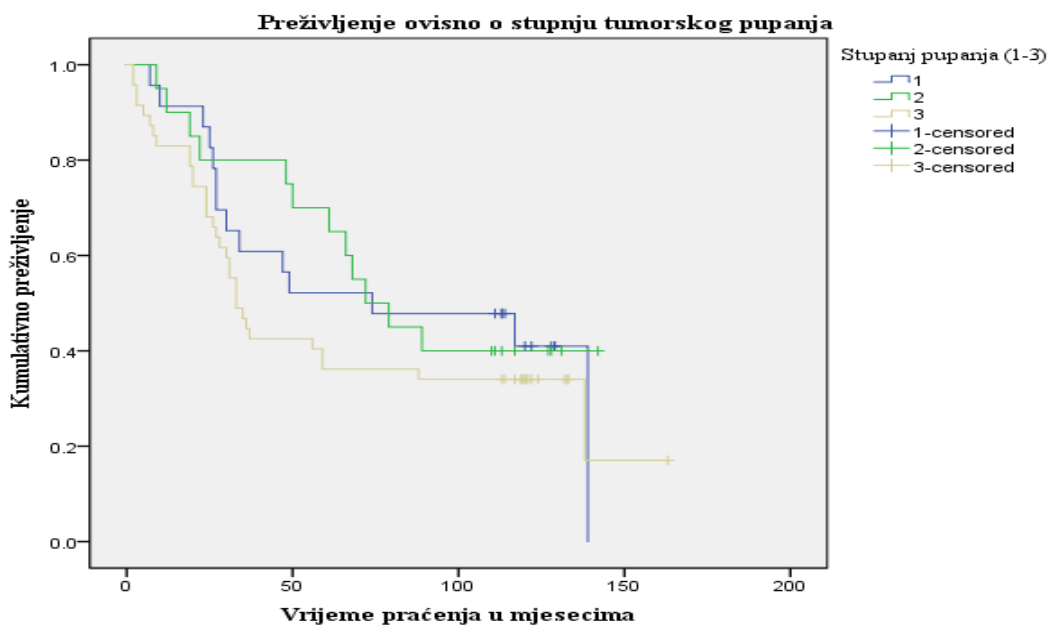
Povezanost je naznačena i Kaplan-Meier krivuljom koja pokazuje utjecaj stupnja tumorskoga pupanja na preživljenje bolesnika (Slika 23, Slika 24).



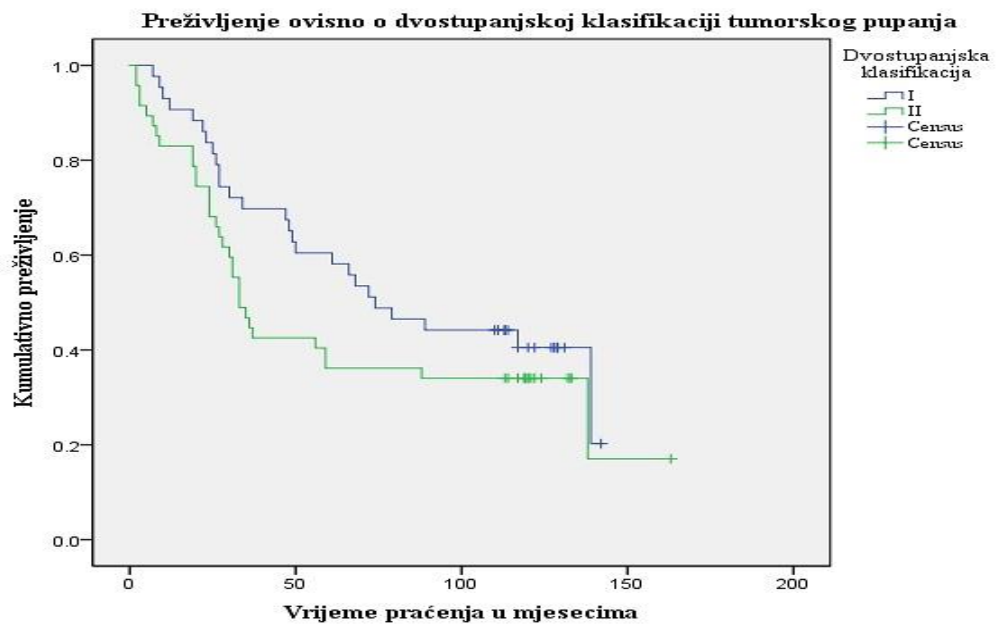
Slika 21. Povezanost broja tumorskih pupova i preživljenja bolesnika (broj pupova ≥ 30 izražen je zelenom krivuljom, a broj pupova < 30 izražen je plavom krivuljom) ($p=0.002$)



Slika 22. Povezanost broja tumorskih pupova i porasta hazarda u odnosu na preživljenje bolesnika (broj pupova ≥ 30 izražen je zelenom krivuljom, a broj pupova < 30 izražen je plavom krivuljom)



Slika 23. Povezanost stupnja tumorskoga pupanja i preživljenja bolesnika ($p=0.001$)



Slika 24. Povezanost stupnja tumorskoga pupanja po dvostupanjskoj klasifikaciji i preživljenja bolesnika ($p=0.001$)

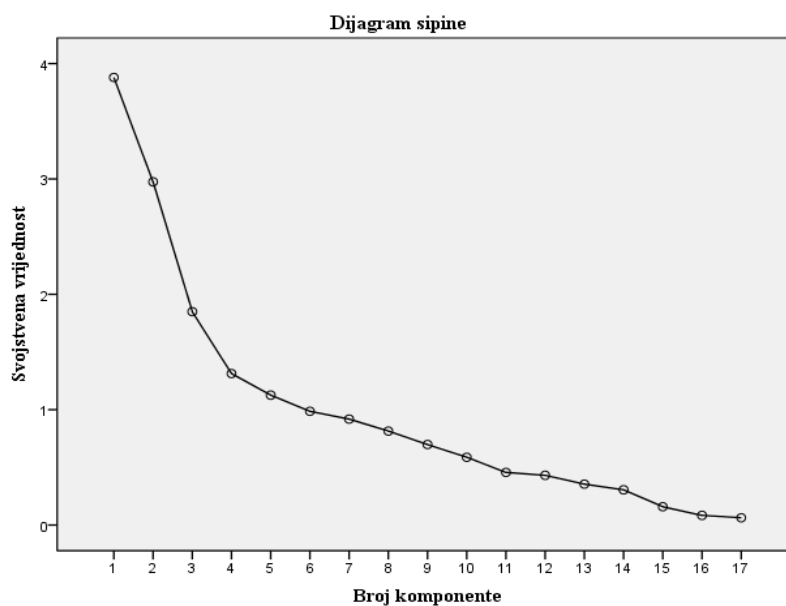
Učinjena je i konfirmatorna analiza glavnih komponenti (od eng. „Principal component analysis“) koristeći sve ispitivane varijable. Analiza je identificirala 9 komponenti koje kumulativno opisuju 85.645% varijance, pri čemu prve tri komponente opisuju 51.198% varijance (Tablica 10).

Tablica 10. Prikaz ukupnih varijanci analize glavnih komponenti

Komponenta	Inicijalna svojstvena vrijednost			Ekstrakcijske sume		
	Ukupno	% varijance	Kumulativno %	Ukupno	% varijance	Kumulativno %
1	3.880	22.822	22.822	3.880	22.822	22.822
2	2.975	17.499	40.321	2.975	17.499	40.321
3	1.849	10.877	51.198	1.849	10.877	51.198
4	1.313	7.724	58.922	1.313	7.724	58.922
5	1.126	6.624	65.546	1.126	6.624	65.546
6	.986	5.800	71.346			
7	.919	5.403	76.749			
8	.815	4.792	81.541			
9	.698	4.104	85.645			
10	.588	3.457	89.102			
11	.456	2.681	91.783			
12	.431	2.535	94.319			
13	.355	2.085	96.404			
14	.305	1.796	98.200			
15	.159	.934	99.135			
16	.084	.494	99.629			
17	.063	.371	100.000			

Ekstrakcijska metoda: Analiza glavnih komponenti

Dijagram sipine pokazuje prve dvije komponente sa svojstvenim vrijednostima >3, koje se mogu smatrati značajnim glavnim komponentama (Slika 25, Tablica 11).



Slika 25. Prikaz svojstvenih vrijednosti u analizi glavnih komponenti koji označava prve dvije glavne komponente kao značajne deskriptore varijance

Tablica 11. Prikaz koeficijena korelacije u matriksu prve tri glavne komponente

	Matriks komponenti ^a					
	Komponenta					
	1	2	3	4	5	6
T	.477	-.130	.563	.140	-.421	.005
N	.806	-.018	-.020	.134	.182	-.113
TNM Stadij	.709	-.133	.389	.199	-.079	-.088
EMVI	.499	.114	-.402	.004	.085	.335
LVI	.520	.116	-.308	.273	-.063	.143
PNI	.469	.291	-.176	-.102	-.061	.307
Mucinozna komponenta	.185	-.046	.141	-.053	-.639	-.131
Tumorski depoziti	.069	.530	.244	.036	.012	.397
Broj tumorskih pupova	-.139	.800	-.173	.081	.110	-.143
Stupanj tumorskoga pupanja ^b	-.204	.809	.281	.154	.215	-.123
Stupanj tumorskoga pupanja ^c	-.188	.826	.297	.156	.142	-.116
Broj limfnih čvorova	.270	-.411	.039	-.215	.450	-.507
Broj poz. limfnih čvorova	.814	-.004	-.098	.158	.366	-.176
LNR	.752	.213	-.187	.245	.051	.146
Duljina resecciranog kolona	.044	-.328	.371	-.521	.324	.414
Resekcijski rub	.057	-.238	.631	-.062	.287	.306
Promjer tumora	.277	-.357	.483	.314	-.052	-.064
Vrijeme praćenja	-.444	-.446	-.019	.637	.247	.146
Cenzus	-.576	-.354	-.044	.635	.054	.150

Ekstrakcijska metoda: Analiza glavnih komponenti

a. Ekstrahirano 6 komponenti

b. Stupanj tumorskoga pupanja po trostupanjskoj klasifikaciji (ITBCC)

c. Stupanj tumorskoga pupanja po dvostupanjskoj klasifikaciji

Koeficijenti korelacije prve i druge komponente pokazuju da vrijednosti varijabli prisutnosti tumorskih depozita, broja tumorskih depozita, broj pupova, stupanj pupanja i klasifikacija pupanja značajno češće čine varijancu prve tri komponente, a isto tako pokazuju značajnu negativnu korelaciju s preživljenjem ispitanika.

Statistička analiza učinjena χ^2 testom, Pearsonovim testom korelacije i Spearmanovim rho rank koeficijentom korelacije usporedila je relevantne patohistološke, demografske i kliničke varijable ispitanika (Tablice 12 i 13).

Analiza Pearsonovim testom korelacije za kontinuirane varijable je pokazala da promjer najvećeg izmjenog tumorskoga depozita korelira s brojem pupova (Pearsonov koeficijent korelacije 0.366, $p=0.022$). Broj tumorskih pupova negativno korelira sa brojem limfnih čvorova (Pearsonov koeficijent korelacije -0.242, $p=0.022$) i s duljinom resecciranog kolona (Pearsonov koeficijent korelacije -0.252, $p=0.017$). Broj

izoliranih limfnih čvorova pozitivno korelira sa brojem pozitivnih (tumorskim stanicama zahvaćenih) limfnih čvorova (koeficijent korelacije 0.407, $p=0.001$) (Tablica 12).

Analiza Spearmanovim rho rank koeficijentom korelacije za kategoričke varijable je pokazala da je prisutnost tumorskih depozita bila povezana sa stupnjem tumorskoga pupanja (Spearman rho koeficijent 0.322, $p=0.002$), dvostupanjskom klasifikacijom tumorskoga pupanja (Spearman rho koeficijent 0.363, $p=0.001$) te prisutnošću >30 tumorskih pupova (Spearman rho koeficijent 0.367, $p=0.001$). Također, pokazano je da je dob negativno povezana s ekstramuralnom venskom invazijom (Spearman rho koeficijent -0.257, $p=0.047$), dok je gradus tumora pozitivno korelirao s istom varijablom (Spearman rho koeficijent 0.275, $p=0.009$). Ekstramuralna venska invazija je bila povezana i s muškim spolom (Spearman rho koeficijent -0.210, $p=0.047$), N kategorijom (Spearman rho koeficijent 0.353, $p=0.001$), limfovaskularnom invazijom (Spearman rho koeficijent 0.314, $p=0.003$) i perineuralnom invazijom (Spearman rho koeficijent 0.254, $p=0.016$). Limfovaskularna invazija je bila povezana i s N kategorijom (Spearman rho koeficijent 0.312, $p=0.003$). Perineuralna invazija je bila povezana s N kategorijom (Spearman rho koeficijent 0.280, $p=0.008$) (Tablica 13).

Analiza χ^2 testom je pokazala povezanost prisustva tumorskih depozita i >30 tumorskih pupova ($\chi^2=12.140$, df 1, $p<0.001$), kao i >13 tumorskih pupova ($\chi^2=11.866$, df 1, $p<0.001$), stupnja tumorskoga pupanja ($\chi^2=12.337$, df 2, $p=0.002$), dvostupanjske klasifikacije tumorskoga pupanja ($\chi^2=11.866$, df 1, $p<0.001$), broja pozitivnih limfnih čvorova ($\chi^2=28.029$, df 13, $p=0.009$).

Iako je Pearsonovim testom korelacije dokazano da promjer najvećeg izmjerenog tumorskoga depozita korelira s brojem tumorskih pupova (Pearsonov koeficijent korelacije 0.366, $p=0.022$), nije nađena statistički značajna povezanost promjera najvećeg izmjerenog tumorskoga depozita i stupnja tumorskoga pupanja ($p=0.093$).

Tablica 12. Prikaz rezultata statističke obrade povezanosti patohistoloških varijabli testirane Pearsonovim testom korelacije

		Dob	Broj TD	Promjer TD	Broj TP	Broj l.č.	Broj poz. l.č.	Muc. komp.	Promjer tumora	Duljina res. kolona
Dob	<i>r</i> Sig. (2-tailed) N	1 . 90	.186 .250 39	.030 .856 39	-.114 .285 90	-.067 .527 90	.028 .792 90	.071 .506 90	-.024 .824 90	.137 .196 90
Broj tumorskih depozita	<i>r</i> Sig. (2-tailed) N	.186 .250 39	1 . 39	.125 .579 22	-.052 .749 39	.107 .510 39	.119 .464 39	.174 .284 39	.023 .889 39	.096 .555 39
Promjer tumorskih depozita	<i>r</i> Sig. (2-tailed) N	.030 .856 39	.136 .409 39	1 . 39	.366 .022 39	-.257 .115 39	-.140 .394 39	.136 .409 39	-.107 .518 39	-.003 .988 39
Broj tumorskih pupova	<i>r</i> Sig. (2-tailed) N	-.114 .285 90	-.047 .659 90	.366 .022 39	1 . 90	-.242 .022 90	-.022 .836 90	-.047 .659 90	-.157 .140 90	-.252 .017 90
Broj limfnih čvorova	<i>r</i> Sig. (2-tailed) N	-.067 .527 90	.107 .510 39	-.257 .115 39	-.242 .022 90	1 . 90	.407 .000 90	-.043 .687 90	.186 .079 90	.181 .087 90
Broj poz. limfnih čvorova	<i>r</i> Sig. (2-tailed) N	.028 .792 90	.119 .464 39	-.140 .394 39	-.022 .836 90	.407 .000 90	1 . 90	.029 .788 90	.187 .077 90	-.009 .931 90
Mucinozna komponenta	<i>r</i> Sig. (2-tailed) N	.071 .506 90	.174 .284 39	.136 .409 39	-.047 .659 90	-.043 .687 90	.029 .788 90	1 . 90	.142 .180 90	-.085 .423 90
Promjer tumora	<i>r</i> Sig. (2-tailed) N	-.024 .824 90	.023 .889 39	-.107 .518 39	-.157 .140 90	.186 .079 90	.187 .077 90	.142 .180 90	1 . 90	.115 .282 90
Duljina res. kolona	<i>r</i> Sig. (2-tailed) N	.137 .196 90	.096 .555 39	-.003 .988 39	-.252 .017 90	.181 .087 90	-.009 .931 90	-.085 .423 90	.115 .282 90	1 . 90

Tablica 13. Prikaz rezultata statističke obrade povezanosti patohistoloških varijabli testirane Spearmanovim rho rank testom korelacije

		Spol	Gradus	T	N	TNM Stadij	EMVI	LVI	PNI	TD	Stupanj pupanja
Spol	r_s	1.000	-.094	-.025	.074	-.099	-.210	.018	.077	-.071	.107
	Sig. (2-tailed)	.	.379	.819	.488	.934	.047	.865	.473	.504	.314
	N	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90
Gradus	r_s	-.094	1.000	.215	.294	.144	.275	.139	.188	.025	-.075
	Sig. (2-tailed)	.379	.	.042	.005	.175	.009	.191	.076	.812	.465
	N	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90
T	r_s	-.025	.215	1.000	.283	.704	-.016	.165	.143	.050	-.135
	Sig. (2-tailed)	.819	.042	.	.007	.000	.883	.120	.178	.638	.214
	N	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90
N	r_s	.074	.294	.283	1.000	.482	.353	.312	.280	-.010	-.106
	Sig. (2-tailed)	.488	.005	.007	.	.000	.001	.003	.008	.923	.318
	N	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90
TNM Stadij	r_s	-.099	.144	.704	.482	1.000	.087	.276	.176	.079	-.131
	Sig. (2-tailed)	.934	.175	.000	.000	.	.418	.008	.098	.461	.219
	N	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90
EMVI	r_s	-	.275	-.016	.353	.087	1.000	.314	.254	.140	-.118
	Sig. (2-tailed)	.210*	.009	.883	.001	.418	.	.003	.016	.189	.267
	N	0.047	90	90	90	90	90	90	90	90	90
LVI	r_s	.018	.139	.165	.312	.276	.314	1.000	.395	.020	.052
	Sig. (2-tailed)	.865	.191	.120	.003	.008	.003	.	.000	.849	.630
	N	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90
PNI	r_s	.077	.188	.143	.280	.176	.254	.395	1.000	.168	.070
	Sig. (2-tailed)	.473	.076	.178	.008	.098	.016	.000	.	.114	.513
	N	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90
TD	r_s	-.071	.025	.050	-.010	.079	.140	.020	.168	1.000	.322
	Sig. (2-tailed)	.504	.812	.638	.923	.461	.189	.849	.114	.	.002
	N	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90
Stupanj pupanja	r_s	.107	-.075	-.135	-.106	-.131	-.118	.052	.070	.322	1.000
	Sig. (2-tailed)	.314	.465	.214	.318	.219	.267	.630	.513	.002	.
	N	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90

6. RASPRAVA

Određivanje egzaktnog stadija bolesti omogućava kliničarima usvajanje što pouzdanijih algoritama liječenja. TNM sustav za određivanje stadija tumora danas je globalno priznati standard za klasifikaciju opsega širenja tumora mnogih sijela pa tako i kolorektalnoga karcinoma. U toj klasifikaciji su dubina invazije tumora (T), prisutnost tumorom zahvaćenih regionalnih limfnih čvorova (N) te prisutnost udaljenih tumorskih metastaza (M) tradicionalno prepoznati kao važni prognostički faktori (57–60). Usprkos tome, spomenuti način klasifikacije u nekim kliničkim scenarijima se je pokazao nedovoljno precizan i nepouzdan i to zbog značajne varijacije u krajnjim ishodima čak i u bolesnika s istim stadijem bolesti (61,62).

Uz od ranije poznate parametre TNM klasifikacije, u posljednje vrijeme su otkrivene i druge patohistološke i morfološke osobine tumora kao važni prognostički čimbenici, a koji opisuju oblik interakcije tumorskoga tkiva sa susjednom stromom i kako ono utječe na potencijal tumorske invazije i metastaziranje (63,225). U eri intenzivnog istraživanja brojnih prognostičkih čimbenika kolorektalnoga karcinoma proučavana je i prognostička vrijednost brojnih obećavajućih i potencijalno klinički primjenjivih molekularnih biomarkera. Međutim, treba imati na umu da zbroj svih molekularnih značajki vjerojatno dovodi do određene morfološke slike koja ima definirane histološke karakteristike kao što su tumorsko pupanje i tumorski depoziti, a koji su bili predmet našeg istraživanja.

Tumorsko pupanje je opisano u 20-40% slučajeva kolorektalnoga karcinoma i predstavlja lokalnu migraciju male skupine dediferenciranih tumorskih stanica (manje od 5 stanica) s ruba invazivnog tumorskoga rasta u okolnu peritumorsku stromu (64,66,67). Danas se smatra da je tumorsko pupanje morfološka manifestacija i posljedica epitelno-mezenhimalne tranzicije, procesa u kojem stanice raka gube elemente epitelnih stanica i poprimaju osobine mezenhimalnih stanice rezultirajući povećanom invazivnošću, sklonosti migraciji te rezistencijom na apoptozu. Unatoč brojnim provedenim istraživanjima, povezanost između tumorskoga pupanja i EMT i dalje nije do kraja razjašnjena (75,84,85).

Tumorski depoziti kao relativno nova „N1c“ kategorija u TNM klasifikaciji predstavljaju ekstramuralnu fokalnu nakupinu tumorskih stanica smještenih u perikoličnom i/ili perirektalnom masnom tkivu (60). Definicija tumorskih depozita se je kroz povijest mijenjala i to najviše uslijed izmjena TNM klasifikacije. U najnovijem osmom izdanju TNM klasifikacije su uvedeni dodatni kriteriji kojima se kod potvrde tumorskih depozita definiraju isključni kriteriji u smislu izostanka histoloških naznaka prisutnosti arhitekture limfnog čvora kao i identifikacije vaskularnih ili neuralnih struktura oko tumorskih depozita, pokušavajući pri tome učiniti jasnu distinkciju prema zasebnim entitetima koji čine ekstramuralnu vaskularnu invaziju (EMVI) i perineuralnu invaziju (PNI). Susljedno navedenom, neki autori smatraju da bi tumorski depoziti mogli predstavljati diskontinuirani obrazac tumorskoga rasta (98,226). U provedenim istraživanjima incidencija tumorskih depozita u kolorektalnim karcinomima široko varira od 4-45%, a navedeno bi se moglo objasniti upravo brojnim izmjenama definicija tumorskih depozita kroz povijest (88,90–92).

Porijeklo tumorskih depozita je predmet brojnih istraživanja te još uvijek nije jasno kako tumorski depoziti nastaju. Iako procesi nastajanja tumorskoga pupanja i tumorskih depozita nisu u potpunosti razjašnjeni, dobro su poznate posljedice njihove prisutnosti u tumorskim tkivima, posebice u kolorektalnom karcinomu.

Istraživanjem Landau i suradnika je dokazano da su tumorski depoziti i visoki stadij tumorskoga pupanja (T₃) jedni od najznačajnijih negativnih prognostičkih čimbenika u kolorektalnom karcinomu (65). Istovjetni rezultati su dobivenim i drugim istraživanjima koja su odvojeno proučavala ove dvije patohistološke karakteristike (62,65,69,73,76,88,90,95,96,100). Zanimljivi su rezultati Belta i suradnika kao i ostalih provedenih istraživanja tumorskih depozita koji ukazuju da bolesnici s prisutnim tumorskim depozitima (N1c) imaju niže stope preživljenja bez znakova povrata bolesti u usporedbi s bolesnicima bez tumorskih depozita čak i u slučaju prisutnih metastaza u regionalnim limfnim čvorovima (N+) (97–99).

U našem istraživanju procjenjivali smo i uspoređivali prisutnost tumorskoga pupanja i tumorskih depozita u kolorektalnom karcinomu III. stadija istražujući na taj način moguću povezanost između navedenih patohistoloških karakteristika, budući da pregledom literature nisu nađeni do sada objavljeni radovi o povezanosti tumorskoga pupanja i tumorskih depozita.

U istraživanju smo proučavali tumorsko pupanje i tumorske depozite u 90 bolesnika oboljelih od III. stadija bolesti. U oblikovanju skupina ispitanika smo definirali dvije podjednako velike skupine s retrospektivno prikupljenim podacima do kojih smo došli ponovnim uvidom u patohistološke osobitosti tumora. Tako smo, uz skupinu s prisutnim tumorskim depozitima (N=39) koja se sukladno zadnja dva izdanja TNM klasifikacije malignih tumora definira kao „N1c“ i spada u III. stadij bolesti (59,60), definirali i kontrolnu skupinu bez prisutnih tumorskih depozita (N=51) koja je bila uparena na temelju patohistoloških čimbenika odnosno TNM stadija pa su tako u tu skupinu uključeni samo bolesnici oboljeli od III. stadija bolesti, a bez prisutnih tumorskih depozita (N1-2). Kako se je definicija tumorskih depozita mijenjala kroz povijest tako su neki od patohistoloških uzoraka, koji su u inicijalnoj procjeni nakon operacijskog zahvata bili okarakterizirani kao oni s prisutnim depozitima (N1c), ponovnim uvidom u patohistološke osobitosti sukladno najnovijem osmom izdanju TNM klasifikacije bili redefinirani kao metastaze u regionalnim limfnim čvorovima (N+) i obratno.

Rezultati našeg istraživanja nedvosmisleno pokazuju da u kolorektalnom karcinomu III. stadija tumorski depoziti se češće pojavljuju u bolesnika s višim stupnjem tumorskoga pupanja. Statistički jasno uočena povezanost između prisutnosti tumorskih depozita, ukupnog broja tumorskih pupova ($p=0.001$) i stupnja tumorskoga pupanja ($p=0.004$) mogla bi ukazivati na to da se tijekom početnih faza tumorske progresije vjerojatnije radi o izravnom širenju dediferenciranih pupajućih stanica tumora u okolnu stromu kroz mehanizme epitelno-mezenhimalne tranzicije, a manje vjerojatno o limfogenom ili perineuralnom širenju (87,91,225,227).

Slijedom navedenih rezultata našeg istraživanja, razvoj tumorskoga pupanja i tumorskih depozita mogao biti dio istog kontinuiranog procesa, sugerirajući na potencijalnu međusobnu povezanost u razvojnoj putanji tumorskoga pupanja i tumorskih depozita. Iako statistička povezanost ne mora nužno implicirati izravnu patofiziološku vezu, ona još uvijek može pružiti osnovu za buduća istraživanja s ciljem otkrivanja takve povezanosti.

Na tragu naših zaključaka su i ona pojedinih autora koji smatraju da bi razvoj i tumorska progresija kolorektalnoga karcinoma mogli djelomično ovisiti o promjenama u različitim patohistološkim značajkama s kojima još nismo u potpunosti upoznati, ali

za koje je karakteristično da ih tvore stanice ili skupine stanica odvojene od glavnog tumora u peritumorskoj stromi, a sve povezane s višom stopom metastaza u regionalnim limfnim čvorovima, udaljenim metastazama i nižim stopama preživljenja (228).

Takvi obrasci širenja prepoznati su u brojnim oblicima tumorskoga širenja na invazivnoj fronti tumorskoga rasta kao što su: tumorsko pupanje, slabo diferencirani klasteri, tumorski depoziti i drugi. (63,228–230). Postavlja se pitanje radi li se u slučaju navedenih patohistoloških karakteristika o različitim entitetima ili oni predstavljaju isti fenomen u različitim razvojnim oblicima, a koji su dio istog kontinuiranog procesa.

Rezultati našeg istraživanja dodatno naglašavaju važnost tumorskoga pupanja kao nepovoljnog prognostičkog faktora, pogotovo u kontekstu statistički dokazane snažne povezanosti s prisutnošću tumorskih depozita koji su, nakon mnogo godina lutanja u definiciji, našli svoje mjesto u dvije najnovije TNM klasifikacije kao kategorija "N1c".

U brojnim literaturnim izvorima i međunarodnim kliničkim smjernicama je prisutnost tumorskoga pupanja, a naročito visokog stupnja pupanja (Tb3) nezavisni negativan prognostički čimbenik koji je povezan s povišenim rizikom nastanka lokalnog recidiva bolesti i udaljenih metastaza, nižim stopama ukupnog preživljenja, a pozitivno korelira s prisutnošću mnogih drugih negativnih kliničko–patoloških čimbenika u kolorektalnom karcinomu (69,73,76). Glede definicije "visokog rizika" II. stadija kolorektalnoga karcinoma od strane međunarodnih kliničkih društava i smjernica, prihvaćanje tumorskoga pupanja kao negativnog prognostičkog čimbenika s direktnim implikacijama na daljnji terapijski tretman se razvija konzervativnije za razliku od drugih patohistoloških karakteristika kao što su npr. limfovaskularna invazija (LVI), perineuralna invazija (PNI), slaba diferencijacija tumora (HG) itd. (111–114,231).

Jedan od razloga je djelomično i zbog neslaganja u njihovoj definiciji, identifikaciji i zabilježenoj velikoj varijabilnosti u subjektivnoj procjeni stupnja tumorskoga pupanja u patohistološkim preparatima kao i zbog činjenice da je tek relativno recentno (ITBCC, 2016.) postignut međunarodni konsenzus o modalitetu određivanja stupnja tumorskoga pupanja (64,86,87). Zbog svih navedenih razloga su

i podaci o prevalenciji tumorskoga pupanja u kolorektalnom karcinomu u literaturi varirali od 20-40% bez obzira na stadij bolesti (64,65,67).

U našem istraživanju dokazali smo neočekivano visoku prevalenciju tumorskoga pupanja u kolorektalnom karcinomu III. stadija od 94.4%, što bi se djelomično moglo objasniti uznapredovalim stadijem tumorske bolesti. Kako pregledom literature nismo do sada pronašli objavljene podatke o prevalenciji tumorskoga pupanja u kolorektalnom karcinomu III. stadija, vjerujemo da bi ova informacija o zabilježenoj prevalenciji mogla biti od značaja te korisna za daljnje istraživanje. Kako bi se riješio problem velike varijabilnosti i subjektivnosti pri procjeni tumorskoga pupanja, u prošlosti je bilo objavljeno više predloženih metoda određivanja stupnja tumorskoga pupanja u kolorektalnom karcinomu (68,70,73,78,232).

U našem istraživanju, tumorsko pupanje je određivano primjenom preporuka međunarodne konferencije „International Tumor Budding Consensus Conference (ITBCC)“ iz 2016. godine, a objavljenih 2017. godine od strane Luglija i suradnika kao standardizirane metode procjene tumorskoga pupanja u kolorektalnom karcinomu. U njima je ukupan broj pupova podijeljen po trostupanjskoj klasifikaciji u tri stupnja: niski stupanj pupanja Bd1 (0-4 pupova), srednji stupanj pupanja Bd2 (5-9 pupova) i visoki stupanj pupanja Bd3 (≥ 10 pupova) (87). Od predstavljanja ITBCC preporuka 2017. godine, takav način procjene stupnja tumorskih depozita je postao široko prihvaćen u brojnim međunarodnim kliničkim smjernicama i dio standardnih elemenata u protokolima i izvješćima patologa (112–114,231,233).

Prema jednoglasnom konsenzusu ITBCC-a, a sukladno i ranijim provedenim istraživanjima, tumorsko pupanje je neovisni prediktor pojave metastaza u limfnim čvorovima u malignom pT1 polipu te neovisni prediktor stope ukupnog preživljenja u kolorektalnom karcinomu II. stadija te ga treba uzeti u obzir zajedno s nalazom ostalih kliničko-patoloških značajki u patohistološkim izvješćima (87,234).

Do sada su identificirana najmanje tri različita klinička scenarija u kojima procjena tumorskoga pupanja može ponuditi vrijedne prognostičke informacije za daljnje kliničko postupanje. Prvi scenarij je onaj u procjeni tumorskoga pupanja kao prediktora metastaza u regionalnim limfnim čvorovima u malignom pT1 polipu nakon učinjene endoskopske resekcije. Tako su Capelleso i suradnici u metaanalizi 41

studije provedene na više od 10000 ispitanika s pT1 kolorektalnim karcinomom potvrdili statistički snažnu korelaciju između prisutnosti tumorskoga pupanja i rizika metastaza u regionalne limfne čvorove (OR 6.44, 95% CI 5.26-7.87, $p < 0.0001$) (235).

Drugi klinički scenarij se odnosi na procjenu tumorskoga pupanja u kolorektalnom karcinomu II. stadija u svrhu identifikacije "visokog rizika" za II. stadij bolesti kada se bolesnicima treba preporučiti provođenje adjuvantne kemoterapije. Brojnim provedenim istraživanjima je dokazano da je prisutnost tumorskoga pupanja, a naročito visokog stupnja pupanja nezavisni negativan prognostički čimbenik. U tom smislu su Ueno i suradnici validirali klasifikacijski sustav ITBCC-a objavljen 2017. godine s provedenim multicentričnim istraživanjem gdje je stopa 5-godišnjeg preživljenja bez znakova povrata bolesti bila 90.9% u bolesnika s tumorima klasificiranim kao Bd1, 85,1% u onih s Bd2 i 74.4% u onih s Bd3 ($p < 0.001$). Također je dokazana i značajna korelacija između stupnja tumorskoga pupanja i nastanka recidiva u jetri, plućima, regionalnim limfnim čvorovima i peritoneumu ($p < 0.001$) (236).

Treći klinički scenarij je u evaluaciji intratumorskoga pupanja u prijeoperacijskim biopsijama koje može imati značajne daljnje kliničke implikacije, osobito u prijeoperacijskom liječenju bolesnika s karcinomom rektuma kada se može razmotriti primjena neoadjuvantnog onkološkog liječenja (234,237,238).

Kako je navođenje tumorskoga pupanja u patohistološkim nalazima s vremenom postalo zastupljenije u svakodnevnom radu, tako je i procjena istih naknadno validirana u brojnim kliničkim istraživanjima (239–241), a s vremenom su se pojavila dodatna pitanja koja su zahtijevala i dodatna pojašnjenja. Neke od novih otvorenih tema u istraživačkim radovima u eri nakon predstavljanja smjernica ITBCC-a 2017. godine su uključivala pitanje reproducibilnosti procjene tumorskoga pupanja i razvoj automatiziranih algoritama za detekciju tumorskoga pupanja uz pomoć novih digitalnih tehnologija. Smatra se da bi se u budućnosti takvi automatizirani algoritmi za detekciju i procjenu tumorskoga pupanja mogli pokazati učinkovitima u standardiziranju i objektiviziranju procjene tumorskoga pupanja pri uvođenju u rutinsku kliničku praksu (242). Ostaje i pitanje granične („cut-off“) vrijednosti broja tumorskih pupova u procjeni visokog stupnja tumorskoga pupanja, bilo kroz trostupanjski ili dvostupanjski klasifikacijski sustav, a koja je statistički najjasnije povezana sa pojavom

negativnih ishoda, kao što su rizik lokalnog recidiva bolesti, udaljenih metastaza te niže stope ukupnog preživljenja (224,236,239–241,243,244).

U našem istraživanju, uzimajući u obzir relativno mali uzorak ispitanika, postavljen je broj od 30 tumorskih pupova koristeći ROC analizu kao granična vrijednost koja značajno utječe na ukupno preživljenje bolesnika. U slučaju većeg uzorka ispitanika i uzimajući u obzir sve stadije bolesti po TNM klasifikaciji, granična vrijednost bi vjerojatno bila manja i bliža vrijednosti od 10 tumorskih pupova, koja se najčešće i koristi u literaturi kao afirmirana granična vrijednost („cut-off“) definicije visokog stupnja tumorskoga pupanja, bilo kroz trostupanjsku ili dvostupanjsku klasifikaciju tumorskoga pupanja koju su predložili Graham i suradnici (224,245).

U našem radu smo usporedno naveli podatke statističke analize vezane uz dvostupanjsku i trostupanjsku klasifikaciju tumorskoga pupanja. Smatramo kako podjela na dvostupanjsku klasifikaciju daje širu marginu pogreške u procjeni u kojoj mjeri viši stupanj tumorskoga pupanja utječe na preživljenje bolesnika. Isto tako, značaj srednjeg stupnja tumorskoga pupanja (Bd2) prema trostupanjskoj klasifikaciji (ITBCC) može biti potencijalni izvor neslaganja u daljnjim kliničkim reperkusijama, budući da, po nekim provedenim istraživanjima, srednji stupanj pupanja (Bd2) može imati različitu prognostičku vrijednost ovisno o kliničkom scenariju npr. pT1 nasuprot II. stadija bolesti. U slučaju pT1 kolorektalnoga karcinoma, srednji (Bd2) i visoki stupanj (Bd3) tumorskoga pupanja su povezani s povećanim rizikom od metastaza u regionalnim limfnim čvorovima dok je u II. stupnju bolesti visoki stupanj (Bd3) tumorskoga pupanja povezan s povišenim rizikom lokalnog recidiva bolesti, nastanka udaljenih metastaza i s nižim stopama ukupnog preživljenja bolesnika (87,112,224,236).

Rezultati našeg istraživanja nedvosmisleno ukazuju na to da promjer najvećeg tumorskoga depozita pozitivno korelira s ukupnim brojem tumorskih pupova. To bi se moglo objasniti činjenicom da je razvojni vremenski okvir tijekom kojeg tumorski depoziti rastu u dimenziji isti vremenski period ekspanzije broja tumorskih pupova koji prolaze kroz sličnu progresiju u svom razvojnem obliku. Iako je Pearsonovim testom korelacije dokazano da promjer najvećeg tumorskoga depozita korelira s brojem tumorskih pupova ($p=0.022$), nije nađena statistički značajna povezanost promjera najvećeg izmjenjenog tumorskoga depozita i stupnja tumorskoga pupanja ($p=0.093$).

Navedeno se može objasniti gubitkom osjetljivosti za dokazivanje statističke značajnosti kada je apsolutan broj tumorskih pupova klasificiran u stupnjeve, pogotovo u slučaju relativno malog uzorka ispitanika. U literaturi je do sada objavljeno više radova koji ukazuju na povezanost stupnja tumorskoga pupanja i TNM stadija (64,86,225,241,246). Izostanak povezanosti stupnja tumorskoga pupanja i različitog TNM podstadija (IIIA-C) u našem istraživanju se vjerojatno može pripisati homogenosti naših ispitivanih skupina, koji su svi u III. stadiju bolesti, pa je samim time i za očekivati da će u tom smislu izostati statistički značajan učinak višeg T i N stadija. Osim toga, relativno mali uzorak ispitanika dodatno pridonosi izazovu identifikacije značajne povezanosti između stupnja tumorskoga pupanja i TNM podstadija. Nije pronađena ni statistički značajna razlika u pojavnosti tumorskoga pupanja i tumorskih depozita ovisno o lokalizaciji tumora u debelom crijevu (desni kolon, lijevi kolon, rektum) kao niti ovisno o spolu ili dobi ispitanika.

S obzirom na relativno mali uzorak ispitanika i činjenicu da su svi ispitanici bili oboljeli od III. stadija bolesti, ipak je u našem istraživanju nedvojbeno dokazano da su prisutnost i rastući broj tumorskih depozita kao i viši stupanj tumorskoga pupanja bili statistički značajno povezani s lošijom prognozom i kraćim ukupnim preživljenjem bolesnika što je ranije dokazano brojnim studijama na većem uzorku ispitanika i uključujući sve stadije bolesti (77,86,89,91,98,225,227,246,247).

Dokazivanje povezanosti tumorskoga pupanja i tumorskih depozita moglo bi ukazivati na to da se u ranoj fazi tumorske progresije vjerojatnije radi o direktnom širenju dediferenciranih pupajućih stanica tumora u okolnu stromu, sugerirajući da bi razvoj tumorskoga pupanja i tumorskih depozita mogao biti dio istog kontinuiranog procesa. Navedeno bi moglo dovesti to novih saznanja o zbivanjima na infiltrativnoj fronti tumorskoga rasta u samim počecima tumorske ekspanzije i u budućnosti utjecati na detekciju nekih novih patohistoloških morfoloških čimbenika. Nova saznanja bi mogla utjecati i na promjenu dijagnostičkih modaliteta, u smislu stratifikacije bolesnika u preciznije prognostičke skupine te bi mogla poslužiti i kao potencijalna meta u budućim istraživanjima novih terapijskih opcija u liječenju kolorektalnoga karcinoma. Naše istraživanje ima nekoliko ograničenja, a glavno je njegova retrospektivna priroda i oslanjanje na relativno mali uzorak ispitanika na bazi rezultata iz jedne kliničke institucije. Stoga, smatramo da su potrebna daljnja istraživanja kroz validaciju ovih podataka kroz multicentrični pristup i na većem uzorku ispitanika.

7. ZAKLJUČCI

1. Tumorski depoziti se češće pojavljuju u bolesnika oboljelih od kolorektalnoga karcinoma III. stadija s višim stupnjem tumorskoga pupanja ($p < 0.001$).
2. Rezultati provedenog istraživanja ukazuju da promjer najvećeg tumorskoga depozita pozitivno korelira s ukupnim brojem tumorskih pupova ($p = 0.022$). Međutim, nije pronađena statistički značajna povezanost promjera najvećeg tumorskoga depozita i stupnja tumorskoga pupanja ($p = 0.093$).
3. U ovom istraživanju nije dokazana povezanost stupnja tumorskoga pupanja i TNM podstadija bolesti (IIIA-C).
4. Prisutnost tumorskih depozita ($p = 0.01$) kao i prisutnost visokog stupnja tumorskoga pupanja ($p = 0.001$) su statistički značajno povezani s kraćim ukupnim preživljenjem bolesnika oboljelih od kolorektalnoga karcinoma III. stadija.
5. Provedenim istraživanjem nije pronađena statistički značajna razlika u pojavnosti tumorskoga pupanja i tumorskih depozita ovisno o lokalizaciji tumora u debelom crijevu (desni kolon, lijevi kolon, rektum) kao niti statistički značajna razlika u pojavnosti ovisno o dobi ili spolu ispitanika.
6. Izmjerena prevalencija tumorskoga pupanja u kolorektalnom karcinomu III. stadija je bila neočekivano visoka i iznosila je 94.4%.
7. Dokazivanje povezanosti između tumorskoga pupanja i tumorskih depozita moglo bi ukazivati na to da se u ranoj fazi tumorske progresije vjerojatnije radi o izravnom širenju dediferenciranih pupajućih stanica tumora u okolnu stromu, a manje vjerojatno o limfogenom ili perineuralnom širenju, sugerirajući da bi razvoj tumorskoga pupanja i tumorskih depozita mogao biti dio istog kontinuiranog procesa s potencijalnom međusobnom povezanosti u njihovoj razvojnoj putanji.
8. Prisutnost tumorskoga pupanja, a naročito visokog stupnja tumorskoga pupanja je nezavisni negativan prognostički čimbenik koji je povezan s povišenim rizikom lokalnog recidiva bolesti i udaljenih metastaza, nižim stopama ukupnog preživljenja, a pozitivno korelira s prisutnošću mnogih drugih negativnih kliničko-patoloških čimbenika u kolorektalnom karcinomu.

8. SAŽETAK

U posljednje vrijeme otkrivene su nove morfološke osobine kolorektalnoga karcinoma kao važni prognostički čimbenici od kojih smo u našem istraživanju proučavali odnos tumorskoga pupanja i tumorskih depozita.

Provedeno je retrospektivno kohortno istraživanje u kojem je bilo uključeno 90 bolesnika koji su bili liječeni radikalnom kirurškom resekcijom na Klinici za kirurgiju Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice, u razdoblju između 1. siječnja 2009. i 31. prosinca 2013. godine, s patohistološki potvrđenom dijagnozom kolorektalnoga karcinoma III. stadija. Za svakog bolesnika uključenog u istraživanje analizirani su svi arhivski patohistološki preparati bojeni hemalaun-eozinom kako bi se učinio ponovni uvid u patohistološke osobitosti tumora. Ovisno o prisutnosti tumorskih depozita, patohistološki uzorci su bili podijeljeni u dvije približno jednako velike skupine i to u skupinu s prisutnim tumorskim depozitima (N=39) i u kontrolnu skupinu bez prisutnih tumorskih depozita (N=51). Prisutnost i stupanj tumorskoga pupanja dodatno su analizirani u ovim skupinama i uspoređeni s drugim kliničkim i patohistološkim značajkama.

Izmjerena prevalencija tumorskoga pupanja u kolorektalnom karcinomu III. stadija je bila neočekivano visoka i iznosila je 94.4%. Tumorski depoziti se češće pojavljuju u bolesnika s višim stupnjem tumorskoga pupanja ($p=0.004$). Prisutnost tumorskih depozita ($p=0.01$) kao i prisutnost visokog stupnja tumorskoga pupanja ($p=0.001$) su statistički značajno povezani s kraćim ukupnim preživljenjem bolesnika oboljelih od kolorektalnoga karcinoma III. stadija.

Rezultati istraživanja ukazuju na to da se u ranoj fazi tumorske progresije vjerojatnije radi o direktnom širenju dediferenciranih pupajućih stanica tumora u okolnu stromu, sugerirajući da bi razvoj tumorskoga pupanja i tumorskih depozita mogao biti dio istog kontinuiranog procesa. Također, rezultati dodatno naglašavaju važnost tumorskoga pupanja kao nepovoljnog prognostičkog čimbenika.

Ključne riječi: kolorektalni karcinom, tumorsko pupanje, tumorski depoziti

9. SUMMARY

TITLE: The relationship between tumor budding and tumor deposits and their relation to clinical-pathological parameters in patients with colorectal carcinoma

Zdenko Bilić, 2024.

Recently, some new morphological features of colorectal cancer have been discovered as significant prognostic factors. In our work, we have studied the relationship between tumor budding and tumor deposits.

The retrospective cohort study included 90 patients with pathohistologically confirmed stage III colorectal cancer who were treated with radical surgical resection at the Department of Surgery, Sestre milosrdnice University Hospital Center, in the period between January 1, 2009, and December 31, 2013. All hematoxylin and eosin (H and E)-stained slides from each patient were reviewed, and histological parameters were recorded. The samples were divided into two groups with similar sizes: a group with tumor deposits (N=39), and a control group without tumor deposits (N=51). The presence and tumor budding grade were further analyzed in these groups and compared with other clinical and histological features.

The prevalence of tumor budding in stage III CRC was unexpectedly high (94.4%). The presence of tumor deposits was significantly associated with a higher tumor budding grade ($p=0.004$). The presence of tumor deposits ($p = 0.01$) and the higher tumor budding grade ($p=0.001$) were statistically significantly associated with shorter survival in stage III colorectal cancer.

The results indicate that in the early stage of tumor progression, it is more likely due to the direct spread of tumor bud cells into the surrounding stroma, suggesting that the development of tumor budding and tumor deposits could be part of the same continuous process. Also, the results further emphasize the importance of tumor budding as an unfavorable prognostic factor.

Keywords: colorectal carcinoma; tumor budding; tumor deposits

10. POPIS LITERATURE

1. The Global Cancer Observatory (GCO) [internet]. Lyon, Francuska: World Health Organization International Agency for Research on Cancer (IARC); 2024 [pristupljeno 14.02.2024.]. Dostupno na: <https://gco.iarc.who.int/today/>.
2. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, i sur. 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. Siegel RL, Giaquinto AN, Jemal A. Cancer statistics, 2024. *CA Cancer J Clin.* 2024;74(1):12–49.
4. Xi Y, Xu P. Global colorectal cancer burden in 2020 and projections to 2040. *Transl Oncol.* 2021;14(10):101174.
5. Baidoun F, Elshiwiy K, Elkeraie Y, Merjaneh Z, Khoudari G, Sarmini MT, i sur. Colorectal Cancer Epidemiology: Recent Trends and Impact on Outcomes. *Curr Drug Targets.* 2021;22(9):998–1009.
6. Murphy N, Campbell PT, Gunter MJ. Unraveling the Etiology of Early-Onset Colorectal Cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2021;113(5):505–6.
7. Rawla P, Sunkara T, Barsouk A. Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Gastroenterol Rev.* 2019;14(2):89–103.
8. Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Incidencija raka u Hrvatskoj u 2021. godini [internet]. Zagreb, Hrvatska: Hrvatski zavod za javno zdravstvo; 2024 [pristupljeno 14.02.2024.]. Dostupno na: <https://www.hzjz.hr/aktualnosti/incidencija-raka-u-hrvatskoj-u-2021-godini/>.
9. Allemani C, Matsuda T, Di Carlo V, Harewood R, Matz M, Nikšić M, i sur. Global surveillance of trends in cancer survival 2000–14 (CONCORD-3): analysis of individual records for 37 513 025 patients diagnosed with one of 18 cancers from 322 population-based registries in 71 countries. *The Lancet.* 2018;391(10125):1023–75.
10. Ionescu VA, Gheorghe G, Bacalbasa N, Chiotoroiu AL, Diaconu C. Colorectal Cancer: From Risk Factors to Oncogenesis. *Medicina (Mex).* 2023;59(9):1646.
11. O'Sullivan DE, Sutherland RL, Town S, Chow K, Fan J, Forbes N, i sur. Risk Factors for Early-Onset Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc.* 2022;20(6):1229–40.
12. Venugopal A, Carethers JM. Epidemiology and biology of early onset colorectal cancer. *EXCLI J.* 2022;21:162–82.

13. US Preventive Services Task Force, Davidson KW, Barry MJ, Mangione CM, Cabana M, Caughey AB, i sur. Screening for Colorectal Cancer: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *JAMA*. 2021;325(19):1965–77.
14. Maimaitiyiming M, Yang H, Zhou L, Zhang X, Cai Q, Wang Y. Associations between an obesity-related dietary pattern and incidence of overall and site-specific cancers: a prospective cohort study. *BMC Med*. 2023;21(1):251.
15. Ocvirk S, O’Keefe SJD. Dietary fat, bile acid metabolism and colorectal cancer. *Semin Cancer Biol*. 2021;73:347–55.
16. Bouvard V, Loomis D, Guyton KZ, Grosse Y, Ghissassi FE, Benbrahim-Tallaa L, i sur. Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. *Lancet Oncol*. 2015;16(16):1599–600.
17. Ocvirk S, Wilson AS, Appolonia CN, Thomas TK, O’Keefe SJD. Fiber, Fat, and Colorectal Cancer: New Insight into Modifiable Dietary Risk Factors. *Curr Gastroenterol Rep*. 2019;21(11):62.
18. Karahalios A, English DR, Simpson JA. Weight change and risk of colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Am J Epidemiol*. 2015;181(11):832–45.
19. Ma Y, Yang Y, Wang F, Zhang P, Shi C, Zou Y, i sur. Obesity and risk of colorectal cancer: a systematic review of prospective studies. *PLoS One*. 2013;8(1):e53916.
20. Larsson SC, Orsini N, Wolk A. Diabetes mellitus and risk of colorectal cancer: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst*. 2005;97(22):1679–87.
21. Yuhara H, Steinmaus C, Cohen SE, Corley DA, Tei Y, Buffler PA. Is diabetes mellitus an independent risk factor for colon cancer and rectal cancer? *Am J Gastroenterol*. 2011;106(11):1911–21.
22. Giovannucci E. Insulin and colon cancer. *Cancer Causes Control CCC*. 1995;6(2):164–79.
23. Botteri E, Iodice S, Raimondi S, Maisonneuve P, Lowenfels AB. Cigarette smoking and adenomatous polyps: a meta-analysis. *Gastroenterology*. 2008;134(2):388–95.
24. Botteri E, Iodice S, Bagnardi V, Raimondi S, Lowenfels AB, Maisonneuve P. Smoking and colorectal cancer: a meta-analysis. *JAMA*. 2008;300(23):2765–78.
25. Fedirko V, Tramacere I, Bagnardi V, Rota M, Scotti L, Islami F, i sur. Alcohol drinking and colorectal cancer risk: an overall and dose-response meta-analysis of published studies. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2011;22(9):1958–72.
26. Harnack L, Jacobs DR, Nicodemus K, Lazovich D, Anderson K, Folsom AR. Relationship of folate, vitamin B-6, vitamin B-12, and methionine intake to incidence of colorectal cancers. *Nutr Cancer*. 2002;43(2):152–8.

27. Rombouts AJM, Hugen N, Elferink MAG, Poortmans PMP, Nagtegaal ID, de Wilt JHW. Increased risk for second primary rectal cancer after pelvic radiation therapy. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. 2020;124:142–51.
28. Heymer EJ, Jóźwiak K, Kremer LC, Winter DL, de Vathaire F, Sunguc C, i sur. Cumulative Absolute Risk of Subsequent Colorectal Cancer After Abdominopelvic Radiotherapy Among Childhood Cancer Survivors: A PanCareSurFup Study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2024;42(3):336–47.
29. Shah SC, Itzkowitz SH. Colorectal Cancer in Inflammatory Bowel Disease: Mechanisms and Management. *Gastroenterology*. 2022;162(3):715–30.
30. Gryfe R, Swallow C, Bapat B, Redston M, Gallinger S, Couture J. Molecular biology of colorectal cancer. *Curr Probl Cancer*. 1997;21(5):233–300.
31. Lagerstedt Robinson K, Liu T, Vandrovcova J, Halvarsson B, Clendenning M, Frebourg T, i sur. Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer) diagnostics. *J Natl Cancer Inst*. 2007;99(4):291–9.
32. Abu-Ghazaleh N, Kaushik V, Gorelik A, Jenkins M, Macrae F. Worldwide prevalence of Lynch syndrome in patients with colorectal cancer: Systematic review and meta-analysis. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet*. 2022;24(5):971–85.
33. Ma H, Brosens LAA, Offerhaus GJA, Giardiello FM, de Leng WWJ, Montgomery EA. Pathology and genetics of hereditary colorectal cancer. *Pathology (Phila)*. 2018;50(1):49–59.
34. Half E, Bercovich D, Rozen P. Familial adenomatous polyposis. *Orphanet J Rare Dis*. 2009;4:22.
35. Taylor DP, Stoddard GJ, Burt RW, Williams MS, Mitchell JA, Haug PJ, i sur. How well does family history predict who will get colorectal cancer? Implications for cancer screening and counseling. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet*. 2011;13(5):385–91.
36. Tuohy TMF, Rowe KG, Mineau GP, Pimentel R, Burt RW, Samadder NJ. Risk of colorectal cancer and adenomas in the families of patients with adenomas: a population-based study in Utah. *Cancer*. 2014;120(1):35–42.
37. Taylor DP, Burt RW, Williams MS, Haug PJ, Cannon-Albright LA. Population-based family history-specific risks for colorectal cancer: a constellation approach. *Gastroenterology*. 2010;138(3):877–85.
38. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*. 1990;61(5):759–67.
39. Lao VV, Grady WM. Epigenetics and colorectal cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2011;8(12):686–700.

40. Kinzler KW, Vogelstein B. Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell*. 1996;87(2):159–70.
41. Olmeda D, Castel S, Vilaró S, Cano A. Beta-catenin regulation during the cell cycle: implications in G2/M and apoptosis. *Mol Biol Cell*. 2003;14(7):2844–60.
42. Baker SJ, Preisinger AC, Jessup JM, Paraskeva C, Markowitz S, Willson JK, i sur. p53 gene mutations occur in combination with 17p allelic deletions as late events in colorectal tumorigenesis. *Cancer Res*. 1990;50(23):7717–22.
43. 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;23(3):609–18.
44. Goel A, Nagasaka T, Arnold CN, Inoue T, Hamilton C, Niedzwiecki D, i sur. The CpG island methylator phenotype and chromosomal instability are inversely correlated in sporadic colorectal cancer. *Gastroenterology*. 2007;132(1):127–38.
45. Guinney J, Dienstmann R, Wang X, de Reyniès A, Schlicker A, Soneson C, i sur. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med*. 2015;21(11):1350–6.
46. Müller MF, Ibrahim AEK, Arends MJ. Molecular pathological classification of colorectal cancer. *Virchows Arch Int J Pathol*. 2016;469(2):125–34.
47. Paula Simedan Vila A, Helena Rodrigues G, Leite Marzochi L, Garcia de Oliveira-Cucolo J, Lívia Silva Galbiatti-Dias A, Felipe Maciel Andrade R, i sur. Epidemiological and molecular evaluation of BRAF, KRAS, NRAS genes and MSI in the development of colorectal cancer. *Gene*. 2023;870:147395.
48. Formica V, Sera F, Cremolini C, Riondino S, Morelli C, Arkenau H-T, i sur. KRAS and BRAF Mutations in Stage II and III Colon Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Natl Cancer Inst*. 2022;114(4):517–27.
49. Baran B, Mert Ozupek N, Yerli Tetik N, Acar E, Bekcioglu O, Baskin Y. Difference Between Left-Sided and Right-Sided Colorectal Cancer: A Focused Review of Literature. *Gastroenterol Res*. 2018;11(4):264–73.
50. Iacopetta B. Are there two sides to colorectal cancer? *Int J Cancer*. 2002;101(5):403–8.
51. Moore JS, Aulet TH. Colorectal Cancer Screening. *Surg Clin North Am*. 2017;97(3):487–502.
52. Price TJ, Beeke C, Ullah S, Padbury R, Maddern G, Roder D, i sur. Does the primary site of colorectal cancer impact outcomes for patients with metastatic disease? *Cancer*. 2015;121(6):830–5.
53. Lam AK-Y, Chan SS-Y, Leung M. Synchronous colorectal cancer: clinical, pathological and molecular implications. *World J Gastroenterol*. 2014;20(22):6815–20.

54. Nagtegaal I, Arends M, Salto-Tellez M. Tumours of the colon and rectum. U: WHO Classification of Tumours Editorial Board, ur. WHO Classification of Tumours: Digestive System Tumours. 5. izd. Lyon: International agency for research on cancer; 2019. str. 157–91.
55. An Y, Zhou J, Lin G, Wu H, Cong L, Li Y, i sur. Clinicopathological and Molecular Characteristics of Colorectal Signet Ring Cell Carcinoma: A Review. *Pathol Oncol Res.* 2021;27:1609859.
56. Barresi V, Reggiani Bonetti L, Ieni A, Caruso RA, Tuccari G. Histological grading in colorectal cancer: new insights and perspectives. *Histol Histopathol.* 2015;30(9):1059–67.
57. Sobin L, Wittekind C, ur. International Union Against Cancer (UICC). TNM Classification of Malignant Tumours. 5th izd. New York: John Wiley & Sons, Inc.; 1997.
58. Sobin L, Wittekind C, ur. International Union Against Cancer (UICC). TNM Classification of Malignant Tumours. 6th izd. New York: John Wiley & Sons, Inc.; 2002.
59. Sobin L, Gospodarowicz M, Wittekind C, ur. International Union Against Cancer (UICC). TNM Classification of Malignant Tumours. 7th ed. New York: John Wiley & Sons, Inc.; 2009.
60. Brierley J, Gospodarowicz M, Wittekind C, ur. International Union Against Cancer (UICC). TNM Classification of Malignant Tumours. 8th izd. New York: John Wiley & Sons, Inc.; 2017.
61. Maguire A, Sheahan K. Controversies in the pathological assessment of colorectal cancer. *World J Gastroenterol WJG.* 2014;20(29):9850–61.
62. Puppa G, Sonzogni A, Colombari R, Pelosi G. TNM Staging System of Colorectal Carcinoma: A Critical Appraisal of Challenging Issues. *Arch Pathol Lab Med.* 2010;134(6):837–52.
63. Athanasakis E, Xenaki S, Venianaki M, Chalkiadakis G, Chrysos E. Newly recognized extratumoral features of colorectal cancer challenge the current tumor-node-metastasis staging system. *Ann Gastroenterol.* 2018;31(5):525–34.
64. Rogers AC, Winter DC, Heeney A, Gibbons D, Lugli A, Puppa G, i sur. Systematic review and meta-analysis of the impact of tumour budding in colorectal cancer. *Br J Cancer.* 2016;115(7):831–40.
65. Landau MA, Zhu B, Akwuole FN, Pai RK. Histopathological Predictors of Recurrence in Stage III Colon Cancer: Reappraisal of Tumor Deposits and Tumor Budding Using AJCC8 Criteria. *Int J Surg Pathol.* 2019;27(2):147–58.
66. Demirović A, Krušlin B. Recommendations for histopathology report of colorectal carcinoma specimens. *Rad Hrvat Akad Znan Umjet Med Znan.* 2017;530(44):67–72.

67. Zlobec I, Lugli A, Baker K, Roth S, Minoo P, Hayashi S, i sur. Role of APAF-1, E-cadherin and peritumoural lymphocytic infiltration in tumour budding in colorectal cancer. *J Pathol.* 2007;212(3):260–8.
68. Hase K, Shatney C, Johnson D, Trollope M, Vierra M. Prognostic value of tumor “budding” in patients with colorectal cancer. *Dis Colon Rectum.* 1993;36(7):627–35.
69. Ueno H, Mochizuki H, Hashiguchi Y, Hatsuse K, Fujimoto H, Hase K. Predictors of extrahepatic recurrence after resection of colorectal liver metastases. *Br J Surg.* 2004;91(3):327–33.
70. Lugli A, Karamitopoulou E, Zlobec I. Tumour budding: a promising parameter in colorectal cancer. *Br J Cancer.* 2012;106(11):1713–7.
71. Imai T. The growth of human carcinoma: A morphological analysis. (Japanese with English abstract). *Fukuoka Igaku Zasshi.* 1954;45(30):72–102.
72. Jass JR, Love SB, Northover JMA. A new prognostic classification of rectal cancer. *The Lancet.* 1987;329(8545):1303–6.
73. Ueno H, Murphy J, Jass JR, Mochizuki H, Talbot IC. Tumour ‘budding’ as an index to estimate the potential of aggressiveness in rectal cancer. *Histopathology.* 2002;40(2):127–32.
74. Mitrovic B, Schaeffer DF, Riddell RH, Kirsch R. Tumor budding in colorectal carcinoma: time to take notice. *Mod Pathol.* 2012;25(10):1315–25.
75. Grigore A, Jolly M, Jia D, Farach-Carson M, Levine H. Tumor Budding: The Name is EMT. Partial EMT. *J Clin Med.* 2016;5(5):51.
76. Berg KB, Schaeffer DF. Tumor budding as a standardized parameter in gastrointestinal carcinomas: more than just the colon. *Mod Pathol.* 2018;31(6):862–72.
77. Krištić A, Aralica G, Demirović A, Krušlin B. Pathohistologic prognostic and predictive parameters in colorectal cancer – tumor budding. *Rad Hrvat Akad Znan Umjet Med Znan.* 2018;533(43):113–26.
78. Wang LM, Kevans D, Mulcahy H, O’Sullivan J, Fennelly D, Hyland J, i sur. Tumor Budding is a Strong and Reproducible Prognostic Marker in T3N0 Colorectal Cancer. *Am J Surg Pathol.* 2009;33(1):134–41.
79. Yang AD, Fan F, Camp ER, Van Buren G, Liu W, Somcio R, i sur. Chronic Oxaliplatin Resistance Induces Epithelial-to-Mesenchymal Transition in Colorectal Cancer Cell Lines. *Clin Cancer Res.* 2006;12(14):4147–53.
80. Thiery JP, Acloque H, Huang RYJ, Nieto MA. Epithelial-Mesenchymal Transitions in Development and Disease. *Cell.* 2009;139(5):871–90.
81. Brabletz T. To differentiate or not — routes towards metastasis. *Nat Rev Cancer.* 2012;12(6):425–36.

82. Brabletz T, Jung A, Spaderna S, Hlubek F, Kirchner T. Migrating cancer stem cells — an integrated concept of malignant tumour progression. *Nat Rev Cancer*. 2005;5(9):744–9.
83. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*. 2011;144(5):646–74.
84. Priya R, Yap AS. Making a Choice: How Cadherin Switching Controls Cell Migration. *Dev Cell*. 2015;34(4):383–4.
85. Mashita N, Yamada S, Nakayama G, Tanaka C, Iwata N, Kanda M, i sur. Epithelial to mesenchymal transition might be induced via CD44 isoform switching in colorectal cancer. *J Surg Oncol*. 2014;110(6):745–51.
86. Koelzer VH, Zlobec I, Berger MD, Cathomas G, Dawson H, Dirschmid K, i sur. Tumor budding in colorectal cancer revisited: results of a multicenter interobserver study. *Virchows Arch*. 2015;466(5):485–93.
87. Lugli A, Kirsch R, Ajioka Y, Bosman F, Cathomas G, Dawson H, i sur. Recommendations for reporting tumor budding in colorectal cancer based on the International Tumor Budding Consensus Conference (ITBCC) 2016. *Mod Pathol*. 2017;30(9):1299–311.
88. Yabata E, Udagawa M, Okamoto H. Effect of Tumor Deposits on Overall Survival in Colorectal Cancer Patients with Regional Lymph Node Metastases. *J Rural Med*. 2014;9(1):20–6.
89. Lord AC, D'Souza N, Pucher PH, Moran BJ, Abulafi AM, Wotherspoon A, i sur. Significance of extranodal tumour deposits in colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Cancer*. 2017;82:92–102.
90. Ueno H, Mochizuki H, Hashiguchi Y, Ishiguro M, Miyoshi M, Kajiwara Y, i sur. Extramural Cancer Deposits Without Nodal Structure in Colorectal Cancer: Optimal Categorization for Prognostic Staging. *Am J Clin Pathol*. 2007;127(2):287–94.
91. Nagtegaal ID, Quirke P. Colorectal tumour deposits in the mesorectum and pericolon; a critical review. *Histopathology*. 2007;51(2):141–9.
92. Nagtegaal ID, Knijn N, Huguen N, Marshall HC, Sugihara K, Tot T, i sur. Tumor Deposits in Colorectal Cancer: Improving the Value of Modern Staging—A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Oncol*. 2017;35(10):1119–27.
93. Gabriel WB, Dukes C, Bussey HJR. Lymphatic spread in cancer of the rectum. *Br J Surg*. 2005;23(90):395–413.
94. Kim H, Rehman A, Chung Y, Yi K, Wi YC, Kim Y, i sur. Clinicopathologic Significance of Extranodal Tumor Extension in Colorectal Adenocarcinoma with Regional Lymph Node Metastasis. *Gastroenterol Res Pract*. 2016;2016:1–7.

95. Ueno H, Mochizuki H, Tamakuma S. Prognostic significance of extranodal microscopic foci discontinuous with primary lesion in rectal cancer. *Dis Colon Rectum*. 1998;41(1):55–61.
96. Prabhudesai A, Arif S, Finlayson CJ, Kumar D. Impact of Microscopic Extranodal Tumor Deposits on the Outcome of Patients With Rectal Cancer. *Dis Colon Rectum*. 2003;46(11):1531–7.
97. Bouquot M, Creavin B, Goasguen N, Chafai N, Tiret E, André T, i sur. Prognostic value and characteristics of N1c colorectal cancer. *Colorectal Dis*. 2018;20(9):248–55.
98. Jin M, Roth R, Rock JB, Washington MK, Lehman A, Frankel WL. The Impact of Tumor Deposits on Colonic Adenocarcinoma AJCC TNM Staging and Outcome. *Am J Surg Pathol*. 2015;39(1):109–15.
99. Belt EJTh, Van Stijn MFM, Bril H, De Lange-de Klerk ESM, Meijer GA, Meijer S, i sur. Lymph Node Negative Colorectal Cancers with Isolated Tumor Deposits Should Be Classified and Treated As Stage III. *Ann Surg Oncol*. 2010;17(12):3203–11.
100. Gopal P, Lu P, Ayers GD, Herline AJ, Washington MK. Tumor deposits in rectal adenocarcinoma after neoadjuvant chemoradiation are associated with poor prognosis. *Mod Pathol*. 2014;27(9):1281–7.
101. Fujii S, Shimada R, Tsukamoto M, Hayama T, Ishibe A, Watanabe J, i sur. Impact of subdivision of pathological stage I colorectal cancer. *Ann Gastroenterol Surg*. 2021;5(2):228–35.
102. Feig BW, White MG, Gaskill C, Kothari A, DiBrito SR, ur. *The MD Anderson surgical oncology manual*. 7. izd. Philadelphia, SAD: Wolters Kluwer; 2024.
103. Hong Y, Kim J, Choi YJ, Kang JG. Clinical study of colorectal cancer operation: Survival analysis. *Korean J Clin Oncol*. 2020;16(1):3–8.
104. Berger AC, Sigurdson ER, LeVoyer T, Hanlon A, Mayer RJ, Macdonald JS, i sur. Colon cancer survival is associated with decreasing ratio of metastatic to examined lymph nodes. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2005;23(34):8706–12.
105. Ichhpuniani S, McKechnie T, Lee J, Biro J, Lee Y, Park L, i sur. Lymph Node Ratio as a Predictor of Survival for Colon Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Am Surg*. 2024;90(4):840–50.
106. Nagtegaal ID, Quirke P. What is the role for the circumferential margin in the modern treatment of rectal cancer? *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2008;26(2):303–12.
107. Balbaa MA, Elkady N, Abdelrahman EM. Predictive Factors of Positive Circumferential and Longitudinal Margins in Early T3 Colorectal Cancer Resection. *Int J Surg Oncol*. 2020;2020:6789709.

108. Wittekind C, Compton CC, Greene FL, Sobin LH. TNM residual tumor classification revisited. *Cancer*. 2002;94(9):2511–6.
109. American Joint Committee on Cancer. *AJCC cancer staging manual*. 8. izd. Amin MB, Greene FL, Edge SB, ur. Chicago, SAD: AJCC, American Joint Committee on Cancer; 2017. 1032 str.
110. Rahbari NN, Bork U, Motschall E, Thorlund K, Büchler MW, Koch M, i sur. Molecular detection of tumor cells in regional lymph nodes is associated with disease recurrence and poor survival in node-negative colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2012;30(1):60–70.
111. Argilés G, Tabernero J, Labianca R, Hochhauser D, Salazar R, Iveson T, i sur. Localised colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2020;31(10):1291–305.
112. Baxter NN, Kennedy EB, Bergsland E, Berlin J, George TJ, Gill S, i sur. Adjuvant Therapy for Stage II Colon Cancer: ASCO Guideline Update. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2022;40(8):892–910.
113. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Colon Cancer Version 1.2024 [internet]. SAD: National Comprehensive Cancer Network; 2024 [pristupljeno 14.04.2024.].
Dostupno na: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/colon.pdf.
114. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Rectal Cancer Version 1.2024 [internet]. SAD: National Comprehensive Cancer Network; 2024 [pristupljeno 14.04.2024.].
Dostupno na: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/rectal.pdf.
115. Hyngstrom JR, Hu C-Y, Xing Y, You YN, Feig BW, Skibber JM, i sur. Clinicopathology and outcomes for mucinous and signet ring colorectal adenocarcinoma: analysis from the National Cancer Data Base. *Ann Surg Oncol*. 2012;19(9):2814–21.
116. Newland RC, Dent OF, Lyttle MN, Chapuis PH, Bokey EL. Pathologic determinants of survival associated with colorectal cancer with lymph node metastases. A multivariate analysis of 579 patients. *Cancer*. 1994;73(8):2076–82.
117. Ryan R, Gibbons D, Hyland JMP, Treanor D, White A, Mulcahy HE, i sur. Pathological response following long-course neoadjuvant chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer. *Histopathology*. 2005;47(2):141–6.
118. Huh JW, Lee JH, Kim HR. Prognostic significance of tumor-infiltrating lymphocytes for patients with colorectal cancer. *Arch Surg Chic Ill* 1960. 2012;147(4):366–72.

119. Qin M, Chen G, Hou J, Wang L, Wang Q, Wang L, i sur. Tumor-infiltrating lymphocyte: features and prognosis of lymphocytes infiltration on colorectal cancer. *Bioengineered*. 2022;13(6):14872–88.
120. Petrelli F, Tomasello G, Borgonovo K, Ghidini M, Turati L, Dallera P, i sur. Prognostic Survival Associated With Left-Sided vs Right-Sided Colon Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Oncol*. 2017;3(2):211–9.
121. Sinicrope FA, Mahoney MR, Yoon HH, Smyrk TC, Thibodeau SN, Goldberg RM, i sur. Analysis of Molecular Markers by Anatomic Tumor Site in Stage III Colon Carcinomas from Adjuvant Chemotherapy Trial NCCTG N0147 (Alliance). *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2015;21(23):5294–304.
122. Thirunavukarasu P, Sukumar S, Sathaiah M, Mahan M, Pragasheeswar KD, Pingpank JF, i sur. C-stage in colon cancer: implications of carcinoembryonic antigen biomarker in staging, prognosis, and management. *J Natl Cancer Inst*. 2011;103(8):689–97.
123. Sørensen CG, Karlsson WK, Pommergaard H-C, Burcharth J, Rosenberg J. The diagnostic accuracy of carcinoembryonic antigen to detect colorectal cancer recurrence - A systematic review. *Int J Surg Lond Engl*. 2016;25:134–44.
124. Dawood ZS, Alaimo L, Lima HA, Moazzam Z, Shaikh C, Ahmed AS, i sur. Circulating Tumor DNA, Imaging, and Carcinoembryonic Antigen: Comparison of Surveillance Strategies Among Patients Who Underwent Resection of Colorectal Cancer-A Systematic Review and Meta-analysis. *Ann Surg Oncol*. 2023;30(1):259–74.
125. Koenig JL, Toesca DAS, Harris JP, Tsai CJ, Haraldsdottir S, Lin AY, i sur. Microsatellite Instability and Adjuvant Chemotherapy in Stage II Colon Cancer. *Am J Clin Oncol*. 2019;42(7):573–80.
126. Gkekas I, Novotny J, Fabian P, Nemecek R, Palmqvist R, Strigård K, i sur. Deficient mismatch repair as a prognostic marker in stage II colon cancer patients. *Eur J Surg Oncol J Eur Soc Surg Oncol Br Assoc Surg Oncol*. 2019;45(10):1854–61.
127. Dienstmann R, Mason MJ, Sinicrope FA, Phipps AI, Tejpar S, Nesbakken A, i sur. Prediction of overall survival in stage II and III colon cancer beyond TNM system: a retrospective, pooled biomarker study. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2017;28(5):1023–31.
128. Böckelman C, Engelmann BE, Kaprio T, Hansen TF, Glimelius B. Risk of recurrence in patients with colon cancer stage II and III: a systematic review and meta-analysis of recent literature. *Acta Oncol Stockh Swed*. 2015;54(1):5–16.
129. Modest DP, Ricard I, Heinemann V, Hegewisch-Becker S, Schmiegel W, Porschen R, i sur. Outcome according to KRAS-, NRAS- and BRAF-mutation as well as KRAS mutation variants: pooled analysis of five randomized trials in metastatic colorectal cancer by the AIO colorectal cancer study group. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2016;27(9):1746–53.

130. Maqbool M, Khan A, Shahzad A, Sarfraz Z, Sarfraz A, Aftab H, i sur. Predictive biomarkers for colorectal cancer: a state-of-the-art systematic review. *Biomark Biochem Indic Expo Response Susceptibility Chem.* 2023;28(6):562–98.
131. Ruiz-Bañobre J, Kandimalla R, Goel A. Predictive Biomarkers in Metastatic Colorectal Cancer: A Systematic Review. *JCO Precis Oncol.* 2019;3:PO.18.00260.
132. Cho E, Smith-Warner SA, Ritz J, van den Brandt PA, Colditz GA, Folsom AR, i sur. Alcohol intake and colorectal cancer: a pooled analysis of 8 cohort studies. *Ann Intern Med.* 2004;140(8):603–13.
133. 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;29(28):3775–82.
134. Byers SW, Rowlands T, Beildeck M, Bong Y-S. Mechanism of action of vitamin D and the vitamin D receptor in colorectal cancer prevention and treatment. *Rev Endocr Metab Disord.* 2012;13(1):31–8.
135. Grant WB. A critical review of Vitamin D and Cancer: A report of the IARC Working Group. *Dermatoendocrinol.* 2009;1(1):25–33.
136. Rostom A, Dubé C, Lewin G, Tsertsvadze A, Barrowman N, Code C, i sur. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cyclooxygenase-2 inhibitors for primary prevention of colorectal cancer: a systematic review prepared for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med.* 2007;146(5):376–89.
137. Dubé C, Rostom A, Lewin G, Tsertsvadze A, Barrowman N, Code C, i sur. The use of aspirin for primary prevention of colorectal cancer: a systematic review prepared for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med.* 2007;146(5):365–75.
138. Aune D, Lau R, Chan DSM, Vieira R, Greenwood DC, Kampman E, i sur. Dairy products and colorectal cancer risk: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* 2012;23(1):37–45.
139. Wu S, Feng B, Li K, Zhu X, Liang S, Liu X, i sur. Fish consumption and colorectal cancer risk in humans: a systematic review and meta-analysis. *Am J Med.* 2012;125(6):551–9.
140. Terry P, Giovannucci E, Michels KB, Bergkvist L, Hansen H, Holmberg L, i sur. Fruit, vegetables, dietary fiber, and risk of colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2001;93(7):525–33.
141. Slattery ML, Boucher KM, Caan BJ, Potter JD, Ma KN. Eating patterns and risk of colon cancer. *Am J Epidemiol.* 1998;148(1):4–16.
142. Sullivan JF, Dumot JA. Maximizing the Effectiveness of Colonoscopy in the Prevention of Colorectal Cancer. *Surg Oncol Clin N Am.* 2018;27(2):367–76.

143. Republika Hrvatska. Ministarstvo zdravstva i socijalne skrbi. Nacionalni program ranog otkrivanja raka debelog crijeva. Zagreb. 2007.
144. Rex DK, Boland CR, Dominitz JA, Giardiello FM, Johnson DA, Kaltenbach T, i sur. Colorectal Cancer Screening: Recommendations for Physicians and Patients from the U.S. Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer. *Am J Gastroenterol.* 2017;112(7):1016–30.
145. Syngal S, Brand RE, Church JM, Giardiello FM, Hampel HL, Burt RW, i sur. ACG clinical guideline: Genetic testing and management of hereditary gastrointestinal cancer syndromes. *Am J Gastroenterol.* 2015;110(2):223–62.
146. Vasen HFA, Möslein G, Alonso A, Aretz S, Bernstein I, Bertario L, i sur. Guidelines for the clinical management of familial adenomatous polyposis (FAP). *Gut.* 2008;57(5):704–13.
147. Giardiello FM, Allen JI, Axilbund JE, Boland CR, Burke CA, Burt RW, i sur. Guidelines on genetic evaluation and management of Lynch syndrome: a consensus statement by the US Multi-society Task Force on colorectal cancer. *Am J Gastroenterol.* 2014;109(8):1159–79.
148. Shaukat A, Kahi CJ, Burke CA, Rabeneck L, Sauer BG, Rex DK. ACG Clinical Guidelines: Colorectal Cancer Screening 2021. *Am J Gastroenterol.* 2021;116(3):458–79.
149. Canadian Task Force on Preventive Health Care. Recommendations on screening for colorectal cancer in primary care. *CMAJ Can Med Assoc J J Assoc Medicales Can.* 2016;188(5):340–8.
150. Lansdorp-Vogelaar I, von Karsa L, International Agency for Research on Cancer. European guidelines for quality assurance in colorectal cancer screening and diagnosis. First Edition--Introduction. *Endoscopy.* 2012;44(3):15–30.
151. Qaseem A, Harrod CS, Crandall CJ, Wilt TJ, Clinical Guidelines Committee of the American College of Physicians, Balk EM, i sur. Screening for Colorectal Cancer in Asymptomatic Average-Risk Adults: A Guidance Statement From the American College of Physicians (Version 2). *Ann Intern Med.* 2023;176(8):1092–100.
152. Fuchs CS, Giovannucci EL, Colditz GA, Hunter DJ, Speizer FE, Willett WC. A prospective study of family history and the risk of colorectal cancer. *N Engl J Med.* 1994;331(25):1669–74.
153. Hassan C, Giorgi Rossi P, Camilloni L, Rex DK, Jimenez-Cendales B, Ferroni E, i sur. Meta-analysis: adherence to colorectal cancer screening and the detection rate for advanced neoplasia, according to the type of screening test. *Aliment Pharmacol Ther.* 2012;36(10):929–40.
154. Whitlock EP, Lin JS, Liles E, Beil TL, Fu R. Screening for colorectal cancer: a targeted, updated systematic review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med.* 2008;149(9):638–58.

155. Allison JE, Sakoda LC, Levin TR, Tucker JP, Tekawa IS, Cuff T, i sur. Screening for colorectal neoplasms with new fecal occult blood tests: update on performance characteristics. *J Natl Cancer Inst.* 2007;99(19):1462–70.
156. Lee MW, Pourmorady JS, Laine L. Use of Fecal Occult Blood Testing as a Diagnostic Tool for Clinical Indications: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Am J Gastroenterol.* 2020;115(5):662–70.
157. Allison JE, Tekawa IS, Ransom LJ, Adrain AL. A comparison of fecal occult-blood tests for colorectal-cancer screening. *N Engl J Med.* 1996;334(3):155–9.
158. Saw KS, Liu C, Xu W, Varghese C, Parry S, Bissett I. Faecal immunochemical test to triage patients with possible colorectal cancer symptoms: meta-analysis. *Br J Surg.* 2022;109(2):182–90.
159. Pickhardt PJ, Hassan C, Halligan S, Marmo R. Colorectal cancer: CT colonography and colonoscopy for detection--systematic review and meta-analysis. *Radiology.* 2011;259(2):393–405.
160. Knudsen AB, Zauber AG, Rutter CM, Naber SK, Doria-Rose VP, Pabiniak C, i sur. Estimation of Benefits, Burden, and Harms of Colorectal Cancer Screening Strategies: Modeling Study for the US Preventive Services Task Force. *JAMA.* 2016;315(23):2595–609.
161. Sun J, Fei F, Zhang M, Li Y, Zhang X, Zhu S, i sur. The role of mSEPT9 in screening, diagnosis, and recurrence monitoring of colorectal cancer. *BMC Cancer.* 2019;19(1):450.
162. Carter JV, Galbraith NJ, Yang D, Burton JF, Walker SP, Galandiuk S. Blood-based microRNAs as biomarkers for the diagnosis of colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Br J Cancer.* 2017;116(6):762–74.
163. Dukes CE. The classification of cancer of the rectum. *J Pathol Bacteriol.* 1932;35(3):323–32.
164. Astler VB, Collier FA. The prognostic significance of direct extension of carcinoma of the colon and rectum. *Ann Surg.* 1954;139(6):846–52.
165. Lea D, Håland S, Hagland HR, Søreide K. Accuracy of TNM staging in colorectal cancer: a review of current culprits, the modern role of morphology and stepping-stones for improvements in the molecular era. *Scand J Gastroenterol.* 2014;49(10):1153–63.
166. The Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program [internet]. SAD: National Cancer Institute (NCI); 2024. [pristupljeno 14.03.2024.]. Dostupno na: <https://seer.cancer.gov/statistics-network/explorer/>.
167. Moreno CC, Mittal PK, Sullivan PS, Rutherford R, Staley CA, Cardona K, i sur. Colorectal Cancer Initial Diagnosis: Screening Colonoscopy, Diagnostic Colonoscopy, or Emergent Surgery, and Tumor Stage and Size at Initial Presentation. *Clin Colorectal Cancer.* 2016;15(1):67–73.

168. Amri R, Bordeianou LG, Sylla P, Berger DL. Impact of screening colonoscopy on outcomes in colon cancer surgery. *JAMA Surg.* 2013;148(8):747–54.
169. Fehervari M, Hamrang-Yousefi S, Fadel MG, Mills SC, Warren OJ, Tekkis PP, i sur. A systematic review of colorectal multidisciplinary team meetings: an international comparison. *BJS Open.* 2021;5(3):zrab044.
170. Lucarini A, Garbarino GM, Orlandi P, Garofalo E, Bragaglia L, Laracca GG, i sur. From „Cure“ to „Care“: The Role of the MultiDisciplinary Team on Colorectal Cancer Patients' Satisfaction and Oncological Outcomes. *J Multidiscip Healthc.* 2022;15:1415–26.
171. Goldberg RM. Surgery for Recurrent Colon Cancer: Strategies for Identifying Resectable Recurrence and Success Rates after Resection. *Ann Intern Med.* 1998;129(1):27.
172. Steele SR, Hull TL, Hyman N, Maykel JA, Read TE, Whitlow CB, ur. *The ASCRS Textbook of Colon and Rectal Surgery.* 4. izd. Cham, Švicarska: Springer International Publishing; 2022.
173. Hohenberger W, Weber K, Matzel K, Papadopoulos T, Merkel S. Standardized surgery for colonic cancer: complete mesocolic excision and central ligation--technical notes and outcome. *Colorectal Dis Off J Assoc Coloproctology G B Irel.* 2009;11(4):354–64; discussion 364-365.
174. Vogel JD, Felder SI, Bhamra AR, Hawkins AT, Langenfeld SJ, Shaffer VO, i sur. The American Society of Colon and Rectal Surgeons Clinical Practice Guidelines for the Management of Colon Cancer. *Dis Colon Rectum.* 2022;65(2):148–77.
175. Rørvig S, Schlesinger N, Mårtensson NL, Engel S, Engel U, Holck S. Is the longitudinal margin of carcinoma-bearing colon resections a neglected parameter? *Clin Colorectal Cancer.* 2014;13(1):68–72.
176. Monson JRT, Weiser MR, Buie WD, Chang GJ, Rafferty JF, Buie WD, i sur. Practice parameters for the management of rectal cancer (revised). *Dis Colon Rectum.* 2013;56(5):535–50.
177. Hashiguchi Y, Hase K, Ueno H, Mochizuki H, Shinto E, Yamamoto J. Optimal margins and lymphadenectomy in colonic cancer surgery. *Br J Surg.* 2011;98(8):1171–8.
178. Amri R, Bordeianou LG, Sylla P, Berger DL. Association of Radial Margin Positivity With Colon Cancer. *JAMA Surg.* 2015;150(9):890–8.
179. Chang GJ, Rodriguez-Bigas MA, Skibber JM, Moyer VA. Lymph node evaluation and survival after curative resection of colon cancer: systematic review. *J Natl Cancer Inst.* 2007;99(6):433–41.
180. Wells KO, Hawkins AT, Krishnamurthy DM, Dharmarajan S, Glasgow SC, Hunt SR, i sur. Omission of Adjuvant Chemotherapy Is Associated With Increased

- Mortality in Patients With T3N0 Colon Cancer With Inadequate Lymph Node Harvest. *Dis Colon Rectum*. 2017;60(1):15–21.
181. Nelson H, Petrelli N, Carlin A, Couture J, Fleshman J, Guillem J, i sur. Guidelines 2000 for colon and rectal cancer surgery. *J Natl Cancer Inst*. 2001;93(8):583–96.
 182. Sobin LH, Greene FL. TNM classification: clarification of number of regional lymph nodes for pNo. *Cancer*. 2001;92(2):452.
 183. Li Destri G, Di Carlo I, Scilletta R, Scilletta B, Puleo S. Colorectal cancer and lymph nodes: the obsession with the number 12. *World J Gastroenterol*. 2014;20(8):1951–60.
 184. Qiao Y, Zhu J, Han T, Jiang X, Wang K, Chen R, i sur. Finding the minimum number of retrieved lymph nodes in node-negative colorectal cancer using Real-world Data and the SEER database. *Int J Surg Lond Engl*. 2023;109(12):4173–84.
 185. Heald RJ, Ryall RDH. Recurrence and survival after total mesorectal excision for rectal cancer. *The Lancet*. 1986;327(8496):1479–82.
 186. West NP, Hohenberger W, Weber K, Perrakis A, Finan PJ, Quirke P. Complete mesocolic excision with central vascular ligation produces an oncologically superior specimen compared with standard surgery for carcinoma of the colon. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2010;28(2):272–8.
 187. Bertelsen CA, Neuenschwander AU, Jansen JE, Wilhelmsen M, Kirkegaard-Klitbo A, Tenma JR, i sur. Disease-free survival after complete mesocolic excision compared with conventional colon cancer surgery: a retrospective, population-based study. *Lancet Oncol*. 2015;16(2):161–8.
 188. Tomita N, Ishida H, Tanakaya K, Yamaguchi T, Kumamoto K, Tanaka T, i sur. Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum (JSCCR) guidelines 2020 for the Clinical Practice of Hereditary Colorectal Cancer. *Int J Clin Oncol*. 2021;26(8):1353–419.
 189. Balciscueta Z, Balciscueta I, Uribe N, Pellino G, Frasson M, García-Granero E, i sur. D3-lymphadenectomy enhances oncological clearance in patients with right colon cancer. Results of a meta-analysis. *Eur J Surg Oncol J Eur Soc Surg Oncol Br Assoc Surg Oncol*. 2021;47(7):1541–51.
 190. Díaz-Vico T, Fernández-Hevia M, Suárez-Sánchez A, García-Gutiérrez C, Mihic-Góngora L, Fernández-Martínez D, i sur. Complete Mesocolic Excision and D3 Lymphadenectomy versus Conventional Colectomy for Colon Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Ann Surg Oncol*. 2021;28(13):8823–37.
 191. Crane J, Hamed M, Borucki JP, El-Hadi A, Shaikh I, Stearns AT. Complete mesocolic excision versus conventional surgery for colon cancer: A systematic review and meta-analysis. *Colorectal Dis Off J Assoc Coloproctology G B Irel*. 2021;23(7):1670–86.

192. Kojima T, Hino H, Shiomi A, Kagawa H, Yamaoka Y, Manabe S, i sur. Long-term outcomes of D2 vs. D3 lymph node dissection for cT2N0M0 colorectal cancer: a multi-institutional retrospective analysis. *Int J Clin Oncol.* 2022;27(11):1717–24.
193. Wexner SD, Fleshman J, ur. *Colon and rectal surgery: Abdominal operations (Master techniques in surgery)*. 2. izd. Philadelphia, SAD: Wolters Kluwer; 2019.
194. Cahill RA, Leroy J, Marescaux J. Localized resection for colon cancer. *Surg Oncol.* 2009;18(4):334–42.
195. Robinson C, Artinyan A. Pushing the Limits of Local Excision for Rectal Cancer: Transanal Minimally Invasive Surgery (TAMIS) for Rectal Cancer Using the Port-in-Port Technique. *Ann Surg Oncol.* 2016;23(3):918.
196. Zovak M, Bilić Z, Kopljar M. Modern surgical treatment of rectal cancer. *Rad Hrvat Akad Znan Umjet Med Znan.* 2017;530(44):81–7.
197. Slater A, Betts M, Anderson EM, Cunningham C. Transanal endoscopic microsurgery for rectal cancer. *Clin Radiol.* 2016;71(2):e121-129.
198. Verseveld M, Barendse RM, Gosselink MP, Verhoef C, de Graaf EJR, Doornebosch PG. Transanal minimally invasive surgery: impact on quality of life and functional outcome. *Surg Endosc.* 2016;30(3):1184–7.
199. Keller DS, Haas EM. Transanal Minimally Invasive Surgery: State of the Art. *J Gastrointest Surg Off J Soc Surg Aliment Tract.* 2016;20(2):463–9.
200. McCombie AM, Frizelle F, Bagshaw PF, Frampton CM, Hewett PJ, McMurrick PJ, i sur. The ALCCaS Trial: A Randomized Controlled Trial Comparing Quality of Life Following Laparoscopic Versus Open Colectomy for Colon Cancer. *Dis Colon Rectum.* 2018;61(10):1156–62.
201. Huang Y-M, Lee Y-W, Huang Y-J, Wei P-L. Comparison of clinical outcomes between laparoscopic and open surgery for left-sided colon cancer: a nationwide population-based study. *Sci Rep.* 2020;10(1):75.
202. Lei Q-C, Wang X-Y, Zheng H-Z, Xia X-F, Bi J-C, Gao X-J, i sur. Laparoscopic Versus Open Colorectal Resection Within Fast Track Programs: An Update Meta-Analysis Based on Randomized Controlled Trials. *J Clin Med Res.* 2015;7(8):594–601.
203. Erozkan K, Gorgun E. Robotic colorectal surgery and future directions. *Am J Surg.* 2024;230:91–8.
204. Pillinger SH, Lynch C. Robotic colorectal surgery: evolution of its place. *ANZ J Surg.* 2023;93(1–2):6–7.
205. Kim YW, Choi EH, Kim BR, Ko W-A, Do Y-M, Kim IY. The impact of delayed commencement of adjuvant chemotherapy (eight or more weeks) on survival in stage II and III colon cancer: a national population-based cohort study. *Oncotarget.* 2017;8(45):80061–72.

206. Ahmed S, Ahmad I, Zhu T, Arnold FP, Faiz Anan G, Sami A, i sur. Early discontinuation but not the timing of adjuvant therapy affects survival of patients with high-risk colorectal cancer: a population-based study. *Dis Colon Rectum*. 2010;53(10):1432–8.
207. Sargent D, Sobrero A, Grothey A, O'Connell MJ, Buyse M, Andre T, i sur. Evidence for cure by adjuvant therapy in colon cancer: observations based on individual patient data from 20,898 patients on 18 randomized trials. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2009;27(6):872–7.
208. André T, Boni C, Navarro M, Taberero J, Hickish T, Topham C, i sur. Improved overall survival with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment in stage II or III colon cancer in the MOSAIC trial. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2009;27(19):3109–16.
209. Kuebler JP, Wieand HS, O'Connell MJ, Smith RE, Colangelo LH, Yothers G, i sur. Oxaliplatin combined with weekly bolus fluorouracil and leucovorin as surgical adjuvant chemotherapy for stage II and III colon cancer: results from NSABP C-07. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2007;25(16):2198–204.
210. Haller DG, O'Connell MJ, Cartwright TH, Twelves CJ, McKenna EF, Sun W, i sur. Impact of age and medical comorbidity on adjuvant treatment outcomes for stage III colon cancer: a pooled analysis of individual patient data from four randomized, controlled trials. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2015;26(4):715–24.
211. Ludmir EB, Arya R, Wu Y, Palta M, Willett CG, Czito BG. Role of Adjuvant Radiotherapy in Locally Advanced Colonic Carcinoma in the Modern Chemotherapy Era. *Ann Surg Oncol*. 2016;23(3):856–62.
212. Martenson JA, Willett CG, Sargent DJ, Mailliard JA, Donohue JH, Gunderson LL, i sur. Phase III study of adjuvant chemotherapy and radiation therapy compared with chemotherapy alone in the surgical adjuvant treatment of colon cancer: results of intergroup protocol 0130. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2004;22(16):3277–83.
213. Sauer R, Liersch T, Merkel S, Fietkau R, Hohenberger W, Hess C, i sur. Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer: results of the German CAO/ARO/AIO-94 randomized phase III trial after a median follow-up of 11 years. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2012;30(16):1926–33.
214. Roh MS, Colangelo LH, O'Connell MJ, Yothers G, Deutsch M, Allegra CJ, i sur. Preoperative multimodality therapy improves disease-free survival in patients with carcinoma of the rectum: NSABP R-03. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2009;27(31):5124–30.
215. Kim T-W, Lee J-H, Lee J-H, Ahn J-H, Kang Y-K, Lee K-H, i sur. Randomized trial of postoperative adjuvant therapy in Stage II and III rectal cancer to define the optimal sequence of chemotherapy and radiotherapy: 10-year follow-up. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2011;81(4):1025–31.

216. Vogel JD, Felder SI, Bhama AR, Hawkins AT, Langenfeld SJ, Shaffer VO, i sur. The American Society of Colon and Rectal Surgeons Clinical Practice Guidelines for the Management of Colon Cancer. *Dis Colon Rectum*. 2022;65(2):148–77.
217. Oronsky B, Reid T, Larson C, Knox SJ. Locally advanced rectal cancer: The past, present, and future. *Semin Oncol*. 2020;47(1):85–92.
218. Chalabi M, Verschoor YL, Van Den Berg J, Sikorska K, Beets G, Lent AV, i sur. LBA7 Neoadjuvant immune checkpoint inhibition in locally advanced MMR-deficient colon cancer: The NICHE-2 study. *Ann Oncol*. 2022;33:S1389.
219. Leowattana W, Leowattana P, Leowattana T. Systemic treatment for metastatic colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 2023;29(10):1569–88.
220. Biller LH, Schrag D. Diagnosis and Treatment of Metastatic Colorectal Cancer: A Review. *JAMA*. 2021;325(7):669–85.
221. Morris VK, Kennedy EB, Baxter NN, Benson AB, Cercek A, Cho M, i sur. Treatment of Metastatic Colorectal Cancer: ASCO Guideline. *J Clin Oncol*. 2023;41(3):678–700.
222. Pfister DG, Benson AB, Somerfield MR. Clinical practice. Surveillance strategies after curative treatment of colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2004;350(23):2375–82.
223. Makhoul R, Alva S, Wilkins K. Surveillance and Survivorship after Treatment for Colon Cancer. *Clin Colon Rectal Surg*. 2015;28(04):262–70.
224. Graham RP, Vierkant RA, Tillmans LS, Wang AH, Laird PW, Weisenberger DJ, i sur. Tumor Budding in Colorectal Carcinoma: Confirmation of Prognostic Significance and Histologic Cutoff in a Population-based Cohort. *Am J Surg Pathol*. 2015;39(10):1340–6.
225. Riffet M, Dupont B, Faisant M, Cerasuolo D, Menahem B, Alves A, i sur. New Histoprognostic Factors to Consider for the Staging of Colon Cancers: Tumor Deposits, Invasive Tumor Infiltration and High-Grade Budding. *Int J Mol Sci*. 2023;24(4):3573.
226. Kim HJ, Choi G. Clinical Implications of Lymph Node Metastasis in Colorectal Cancer: Current Status and Future Perspectives. *Ann Coloproctology*. 2019;35(3):109–17.
227. Mirkin KA, Kulaylat AS, Hollenbeak CS, Messaris E. Prognostic Significance of Tumor Deposits in Stage III Colon Cancer. *Ann Surg Oncol*. 2018;25(11):3179–84.
228. Lino-Silva LS, Salcedo-Hernández RA, Gamboa-Domínguez A. Tumour budding in rectal cancer. A comprehensive review. *Współczesna Onkol*. 2018;22(2):61–74.

229. Hong M, Kim JW, Shin MK, Kim BC. Poorly Differentiated Clusters in Colorectal Adenocarcinomas Share Biological Similarities with Micropapillary Patterns as well as Tumor Buds. *J Korean Med Sci.* 2017;32(10):1595.
230. Fonseca GM, De Mello ES, Faraj SF, Kruger JAP, Coelho FF, Jeismann VB, i sur. Prognostic significance of poorly differentiated clusters and tumor budding in colorectal liver metastases. *J Surg Oncol.* 2018;117(7):1364–75.
231. Compton CC, Fielding LP, Burgart LJ, Conley B, Cooper HS, Hamilton SR, i sur. Prognostic factors in colorectal cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med.* 2000;124(7):979–94.
232. Nakamura T, Mitomi H, Kikuchi S, Ohtani Y, Sato K. Evaluation of the usefulness of tumor budding on the prediction of metastasis to the lung and liver after curative excision of colorectal cancer. *Hepatogastroenterology.* 2005;52(65):1432–5.
233. Protocol for the examination of specimens from patients with primary carcinoma of the colon and rectum [internet]. SAD: College of American Pathologists (CAP); 2023 [pristupljeno 14.05.2024.]. Dostupno na: https://documents.cap.org/protocols/ColoRectal_4.3.0.0.REL_CAPCP.pdf.
234. Zlobec I, Berger MD, Lugli A. Tumour budding and its clinical implications in gastrointestinal cancers. *Br J Cancer.* 2020;123(5):700–8.
235. Cappellesso R, Luchini C, Veronese N, Lo Mele M, Rosa-Rizzotto E, Guido E, i sur. Tumor budding as a risk factor for nodal metastasis in pT1 colorectal cancers: a meta-analysis. *Hum Pathol.* 2017;65:62–70.
236. Ueno H, Ishiguro M, Nakatani E, Ishikawa T, Uetake H, Matsuda C, i sur. Prospective Multicenter Study on the Prognostic and Predictive Impact of Tumor Budding in Stage II Colon Cancer: Results From the SACURA Trial. *J Clin Oncol.* 2019;37(22):1886–94.
237. Dawson H, Blank A, Zlobec I, Lugli A. Potential clinical scenarios of tumour budding in colorectal cancer. *Acta Gastro-Enterol Belg.* 2019;82(4):515–8.
238. Koelzer VH, Zlobec I, Lugli A. Tumor budding in colorectal cancer—ready for diagnostic practice? *Hum Pathol.* 2016;47(1):4–19.
239. Kamall GH, Ulusoy C, Nikolovski A, Kamall S. Tumour budding - an additional prognostic factor in colorectal cancer survival. *Pol J Pathol Off J Pol Soc Pathol.* 2023;74(1):36–41.
240. Cyr DP, Pun C, Shivji S, Mitrovic B, Duan K, Tomin R, i sur. Tumor Budding Assessment in Colorectal Carcinoma: Normalization Revisited. *Am J Surg Pathol.* 2024;48(3):251–65.
241. Luo Y-H, Yan Z-C, Liu J-Y, Li X-Y, Yang M, Fan J, i sur. Association of tumor budding with clinicopathological features and prognostic value in stage III-IV colorectal cancer. *World J Gastroenterol.* 2024;30(2):158–69.

242. Bokhorst J-M, Ciompi F, Öztürk SK, Oguz Erdogan AS, Vieth M, Dawson H, i sur. Fully Automated Tumor Bud Assessment in Hematoxylin and Eosin-Stained Whole Slide Images of Colorectal Cancer. *Mod Pathol.* 2023;36(9):100233.
243. Koelzer VH, Assarzaghan N, Dawson H, Mitrovic B, Grin A, Messenger DE, i sur. Cytokeratin-based assessment of tumour budding in colorectal cancer: analysis in stage II patients and prospective diagnostic experience. *J Pathol Clin Res.* 2017;3(3):171–8.
244. Wang K, He H, Lin Y, Zhang Y, Chen J, Hu J, i sur. A new clinical model for predicting lymph node metastasis in T1 colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis.* 2024;39(1):46.
245. Jurescu A, Dema A, Văduva A, Gheju A, Vița O, Barna R, i sur. Poorly differentiated clusters and tumor budding are important prognostic factors in colorectal carcinomas. *Bosn J Basic Med Sci.* 2021;22(2):164–77.
246. Van Wyk HC, Park JH, Edwards J, Horgan PG, McMillan DC, Going JJ. The relationship between tumour budding, the tumour microenvironment and survival in patients with primary operable colorectal cancer. *Br J Cancer.* 2016;115(2):156–63.
247. Zhang L-N, Xiao W-W, Xi S-Y, OuYang P-Y, You K-Y, Zeng Z-F, i sur. Tumor deposits: markers of poor prognosis in patients with locally advanced rectal cancer following neoadjuvant chemoradiotherapy. *Oncotarget.* 2016;7(5):6335–44.

11. ŽIVOTOPIS

Zdenko Bilić je rođen 27. listopada 1984. godine u Zagrebu gdje je nakon osnovnoškolskog obrazovanja završio opću gimnaziju 2003. godine. Diplomirao je 2009. godine na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Nakon obveznog pripravničkog staža u Kliničkoj bolnici Dubrava položio je 2011. godine stručni ispit te stekao odobrenje za samostalni rad.

Od 2011. do 2012. godine je bio zaposlen u primarnoj zdravstvenoj zaštiti u Domu zdravlja Ministarstva unutarnjih poslova Republike Hrvatske u ordinaciji obiteljske medicine, a od 2012. do 2013. godine je radio kao doktor medicine-nositelj tima te potom i voditelj ispostave hitne medicinske službe Jastrebarsko pri Zavodu za hitnu medicinu Zagrebačke županije.

Specijalističko usavršavanje iz abdominalne kirurgije pri Klinici za kirurgiju Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice je započeo u lipnju 2014. godine. U rujnu 2019. godine je položio specijalistički ispit te je i dalje zaposlen kao specijalist abdominalne kirurgije pri Klinici za kirurgiju Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice. Godine 2017. je upisao sveučilišni poslijediplomski doktorski studij Biomedicina i zdravstvo, a 2018. godine je završio i sveučilišni poslijediplomski specijalistički studij iz abdominalne kirurgije.

Aktivno je sudjelovao na brojnim domaćim i međunarodnim kongresima i stručnim tečajevima. Autor je i koautor više znanstvenih i stručnih radova objavljenih u međunarodno indeksiranim časopisima kao i kongresnih priopćenja pri domaćim i međunarodnim znanstvenim i stručnim skupovima i kongresima.

Oženjen je i otac dvojice sinova.