

# Imunohistokemijska izraženost NEDD9 i E-kadherina u bolesnika s metastatskim i nemetastatskim kolorektalnim karcinomima

---

Jurčić, Petra

Doctoral thesis / Disertacija

2017

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:105:521944>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-23**



Repository / Repozitorij:

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



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Petra Jurčić**

**Imunohistokemijska izraženost NEDD9  
i E-kadherina u bolesnika  
s metastatskim i nemetastatskim  
kolorektalnim karcinomima**

**DOKTORSKI RAD**

Zagreb, 2017.

Disertacija je izrađena u Kliničkom zavodu za patologiju „Ljudevit Jurak” Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice u Zagrebu.

Voditelj rada: prof. dr. sc. Božo Krušlin

Svome mentoru prof. dr. sc. Boži Krušlinu zahvaljujem na ukazanom povjerenju, strpljivosti i požrtvovnom radu, dobronamjernim i korisnim savjetima koji su bili najvažniji za uspješan završetak ove disertacije.

Također, velika hvala dr. sc. Petri Radulović koja mi je pomogla u patohistološkoj analizi preparata te doc. dr. sc. Milanu Miloševiću na opsežnoj statističkoj analizi podataka.

Zahvaljujem kolegama iz Zavoda za patologiju Ljudevit Jurak, Klinike za tumore i Klinike za unutarnje bolesti KBC Sestre milosrdnice na pruženoj podršci i razumijevanju. Mojim roditeljima i sestri Antoniji hvala na bezuvjetnoj podršci, ljubavi i razumijevanju.

# SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
1.1. Embriologija debelog crijeva.....	1
1.2. Anatomija debelog crijeva .....	1
1.3. Histologija debelog crijeva .....	3
1.4. Epidemiologija kolorektalnog karcinoma .....	4
1.5. Kolorektalna karcinogeneza .....	6
1.6. Etiologija kolorektalnih karcinoma .....	8
1.6.1. Nasljedni kolorektalni karcinom.....	8
1.6.2. Hereditarni nepolipozni kolorektalni karcinom (HNPCC).....	9
1.6.3. Sindrom X obiteljskog kolorektalnog karcinoma .....	9
1.6.4. Obiteljska adenomatozna polipoza (FAP).....	9
1.6.5. Atenuirana obiteljska adenomatozna polipoza (AFAP) .....	10
1.6.6. MYH povezana polipoza (MAP).....	10
1.6.7. Polipozni sindromi .....	11
1.6.8. Sporadični kolorektalni karcinom.....	11
1.7. Rizični čimbenici .....	12
1.8. Metode probira na kolorektalni karcinom.....	13
1.9. Patologija.....	16
1.10. Klinička slika .....	19
1.11. Dijagnostički postupak .....	20
1.12. Preoperacijska procjena i priprema bolesnika za elektivnu operaciju .....	21
1.13. Terapijski postupak .....	22
1.13.1. Kirurško liječenje karcinoma kolona.....	22
1.13.2. Kirurško liječenje karcinoma rektuma .....	24
1.13.3. Hitni kirurški zahvati .....	25
1.13.4. Liječenje metastatskog kolorektalnog karcinoma .....	26

1.13.5. Komplikacije kirurškog liječenja kolorektalnog karcinoma.....	27
1.13.6. Palijativni zahvati.....	27
1.13.7. Adjuvantna terapija karcinoma kolona.....	28
1.13.8. Neoadjuvantna / adjuvantna terapija karcinoma rektuma.....	28
1.13.9. Kemoterapijsko i biološko liječenje metastatskog kolorektalnog karcinoma.....	30
1.13.10. Palijativna iradijacija.....	32
1.14. Praćenje bolesnika.....	32
1.15. E-kadherin.....	33
1.16. HEF1/NEDD9/Cas-L.....	34
2. Hipoteza.....	36
3. Ciljevi istraživanja.....	37
4. Bolesnici i metode.....	38
4.1. Materijal.....	38
4.2. Metode.....	38
4.2.1. Imunohistokemijska analiza.....	38
4.2.2. Statističke metode.....	39
5. Rezultati.....	40
6. Rasprava.....	56
7. Zaključci.....	61
8. Sažetak.....	62
9. Summary.....	63
10. Popis literature.....	64
11. Životopis.....	89

## Popis oznaka i kratica

**AC** engl. Amsterdam criteria, Amsterdamski kriteriji

**AFAP** engl. attenuated FAP, atenuirana obiteljska adenomatozna polipoza

**AJCC** engl. American Joint Committee on Cancer, Američko povjerenstvo za tumore

**APC** engl. adenomatous polyposis coli gene, gen za adenomatoznu polipozu kolona

**ASA** engl. The American Society of Anesthesiologists, Američko udruženje anesteziologa

**ASCO** engl. The American Society of Clinical Oncology, Američko društvo za kliničku onkologiju

**ASR (W)** engl. age standardized rate (for world population), dobno standardizirana stopa za svjetsku populaciju

**BRAF** engl. B-rapidly accelerated fibrosarcoma, onkogen povezan s nastankom kolorektalnog karcinoma

**CDH1** engl. gene cadherin 1, gen kadherin 1

**CEA** engl. carcinoembryonic antigen, karcinoembrionalni antigen

**CIMP** engl. CpG island methylator phenotype, proces metilacije CpG otočića deoksiribonukleinske kiseline

**CIN** engl. chromosomal instability, kromosomska nestabilnost

**CME** engl. circumferential radial margin, cirkumferentni resekcijski rub

**CRC** engl. colorectal cancer, kolorektalni karcinom

**CT** engl. computed tomography, kompjuterizirana tomografija

**CTC** engl. CT colonography, CT kolonografija

**DCC** engl. gene deleted in colon cancer, gen koji nedostaje u karcinomu kolona

**DFS** engl. disease-free survival, preživljenje bez povrata bolesti

**DNA** engl. deoxyribonucleic acid, deoksiribonukleinska kiselina

**DSS** engl. disease-specific survival, preživljenje specifično za bolest

**EGFR** engl. epidermal growth factor receptor, receptor epidermalnog čimbenika rasta

**EMT** engl. epithelial-mesenchymal transition, epitelno-mezenhimalna tranzicija

**ERUS** engl. endorectal ultrasound, endorektalni ultrazvuk

**ESMO** engl. European society for medical oncology, Europsko društvo za internističku onkologiju

**FAK** engl. focal adhesion kinase, kinaza fokalne adhezije

**FAP** engl. familial adenomatous polyposis, obiteljska adenomatozna polipoza

**FDA** engl. Food and Drug Administration, Agencija za hranu i lijekove

**FOBT** engl. fecal occult blood test, test okultnog fekalnog krvarenja

**gFOBT** engl. guaiac-based faecal occult blood test, gvajak test okultnog fekalnog krvarenja

**Gy** Grey

**HEF1** engl. human enhancer of filamentation 1

**iFOBT** engl. immunochemical fecal occult blood test, imunokemijski test okultnog fekalnog krvarenja

**IIB** imunohistokemijski indeks bojanja

**IR** intenzitet reakcije

**HNPCC** engl. hereditary non-polyposis colorectal cancer, hereditarni nepolipozni kolorektalni karcinom

**K-ras** engl. gene Kirsten ras, gen Kirsten ras

**LV** engl. leucovorin, leukovorin

**MAP** engl. MYH-associated polyposis, polipoza povezana s MYH mutacijom

**MLH1** engl. gene MutL homolog 1, colon cancer, nonpolyposis type 2

**MMR** engl. mismatch repair gene, gen za popravljavanje pogrešno sparenih nukleotidnih baza

**MR** engl. magnetic resonance, magnetska rezonanca

**MSI** engl. microsatellite instability, mikrosatelitna nestabilnost

**MSS** engl. microsatellite stability, mikrosatelitna stabilnost

**NCCN** engl. National Comprehensive Cancer Network, Nacionalna sveobuhvatna mreža za rak

**Nd:YAG** engl. neodymium yttrium-aluminum-garnet laser, neodimij itrij aluminij garnet laser

**NEDD9** engl. neural precursor cell expressed developmentally down-regulated 9

**OS** engl. overall survival, ukupno preživljenje

**PAS** engl. periodic acid-Schiff staining, periodično acid-Schiff bojanje

**PET** engl. positron emission tomography, pozitronska emisijska tomografija

**PTEN** engl. phosphate and tensin homologue, homolog tirozin fosfataza i tenzina

**sDNA** engl. stool DNA test, DNA testiranje stolice

**SH3** engl. Src homology 3, domena 3 homologna molekuli Src

**TCGA** engl. The Cancer Genome Atlas

**TME** engl. total mesorectal excision, totalna mezorektalna ekscizija

**UICC** engl. Union for International Cancer Control, Međunarodna unija za borbu protiv karcinoma

**VEGF** engl. vascular endothelial growth factor, vaskularni endotelni čimbenik rasta

**WHO** engl. World Health Organization, Svjetska zdravstvena organizacija

**5-FU** engl. 5-fluorouracil, 5-fluorouracil

# 1. UVOD

## 1.1. Embriologija debelog crijeva

Razvoj crijeva počinje u četvrtom gestacijskom tjednu iz dorzalnog dijela žumanjčane vreće (1 - 3). Endoderm primitivnog crijeva osnova je za površinski epitel, žlijezde većine probavnih organa te parenhim jetre i gušterače (2). Primitivno crijevo se sastoji od četiri dijela; ždrijelnog crijeva, prednjeg crijeva, srednjeg crijeva i stražnjeg crijeva (3). Ždrijelno crijevo se proteže od usnoždrijelne opne do osnove pluća gdje se nastavlja u prednje crijevo (2, 4). Od kaudalnog dijela prednjeg crijeva se razvijaju jednjak, želudac, proksimalni dio duodenuma, jetra sa žučnim vodovima i gušterača (1, 2). Od srednjeg crijeva se razvijaju distalni dio duodenuma, jejunum, ileum, cekum, slijepo crijevo, uzlazno crijevo te proksimalne dvije trećine poprečnog crijeva (3). U šestom gestacijskom tjednu zbog brzog rasta u duljinu te istodobnog razvoja jetre srednje crijevo fiziološki hernira izvan trbušne šupljine te se okreće oko osi koju čini gornja mezenterična arterija za 270° gledano sprijeda u smjeru suprotnom od kazaljke na satu (4). Tijekom desetog gestacijskog tjedna dolazi do vraćanja crijevnih vijuga iz pupčane kilne vreće u trbušnu šupljinu. Od stražnjeg crijeva se razvija distalna trećina poprečnog crijeva, silazno i sigmoidno crijevo, rektum i proksimalni dio analnog kanala te ga krvlju opskrbljuje donja mezenterična arterija (1, 3). Tijekom šestog gestacijskog tjedna dolazi do podjele kloake urogenitalnom pregradom na prednji dio, primitivni urogenitalni sinus i stražnji dio, rektum (3). Distalni dio analnog kanala se razvija od ektoderma i prima krvnu opskrbu putem rektalnih arterija koje su ogranci unutarnje pudendalne arterije. Nazubljena linija (linea dentata) odvaja stražnje crijevo endodermalnog porijekla od distalnog analnog kanala ektodermalnog porijekla (2, 3).

## 1.2. Anatomija debelog crijeva

Debelo crijevo se proteže u dužini od 135 do 230 centimetara od ilealnog ušća do anusa. Anatomski i funkcionalno se dijeli na cekum, crvuljak, uzlazno, poprečno, silazno i sigmoidno crijevo, rektum i analni kanal (4 - 6). Cekum se nalazi u desnoj bočnoj udubini i u potpunosti je omotan retroperitoneumom. Vrlo je mobilan, najšireg je promjera (7,5 - 9 cm), najtanjeg mišićnog sloja te prosječne dužine deset centimetara. Crvuljak započinje na stijenci slijepoga crijeva dva do tri centimetra ispod ilealnog ušća kao uska i tanka cijev dužine osam do deset centimetara koja slijepo završava. Uzlazno crijevo se proteže od cekuma do jetrene fleksure i prosječno je dugo 15 centimetara. Za razliku od stražnje strane, prednja i lateralne strane uzlaznog crijeva su pokrivene peritoneumom. Poprečno crijevo se nalazi između jetrene i lijenalne fleksure, prosječne je duljine 35 do 50 centimetara. Mobilnost mu omogućava poprečni mezokolon koji ga veže za stražnju trbušnu stijenk. U cijelosti je obavijen visceralnim peritoneumom. Silazno crijevo proteže se od lijenalne fleksure do



visine bočnog grebena gdje prelazi u sigmoidno crijevo. Obzirom da mu je početak smješten više, duži je od uzlaznog crijeva, ali je manjeg promjera. Na isti način kao i uzlazno crijevo pokriva ga visceralni peritoneum. Sigmoidno crijevo se proteže od bočnog grebena do visine trećeg križnog kralješka. U cijelosti je ovijeno visceralnim peritoneumom koji na rubovima prelazi u mezosigmoid, a prosječna dužina mu iznosi od 15 do 50 centimetara. Rektum se proteže od visine trećeg križnog kralješka do analnog kanala i prosječne je dužine od 12 do 15 centimetara. Rektum potom slijedi zavijenost sakruma i kokcigisa te završava prolazom kroz mišiće dna zdjelice (m. levatores ani), na čijem nivou oštro zavija prema nazad i prelazi u analni kanal. Osim zavijenosti u sagitalnoj ravnini, rektum ima i tri zavoja u frontalnoj ravnini. Gornji i donji zavoji su konveksni prema desno, a srednji prema lijevo. S unutrašnje strane rektuma ovi zavoji se očituju kao protruzije sluznice, takozvane Houstonove valvule (4, 5). Srednja Houstonova valvula odgovara mjestu gdje na prednjoj strani rektum gubi peritonealni pokrov. Stražnji zid rektuma nema peritoneum, nego je prekriven tankim slojem fascije koji se naziva fascija propria. S lijeve i desne strane rektuma ova fascija čini duplikature koje se nazivaju lateralni ligamenti. Analni kanal je završni dio debelog crijeva koji se proteže od anorektalnog prstena do analnog ruba u dužini od 4 centimetra. Ileokolična arterija opskrbljuje terminalni ileum i proksimalni dio uzlaznog crijeva. Desna količna arterija opskrbljuje uzlazno crijevo i jetrenu fleksuru, a srednja količna arterija opskrbljuje poprečno crijevo. Donja mezenterična arterija daje lijevu količnu arteriju koja opskrbljuje silazno crijevo, dvije do šest sigmoidnih arterija koje opskrbljuju sigmoidno crijevo i gornju rektalnu arteriju koja opskrbljuje završni dio sigmoidnog crijeva i gornji dio rektuma. Riolanov luk podrazumijeva anastomozu između srednje i lijeve količne arterije. Ogranci donje i gornje mezenterične arterije međusobno anastomoziraju tvoreći marginalnu arteriju kolona ili Drummondovu arteriju koja leži duž mezenterične strane crijeva i s koje polaze terminalne arterijske grane za debelo crijevo. Srednja rektalna arterija je ogranak unutarnje ilijačne arterije, a opskrbljuje srednji i donji dio rektuma. Donja rektalna arterija ogranak je pudendalne arterije, ogranka unutarnje ilijačne arterije i opskrbljuje donji dio rektuma i analni kanal. Stražnji dio rektuma dobiva i male ogranke središnje križne arterije. Venska krv desnog i proksimalnog dijela poprečnog crijeva otječe u gornju mezenteričnu venu koja zajedno s lijenalnom venom čini portalnu venu. Venska krv distalnog dijela poprečnog crijeva, silaznog i sigmoidnog crijeva te većeg dijela rektuma otječe u donju mezenteričnu venu koja se ulijeva u lijenalnu venu. Srednje rektalne vene se ulijevaju u unutarnju ilijačnu venu, a donje rektalne vene u unutarnju pudendalnu venu, prtok unutarnje ilijačne vene, pa preko njih u donju šuplju venu. Dvosmjerna venska drenaža objašnjava različite principe metastaziranja. Bogata mreža limfnih kapilara i žila smještenih u submukozi i supserozi ektramuralnim putovima se sabire u epikolične, parakolične i retrokolične limfne čvorove, potom u intermedijarne limfne čvorove smještene uz velike krvne žile te u glavne limfne čvorove smještene uz gornju i donju mezenteričnu arteriju. Limfa kolona i gornje dvije trećine rektuma se skuplja u paraaortalnim limfnim čvorovima te se potom prazni u hilarnu cisternu,

početni prošireni dio prsnog limfovoda. Limfa donje trećine rektuma može se prazniti u paraaortalne limfne čvorove, ali i lateralno u unutarnje ilijačne limfne čvorove. Limfa iz analnog kanala iznad nazubljene linije se skuplja u paraaortalnim limfnim čvorovima i unutarnjim ilijačnim čvorovima pa preko njih u zajedničkim ilijačnim limfnim čvorovima i lumbalnim limfnim čvorovima. Limfa iz analnog kanala ispod nazubljene linije se prvenstveno drenira u ingvinalne limfne čvorove. Autonomni nadzor probavnog sustava osigurava parasimpatička i simpatička inervacija. Simpatička preganglijska vlakna nastaju iz kolinergičnih neurona smještenih u intermediolateralnoj kolunni sive tvari T6-L3 segmenata kralježnične moždine. Nakon što napuste kralježničnu moždinu ulaze u simpatičke lance koji se pružaju lateralno uz kralježničnu moždinu te dolaze do perifernih simpatičkih ganglija. Periferni simpatički gangliji mogu biti para- i prevertebralni, a u njima su smještena tijela većine postganglijskih simpatičkih neurona. Od tijela postganglijskih simpatičkih neurona šire se postganglijski simpatički živci u sve dijelove crijeva. Završeci postganglijskih simpatičkih živaca luče noradrenalin te male količine adrenalina. Parasimpatička preganglijska vlakna potječu iz dorzalne motorne jezgre vagalnog živca te stvaraju sinapse s postganglijskim neuronima parasimpatičkog sustava smještenim uglavnom u mijenteričnom i podsluzničnom spletu. Debelo crijevo, za razliku od ostatka probavnog trakta, parasimpatičkim vlaknima je opskrbljeno iz dva dijela; kranijalnog i sakralnog. Kranijalna parasimpatička vlakna nalaze se gotovo isključivo u vagalnom živcu te inerviraju proksimalni dio kolona. Sakralni parasimpatikus potječe iz parasimpatičkih jezgri S2-4 segmenata kralježnične moždine te se spaja s postganglijskim neuronima u pelvičnom (zdjeličnom) gangliju, a potom zdjeličnim živcima odlazi u distalni dio kolona sve do anusa. Probavni sustav osim autonomnog nadzora ima i vlastiti unutarnji živčani sustav (6, 7). Posjeduje 100 milijuna neurona i važan je za upravljanje peristaltikom i lučenje probavnog sustava. Crijevni živčani sustav sastoji se od dvaju spletova; vanjskog spleta koji leži između uzdužnog i kružnog mišićnog sloja i zove se mijenterični ili Auerbachov splet i unutarnjeg spleta koji leži u podsluznici i zove se podsluznični ili Meissnerov splet.

### **1.3. Histologija debelog crijeva**

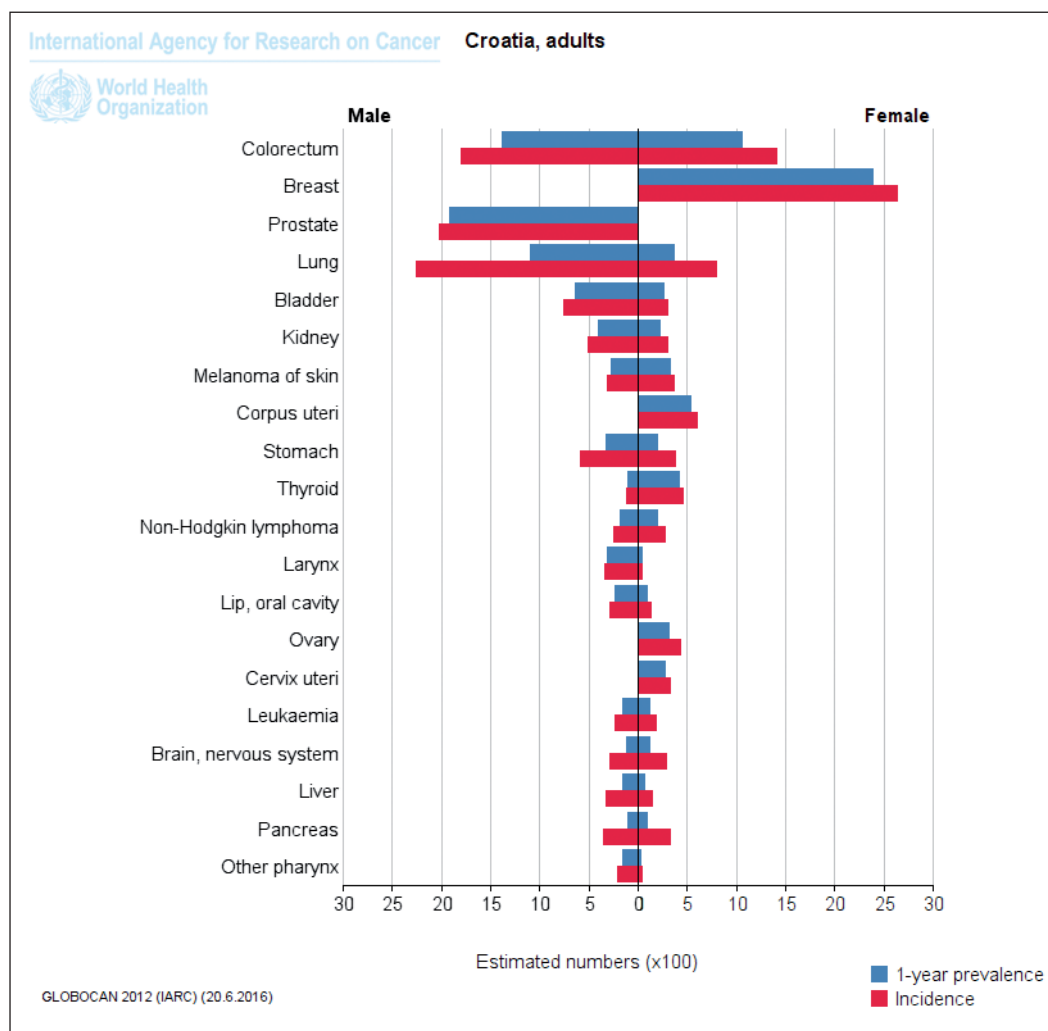
Crijevena stijenka je građena od četiri sloja koja se nižu od unutrašnje površine prema van: sluznice (tunica mucosa), podsluznice (tunica submucosa), sloja mišićnih vlakana (tunica muscularis mucosa) i seroze (8). Sluznica se sastoji od laminae epithelialis, laminae propriae i laminae muscularis mucosae. Epitel koji oblaže sluznicu i Lieberkühnove kripte je jednoslojni cilindrični koji se sastoji od dviju vrsta stanica; enterocita i vrčastih stanica. Osnovna uloga enterocita je apsorpcija vode i elektrolita dok je osnovna uloga vrčastih stanica održavanje lokalnog imuniteta izlučivanjem nespecifičnih čimbenika. Enterociti su cilindrične stanice koje u donjem dijelu imaju ovalnu bazalnu jezgru, eozinofilnu citoplazmu te na slobodnoj plohi stanice PAS bojenjem pozitivnu četkastu prevlaku građenu od kratkih, ne-

pravilnih mikroresica. Vršaste stanice su smještene između enterocita, ovalnog su oblika sa stiješnjenom jezgrom u bazalnom dijelu, a njihova citoplazma je bazofilna, metakromatska i PAS bojenjem pozitivna. Na apikalnoj strani vršastih stanica se akumulira mucin. U sluznici se osim vršastih stanica nalaze još i limfociti, prekursorske stanice, Panethove stanice, enteroendokrine stanice i membranozne epitelne stanice (M stanice). Panethove stanice su smještene u bazalnom dijelu kripte debelog crijeva te sadrže velike acidofilne sekretorne granule bogate lizozimom. Enteroendokrine stanice se nalaze u bazalnom dijelu kripte debelog crijeva, imaju relativno blijedu citoplazmu te se, za razliku od ostalih stanica, neurosekretorne granule nalaze u bazalnom dijelu. Membranozne epitelne stanice (M stanice) su specijalizirane epitelne stanice koje prekrivaju limfne folikule i limfno tkivo (GALT). Njihova glavna uloga je selektivna endocitoza antigena i njihova prezentacija intraepitelnim makrofagima i limfocitima. Lamina propriju izgrađuje rahlo vezivno tkivo bogato kapilarama i limfnim žilama potrebnima za resorpciju tekućine. Najčešće zastupljene stanice su plazma stanice i limfociti, zatim eozinofili, mastociti i makrofagi. Lamina muscularis mucosae je građena od tankog sloja glatkih mišićnih stanica. Podsluznica je sloj građen od rahlog vezivnog tkiva koji sadrži fibroblaste, mastocite, krvne i limfne žile te Meissnerov živčani splet. Mišićni sloj (tunica muscularis mucosae) se sastoji od unutarnjeg kružnog (stratum circulare) i vanjskog uzdužnog (stratum longitudinale) sloja (8). Između ta dva sloja leži Auerbachov živčani splet. Vanjski uzdužni mišićni sloj stvara tri tenije. Seroza je vanjski sloj građen od rahlog vezivnog tkiva i mezotela, a oblaže kolon i početni dio rektuma.

## 1.4. Epidemiologija kolorektalnog karcinoma

Kolorektalni karcinom (CRC) je treće najčešće sijelo u muškaraca (746 298 slučajeva, 10.1 % svih vrsta tumora) te drugo najčešće sijelo u žena (614 304 slučajeva, 9.2 % svih vrsta tumora) u svijetu (9). Učestalost je veća u muškaraca (omjer 1.4 : 1), a za oba spola postoji deseterostruka razlika u učestalosti između pojedinih geografskih regija (Australija, Novi Zeland - Zapadna Afrika). Došlo je do porasta učestalosti u područjima povijesno niskog rizika (Španjolska i jugoistočna Europa), do stabiliziranja (zapadna Europa i Australija) te smanjenja učestalosti (Kanada, Novi Zeland, Sjedinjene Američke Države) u područjima povijesno visokog rizika (10, 11). Porast broja oboljelih od CRC-a pripisuje se pozapadnjivanju načina života, pretilosti, fizičkoj neaktivnosti, pušenju i ekscesivnoj konzumaciji alkohola i crvenog mesa dok se smanjenje broja oboljelih pripisuje širokoj primjeni mjera prevencije te boljim modalitetima liječenja, pogotovo u ranijim stadijima bolesti. Na temelju procjene 693 933 smrtna slučaja godišnje, CRC je četvrti po smrtnosti od svih malignih tumora u svijetu (9). Stope smrtnosti za CRC u Europskoj uniji variraju između 15 i 20 na 100 000 muškaraca i između 9 i 14 na 100 000 žena, s trendom smanjenja pogotovo u žena zapadno- i sjevernoeuropskih zemalja. U desetogodišnjem razdoblju (1997. - 2007.) u Europskoj uniji petogodišnja smrtnost muškaraca smanjila se za 6 %, a petogodišnja smrtnost

žena za 8 %, s većim smanjenjem stope smrtnosti u populaciji 30 - 49 godina (12). Peto-godišnje preživljenje od CRC-a u različitim geografskim područjima varira od 28,5 % do 57 % u muškaraca te od 30,9 % do 60 % u žena, a skupna procjena 51 registra 23 zemlje je 46,8 % za muškarce te 48,4 % za žene (13). U Hrvatskoj je CRC treće najčešće sijelo raka u muškaraca (iza raka pluća i prostate) te drugo najčešće sijelo raka u žena (iza raka dojke). U ukupnoj incidenciji sudjeluje sa 17 % u muškaraca te s 13 % u žena (14). U usporedbi s ostalim europskim zemljama kad se koristi dobno standardizirana stopa za svjetsku popula-ciju (ASR(W)) Hrvatska je osma po incidenciji u muškaraca (ASR(W) 44.2, Slovačka 61.6 - Albanija 9.0) te šesnaesta po incidenciji u žena (ASR(W) 24.7, Norveška 35.8 - Albanija 7.9). Po mortalitetu u muškaraca je treća, iza Mađarske i Slovačke (ASR(W) Mađarska 30.1 - Albanija 4.8) te druga po mortalitetu u žena (iza Mađarske) (ASR(W) Mađarska 14.5 - Al-banija 3.9) (9).

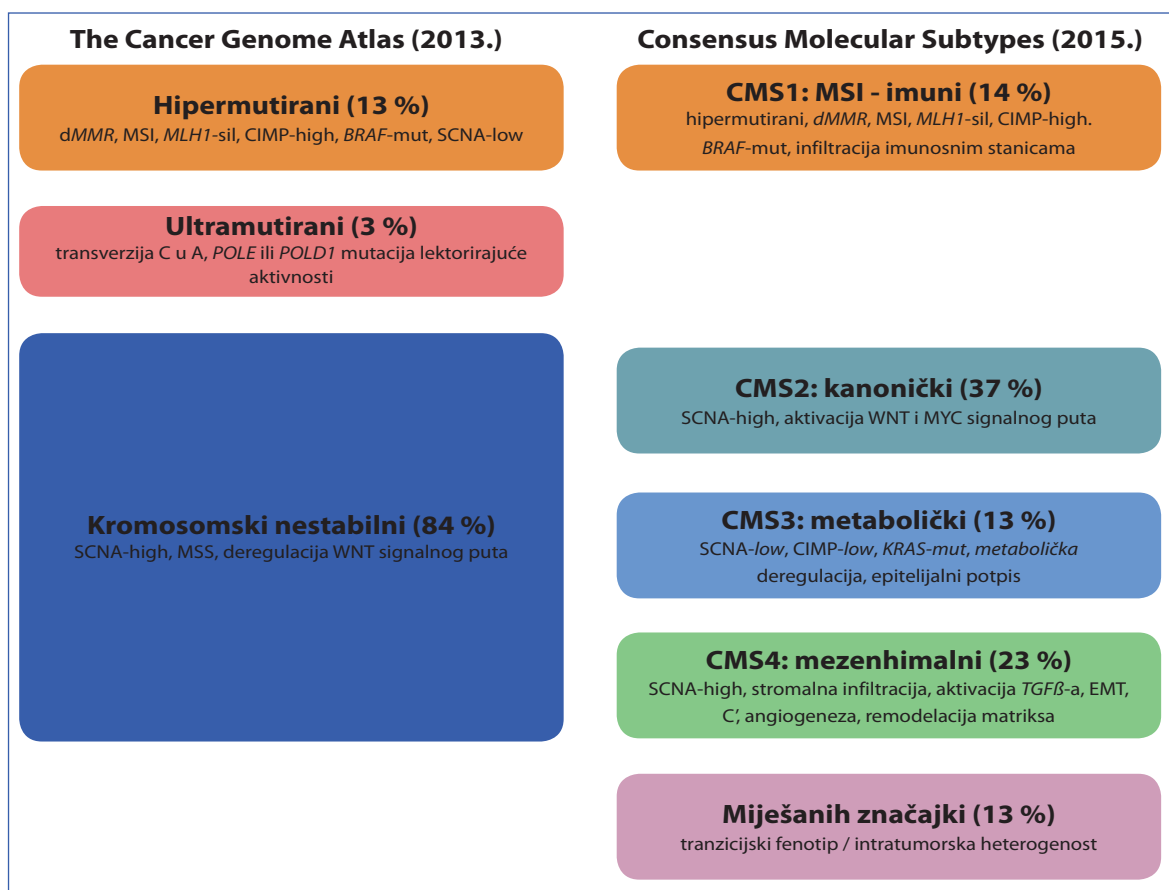


**Slika 1.** Incidencija i jednogodišnja prevalencija malignih oboljenja u oba spola u Republici Hrvatskoj u 2012. godini, dostupno na: [globocan.iarc.fr](http://globocan.iarc.fr) (9).

## 1.5. Kolorektalna karcinogeneza

Etiologija nastanka kolorektalnog karcinoma nije poznata. Početkom devedesetih godina prošlog stoljeća Fearon i Vogelstein su predložili patogenetski model bolesti u kojem kroz niz genetskih promjena tijekom određenog vremenskog perioda iz benignih epitelnih lezija, adenomatoznih polipa izrasta većina CRC-a (15). Izvorni model je bio previše jednostavan, a novija istraživanja pokazuju da je gubitak genomske stabilnosti ključan u karcinogenezi s tri glavna mehanizma: kromosomskom nestabilnosti (CIN), mikrosatelitnom nestabilnosti (MSI) i epigenetičkim procesom metilacije CpG otočića deoksiribonukleinske kiseline (CIMP) (16). Ključan rani događaj u mehanizmu kromosomske nestabilnosti je hiperaktivacija Wnt signalnog puta koja se događa zbog mutacije važnog negativnog regulatora, APC gena (17). APC gen je dio aksin-APC degradosoma koji potiče proteosomalnu degradaciju  $\beta$ -katenina. Kad je zbog mutacije APC gena neaktiviran degradosom,  $\beta$ -katenin se inicijalno nakuplja u citoplazmi, a poslije odlazi u jezgru gdje transkripcijom aktivira c-Myc i D1 ciklin, dva regulatora staničnog ciklusa (18). Poremećena regulacija proliferacije i diferencijacije epitelnih stanica akumulira inaktivacije drugih tumor-supresorskih gena (DCC, SMAD2, SMAD4) te aktivacije onkogeno (KRAS, BRAF) (19). Inaktivirajuća mutacija ili gubitak tumor-supresorskog gena p53 koji dovodi do gubitka kontrole apoptoze kasni je događaj u tom mehanizmu (20). Važno je napomenuti da 80 % CRC-a ima CIN što daje i tipičnu kliničku sliku; pojavljuju se u distalnom dijelu, agresivniji su te sam CIN služi kao neovisni čimbenik lošijeg preživljenja (21). MSI podrazumijeva nakupljanje defekata u mikrosatelitnim regijama, jednostavnim ponavljajućim motivima sastavljenima od jedne do šest nukleotidnih baza, prisutnima u kodirajućem i nekodirajućem dijelu deoksiribonukleinske kiseline (DNA) (22). Mutacije mikrosatelitnih regija mogu se uglavnom objasniti replikacijskim klizanjem. Za prepoznavanje i sudjelovanje u popravku pogrešno sparenih nukleotidnih baza i manjih insercijsko/delecijskih oštećenja DNA, regulacija apoptoze i G2/M kontrolne točke staničnog ciklusa postoji jedanaest proteina popravljача pogrešno sparenih nukleotidnih baza (MMR proteina). Najistraživanije su mutacije pet gena: MSH2, MLH1, PMS2, PMS1 i MSH6 (23). MSI često zahvaća promotorske regije gena Wnt signalnog puta (APC, AXIN2, TCF4, WISP-3), gena zaduženih za apoptozu (BAX, APAF1, BCL10, Caspase-5, FAS) i gena zaduženih za stanični ciklus (PTEN, RIZ, hG4-1, E2F-4) (24,25). Testiranje MSI-ja se provodi s pet ili više mikrosatelitnih biljega. Ukoliko više od 30 % mikrosatelitnih biljega pokaže nestabilnost, CRC je visokog stupnja MSI-ja (MSI-H), a ukoliko manje, CRC je niskog stupnja MSI-ja (MSI-L). Ukoliko su svi biljezi MSI-ja negativni, CRC je mikrosatelitski stabilan (MSS) (26). CRC-i s MSI-om imaju tumor-infiltrirajuće limfocite, reakcije nalik onima u Crohnovoj bolesti (nekoliko nodularnih limfoidnih agregata ispod ruba tumora), pojavljuju se pretežito u proksimalnom kolonu, većinom su diploidni, imaju bolje ukupno preživljenje te slabiji metastatski potencijal u odnosu na MSS CRC-e (27-29). MSI-H CRC-i se češće pojavljuju u bolesnicima te imaju raniji nastup bolesti (30).

Toyota i sur. su 1999. godine kao osnovni epigenetički proces predstavili metilaciju CpG otočića DNA (CIMP) koja regulira aktivnost gena važnih u staničnim procesima (31). Dokazali su CIMP promotora tumor-supresorskih gena (RB, p16INK4A, VHL, APC, E-kadherin) čime su oni utišani (32,33). Također je zamijećena i nemetilacija CpG otočića gena koji su u normalnom genomu metilirani (34). CRC-i s CIMP-om se češće pojavljuju u bolesnicima u proksimalnom kolonu i češće imaju mucinoznu histologiju (35). Skupina znanstvenika okupljenih u The Cancer Genome Atlas (TCGA) je 2012. godine na temelju opsežne molekulske analize CRC podijelila u dvije skupine: hipermutirani tumori i nehipermutirani tumori (36). Nakon analize njihovih podataka i profiliranja izraženosti 18 gena povezanih s CRC-om internacionalna ekspertna grupa objavila je 2015. godine novu klasifikaciju temeljenu na molekularnim suptipovima CRC-a (slika 2.) (37). Dugi niz godina znanstvenici proučavaju mehanizme kojima karcinomi invadiraju i metastaziraju te zašto određeni karcinomi imaju metastatski potencijal u određenim organima ili sijelima. Prvi je teoriju sjemena i tla postavio Paget 1889. godine proučavajući autopsijske podatke bolesnika preminulih od metastatskog karcinoma dojke (38). Kasnije su je svojim otkrićima nadopunjavali Kinsey, Greene i Harvey, Auerbach i sur. (39-41). Oponenti ove teorije su razvili anatomsko-mehaničku teoriju kojom su objasnili hematogeno metastaziranje karcinoma gastrointestinalnog sustava (42). Epitelno-mezenhimalna tranzicija (EMT) je biološki proces u kojem se polarizirane epitelne stanice mijenjaju nakon čega izražavaju mezenhimalni fenotip koji ima veću staničnu pokretljivost, invazivnost, otpornost na apoptozu i povećanu proizvodnju sastavnica izvanstaničnog matriksa (43). Provedba EMT-a ovisi o unutarstaničnim signalnim putevima, ERK-u, MAPK-u, PI3K-u, Akt-u, Smads-u, RhoB-u,  $\beta$ -kateninu, LEF-u, Ras-u i c-Fos-u, a olakšana je pucanjem međustaničnih pričvrstnih spojeva (44). Idući korak korelira s premještanjem  $\beta$ -katenina u jezgru, gdje postaje dio Tcf/LEF kompleksa (45). Proces EMT-a završava degradacijom bazalne membrane i stvaranjem mezenhimalnih stanica koje ne izražavaju E-kadherin i  $\beta$ -katenin. U metastatskim sijelima mezenhimalne stanice stvaraju kolonije koje histopatološki odgovaraju primarnom tumoru.



**Slika 2.** Usporedba TCGA i CMS klasifikacije CRC-a, modificirano prema <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4978761>.

Legenda: BRAF-mut, mutiran onkogen B-rapidly accelerated fibrosarcoma; C', aktivacija komplementa; CIMP-high, izražen fenotip metilacije CpG otočića; CIMP-low, neizražen, utišan fenotip metilacije CpG otočića; dMMR, engl. deficient mismatch repair, manjkav sustav za popravak krivo sparenih baza; EMT, epitelno-mezenhimalna tranzicija; KRAS-mut, mutiran onkogen Kirsten rat sarcoma, MYC, protoonkogen, prvi put otkriven u bolesnika s Burkittovim limfomom; MLH1-sil, utišan gen MutL homolog 1, colon cancer, nonpolyposis type 2 hipermetilacijom promotora; MSI, mikrosatelitna nestabilnost; MSS, mikrosatelitna stabilnost; POLD1, DNA polimeraza δ; POLE, DNA polimeraza ε; SCNA-high, povećanje broja kopija gena u somatskim stanicama; SCNA-low, smanjenje broja kopija gena u somatskim stanicama; TGF-β, transformirajući čimbenik rasta beta; WNT, unutarstanični signalni put.

## 1.6. Etiologija kolorektalnih karcinoma

### 1.6.1. Nasljedni kolorektalni karcinom

Pozitivnu obiteljsku anamnezu za CRC, ali bez jasnog uzorka nasljeđivanja ili dokazane mutacije ima 20 - 25 % bolesnika. Nasljedni sindromi odgovorni za nastanak CRC-a su hereditarni nepolipozni kolorektalni karcinom (HNPCC) ili Lynchov sindrom, obiteljska adenomatozna polipoza (FAP) i njene varijante (Gardnerov i Turcotov sindrom) te MYH povezana polipoza (MAP) (46-48).

### **1.6.2. Hereditarni nepolipozni kolorektalni karcinom (HNPCC)**

HNPCC je najčešći nasljedni sindrom, odgovoran za 1 - 3 % svih CRC-a. Doktor Henry Lynch prvi je 1960. godine opisao bolest i jasno je razdijelio od FAP-a, stoga sindrom u literaturi nosi i njegovo ime (49). Autosomno dominantnim načinom nasljeđuje se mutacija gena koji reguliraju popravak pogrešno sparenih nukleotidnih baza (MMR gena). Na *MLH1* i *MSH2* genu locirano je 80 % mutacija, 10 - 12 % mutacija na *MSH6* genu te 2 - 3 % mutacija na *PMS2* genu (46). U nositelja mutacija postoji 30 - 70 % rizik pojave CRC-a dok nositeljice imaju i dodatni 30 - 60 % rizik pojave karcinoma endometrija. Bolesnici nose i veći rizik razvoja karcinoma ovarija (4 - 12 %), želuca, tankog crijeva, bilijarnog trakta, gušterače (4 %), uretera i bubrežne nakapnice (8 %) (50). Uspoređujući HNPCC sa sporadičnim CRC-om, 70 % bolesnika razvije karcinom desnog kolona, oboljeli su mlađe životne dobi (prosječna dob kod postavljanja dijagnoze je 48 godina) te je bolest nižeg stadija (51). Sinkrone lezije (simultano pojavljivanje dviju ili više lezija odvojenih normalnom sluznicom) ili metakrone lezije (nova lezija koja se ne nalazi na anastomozi, a razvila se nakon najmanje šest mjeseci poslije postavljanja dijagnoze) ima 10 % bolesnika. Rizik razvoja metakronog CRC-a u bolesnika kojima je učinjena samo segmentalna resekcija je velik: u istraživanju s 382 nositelja mutiranog gena, u 16 % bolesnika metakroni CRC se razvio nakon 10 godina, a u 62 % bolesnika nakon 30 godina (52). Bazična i klinička istraživanja pokazuju da je MSI status prediktivni čimbenik kemosenzitivnosti na irinotekan, međutim to je nedovoljno za definitivne preporuke u vezi adjuvantnog kemoterapijskog liječenja (28, 53). Bolesnicima je potrebno uzeti iscrpnu obiteljsku anamnezu uz primjenu Amsterdamskih kriterija (AC) i Bethesda smjernica i provesti jedan od dva inicijalna testa na uzorku karcinoma prije sekvencioniranja; imunohistokemijsku analizu izraženosti MMR proteina i analizu MSI-ja (54). AC-i su postavljeni 1991. godine kako bi se odredilo koje obitelji imaju HNPCC, a 1999. godine učinjena je njihova revizija (55). Bethesda smjernice su nastale kao pomoć pri odluci treba li pojedince s CRC-om i pozitivnom obiteljskom anamnezom koji ne ispunjavaju AC-i genetički testirati. Smjernice su revidirane 2003. godine (56).

### **1.6.3. Sindrom X obiteljskog kolorektalnog karcinoma**

U 40 % obitelji koje ispunjavaju AC I za postavljanje dijagnoze HNPCC-a ne može se dokazati mutacija MMR gena (57). Nepoznate je etiologije. U bolesnika ne postoji povećani rizik od pojave karcinoma drugih anatomskih sijela.

### **1.6.4. Obiteljska adenomatozna polipoza (FAP)**

FAP je autosomno dominantna bolest odgovorna za razvoj tisuća adenomatoznih polipa u kolonu i rektumu tijekom adolescencije. Bolest i način nasljeđivanja prvi je opisao engleski kirurg John Percy Lockhart-Mummery 1925. godine (58). Drugi najčešći sindrom nasljednih



CRC-a ima procijenjenu učestalost 1 : 8000 te je odgovoran za  $\leq 1\%$  svih CRC-a (59). Uzrokovan je mutacijom APC gena koji se nalazi na kratkom kraku kromosoma 5. Produkt takvog gena je skraćeni protein. Zapažen je učinak genotipa na fenotipski izražaj, ukoliko je mutacija gena između kodona 1250 i 1464 i na kodonu 1309, teža je klinička slika (60). Prosječna dob pojave simptoma je 16 godina, a ukoliko se ne učini profilaktička kolektomija, obzirom na visoku penetrantnost gena, u dobi između 40 i 50 godina oboljeli će razviti CRC (61). Svim bolesnicima u kojih postoji sumnja na FAP treba ponuditi testiranje APC gena. Za nadzor nositelja mutiranog gena preporučuje se fleksibilna sigmoidoskopija svake dvije godine počevši od 12. godine, s time da se po otkriću adenoma čini minimalno jednom godišnje do planiranog kirurškog zahvata. U pojedinaca s povećanim rizikom, ali nedokazanom mutacijom APC gena, savjetuje se napraviti fleksibilnu sigmoidoskopiju svake dvije godine do 40. godine života te svakih tri do pet godina između 40. i 50. godine života. Nadzor može biti prekinut nakon 50. godine života ako se nije razvila polipoza. Bolesnici mogu razviti i ekstrakolične oblike bolesti poput polipa želuca, duodenalnih adenoma i karcinoma, dezmoidnih tumora, karcinoma štitnjače, hepatoblastoma (62). S testovima probira započinje se kad se dokaže polipoza ili između 25. i 30. godine, ovisno što prvo nastupi. Mogući kirurški zahvati su proktokolektomija s anastomozom ilealne vrećice i anusa i totalna kolektomija s ileorektalnom anastomozom. Vrsta kirurškog zahvata ovisi o dobi, proširenosti polipoze i reproduktivnim željama. Kirurški zahvat ne otklanja mogućnost pojave karcinoma te treba nastaviti s endoskopskim pretragama.

### **1.6.5. Atenuirana obiteljska adenomatozna polipoza (AFAP)**

AFAP je blaži fenotip bolesti koji se prezentira manjim brojem adenoma u kasnijoj dobi (63). Uzrokovan je mutacijom na 5'-3' kraju APC gena 2 te u alternativno izrezanoj regiji egzona 9 (64). Ukoliko se osoba ne nadzire, CRC se pojavljuje između 50. i 60. godine života. Za nadzor bolesnika s AFAP-om preporučuje se kolonoskopija svake dvije godine počevši od 18. godine do otkrića polipoze. Nakon toga kolonoskopija se ponavlja godišnje uz polipektomije displastičnih polipa. U slučaju većeg broja adenoma s visokim stupnjem displazije može se razmatrati i kirurško liječenje.

### **1.6.6. MYH povezana polipoza (MAP)**

MAP je prva opisana polipoza koja se nasljeđuje autosomno recesivnim načinom nasljeđivanja, a uzrokovana je bialelnom mutacijom MYH gena (48). Značaj mutacije gena MYH za razvoj MAP-a otkriven je 2002. godine (65). MYH gen se nalazi na kratkom kraku kromosoma 1, sastoji se od 16 egzona i kodira protein od 535 aminokiseline, MYH glikozilazu. MYH glikozilaza je jedan od ključnih enzima u popravku pogrešno sparenih nukleotidnih baza (66). U europskoj bjelačkoj populaciji najčešće su *missense* mutacije Y179C i G396D. Prosječna životna dob bolesnika u trenutku postavljanja dijagnoze je 47 godina, a bolesnici razviju između 15 i 100 kolorektalnih adenoma (67). Zbog recesivnog načina nasljeđiva-

nja češće se otkrije simptomatska bolest, a bolesnici su starije životne dobi u odnosu na bolesnike s FAP-om i AFAP-om (68). U bolesnika s MAP-om su češći sinkroni CRC-i, a u literaturi su prikazani slučajevi obostrane lokalizacije. Najčešći ekstrakolični oblici bolesti su duodenalni adenomi i lezije želuca, karcinomi ovarija i mokraćnog mjehura (69). Nakon postavljanja dijagnoze MAP-a preporučuje se nadzor kao i u bolesnika s AFAP-om.

### **1.6.7. Polipozni sindromi**

Juvenilna polipoza je najčešći nasljedni hamartomatozni polipozni sindrom. Nasljeđuje se autosomno dominantno, a uzrokuje je mutacija SMAD4, BMPR1A i ENG gena. Bolest je karakterizirana multiplim hamartomatoznim polipima u gastrointestinalnom sustavu (70). Većina polipa je benigne naravi, ali zbog mogućeg malignog preobražaja tijekom života postoji povećan rizik razvoja karcinoma kolona, 17 – 22 % u dobi od 35 godina te oko 68 % u šezdesetim godinama života (71). Peutz-Jeghersov sindrom je autosomno dominantna bolest, uzrokovana inaktivacijom STK11 gena (72). Njegova učestalost se procjenjuje na 1 : 8 300 – 200 000 živorođene djece (73). Hamartomatozni polipi pojavljuju se u gastrointestinalnom sustavu, a tipične mukokutane hiperpigmentirane promjene pojavljuju se u perioralnoj i perianalnoj regiji, na bukalnoj sluznici te na prstima šaka i stopala. Kumulativni rizik razvoja CRC-a u bolesnika s Peutz-Jeghersovim sindromom iznosi 3 % u 40-im, 5 % u 50-im, 15 % u 60-im te 39 % u 70-im godinama života (74). Muir-Torreov sindrom je rjeđi oblik HNPCC-a u kojem uz CRC-e bolesnici razviju i tumore kožnih adneksa (sebacealni adenomi i karcinomi, keratoakantomi), karcinome endometrija, bubrega, jajnika, želuca i tankog crijeva. U većine oboljelih dokazana je mutacija MSH gena (75). Turcottov sindrom je rjeđi oblik HNPCC-a udružen s pojavom glioblastoma i cerebelarnih meduloblastoma. Gardnerov sindrom je autosomno dominantna bolest, rjeđi oblik FAP-a čija se učestalost procjenjuje na 1 : 8 300 – 14 025 živorođene djece (76). Sindrom obilježavaju adenomatozni polipi u gastrointestinalnom sustavu koji, ukoliko se ne uklone, imaju 100 % rizik razvoja karcinoma, egzo- i endostealni osteomi, odontomi, epidermoidne ciste, dezmoidni tumori, dentalne abnormalnosti (prekobrojni ili impaktirani zubi), kožne pigmentacije (77, 78). Cowdenov sindrom je autosomno dominantna bolest uzrokovana mutacijom PTEN gena (79). Llyod i Dennis opisali su ga 1963. godine, a nosi ime po dvadesetogodišnjoj bolesnici čija fenotipska obilježja su opisana (80). Zbog niske očekivane učestalosti u populaciji (1 : 200 000) bolest često ostane neotkrivena do odrasle dobi. Oboljeli tijekom života imaju povećan rizik razvoja karcinoma dojke (85,2 %), štitnjače (35,2 %), bubrega (33,6 %), endometrija (28,2 %), CRC-a (9 %) i melanoma (6 %) (81).

### **1.6.8. Sporadični kolorektalni karcinom**

Nasljedna sklonost se smatra važnim čimbenikom karcinogeneze iako se 75 – 80 % slučajeva CRC-a pojavljuje sporadično (46). Brojne epidemiološke studije su istraživale uloge

rizičnih čimbenika, međutim bez jasnih rezultata. Najvjerojatnije se radi o interakciji više rizičnih čimbenika.

## 1.7. Rizični čimbenici

Rizični čimbenici za nastanak CRC-a se dijele na nepromjenjive i promjenjive. Nepromjenjivi rizični čimbenici uključuju dob, spol, rasu i nasljednu sklonost. Promjenjivi rizični čimbenici su tjelesna masa, konzumacija crvenog mesa i alkohola, fizička aktivnost i pušenje. Dob je glavni rizični čimbenik za sporadični CRC. Učestalost CRC-a počinje rasti između 40. i 50. godine života uz povećanje dobno-specifične stope učestalosti za svako sljedeće desetljeće (82). Od svih etničkih skupina koje žive u SAD-u Afroamerikanci imaju najveću stopu učestalosti te 20 % veću stopu smrtnosti u odnosu na bjelačku populaciju (83). Osim toga, u Afroamerikanaca se CRC pojavljuje u mlađoj životnoj dobi te je češća proksimalna distribucija CRC-a. Još uvijek nije poznato jesu li zapažene rasne razlike biološke ili zbog nižeg odziva afroameričke populacije na programe probira. Stoga Američko društvo za gastroenterologiju i Američko društvo za gastrointestinalnu endoskopiju preporučuju početak probira na CRC kolonoskopijom u afroameričkoj populaciji u 45-oj godini života (84, 85). Stopa smrtnosti u muškaraca od CRC-a je 25 % viša od stope smrtnosti u žena, uz zamijećenu proksimalniju distribuciju adenoma i CRC-a u postmenopauzalnih žena (86). Nasljedna sklonost uključuje pozitivnu osobnu i obiteljsku anamnezu sporadičnog CRC-a ili adenomatoznog polipa. U prvih pet godina 1,5 – 3 % bolesnika u kojih je reseciran CRC razvije metakroni CRC. Relativni rizik za razvoj CRC-a iznosi 3,5 - 6,5 za bolesnike s velikim (> 1 cm) adenomatoznim polipima, multiplim viloznim ili tubuloviloznim polipima s visokim stupnjem displazije (87). Jedan oboljeli rođak prvog stupnja (roditelj, brat/sestra ili dijete) povećava rizik obolijevanja za dva puta u odnosu na opću populaciju (88). Proširenost, trajanje i aktivnost upalnih bolesti crijeva (ulcerozni kolitis i Crohnova bolest) povezani su s pojavom CRC-a. Pankolitis povećava rizik pet do 15 puta u usporedbi s očekivanom incidencijom u općoj populaciji dok lijevostrana lokalizacija bolesti povećava rizik za tri puta. Razumna procjena incidencije CRC-a je oko 0,5 % godišnje za bolesnike s trajanjem upalne bolesti crijeva između deset i dvadeset godina, a zatim 1 %. Još je veći rizik u bolesnika s ulceroznim kolitisom i primarnim sklerozirajućim kolangitisom (89). Sustavni pregled i metaanaliza 13 studija izvjestili su kako je debljanje u ranoj odrasloj i srednjoj životnoj dobi povezano s povećanim rizikom obolijevanja od CRC-a (HR 1.23, 95 % CI 1.14-1.34) (90). Očekivano, rizik je najveći za one u kategoriji teške pretilosti. Metaanaliza iz 2011. godine, koja je uključivala 14 studija (šest studija slučajeva i kontrola te osam kohortnih studija), izvijestila je o 38 % većem riziku od karcinoma kolona u dijabetičara u odnosu na zdravu populaciju (RR 1.38, 95 % CI 1.26-1.51) te o 20 % većem riziku obolijevanja od karcinoma rektuma u odnosu na zdravu populaciju (RR 1.20, 95 % CI 1.09-1.31) (91). Takve rezultate je moguće objasniti hiperinzulinemijom kao važnim čimbenikom rasta za stanice sluznice

crijeva (92, 93). Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) na temelju zaključaka Međunarodne agencije za istraživanje raka (IACR) je 2015. godine svrstala mesne prerađevine u skupinu 1 kancerogenih tvari, a crveno meso u skupinu 2A kancerogenih tvari. Metaanaliza deset kohortnih studija izvijestila je o statistički značajnom odnosu konzumirane količine i CRC-a; 17 % veći rizik (95 % CI 1.05-1.31) po 100 grama dnevno konzumiranog crvenog mesa te 18 % veći rizik (95 % CI 10.1.-28.1) po 50 grama dnevno konzumiranih mesnih prerađevina (94). Metaanaliza 106 opservacijskih studija procjenjuje da je rizik razvoja CRC-a povećan u pušača u usporedbi s nepušačima (RR 1.18, 95 % CI 1.11-1.25). Rizik umiranja od CRC-a povećan je u pušača (RR 1.25, 95 % CI 1.14-1.37). Bitno je naglasiti da je povezanost incidencije i smrtnosti pušača jača s karcinomom rektuma (95). Metaanaliza 27 kohortnih i 34 studije slučajeva koja je ispitanike podijelila u tri kategorije ovisno o količini konzumiranih alkoholnih pića pokazala je povećan rizik oboljevanja od CRC-a u skupini onih koji piju dnevno dva do tri alkoholna pića (RR 1.21, 95 % CI 1.13-1.28) i u onih koji piju dnevno četiri i više alkoholnih pića (RR 1.52, 95 % CI 1.27-1.81). Povišen rizik mogao bi se objasniti utjecajem alkohola na smanjen unos i apsorpciju folata. U skupinu manje istraženih i izraženih rizičnih čimbenika spadaju infekcija bakterijama i virusima kao što su *Streptococcus bovis*, *Helicobacter pylori*, JC John Cunningham virus, Humani papiloma virus, *Fusobacterium* (96).

## 1.8. Metode probira na kolorektalni karcinom

Za rano otkrivanje CRC-a primjenjuju se različite metode. Možemo ih podijeliti u one koje samo otkrivaju karcinome, a zahtijevaju daljnju dijagnostičku potvrdu te one koje prevenciju i otkrivaju karcinome. U prvu skupinu spadaju testovi okultnog fekalnog krvarenja (FOBT) i test karcinomske humane DNA u stolici (sDNA). U drugu skupinu spadaju fleksibilna sigmoidoskopija, kolonoskopija, irigografija dvostrukim kontrastom, pregled videokapsulom te virtualna (CT) kolonografija. Gvajak test okultnog fekalnog krvarenja (gFOBT) je jednostavan i standardiziran oblik laboratorijskog testa za otkrivanje gastrointestinalnog krvarenja. Hematinska struktura hemoglobina koja je slična peroksidazi katalizira oksidaciju gvajaka u alfa-gvajakoničnu kiselinu. Dodatkom vodikovog peroksida nastaje kvinonska struktura koja za 30 do 180 sekundi daje plavo-zeleno obojenje što se smatra pozitivnim rezultatom. Prije uzimanja uzorka stolice bitno je da ispitanik najmanje tri dana prije testiranja iz prehrane isključi termički nedovoljno obrađeno crveno meso, iznutrice, voće i dodatke prehrani koji sadrže askorbinsku kiselinu i da ne koristi acetilsalicilnu kiselinu, protuupalne lijekove, antikoagulanse, antimetabolite, preparate željeza i alkohol. Testiranje se mora dogoditi u slučaju krvarenja iz hemoroida, genitourinarnog sustava, proljeva i menstruacije. Uzimaju se po dva uzorka s različitih mjesta tri uzastopne stolice, uz maksimalno vrijeme 14 dana od uzimanja uzoraka do analize. Osjetljivost gFOBT-a raste sa svakim dodatnim uzorkom stolice (97). Metaanaliza koja je uključila 59 studija FOBT-a donijela je osjetljivost za

CRC u rasponu od 6,2 % (specifičnost 98 %) do 83,3 % (specifičnost 98,4 %) te specifičnost za CRC u rasponu od 65 % (osjetljivost 44,15) do 99 % (osjetljivost 19,3 %) što ne govori u prilog gFOBT-u kao jedinog metodi probira (98). Osamdesetih godina prošlog stoljeća imunokemijski testovi okultnog fekalnog krvarenja (iFOBT) postaju dostupni širokom tržištu, a osnivaju se na otkrivanju globina u stolici. iFOBT je praktičniji od gFOBT-a jer ne zahtijeva prehrambene restrikcije, izostavljanje lijekova i prikuplja se manji broj uzoraka stolice. Nedostaci iFOBT-a su veća cijena u odnosu na gFOBT te kraće maksimalno vrijeme od uzimanja uzoraka do analize. Osjetljivost za CRC je u rasponu od 5,4 % (specifičnost 98,5 %) do 62,6 % (specifičnost 94,3 %), a specifičnost u rasponu od 89,4 % (osjetljivost 30,3 %) do 98,5 % (osjetljivost 5,4 %) (98). sDNA temelji se na principu kontinuiranog izlučivanja adenomskih i karcinomskih stanica u fecesu, a DNA u njima je stabilna i može se razlikovati od bakterijske DNA (99). Trenutno je na tržištu SAD-a dostupna druga generacija kombiniranog testa koji se osniva na otkrivanju 21 točkaste mutacije u Kras genu, APC-u, p53, markeru MSI BAT26 te testu DNA cjelovitosti. Prednosti testa su što se može izvoditi u kućnim uvjetima, potreban je samo 30-gramski uzorak jedne stolice te ne postoji maksimalno vrijeme od uzimanja uzorka do analize. Nedostaci su cijena testa te nepouzdan podatak o vremenskom intervalu između dva testiranja. Osjetljivost sDNA na karcinom je u rasponu od 52 % do 91 % sa specifičnošću u rasponu od 93 % do 97 % (100, 101). Ova metoda ima potencijal daljnjeg razvoja. Fleksibilna sigmoidoskopija je pregled koji se izvodi tankom fleksibilnom cijevi kojom se pregledava 60 centimetara duljine aboralnog debelog crijeva s mogućnošću uzimanja uzorka tkiva. Ne zahtijeva posebnu pripremu crijeva, dovoljna je klizma i u pravilu se izvodi bez sedacije (102). Dva najvažnija ograničenja fleksibilne sigmoidoskopije su što pretraga ovisi o vještini i iskustvu endoskopičara te što se u slučaju pozitivnog nalaza mora vizualizirati ostatak crijeva kolonoskopom. Preporučuje se petogodišnji interval između dvije fleksibilne sigmoidoskopije, a u kombinaciji s godišnjim FOBT-om čini se boljom metodom probira od samog FOBT-a (103). Fleksibilna sigmoidoskopija je zaslužna za 21 % smanjenje pojavnosti CRC-a te 26 % smanjenje smrtnosti od CRC-a (104). Probirna kolonoskopija je pretraga koja omogućuje uvid u sluznicu cijelog debelog crijeva te može biti dijagnostička i terapijska (u slučaju adenoma). Priprema crijeva je ključan element za točnost i isplativost kolonoskopije kao metode probira, a provodi se najmanje tri dana prije pretrage laganijom prehranom te korištenjem laksativa. Glavni nedostaci metode su invazivnost i tehnička nemogućnost dosizanja cekuma u 5 do 10 % pacijenata. Istraživanja su izvijestila i o previdu velikih adenoma u rasponu od 6 % do 12 % te karcinoma oko 5 % (105 - 107). Kolonoskopija je metoda probira s najdužim intervalom probira, preporučuje se ponoviti svakih deset godina nakon 50. godine života u pojedinaca prosječnog rizika. Irigografija s dvostrukim kontrastom je radiološka dijagnostička pretraga koja je neinvazivna i bezbolna, ali je pacijent izložen većoj dozi zračenja nego pri standardnom rendgenskom snimanju i kontrastnom sredstvu. Iz kliničke upotrebe istisnula ju je veća dostupnost kolonoskopije. Manje je osjetljiva od kolonoskopije za otkrivanje malih polipa i karcinoma, a u slučaju po-

zitivnog nalaza mora se učiniti kolonoskopija (108). CT kolonografija (CTC), poznata i kao virtualna kolonoskopija, relativno je nova slikovna pretraga koja se koristi trodimenzionalnom računalnom rekonstrukcijom tomografskih slojeva debelog crijeva insufliranog zrakom ili ugljikovim dioksidom (102). Pretraga zahtijeva pripremu crijeva, nije nužna sedacija te traje 15 - 20 minuta. U slučaju nepotpune pretrage, kolonoskopiju je uputno učiniti isti dan. Nedostaci pretrage su izloženost zračenju, ovisnost o iskustvu dijagnostičara i karakteristikama CT aparata, nemogućnost uzimanja uzoraka tkiva te visoka cijena. Metaanaliza koja je uključivala rezultate istraživanja sa simptomatskim bolesnicima te onim uključenima u probir donijela je osjetljivost od 96,1 % za CRC (109). Enteroskopija videokapsulom je pretraga koja se izvodi pomoću aparata cilindričnog oblika dimenzija 11.6 mm × 31.5 mm koji u oba kraja sadrži po jednu kameru s kutom snimanja od 172°, izvore svjetla, prijenosnik i bateriju koja traje između 8 i 11 sati. Kapsula snima 35 slika u sekundi tijekom kretanja te 4 slike u mirovanju koje se radiofrekvencijom prenose na vanjsku jedinicu koja se nalazi oko pacijentova struka. Snimke se s vanjske jedinice prenose u računalo na kojem će liječnik pregledavati i analizirati videofilm (110, 111). Američka agencija za hranu i lijekove (FDA) u veljači 2014. godine dala je odobrenje za enteroskopiju videokapsulom nakon nepotpune kolonoskopije. Prednosti videokapsule su što je neinvazivna i bezbolna pretraga, ne traži sedaciju i insuflaciju crijeva zrakom ili ugljikovim dioksidom. Nedostaci pretrage su potrebna priprema bolesnika, moguća retencija kapsule, nemogućnost uzimanja uzoraka tkiva te visoka cijena. U tijeku su dva europska istraživanja (CCANDY i ORCA) koja procjenjuju ulogu enteroskopije videokapsulom kao metodu probira CRC-a. Međunarodna agencija za istraživanje raka (IACR) definira programe ranog otkrivanja CRC-a kao programe koji imaju eksplicitnu i aktivnu politiku s jasno definiranim dijagnostičkim testovima i intervalima probira, ciljanu populaciju, povjerenstvo za organizaciju, stručno praćenje i kontrolu kvalitete te postupak za identificiranje učestalosti i smrtnosti u ciljanoj populaciji (112). U rujnu 2007. godine Ministarstvo zdravstva i socijalne skrbi Vlade Republike Hrvatske pokrenulo je Nacionalni program ranog otkrivanja karcinoma debelog crijeva testiranjem na okultno fekalno krvarenje osoba u dobi od 50. do 74. godine. Ciljevi programa su bili smanjenje smrtnosti od raka debelog crijeva za najmanje 15 % pet godina nakon provedbe programa, obuhvaćanje najmanje 60 % pozvanih na testiranje, otkrivanje raka u ranom stadiju bolesti i obuhvaćanje 75 % rizične skupine stanovništva do 2015. godine (113). Koordinator iz Zavoda za javno zdravstvo županija i grada Zagreba bili su zaduženi za slanje poziva na adrese temeljem ažuriranog popisa iz Hrvatskog zavoda za zdravstveno osiguranje i Ministarstva unutarnjih poslova. Do rujna 2011. godine pozvano je 1 059 694 ispitanika, 210 239 (19,9 %) ih je vratilo ispunjen upitnik, a 181 102 je vratilo ispunjen upitnik s adekvatno uzetim uzorcima stolice. 12 477 (6,9 %) ispitanika je bilo pozitivno na gFOBt što je gornja očekivana granica Europskih smjernica za kontrolu kvalitete programa probira na CRC i dijagnozu. 8 541 (66 %) ispitanika pozitivnih na gFOBt je pristalo na kolonoskopiju. Nacionalnim programom ranog otkrivanja otkriven je CRC u 472 ispitanika (5,5 % kolonoskopiranih, 3,8 %

gFOBT pozitivnih te 0,26 % od svih ispitivanih) (114). Trenutno je u tijeku drugi ciklus Nacionalnog programa ranog otkrivanja karcinoma debelog crijeva. U odnosu na prvi ciklus reorganiziran je u tom smislu što se ne šalju odmah testovi nego prvo pozivno pismo / informirani pristanak s edukativnom brošurou, a tek kad se ispitanik pozitivno izjasni o testiranju, šalju se testovi poštom. Usklađuje se i softversko praćenje programa što je velik i zahtjevan posao, ali bi u budućnosti moglo osigurati kvalitetnije podatke.

## 1.9. Patologija

Prema makroskopskom izgledu karcinome debelog crijeva dijelimo na ulcerozne, polipoidne, difuzne, infiltrativne i prstenaste. Često je preklapanje između pojedinih oblika. WHO je 2000. godine zbog dosljednosti i ujednačenosti patohistoloških opisa predložila histološku klasifikaciju CRC-a kao adenokarcinoma, mucinoznih adenokarcinoma, karcinoma stanica prstena pečejnjaka, skvamoznih karcinoma, adenoskvamoznih karcinoma, karcinoma malih stanica, medularnih karcinoma, nediferenciranih karcinoma, karcinoida i ostalih (115). Najčešći histološki tip (95 % svih karcinoma) je adenokarcinom, umjereno diferenciran i bez posebnih histoloških značajki. Za proglašenje adenokarcinoma mucinoznim, potrebno je da izvanstanični mucin čini 50 % adenokarcinoma, a mucinozna sastavnica znači da izvanstanični mucin čini 25 % karcinoma. Nakon neoadjuvantne kemoradioterapije u adenokarcinomima se mogu primijetiti mucinozne promjene. Mucinozni karcinomi se češće pojavljuju u mlađih bolesnika, u desnoj polovici kolona i rektumu, u uznapredovalijoj fazi te imaju lošiju prognozu. U odnosu na druge slabo diferencirane karcinome medularni karcinom ima bolju prognozu što je povezano s gubitkom MLH1 (60 %) i MSH2 (30 %) gena. Britanski patolog Cuthbert Dukes 1932. godine objavio je prvu patohistološku klasifikaciju rektalnog karcinoma koja je sadržavala tri stadija: A, B i C. Stadij A označavao je tumore ograničene na sluznicu crijeva, stadij B tumore koji su infiltrirali mišićni sloj stijenke, a stadij C karcinome sa zahvaćenim svim slojevima stijenke i tumorskim stanicama u limfnim čvorovima (116). Kasnije je klasifikacija prilagođena karcinomima kolona, dodan je stadij D za metastatsku bolest. Astler i Coller su 1954. godine modificirali Dukesovu klasifikaciju dodatnom podjelom B i C stadija obzirom na prodor kroz mišićni sloj stijenke (tablica 3) (117). Sadašnje, sedmo izdanje TNM klasifikacije potječe iz 2010. godine, a klasifikaciju su predložile Međunarodna unija za borbu protiv karcinoma (UICC) i Američko povjerenstvo za tumore (AJCC), pri čemu T označava lokalizaciju i opsežnost primarnog tumora, N regionalne limfne čvorove, a M udaljene metastaze (tablica 4) (118). Prikupljanje podataka o preživljenju utjecalo je na značajne promjene u odnosu na ranija izdanja TNM klasifikacije. T4 stadij CRC-a je podijeljen u dva podstadija: T4a tumor prodire u serozu i T4b tumor koji izravno invadira ostale organe ili strukture. pN1 koji označava patološki nalaz karcinoma stanica u jednom do tri regionalna limfna čvora je podijeljen u tri podstadija N1a (metastaza u jednom regionalnom limfnom čvoru), N1b (metastaze u dva do tri regionalna

limfna čvora) i N1c (tumorski depozit u supserozi, mezenteriju ili neperitonealiziranom perikoličnom ili perirektalnom tkivu bez metastaza u regionalnim limfnim čvorovima). pN2 koji označava patološki nalaz tumorskih stanica u četirima ili više regionalnih limfnih čvorova je podijeljen u pN2a koji označava tumorske stanice u četiri do šest limfnih čvorova, a pN2b označava tumorske stanice u sedam i više limfnih čvorova. Mx više nije uključen u TNM klasifikaciju. M0 kategorija može biti isključivo klinička kategorija ili se može postaviti nakon autopsije kojom je potvrđeno odsustvo metastaza. M1 kategorija je podijeljena u M1a što označava metastaze ograničene na samo jedan organ te M1b što označava metastaze više organa ili udaljenih dijelova peritoneuma. Stadij II je podijeljen u podstadij IIA (T3N0), podstadij IIB (T4aN0) i podstadij IIC (T4bN0). Ranije klasificiran kao podstadij IIIB, u 7. izdanju TNM klasifikacije T4bN1 je reklasificiran u podstadij IIIC, a iz istog razloga (različite stope preživljenja) je reklasificiran T1N2 u podstadij IIIA, T1N2b, T2N2a-b i T3N2a u podstadij IIIB. Uključeno je sedam novih prognostičkih čimbenika: ekстранodalni tumorski depozit, cirkumferentni resekcijski rub, perineuralna invazija i stupanj odgovora na neoadjuvantnu terapiju, a u suradnji s certificiranim molekularnim laboratorijem trebali bi biti izdani i rezultati testiranja na MSI, testiranje na mutaciju KRAS, NRAS i BRAF gena te 18qLOH test zbog kasnijeg personaliziranog pristupa u kemoterapijskom i biološkom liječenju. Ekстранodalni tumorski depozit je žarište tumorskih stanica u perikoličnom ili perirektalnom masnom tkivu koji predstavlja širenje karcinoma uzduž živaca, većih žila ili direktnim širenjem iz intravaskularnih infiltrata. Kao poseban entitet prepoznat je već 1935. godine, a povezan je s kraćim preživljenjem bez povrata bolesti i ukupnim preživljenjem, pogotovo u bolesnika sa stadijem III CRC-a (119). Broj ekстранodalnih tumorskih depozita bi trebao biti naznačen u patohistološkom opisu. Cirkumferentni resekcijski rub nalazi se na neperitonealiziranoj površini, a u milimetrima se izražava udaljenost od najbližeg žarišta karcinoma. Udaljenost manja od jednog milimetra se smatra pozitivnom. Perineuralna invazija predstavlja nalaz tumorskih stanica oko i duž živaca u blizini tumora. U bolesnika s rektalnim karcinomom stadija II perineuralna invazija je bila povezana s kraćim petogodišnjim preživljenjem bez povrata bolesti (29 % prema 82 %,  $p = 0.0005$ ). Bolesnici s rektalnim karcinomom stadija III imaju značajno lošiju prognozu (120 - 122). Preporučena je upotreba četverostupanjskog sustava za procjenu regresije karcinoma rektuma nakon neoadjuvantne terapije prema kojem stupanj 0 označava potpun patološki odgovor, bez vijabilnih tumorskih stanica, stupanj 1 označava umjereni odgovor, vidljive pojedinačne ili male nakupine tumorskih stanica, stupanj 2 označava minimalan odgovor, ostatni tumor s predominantnom fibrozom te stupanj 3 označava slab odgovor (123). Tradicionalna podjela uključuje dobro diferencirane (gradus I), srednje diferencirane (gradus II), slabo diferencirane (gradus III) i nediferencirane tumore (gradus IV). Niži stupanj diferencijacije je povezan s lošijim ishodom (124). Zbog pristranosti uzrokovane subjektivnom procjenom patologa sve se više koristi sustav stupnjevanja koji tumore dijeli u niski ( $\geq 50$  % žlijezda) i visoki ( $< 50$  % žlijezda) stupanj zloćudnosti. Niski stupanj zloćudnosti odgovara gradusu I i II, a visoki



stupanj zloćudnosti odgovara gradusu III i IV. Dodatni deskriptori uključuju limfovaskularnu invaziju i R kategoriju. Limfovaskularna invazija je nepovoljan prognostički čimbenik, a označava prisustvo karcinomskih stanica u peritumorskom endotelnom prostoru (125). U patohistološkom opisu se označava kao prisutna, odsutna ili neodređena. R kategoriju bi trebali odrediti kirurzi tijekom resekcije kao: Rx prisustvo rezidualne bolesti se ne može utvrditi, R0 potpuna resekcija s mikroskopski negativnim rubovima, R1 kao mikroskopski pozitivna resekcija te R2 kao makroskopski ostatak tumora.

**Tablica 1.** Usporedba Dukesove, modificirane Astler-Collerove i sedmog izdanja TNM klasifikacije

Stadij	T	N	M	Dukes	MAC
<b>0</b>	Tis	N0	M0	--	--
<b>I</b>	T1	N0	M0	A	A
	T2	N0	M0	A	B1
<b>IIA</b>	T3	N0	M0	B	B2
<b>IIB</b>	T4a	N0	M0	B	B2
<b>IIC</b>	T4b	N0	M0	B	B3
<b>IIIA</b>	T1-T2	N1/N1c	M0	C	C1
	T1	N2a	M0	C	C1
<b>IIIB</b>	T3-T4a	N1/N1c	M0	C	C2
	T2-T3	N2a	M0	C	C1/C2
	T1-T2	N2b	M0	C	C1
<b>IIIC</b>	T4a	N2a	M0	C	C2
	T3-T4a	N2b	M0	C	C2
	T4b	N1-N2	M0	C	C3
<b>IVA</b>	bilo koji T	bilo koji N	M1a	--	--
<b>IVB</b>	bilo koji T	bilo koji N	M1b	--	--

**Tablica 2.** Sadašnje, sedmo izdanje TNM klasifikacije kolorektalnog karcinoma iz 2010. godine

T stadij	
<b>Tx</b>	nedostupna informacija o dubini invazije primarnog tumora
<b>T0</b>	bez dokaza primarnog tumora
<b>Tis</b>	karcinom in situ: intraepitelijalno ili invazija lamine proprije
<b>T1</b>	tumor zahvaća submukozu
<b>T2</b>	tumor zahvaća muskularis propriju
<b>T3</b>	tumor prolazi kroz muskularis propriju u subserozu/perikolično/perirektalno tkivo
<b>T4a</b>	tumor prodire u serozu
<b>T4b</b>	tumor prodire u susjedne organe i tkiva
N stadij	
<b>Nx</b>	nedostupna informacija o zahvaćenosti regionalnih limfnih čvorova
<b>N0</b>	bez zahvaćanja regionalnih limfnih čvorova
<b>N1</b>	tumorske stanice u jednom do tri regionalna limfna čvora
<b>N1a</b>	tumorske stanice u jednom regionalnom limfnom čvoru
<b>N1b</b>	tumorske stanice u dva do tri regionalna limfna čvora
<b>N1c</b>	tumorski depoziti se nalaze u subserozi ili perikoličnom/perirektalnom masnom tkivu
<b>N2</b>	tumorske stanice u četiri ili više regionalnih limfnih čvorova
<b>N2a</b>	tumorske stanice u četiri do šest regionalnih limfnih čvorova
<b>N2b</b>	tumorske stanice u sedam ili više regionalnih limfnih čvorova
M stadij	
<b>M0</b>	bez udaljenih presadnica
<b>M1</b>	udaljene presadnice
<b>M1a</b>	presadnice u jednom udaljenom organu ili udaljenim limfnim čvorovima
<b>M1b</b>	presadnice u više udaljenih organa, udaljenim limfnim čvorovima ili peritonealne presadnice

## 1.10. Klinička slika

Klinička slika najviše ovisi o lokalizaciji karcinoma i stadiju bolesti. Mnogi bolesnici s ranim stadijem CRC-a nemaju nikakve simptome. Simptomi su nekarakteristični te se mogu razvijati tijekom vremena (126). Karcinomi desnog kolona najčešće su praćeni nekarakterističnom abdominalnom boli, promjenom u boji, konzistenciji i frekvenciji stolice, bljedilom, umorom, palpitacijama posljedično mikrocitnoj sideropeničnoj anemiji te konačno palpabilnom rezistencijom u desnom dijelu abdomena. Karcinomi lijevog kolona češće izazivaju pojavu svijetle krvi u stolici, djelomičnu ili potpunu opstrukciju crijeva zbog užeg lumena crijeva i bolje formiranosti stolice te perforaciju. Najčešće ih zbog anatomski dubokog položaja nije moguće palpirati osim karcinoma sigmoidnog crijeva. Najčešći simptomi karcinoma rektuma su promjene u boji, konzistenciji i frekvenciji stolice, bljedilo, umor, palpitacije i neželjeni gubitak tjelesne mase. Zdjelična bol i tenezmi znak su uznapredovalog

stadija bolesti s invazijom mišića i živaca dna zdjelice. Karcinom rektuma se može palpirati tijekom digitorektalnog pregleda. Sumnju na metastatsku bolest mora pobuditi tetrada simptoma tumorske kaheksije (neželjeni gubitak tjelesne mase, anoreksija, gubitak masnog tkiva i skeletnih mišića, slabost), hepatomegalije, pleuralne ili peritonealne efuzije i periferne limfadenopatije (Virchowljev čvor u lijevoj supraklavikularnoj regiji, čvor sestre Mary Joseph kao znak periumbilikalnog širenja, znak Blumerove police uzrokovan perirektalnim širenjem) (127). Opstrukcijom se prezentira 8 - 10 % svih CRC-a, dvije trećine nastaju u lijevom kolonu, a jedna trećina u desnom kolonu (128). Perforacija je povezana sa stadijem bolesti, pojavljuje se u 53 % bolesnika s IV stadijem, 37 % bolesnika s IIIB stadijem te 10 % bolesnika s IIIA stadijem (129).

## 1.11. Dijagnostički postupak

Totalna kolonoskopija s patohistološkom analizom lezije je zlatni standard u dijagnozi CRC-a. Ukoliko je preoperativna kolonoskopija neadekvatno učinjena, proksimalni kolon se može procijeniti irigografski. Ako zbog kirurške hitnoće preoperativno nije učinjena kolonoskopija, svakako se mora učiniti u roku od tri do šest mjeseci nakon operacije. Kod karcinoma rektuma, uz kolonoskopiju nužan je digitorektalni pregled i rigidna proktoskopija kako bi se procijenile točne udaljenosti od analnog ruba i gornje razine dna zdjelice od donjeg ruba tumora. Nužno je učiniti kompletnu krvnu sliku, biokemijske nalaze, odrediti serumsku vrijednost karcinoembrionalnog antigena (CEA) te u bolesnika s karcinomom kolona preoperativnu kompjuteriziranu tomografiju (CT) toraksa, abdomena i zdjelice. Ukoliko je kontraindiciran CT, može se razmotriti magnetska rezonanca (MR) abdomena i zdjelice uz nativni CT pluća (130). Odluka o potrebi neoadjuvantne kemoradioterapije kod karcinoma rektuma se temelji na nalazu MR zdjelice i endorektalnog ultrazvuka (ERUS). Rezultati metaanalize 90 studija, koja je uključivala točnost ERUS-a, MR-a i CT-a za preoperativno određivanje stadija rektalnog karcinoma, pokazali su da ERUS i MR imaju otprilike jednako visoke osjetljivosti za procjenu dubine prodora tumora u muscularis propriju (94 %). Ipak, ERUS se pokazao specifičnijim od MR-a u određivanju lokalne invazije tumora (86 % prema 69 %). Točna procjena statusa limfnih čvorova je jedan od najvećih izazova preoperativnog određivanja stadija karcinoma rektuma. U metaanalizi koju su proveli Bipat i sur. uspoređivane su osjetljivost i specifičnost za točnu procjenu zahvaćenosti limfnih čvorova tumorom: CT (55 % i 74 %), ERUS (67 % i 78 %) te MR (66 % i 76 %). Međutim, samo se CT-om i MR-om mogu procijeniti ilijačni, mezenterični i retroperitonealni limfni čvorovi (131). Rezultati druge metaanalize 84 studije pokazali su da niti jedna od metoda prikazivanja nije superior na ostalim dvjema kada je u pitanju točno određivanje N stadija (132). Nedostatak ERUS-a je visok stupanj ovisnosti o dijagnostičaru. Prednost MR-a je njegova sposobnost pružanja točne slike struktura mekog tkiva u mezorektumu, uključujući mezorektalnu fasciju te tako pruža informaciju o procjeni CRM-a prije radikalnog kirurškog zahvata. Rezultati MER-

CURY studije pokazali su da MR visoke rezolucije može točno procijeniti CRM razlikujući bolesnike s bolesti niskog i visokog rizika (133). Bolesnici kojima je MR pokazao negativan CRM imali su petogodišnje preživljenje 62.2 %, u usporedbi s 42.2 % u bolesnika kojima je MR pokazao pozitivan CRM (HR, 1.97; 95 % CI, 1.27 - 3.04; P < .01). Preoperativni MR predvidio je preživljenje bez povrata bolesti (HR, 1.65; 95 % CI, 1.01-2.69; P < 0.05) i lokalni povrat bolesti (HR 3.50; 95 % CI, 1.53 - 8,00; P < 0.05). Skupina stručnjaka razvila je usuglašene smjernice za standardizirano prikazivanje karcinoma rektuma MR-om (134). CEA ima ograničenu dijagnostičku vrijednost jer jedna trećina bolesnika s CRC-om ima normalne serumske vrijednosti. Izrazito povišenje CEA indicira diseminiranu bolest (135). Bolje je definirana uloga CEA u postoperativnom praćenju. Rutinski preoperativno nije indicirana pozitronska emisijska tomografija (PET), ali se može razmotriti u daljnjoj obradi suspektih, ali inkonkluzivnih metastaza vidljivih CT-om ili MR-om. PET nije indiciran za subcentimetarske lezije koje su ispod razine detekcije.

## **1.12. Preoperacijska procjena i priprema bolesnika za elektivnu operaciju**

Preoperacijska procjena perioperacijskog rizika ima važnu ulogu u planiranju svakog operativnog zahvata. U slučaju postojanja kroničnih bolesti koje nisu optimalno kontrolirane ili novootkrivenih komorbiditetnih stanja prije dobivanja suglasnosti anesteziologa za kirurški zahvat nužan je pregled specijalista, dodatna neinvazivna obrada te korekcija svih poremećaja. Nakon što je bolesnik upoznat sa svim rizicima, mogućim komplikacijama operacije, drugim mogućnostima liječenja, posljedicama neliječenja te nakon što je dobio odgovore na sva postavljena pitanja vlastoručno potpisuje informirani pristanak kojim može prihvatiti ili odbiti operativni zahvat. U slučaju da je bolesniku oduzeta poslovna sposobnost, informirani pristanak potpisuje skrbnik. Od samih početaka kirurgije prevladavala je ideja da se preoperativnim mehaničkim čišćenjem crijeva klizmom, osmotskim i kontaktnim laksativima smanjuje broj bakterija u crijevu, a samim time i rizik od rane infekcije rane, dehiscijencije anastomoze, kasnih septičnih komplikacija i trbušnih apscesa. Kanadsko udruženje kolorektalnih kirurga 2010. godine je na temelju analize rezultata 14 randomiziranih studija te 8 metaanaliza izdalo smjernice o izostavljanju mehaničkog čišćenja crijeva za elektivne lijeve i desne hemikolektomije. Potvrdili su i da izostavljanje mehaničkog čišćenja crijeva nije bio povezano s većim rizikom dehiscijencije anastomoze ili infekcije rane (136). Rezultati Cochraneove metaanalize koja je analizirala rezultate 18 studija s ukupno 5 805 bolesnika pokazali su kako nema statistički značajnih dokaza o koristi mehaničkog preoperativnog čišćenja. Izostavljanjem preoperativnog mehaničkog čišćenja crijeva bolesnici nisu izloženi višoj stopi komplikacija (137). Rezultati Cochraneovog pregleda rezultata 260 studija na 43 451 bolesnika korištene antimikrobne profilakse u elektivnoj kolorektalnoj kirurgiji pokazuju 75 % smanjenje rizika od infekcije rane tijekom primjene oralnih

antibiotika, intravenoznih antibiotika ili njihove kombinacije. Upravo ti rezultati nametnuli su pitanje učinkovitosti oralnog antibiotika ukoliko nije bilo preoperativnog mehaničkog čišćenja, optimalnog vremena i trajanja primjene te mogućih neželjenih posljedica (pseudomembranozni kolitis uzrokovan infekcijom *Clostridium difficile*) neopravdano produžene antibiotske terapije (138). Bolesnici s CRC-om imaju povećan rizik razvoja venske tromboembolije. Idealna tromboprofilaksa podrazumijeva maksimalan antitrombotički te minimalan hemoragični učinak. Smjernice Američkog društva za kliničku onkologiju iz 2013. godine, donesene na temelju rezultata 16 sustavnih preglednih članaka i 24 randomizirane kontrolirane studije, predlažu preoperativno započinjanje tromboprofilakse nefrakcioniranim ili niskomolekularnim heparinom te nastavljanje najmanje sedam do deset dana postoperativno. Produljena postoperativna tromboprofilaksa u trajanju od četiri tjedna se savjetuje samo u bolesnika s povišenim rizikom za tromboembolijski incident (ostala maligna bolest, pretili, preboljela venska tromboembolija). Produljena postoperativna tromboprofilaksa se može provoditi niskomolekularnim heparinom i varfarinom uz održavanje ciljnih vrijednosti koagulacijskih parametara. Mehaničke tromboprofilaktičke mjere (nošenje elastičnih čarapa, intermitentna pneumatska kompresija) te brza mobilizacija ne mogu se provoditi samostalno, ali su odlična dopuna farmakoterapijskih mjera. Upotreba novih oralnih antikoagulanasa se ne preporučuje (139).

## **1.13. Terapijski postupak**

Multimodalitetni i multidisciplinarni pristup predstavlja najbolji način liječenja bolesnika s CRC-om što je pokazano većim petogodišnjim preživljenjem, smanjenjem mortaliteta i većom stopom očuvanja analnog sfinktera. Članovi konzilija su liječnik obiteljske medicine, gastroenterolog, najmanje dva liječnika specijalista abdominalne kirurgije i kirurške onkologije (s minimalno 20 kurativnih operacija kolorektalnog karcinoma), patolog, internistički onkolog, onkolog s akreditacijom iz radioterapije, intervencijski radiolog, genetičar, medicinske sestre specijalizirane u stomalnoj terapiji, nutricionist, psihijatar, psihoterapeut i socijalni radnik. Članovi tima na svojim redovitim tjednim sastancima diskutiraju o bolesnicima s CRC-om, revidiraju se histopatološki podaci, što pomaže u praćenju kvalitete kirurškog liječenja, te na temelju anamneze ranijih morbiditeta, laboratorijskih i radioloških nalaza donosi odluka o daljnjem liječenju, praćenju i/ili ponovnom prikazu na konziliju.

### **1.13.1. Kirurško liječenje karcinoma kolona**

Kirurško liječenje je jedini kurativni modalitet stoga ga je potrebno pažljivo planirati. Principi onkološke kirurgije zahtijevaju uklanjanje primarnog karcinoma s njegovom vaskularnom opskrbom i limfnom drenažom, a zahvaćenost okolnih organa ili omentuma nalaže *en bloc* resekciju s karcinomom (140). Resekcijski rub mora biti minimalno pet centimetara proksimalno i distalno od tumora (141). Ukupnu dužinu reseciranog dijela određuje vaskularna

opskrba. Anastomoza mora biti dobro vaskularizirana te bez ikakve napetosti. Termin *no touch* tehnike koji je 1967. godine uveo Turnbull podrazumijeva visoki i rani podvez arterije na polazištu i vene na utoku prije mobilizacije crijeva u svrhu sprječavanja hematogenog rasapa. Tehnika minimalne manipulacije podrazumijeva podvez lumena crijeva oralno i aboralno od karcinoma kako bi se smanjio rizik intraluminalnog rasapa karcinomskih stanica te implantacije u anastomozu (142). Zbog razlikovanja stadija II i III te razlika u njihovom liječenju potrebno je resecirati i analizirati najmanje 12 regionalnih limfnih čvorova (118, 143). Regionalni limfni čvorovi se dijele u tri etaže. Prvu etažu čine epikolični limfni čvorovi koji se nalaze uz unutarnji rub crijeva te parakolični limfni čvorovi koje prate marginalne arterije. Oni su najčešća mjesta regionalnih metastaza. Čvorovi druge etaže su intermedijarni limfni čvorovi koji se nalaze uz veće arterije (ileokolična arterija, srednja količna arterija, lijeva količna arterija). Čvorovi treće etaže su centralni ili apikalni limfni čvorovi koji počinju na izlazu gornje i donje mezenterične arterije, a u dodiru su s paraaortalnim lancem. Laparoskopna kolektomija je opcija kirurškog liječenja karcinoma kolona uz zadovoljenje sljedećih preduvjeta: operaciju mora izvesti kirurg s iskustvom u laparoskopiji, tumor ne smije invadirati okolne strukture te ne smiju biti prisutni znakovi opstrukcije ili perforacije crijeva. Prednosti laparoskopne kolektomije su kraće vrijeme hospitalizacije, brža uspostava peristaltike, manji broj komplikacija uz samu ranu i manji troškovi liječenja. Ponekad je nužna konverzija u otvorenu operaciju, pogotovo kad se bilateralno mobilizira poprečno crijevo. Rezultati recentnih metaanaliza potvrdili su slične dugoročne ishode (povrat bolesti i preživljenje bolesnika s karcinomom kolona) laparoskopne kolektomije i otvorenih operacija (144 - 146). Tipične resekcije kolona su desna hemikolektomija, proširena desna hemikolektomija, resekcija poprečnog kolona, lijeva hemikolektomija, proširena lijeva hemikolektomija, resekcija sigmoidnog crijeva, subtotalna i totalna kolektomija. Desna hemikolektomija uključuje resekciju deset centimetara terminalnog ileuma, cekuma, uzlaznog crijeva, jetrene fleksure i poprečnog crijeva proksimalno od desnog ogranka srednje količne arterije. Kontinuitet crijeva se uspostavlja ileotransverzoanastomozom. To je standardna operacija kod karcinoma cekuma i uzlaznog crijeva. Glavne komplikacije su ozljeda desnog uretera i dvanaesnika. Indikacija za proširenu desnu hemikolektomiju su karcinomi jetrene fleksure i proksimalnog poprečnog crijeva. U proširenoj desnoj hemikolektomiji uz standardnu desnu hemikolektomiju čini se i resekcija poprečnog crijeva te podvezivanje srednje količne arterije na izlasku iz gornje mezenterične arterije. Anastomoza se formira između ileuma i distalnog dijela poprečnog crijeva, a opskrbljuje je marginalna Drummondova arterija. Uz opisane komplikacije za desnu hemikolektomiju moguće su ozljede slezene i gušterače. Resekcija poprečnog crijeva se najrjeđe izvodi, a pogodna je za karcinome srednje i distalne trećine poprečnog crijeva. Nakon podvezivanja srednje količne arterije i vene te resekcije poprečnog crijeva uspostavlja se terminoterminalna kolokolonična anastomoza. Lijeve hemikolektomije je indicirana za karcinome distalnog dijela poprečnog crijeva, lijevalne fleksure i silaznog crijeva. Uklanja se lijeva trećina poprečnog crijeva te cijelo silazno

crijevo, a podvezuju se lijevi ogranak srednje količne arterije, lijeva količna arterija te prvi ogranak sigmoidnih arterija. Uspostavlja se terminoterminalna transverzosigmoidoanastomoza. Komplikacije uključuju lezije lijevog uretera i slezene. Proširena lijeva hemikolektomija uključuje i odstranjenje sigmoidnog crijeva te uspostavu kolorektalne anastomoze. Indikacija za resekciju sigmoidnog crijeva je karcinom srednjeg dijela. Radi se podvezivanje i razdvajanje sigmoidnih ogranka donje mezenterične arterije. U toj operaciji treba sačuvati opskrbu gornjeg dijela rektuma tako da se ne podveže gornja rektalna arterija. Kontinuitet crijeva se uspostavlja kolorektalnom anastomozom. Ponekad je potrebno mobilizirati lijenalnu fleksuru da anastomoza bude bez napetosti. Subtotalna i totalna kolektomija je indicirana kod sinkronih karcinoma lijevog i desnog kolona te kod nasljednih oblika CRC-a. Kod subtotalne kolektomije podvezuje se ileokolična arterija, desna, srednja i lijeva količna arterija uz očuvanje gornje rektalne i distalne sigmoidalne arterije. Anastomoza se formira između ileuma i distalnog sigmoidnog crijeva. Kod totalne kolektomije podvezuju se distalne sigmoidalne žile te se formira ileorektalna anastomoza.

### **1.13.2. Kirurško liječenje karcinoma rektuma**

Principi onkološke kirurgije karcinoma rektuma slični su onima kod karcinoma kolona. Zbog anatomskih ograničenja male zdjelice teže ih je ostvariti. Kirurški pristupi rektumu su transabdominalni, transanalni i transsakralni. U većine karcinoma rektuma dovoljan je distalni resekcijski rub od dva centimetra (147, 148). Ukoliko se ne može resecirati rektum dva centimetra od makroskopske granice karcinoma, na temelju rezultata intraoperativne biopsije iz smrznutih rezova može se odrediti radikalnost kirurškog zahvata. U svih bolesnika kod kojih je moguće treba se težiti uspostavi kontinuiteta crijeva, očuvanju analnog sfinktera i kontinentnosti. Za adekvatnu limfadenektomiju preporučuje se totalna mezorektalna ekscizija (TME) koja ujedno osigurava i mezorektalni rub udaljen najmanje pet centimetara od donjeg ruba tumora. Kirurška tehnika koju je 1982. godine predstavio Heald ključ je sprječavanja lokalnog recidiva, a danas predstavlja standard liječenja karcinoma srednje i donje trećine rektuma (149). Radikalnija limfadenektomija koja uključuje ilijačne, paraaortalne i opturatorne limfne čvorove, a bez dokaza metastaziranja u nalazima preoperativne obrade nije indicirana niti je pokazala veću stopu preživljenja (150). Abdominoperinealna ekstirpacija rektuma po Quénu-Milesu operacija je kojom se odstranjuje aboralni dio sigmoidnog crijeva s odgovarajućim mezenterijem, rektum s perirektalnim masnim tkivom te anus. Na trbušnu stijenu se izvodi trajni anus praeter koji može biti kreiran od silaznog ili sigmoidnog crijeva (151). Operacija se prvo izvodi abdominalnim pa perinealnim pristupom. Danas su indikacije za tu operaciju direktna infiltracija analnog sfinktera karcinomom te slabo diferencirani karcinom donje trećine rektuma kod kojeg se ne može postići zadovoljavajuća radikalnost. U sfinkter-poštedne operacije ubrajaju se prednja resekcija rektuma po Dixonu te prokterektomija s ručno ili staplerski šivanom koloanalnom anastomozom. Prednja resek-

cija rektuma po Dixonu obzirom na visinu resekcijske crte na rektumu može biti visoka ili niska. Visokom prednjom resekcijom rektuma resekira se sigmoidno crijevo i gornja trećina rektuma. Anastomoza se kreira na intraperitonealnom dijelu rektuma te nije potrebna mobilizacija rektuma iz sakralnog konkavитета. Donja mezenterična arterija se podvezuje na svom polazištu, a odvojeno od nje se podvezuje i donja mezenterična vena. Niska prednja resekcija je operacija koja se radi za karcinome srednje i donje trećine rektuma, a anastomoza se kreira u subperitonealnom dijelu rektuma. Niska prednja resekcija zahtijeva mobilizaciju lijenalne fleksure te razdvajanje i podvez donje mezenterične vene ispod gušterače. Češća je dehiscijencija anastomoza kreiranih na distalnom rektumu i analnom kanalu, stoga je nekad potrebna i rasteretna ileostoma. Kod prokterektomije reseciran je cijeli rektum, ali je očuvan distalni dio analnog kanala i analni sfinkter. Kontinuitet crijeva je uspostavljen anastomozom između kolona te analnog kanala. Ponekad je zbog poremećaja pražnjenja stolice potrebno kreirati J, S ili W vrećicu kolona.

### **1.13.3. Hitni kirurški zahvati**

Po dostupnim medicinskim podacima 6 – 34 % CRC-a ima asimptomatsku ili paucisimptomatsku evoluciju tijekom dužeg vremena dok se ne prezentiraju hitnim kirurškim stanjem kao što je opstrukcija, perforacija crijeva ili krvarenje iz donjeg dijela probavnog sustava (152, 153). Ta okolnost je povezana s višim morbiditetom, višim perioperativnim mortalitetom, duljom hospitalizacijom, naprednijim stadijem bolesti te kraćim dugoročnim preživljenjem (152 - 155). Uvijek kad je moguće, hitan kirurški zahvat mora biti i radikaln. Najviše kontroverzi izaziva liječenje karcinoma lijevog kolona. Ukoliko je bila jaka distenzija crijeva, ukoliko postoji napetost ili propuštanje kreirane anastomoze te je bolesnik ASA III statusa, operirat će se u dva akta. U prvom će se izvesti Hartmannova operacija, a u drugom će se kreirati anastomoza. Nasuprot tom mišljenju postoje i oni koji misle da je obzirom na dugotrajnu distenziju cijelog kolona te moguće sinkrone karcinome bolje učiniti subtotalnu ili totalnu kolektomiju s kreiranjem anastomoze. Nedostaci ovog pristupa su povećanje operativnog rizika i povećan broj stolica obzirom na manji kapacitet apsorpcije tankog crijeva. Postoje i pobornici segmentalne kolektomije s intraoperativnom irigacijom crijeva ili manualnom dekompresijom. Svjetsko društvo za hitnu kirurgiju u smjernicama za liječenje opstruktivnog karcinoma lijevog kolona izdanima 2010. godine dalo je preporuku s razinom dokaza 1a po kojoj subtotalna, odnosno totalna kolektomija u bolesnika koji imaju opstrukciju uzrokovanu karcinomom lijevog kolona, ali bez perforacije cekuma i sinkronih karcinoma u desnom kolonu nema prednost pred segmentalnom kolektomijom s intraoperativnom irigacijom obzirom na isti morbiditet i mortalitet. Ista razina preporuke odnosi se i na dvije tehnike segmentalne kolektomije obzirom na morbiditet i mortalitet. Ističe se kako je segmentalna kolektomija s manualnom dekompresijom jednostavnija i kraća (156).



#### **1.13.4. Liječenje metastatskog kolorektalnog karcinoma**

U 20 – 34 % bolesnika s CRC-om sinkrono se pojave jetrene metastaze (157, 158). Metakrone jetrene metastaze otkrivaju se nakon lokoregionalnog liječenja CRC-a u 30 % bolesnika. U bolesnika sa sinkronom pojavom jetrenih metastaza CRC-a postoji veći broj te više bilobarnih metastaza (159). Suvremene kliničke studije i metaanalize pokazuju da je petogodišnje preživljenje bez povrata bolesti u bolesnika podvrgnutih hepatalnoj resekciji pri liječenju metastatskog CRC-a 20 %, a medijan petogodišnjeg preživljenja 38 % (160 - 162). Standard je R0 resekcija, uz prednost anatomske nad klinastom resekcijom i metastazektomijom. Preoperativnom primjenom CT volumetrije određuje se ostatni jetreni volumen te se u skladu s tim određuje funkcionalna rezerva jetre. Ukoliko je ona manja od 20 % preporučuje se preoperativna embolizacija vene porte ili etapni pristup (163, 164). Ukoliko bolesnik iz nekog razloga (nedostatni ostatni jetreni volumen, komorbiditeti, lokacija metastaze) nije kandidat za resekciju može se podvrgnuti minimalno invazivnim tehnikama kao što su intraarterijska infuzija, transarterijska kemoembolizacija, krioterapija, mikrovalna ablacija, terapija selektivnim unutarnjim ozračivanjem i radiofrekvencijska ablacija (165). Prema rezultatima nekoliko retrospektivnih studija koje su uspoređivale radiofrekvencijsku ablaciju s resekcijom u bolesnika s jetrenim i plućnim metastazama, ona je inferiorna u stopama lokalnog recidiva te petogodišnjeg sveukupnog preživljenja (166, 167). Radna skupina Američkog društva za kliničku onkologiju te sustavni pregled Cochranove baze podataka nezavisno su došli do istog zaključka; potrebe izrade metaanalize (168, 169). Drugo najčešće mjesto metastaziranja CRC-a su pluća. Primarni cilj kirurškog liječenja je postići R0 resekciju bez žrtvovanja prekomjerne količine zdravog plućnog parenhima. Na izbor kirurškog pristupa utječe broj, veličina i prezentacija metastaza, a najčešće se koriste lateralna, klasična posterolateralna torakotomija, medijalna sternotomija, videoasistirana torakoskopska kirurgija i torakoskopska metastazektomija (170 - 173). Klinasta ili atipična resekcija u kombinaciji sa sustavnom limfadenektomijom je kirurgija izbora, a veći i centralno lokalizirani tumori mogu zahtijevati lobektomije i bilobektomije (174). Pneumektomija i opsežna resekcija pluća s resekcijom grudnog koša, dijafragme, perikarda, atriya ili šuplje vene razmatra se u iznimnim slučajevima. Ukoliko plućne metastaze nisu resektabilne može se uvijek razmotriti radiofrekvencijska ablacija (175). Trenutno se u kliničkim studijama istražuje korist vanjske konformalne iradijacije u selekcioniranih bolesnika koji nisu kandidati za kirurško liječenje. Peritonealna karcinomatoza koja se nalazi u 17 % bolesnika s metastatskim CRC-om liječi se citoreduktivnom kirurgijom i hipertermijskom intraoperativnom kemoterapijom (176 - 178). Bolesnici s peritonealnom karcinomatozom u usporedbi s bolesnicima bez peritonealne karcinomatoze imaju kraće preživljenje bez progresije bolesti te sveukupno preživljenje (179).

### **1.13.5. Komplikacije kirurškog liječenja kolorektalnog karcinoma**

Komplikacije kirurškog liječenja CRC-a možemo podijeliti na opće i specifične za zahvat. Opće komplikacije kao duboka venska tromboza, plućna embolija, poremećaji srčanog ritma i pneumonija mogu nastati nakon bilo koje operacije. Specifične komplikacije obzirom na vrijeme nastanka dijelimo na intraoperativne i postoperativne. Intraoperativne komplikacije uključuju lezije krvnih žila, živaca i intraabdominalnih organa. Postoperativne komplikacije su popuštanje anastomoze, postoperacijsko intraabdominalno krvarenje, poremećaj motiliteta crijeva i intraabdominalne infekcije. Popuštanje anastomoze je uz krvarenje najteža komplikacija kolorektalne kirurgije, a pripisuje joj se trećina smrtnosti nakon kolorektalne kirurgije. Prijavljena incidencija iznosi od 2,9 % do 15,3 % (180, 181). Popuštanje anastomoze koje je zahtijevalo kiruršku reviziju u onkoloških bolesnika ima negativan prognostički utjecaj na lokalni povrat bolesti te na preživljenje bez znakova bolesti (182). Intraabdominalno krvarenje je rijetka komplikacija koja se manifestira u prva 24 sata poslije operacije padom arterijskog tlaka, porastom pulsa te padom razine hemoglobina i hematokrita. Dva rizična čimbenika za razvoj pareze crijeva su dulje trajanje operacije i veći gubitak krvi, a obzirom na različite definicije i načine liječenja teško je procijeniti incidenciju i mortalitet (183). Incidencija intraabdominalnih infekcija nakon otvorene kirurgije kolona i rektuma iznosi od 2 % do 25 %, a povezana je s višim morbiditetom i mortalitetom, duljim bolničkim boravkom te većim troškovima liječenja (184). Neki rizični čimbenici razvoja komplikacija kirurškog liječenja CRC-a kao što su dob i spol bolesnika, ranije abdominalne operacije i komorbiditeti nisu promjenjivi, ali svakako treba utjecati na nutritivni status bolesnika te iskustvo operatera praćeno krivuljom učenja (185, 186). Potrebno je prijavljivati komplikacije i voditi registar.

### **1.13.6. Palijativni zahvati**

Palijativnim zahvatima u bolesnika s metastatskom bolešću te brojnim pridruženim komorbiditetima nastoji se optimizirati kvaliteta života. Od devedesetih godina prošlog stoljeća u bolesnika s opstrukcijom pod fluoroskopskim ili endoskopskim nadzorom implantiraju se samošireći metalni stentovi. Recentne studije su pokazale stopu tehničke uspješnosti oko 100 % i kliničke uspješnosti predstavljene smanjenjem opstrukcije od 85 % do 91 % (187, 188). Moguće komplikacije su bol, tenezmi, krvarenje (0.5 % do 4 %), migracija ili restenoza stenta (1.8 % do 9 %) i perforacija (187, 189). U usporedbi s hitnim kirurškim zahvatom implantacija samoširećeg metalnog stenta ima niži perioperativni mortalitet (5 % do 10.5 % prema 0 % do 4.2 %), niži perioperativni morbiditet, kraće vrijeme hospitalizacije (15 - 18.8 dana prema 9.5 - 10 dana) i manju stopu formiranja stome (54 % prema 12.7 %) (190). Kasnih sedamdesetih godina prošlog stoljeća neodimij itrij aluminij garnet laser (Nd:YAG) počeo se koristiti u liječenju opstruktivnih rektalnih karcinoma isparavanjem neoplastičnog tkiva te izazivanjem koagulacijske nekroze. Obično je potrebno pet aplikacija kako bi laserska terapija bila učinkovita. Uspješnost liječenja opstrukcije iznosi od 78 do 91 %, morbiditet je od 2 do 5,3 %, a mortalitet

1,8 %. Najčešća komplikacija je perforacija, a treba spomenuti i dugoročni ishod liječenja; medijan ponovne pojave opstrukcije od 24 tjedna (191). Uspješnost liječenja krvarenja Nd:YAG laserom je od 73 % do 97 %. Medijan preživljenja bez simptoma nakon postupka je 10 mjeseci (192). I argon plazma koagulacija je našla svoje mjesto u liječenju krvarenja iz probavnog sustava. Zbog ograničenog prodora u neoplastično tkivo (manje od 3 mm u dubinu) ova metoda elektrokoagulacije ima manju stopu perforacije od Nd:YAG lasera (193). Osiguravajući bolesniku najbolju moguću skrb palijativne zahvate moramo shvaćati kao komplementarne.

### **1.13.7. Adjuvantna terapija karcinoma kolona**

Svrha adjuvantne kemoterapije je eradicirati mikrometastaze koje postoje, a nisu verificirane radiološkom preoperativnom obradom i intraoperativno te spriječiti povratak bolesti. Odluka o adjuvantnom liječenju mora biti donesena nakon razgovora liječnika i bolesnika u kojem su objašnjene specifične karakteristike bolesti te dokazi o učinkovitosti i mogućoj toksičnosti. Praćenje i sudjelovanje u kliničkim studijama također moraju biti razmotreni. Rezultati metaanalize pet studija u kojima su bili uključeni bolesnici stadija II i III bolesti liječeni samo operativno i operativno u kombinaciji s adjuvantnom kemoterapijom 5-fluorouracilom (5-FU) / leukovorinom (LV) pokazali su najveću korist adjuvantne kemoterapije u bolesnika stadija III bolesti (194, 195). Važeće smjernice Nacionalne sveobuhvatne mreže za rak (NCCN) i Europskog društva za internističku onkologiju (ESMO) predlažu adjuvantnu terapiju kapecitabinom ili 5-FU/LV u bolesnika sa stadijem II karcinoma kolona niskog rizika, adjuvantnu terapiju 5-FU/LV, kapecitabinom, kontinuiranom infuzijom 5-FU/LV/oksalipatin (FOLFOX), kapecitabinom/oksalipatinom (CapeOx) ili bolus 5-FU/LV/oksalipatinom (FLOX) u bolesnika sa stadijem II karcinoma kolona visokog rizika te adjuvantnu terapiju FOLFOX-om, CapeOx-om, FLOX-om, kapecitabinom ili 5-FU/LV-om (u onih koji nisu kandidati za liječenje oksalipatinom) tijekom šest mjeseci u bolesnika sa stadijem III bolesti. Ne postoje dokazi o koristi liječenja nemetastatske bolesti bevacizumabom, cetuksimabom, panitumumabom ili irinotekanom (196, 197). S adjuvantnom terapijom treba započeti odmah po oporavku bolesnika. Rezultat sistematskog pregleda i metaanalize deset studija koja su uključile 15 000 bolesnika pokazao je kako četverotjedna odgoda početka adjuvantne kemoterapije rezultira 14 % smanjenjem ukupnog preživljenja (OS) (198). Primijećeno je smanjeno ordiniranje adjuvantne kemoterapije (pogotovo oksalipatine) u bolesnika starijih od 70 godina. Dijelom se to može objasniti podzastupljenošću te dobne skupine u kliničkim istraživanjima i nepoznatim toksičnim profilima antineoplastika obzirom na fiziološki smanjenu bubrežnu i jetrenu funkciju.

### **1.13.8. Neoadjuvantna / adjuvantna terapija karcinoma rektuma**

Neoadjuvantna terapija indicirana je u bolesnika stadija II karcinoma rektuma (T3-4, N0M0) s prodorom tumora kroz mišićni sloj sluznice i stadija III karcinoma rektuma zbog visokog rizika od lokoregionalnog povrata bolesti objašnjivog anatomskim odnosima u zdjelici,

nedostatkom sloja seroze i nemogućnošću postizanja širokih resekcijskih rubova. Važeće smjernice preporučuju dva moguća slijeda; prvi koji uključuje preoperacijsku kemoiradijaciju te postoperacijsku kemoterapiju i drugi koji uključuje perioperacijsku kemoterapiju nakon koje slijedi kemoiradijacija te operativno liječenje. Perioperacijsko onkološko liječenje treba trajati ukupno šest mjeseci (199, 200). Pretpostavljene prednosti preoperacijske iradijacije u odnosu na postoperacijsku su redukcija tumora s većom vjerojatnošću očuvanja sfinktera, manji rizik lokalnog neuspjeha i smanjenje radijacijske toksičnosti (201). Najveći nedostatak je moguće nepotrebno neoadjuvantno liječenje u bolesnika s karcinomom rektuma kojima je preoperativnom obradom određen viši stadij bolesti od patohistološkog (201). Iradijacija se planira tako da se radioterapijskim poljima zahvate tumor i tumorska loža s rubovima dva do pet centimetara, presakralni i unutarnji ilijačni limfni čvorovi. Uključenje vanjskih ilijačnih limfnih čvorova može biti razmotreno u bolesnika s T4 tumorima koji zahvaćaju anteriorne strukture te uključuje ingvinalnih limfnih čvorova u karcinomima rektuma koji zahvaćaju distalni dio analnog kanala. Skraćenom iradijacijom primjenjuje se 25 Grey (Gy) (5 Gy u 5 frakcija) te kirurško liječenje slijedi tjedan dana nakon završetka radijacije. Prednosti preoperacijske konkomitantne kemoiradijacije su senzitivizacija tumora i u manjoj mjeri zdravog tkiva, iskorjenjivanje mogućih mikrometastaza te povećana vjerojatnost kompletnog patološkog odgovora. Prijeoperacijskom konkomitantnom kemoiradijacijom primjenjuje se 50,4 Gy (1,8 Gy u 28 frakcija) istovremeno s radiosenzibilizacijskim lijekom 5-FU-om primijenjenim kao kontinuirana intravenska infuzija ili kao bolus doza u kombinaciji s LV-om ili kapecitabinom. Nakon četiri do osam tjedana slijedi kirurško liječenje. Pristupi su se razvijali paralelno, skraćena iradijacija više u zemljama sjeverne Europe, a prijeoperacijska konkomitantna kemoiradijacija u SAD-u. Rezultati istraživanja ukazuju na najbolji odnos učinkovitosti i moguće toksičnosti (202, 203). Kao mogućnost liječenja u smjernicama iz 2015. godine se spominje i indukcijska kemoterapija koja prethodi kemoiradijaciji i kirurškom liječenju. Prednosti indukcijske kemoterapije su rana prevencija i eradikacija mikrometastaza, istovjetna stopa kompletnog patološkog odgovora te smanjenje vremena u kojem postoji potreba za ileostomom (199). U bolesnika s velikim rizikom radijacijske toksičnosti zbog komorbiditeta može se razmotriti i prijeoperacijska kemoterapija bez iradijacije (199). U postoperativnom adjuvantnom liječenju bolesnika s karcinomom rektuma preporučuje se FOLFOX ili CapeOx kao preferirani protokoli, a FLOX, kapecitabin i 5-FU/LV mogu biti korišteni, posljednja dva pogotovo u onih koji su dobro odgovorili na neoadjuvantnu kemoterapiju (199, 200). Za bolesnike u kojih je preoperativnom obradom određen stadij I karcinoma rektuma (T1-2, N0M0), a patohistološka dijagnoza nakon kirurškog liječenja govori o višem stadiju bolesti indicirano je adjuvantno liječenje sendvič-protokolom koji uključuje incijalno primjenu 5-FU-a s ili bez LV-a ili FOLFOX-a ili kapecitabina s ili bez oksaliplatine, potom konkomitantnu kemoiradijaciju te nastavak primjene 5-FU-a s ili bez LV-a ili FOLFOX-a ili kapecitabina s ili bez oksaliplatine u ukupnom trajanju od šest mjeseci (204).

### **1.13.9. Kemoterapijsko i biološko liječenje metastatskog kolorektalnog karcinoma**

Bolesnike s četvrtim stadijem CRC-a inicijalno treba podijeliti u tri skupine; s resektabilnom, potencijalno resektabilnom i neresektabilnom bolešću. Odluka multidisciplinarnog tima o liječenju treba biti donesena nakon što je procijenjena resektabilnost te su poznata biološka obilježja karcinoma (RAS i BRAF status). U bolesnika s resektabilnom metastatskom bolesti savjetuje se preoperativna i postoperativna terapija po FOLFOX protokolu. Ukoliko nije provedena preoperativna kemoterapija, savjetuje se nakon kirurškog liječenja nastaviti s adjuvantnom kemoterapijom. U bolesnika s granično resektabilnim CRC-om primjenom kemoterapijskih protokola baziranih na fluoropirimidinu, irinotekanu i oksaliplatinu i bioloških lijekova pokušava se postići smanjenje veličine metastaza te R0 resekcija (205). Istraživanja su pokazala da bevacizumab u kombinaciji s kemoterapijskim protokolima baziranim na irinotekanu povećava stopu odgovora te da dodatak cetuksimaba i panitumumaba ima isti učinak u CRC-a RAS statusa divljeg tipa (206, 207). Svaka dva mjeseca od početka kemobiološkog liječenja mora se procijeniti resektabilnost. Kirurško liječenje metastaza mora biti planirano u najkraćem mogućem roku nakon što postanu resektabilne (196). Izbor terapijskog protokola za liječenje neresektabilne metastatske bolesti ovisi o biološkim obilježjima karcinoma, bolesnikovim karakteristikama i ograničenjima terapije. Također je nužno odrediti cilj koji se želi postići (brzo smanjenje tumorske mase i simptoma, kontrola bolesti, očuvanje kvalitete života). U bolesnika dobrog općeg stanja važeće ESMO smjernice preporučuju kombinacijske kemoterapijske protokole bazirane na oksaliplatinu ili irinotekanu - FOLFOX, CAPOX ili FOLFIRI (205). Manji broj visokoselekcioniranih bolesnika dobrog općeg stanja i bez komorbiditeta su kandidati za kemoterapijski protokol FOLFOXIRI (208). Bolesnici lošijeg općega stanja mogu se liječiti monoterapijom – fluoropirimidinima (5-FU/LV-om). U kombinaciji s kemoterapijskim protokolima savjetuje se upotreba biološke terapije (inhibitora žilnog endotelijalnog čimbenika rasta (VEGF-a) – bevacizumaba i inhibitora epidermalnog čimbenika rasta (EGFR-a) – cetuksimaba ili panitumumaba u bolesnika s CRC-om RAS statusa divljeg tipa) do progresije bolesti ili razvoja neprihvatljive toksičnosti. Na temelju rezultata faze III studija UK MRC COIN i NORDIC-VII ne savjetuje se upotreba inhibitora EGFR-a – cetuksimaba i panitumumaba u kombinaciji s kemoterapijskim protokolima temeljenim na oksaliplatinu, s bolusnom ili oralnom primjenom fluoropirimidinima (209, 210). Ukoliko se postigne kontrola bolesti ili se neprihvatljiva toksičnost izrazi prije kliničke progresije, kao koncepti liječenja nameću se terapija održavanja i diskontinuitet liječenja. Idealna terapija održavanja koja bi se trebala razmotriti ako su ispunjeni ranije navedeni kriteriji nakon 6 ciklusa CAPOX-a ili 8 ciklusa FOLFOX-a s bevacizumabom je fluoropirimidin (najčešće kapecitabin) s bevacizumabom. Ista terapija održavanja se savjetuje i bolesnicima koji su u prvoj liniji liječeni kemoterapijskim protokolom FOLFOXIRI s ili bez bevacizumaba. Za bolesnike lošijeg općeg stanja koji su liječeni

fluoropirimidinom s bevacizumabom savjetuje se nastavak terapije. Ne postoje jasne preporuke koliko dugo bi trebalo trajati uvodno liječenje kemoterapijskim protokolom FOLFIRI, u smjernicama se navodi do postizanja stabilne bolesti ili razvoja neprihvatljive toksičnosti. Dvije studije (GERCOR OPTIMOX-2 i UK MRC COIN) koje su analizirale prekid liječenja bez terapije održavanja nisu dokazale povezanost lošijeg ishoda isključivo s prekidom liječenja (211, 212). Ako tijekom terapije održavanja dođe do kliničke ili radiološke progresije bolesti, može se ponovno provesti liječenje indukcijskom (prvom) linijom. Ukoliko multidisciplinarni tim odluči nastaviti drugom linijom liječenja, prva linija uvijek ostaje terapijski izbor. Drugu liniju liječenja metastatske bolesti trebalo bi primiti 70 – 80 % bolesnika koji su primili prvu liniju liječenja. Odabir kemoterapijskog protokola druge linije liječenja ovisi o prethodnom liječenju. Kemoterapijske protokole bazirane na oksaliplatinu treba zamijeniti onima baziranim na irinotekanu, isto kao što i kemoterapijske protokole bazirane na irinotekanu treba zamijeniti kemoterapijskim protokolima baziranim na oksaliplatinu. Ukoliko su bolesnici dobrog općeg stanja, a progredirali su tijekom ili nakon liječenja fluoropirimidinima, osnova kemoterapijskog protokola mora biti bazirana na irinotekanu ili oksaliplatinu. Dodatak bevacizumaba drugoj liniji liječenja ukoliko nije korišten u prvoj liniji liječenja ili nastavak liječenja bevacizumabom, nastavak liječenja afliberceptom bolesnika koji su prethodno liječeni bevacizumabom ili nastavak liječenja ramucirumabom su pokazali duže sveukupno preživljenje (213 - 216). Oba inhibitora EGFR-a mogu biti korištena u kombinaciji s kemoterapijskim protokolom baziranim na irinotekanu u drugoj liniji liječenja metastatskog CRC-a RAS statusa divljeg tipa jer su pokazali stopu boljeg odgovora i duže preživljenje bez povrata bolesti (217, 218). Kako nisu pokazali duže sveukupno preživljenje, podjednaka je korist njihove primjene u drugoj liniji u usporedbi s kasnijim linijama. U fazi 2 SPIRITT studije nije primijećena razlika u sveukupnom preživljenju i preživljenju bez progresije bolesti bolesnika s CRC-om RAS statusa divljeg tipa koji su brzo progredirali (preživljenje bez progresije bolesti kraće od tri mjeseca) na prethodno liječenje bevacizumabom, a bili su liječeni kemoterapijskim protokolom FOLFIRI s bevacizumabom ili s panitumumabom (219). Treću liniju liječenja metastatske bolesti trebalo bi primiti 50 – 60 % bolesnika koji su primili prvu liniju liječenja. U trećoj liniji liječenja metastatske bolesti u bolesnika s CRC-om RAS statusa divljeg tipa mogu se koristiti cetuksimab ili panitumumab u monoterapiji ili kombinacija irinotekana i cetuksimaba (220, 221). Kombinacija irinotekana i cetuksimaba je djelotvornija, ali se može koristiti samo u onih bolesnika koji nisu u prethodnoj liniji liječeni irinotekanom (221). Multikinazni inhibitor regorafenib je pokazao značajno produženje ukupnog preživljenja u bolesnika ranije liječenih svom dostupnom terapijom (222). Kao opcija se nametnuo i trifluridin-tipiracil obzirom na postignut napredak u ukupnom preživljenju, kao i regorafenib, ali s manjom toksičnošću (223).

### **1.13.10. Palijativna iradijacija**

Palijativna iradijacija ne liječi uzrok bolesti i primjenjuje se kad radikalno liječenje nije moguće. Svrha palijativne iradijacije je popraviti kvalitetu života bolesnika smanjenjem boli, zaustavljanjem krvarenja, uspostavom pasaže te prekidom tumorske kompresije. Tehnike zračenja i izbor vrste i energije zračenja ovise o opremljenosti radioterapijskog centra u kojem se zračenje provodi, općem stanju bolesnika i očekivanom trajanju njegova života. Ukupne doze palijativne iradijacije u bolesnika s CRC-om su od 5 do 70 Gy, najčešće u rasponu od 30 do 60 Gy, fracionirane kroz nekoliko tjedana (224). Najčešća dnevna doza je 2 Gy u rasponu od 1,5 do 10 Gy (224). Tri prospektivne studije izvijestile su o trajanju olakšanja simptoma od jednog do više od 44 mjeseca u rasponu ukupne doze palijativne iradijacije od 30 do 50 Gy (225 -2 27).

### **1.14. Praćenje bolesnika**

Bolest se vrati unutar prve tri godine nakon kirurškog liječenja CRC-a u 80 % bolesnika, a u 95 % bolesnika se vrati unutar prvih pet godina (228, 229). U bolesnika sa stadijem I CRC-a predlaže se kontrolna kolonoskopija tijekom prve i treće godine te nakon toga svakih pet godina, osim u slučaju kliničke indikacije (vilozni polip, polip veći od jednog centimetra ili visokog stupnja displazije). U tom slučaju kontrolna kolonoskopija mora biti učinjena svake godine (230). U bolesnika stadija II i III CRC-a koji su onkološki liječeni preporučuje se klinički pregled svakih tri do šest mjeseci tijekom prve dvije godine te svakih šest mjeseci tijekom iduće tri godine. Kontroliranje vrijednosti CEA se preporučuje postoperativno, svakih tri do šest mjeseci tijekom prve dvije godine te svakih šest mjeseci tijekom iduće tri godine (231). Kontrolna kolonoskopija se mora učiniti godinu dana nakon operacije. Ukoliko zbog opstruktivne lezije preoperativno nije učinjena kompletna kolonoskopija preporučuje se učiniti kontrolnu kolonoskopiju tri do šest mjeseci nakon kirurškog liječenja. Ponovna kolonoskopija je predviđena tijekom treće godine te nakon toga svakih pet godina, osim u slučaju kliničke indikacije (vilozni polip, polip veći od jednog centimetra ili visokog stupnja displazije) kada se ponavlja jednom godišnje (230). Kontrolni CT toraksa, abdomena i zdjelice je preporučen svakih šest do dvanaest mjeseci tijekom prvih pet godina po smjernicama NCCN-a te prve tri godine po smjernicama ESMO-a i ASCO-a (196, 197, 199, 232). U bolesnika stadija IV koji su prošli onkološko liječenje i nemaju ostatnu bolest preporučuje se CT toraksa, abdomena i zdjelice svakih tri do šest mjeseci tijekom prve dvije godine te svakih šest do dvanaest mjeseci iduće tri godine. Kontroliranje vrijednosti CEA se preporučuje postoperativno, svakih tri do šest mjeseci tijekom prve dvije godine te svakih šest mjeseci tijekom iduće tri godine. U slučaju porasta vrijednosti CEA nakon onkološkog liječenja klinička obrada mora uključiti pregled, kompletnu kolonoskopiju, CT toraksa, abdomena i zdjelice. U slučaju porasta CEA i urednog CT nalaza preporučuje se ponavljanje CT toraksa, abdomena i zdjelice svaka tri mjeseca do otkrića bolesti, stabilizacije ili pada vrijednosti CEA.

Može se razmotriti i PET. Na temelju povišenog CEA, a bez dokaza povrata bolesti ne preporučuje se laparotomija ili laparoskopija (233). Preživjele od CRC-a potrebno je doživotno pratiti zbog moguće pojave recidiva bolesti, drugog primarnog karcinoma te dugotrajnih posljedica kirurškog, onkološkog i radioterapijskog liječenja. Nakon petogodišnjeg praćenja, ne postoje jasne smjernice o intervalima praćenja vrijednosti CEA, a i ne preporučuju se daljnje kontrolne radiološke pretrage. Preporučuje se praćenje onkologa, odnosno liječnika obiteljske medicine. Studije o kvaliteti života bolesnika s CRC-om pet i više godina nakon otkrića bolesti pokazale su ograničenja u fizičkim, psihološkim i socijalnim aspektima života (234, 235). Komorbiditeti i nedostatak obiteljske i društvene potpore utječe na psihološke poteškoće, a 7 % bolesnika s CRC-om osjeća ih i godinu dana nakon otkrića bolesti (236). U usporedbi sa zdravim ispitanicima u preživjelih od CRC-a veća je učestalost depresije (14 % prema 22 %, odnosno 26 % prema 44 %) (234, 237). Zbog nesenzibilnosti društvene okoline i nefleksibilosti tržišta rada preživjeli s CRC-om u usporedbi s dobno i spolno povezanim kontrolnom skupinom imaju veću stopu nezaposlenosti, što posredno dovodi i do teže reintegracije društvenih odnosa (238). Potreba privremene ili trajne stome, dermatitis okolne kože trbušne stijenke, curenje crijevnog sadržaja u okolini stome, napuhivanje stoma vrećice, potreba skrivanja stoma vrećice ispod odjeće, nemogućnost odlaska na plažu ili bazen, promjena konzistencije i povećanje broja stolica pridonose osjećaju manje vrijednosti bolesnika s CRC-om (239). Ozljeda hipogastričnih i pelvičnih živaca pogotovo tijekom proširene disekcije zdjelice ili abdominoperinealne resekcije dovodi do urinarne inkontinencije. Najčešći poremećaji seksualne funkcije muškaraca preživjelih od CRC-a su smanjen libido, erektilna i ejakulatorna disfunkcija, od kojih je najčešća retrogradna ejakulacija. Najčešći seksualni poremećaji žena preživjelih od CRC-a su smanjen libido, dispareunija i vaginalna suhoća. Bolesnice u kojih je provedena iradijacija imaju veću učestalost vaginalne stenozе (240, 241). Najčešće dugoročne posljedice kemoiradijacije su umor, periferna senzorna neuropatija povezana s oksaliplatinom, radijacijski proktitis te moguće frakture zdjelice s pridruženom osteopenijom i osteoporozom.

## 1.15. E-kadherin

Superobitelj transmembranskih ili s membranom povezanih glikoproteina koji ostvaruju o kalciju ovisnu adheziju stanica nazivamo kadherinima. Mogu se podijeliti u pet glavnih podobitelji; klasični kadherini skupine I, blisko povezani kadherini skupine II, dezmosomalni kadherini (dezmokolini i dezmogleini), protokadherini i razne kadherinski povezane molekule (242). Podobitelj klasičnih kadherina skupine I uključuje E (epithelial)-kadherin, N (neural)-kadherin, P (placental)-kadherin, VE (vascular endothelial) i R (retinal)-kadherin. *CDH1* gen, smješten na kromosomskom mjestu 16q22.1 kodira E-kadherin, transmembranski glikoprotein molekularne težine 120 kDa. E-kadherin se sastoji od izvanstaničnog, transmembranskog i kratkog citoplazmatskog dijela. Izvanstanični dio se sastoji od pet



kadherinskih domena koje su vrlo homologne i sadrže 110 aminokiselinskih ostataka (243). Počevši od N-kraja obično se molekule označuju EC1-EC5. Vezna mjesta za ione kalcija koji osiguravaju stabilnost konformacije se nalaze na očuvanim kratkim aminokiselinskim sekvencama između kadherinskih domena (244). Kratki citoplazmatski dio, odnosno C-kraj koji čini očuvani niz od 150 aminokiselinskih sekvenci, je povezan s citoplazmatskim kateninima ( $\beta$ - i  $\gamma$ -kateninom) te pomoću  $\alpha$ -katenina i vinkulina ostvaruje vezu s aktinskim citoskeletom (245). Međustanična adhezija posredovana je homofilnim interakcijama izvanstaničnih domena E-kadherina susjednih stanica (transinterakcija) i bočnom organizacijom (cisinterakcija) u okviru stanice. Struktura koja nastaje izgleda poput patentnog zatvarača (246). Osim toga, E-kadherin može biti ligand za dva integrina,  $\alpha$ 5 $\beta$ 1 i  $\alpha$ 2 $\beta$ 1. Prva interakcija služi za čuvanje intraepitelnih limfocita u sluznici tkiva, a druga može pridonijeti organizaciji epitelnih slojeva (247). Jukstamembransko područje citoplazmatskog dijela identificirano je kao funkcionalno aktivno područje u kojem protein p120<sup>cas</sup> potiče međusobno povezivanje kadherina (248). E-kadherin je važan dio međustaničnih pričvrstnih spojeva koji imaju ulogu povezivanja epitela, ali i barijere koja sprječava prolazak raznih štetnih tvari u međustanični prostor mnogih tkiva i organa (249). Izraženost E-kadherina se zapaža u dvostaničnoj fazi (fazi morule) embrionalnog razvoja tijekom apikobazalne polarizacije (250). Genetske i epigenetske promjene funkcije E-kadherina su ključne za napredovanje tumora što podrazumijeva odvajanje tumorskih stanica iz primarnog mjesta, intravazaciju, ekstrasvazaciju u udaljenim organima te stvaranje metastaza (251). Wnt signalni put, ključan u razvojnim procesima i mutacijama u napredovanju tumora, negativno utječe na nekoliko načina na međustaničnu adheziju posredovanu E-kadherinom: smanjuje izraženost E-kadherina putem transkripcijskih čimbenika Twist i Slug, pojačava izraženost adhezijskih molekula, poput N-kadherina i L1 koji favoriziraju staničnu pokretljivost, i inducira proteaze i druge promotore epitelno-mezenhimalne tranzicije (EMT) (252, 253).

## 1.16. HEF1/NEDD9/Cas-L

HEF1/NEDD9/Cas-L je član obitelji Cas proteina. Law i sur. su prvi 1996. godine sekvencionirali gen i proizveli protein odgovoran za pseudohifalni rast u *Saccharomyces cerevisiae* te su ih nazvali HEF1 (Human Enhancer of Filamentation 1) (254). Kasnije iste godine Minegishi i sur. sekvencionirali su gen za hiperfosforilirani protein integrin  $\beta$ 1 stimulacije u T limfocitima i nazvali ga Cas-L (Crk-Associated Substrate-related protein, Lymphocyte type) (255). Nakon saznanja da je 3' neprepisana regija gena izražena u ranom embrionalnom stadiju razvoja mišjeg mozga ortologna mRNA HEF1/Cas-L dodano je i ime NEDD9 (Neural precursor cell Expressed Developmentally Down-regulated 9) (256). NEDD9 gen, smješten na kromosomskom mjestu 6p24.2, kodira NEDD9, centralni regulatorni protein koji ima domene za interakcije s brojnim drugim proteinima odgovornima za adheziju i migraciju stanica. Struktura NEDD9 proteina je građena od (Src homology 3) SH3 domene,

supstratne domene, namotaja četiri zavojnice i očuvanog C-kraja molekule. Molekularna težina NEDD9 proteina iznosi 93 kDa, a dvije cirkulirajuće izoforme posljedično opsežnoj fosforilaciji imaju molekularnu težinu 105-115 kDa (257). Izoforma p115 nastaje fosforilacijom izoforme 105, smještena je u citoplazmi, ključna je u fokalnoj adheziji i pojavljuje se u G2/M fazi staničnog ciklusa. Izoforma p55 nastaje iz izoforme p105 nakon kaspaznog cijepanja, povezana je s diobenim vretenom te se pojavljuje samo u mitozu. Izoforma p65 slabo je opisana (258). Glavni regulatori fosforilacije NEDD9-a su fokalne adhezijske kinaze (FAK Focal Adhesion Kinase) i obitelj Src kinaza koje fosforiliraju tirozin u blizini C-kraja, a Src kinaza može fosforilirati i u domeni supstrata (259). NEDD9 mRNA i protein su u najvišim koncentracijama prisutni u plućima, bubrezima, tkivima bogatim nezrelim limfoidnim stanicama i fetalnom mozgu (254 - 256). Stanične kulture novotvorina epitelnih stanica, limfoma i glioblastoma obiluju NEDD9-om (260, 261). Pojačana izraženost NEDD9-a je prisutna u T-staničnim leukemijama, tumorima jajnika i dojke, tumorima glave i vrata (262 - 265). Amplifikacija NEDD9 gena je povezana s metastaziranjem u mišjem modelu melanoma (266). Analiza genske ekspresije u primarnim adenokarcinomima pluća pokazala je da je NEDD9 odgovoran za metastaziranje (264). Jin i sur. su pokazali da u karcinomima pluća NEDD9 promiče metastaziranje putem FAK aktivacije epitelno-mezenhimalne tranzicije (EMT) (267). U CRC-u pojačana ekspresija NEDD9-a korelira s pojačanom migracijom tumorskih stanica i progresijom karcinoma (268). Natarajan i sur. su pokazali da je za invazivno ponašanje glioblastoma odgovoran NEDD9 (261). Svi ti rezultati pokazuju važnu ulogu NEDD9-a u staničnom ciklusu, invaziji i metastaziranju.

## **2. HIPOTEZA**

Hipoteza ovog istraživanja je da je izraženost NEDD9-a u stanicama kolorektalnog karcinoma koji je metastazirao povišena, a izraženost E-kadherina snižena u odnosu na stanice kolorektalnog karcinoma koji nije metastazirao.

### **3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA**

Opći cilj bio je imunohistokemijski odrediti izraženost NEDD9-a i E-kadherina u stanicama CRC-a s i bez metastaza u limfne čvorove i jetra.

Specifični ciljevi istraživanja bili su:

1. odrediti izraženost NEDD9-a u CRC-ima s i bez metastaza u limfne čvorove i jetra.
2. odrediti izraženost E-kadherina u CRC-ima s i bez metastaza u limfne čvorove i jetra.
3. usporediti izraženost navedenih proteina u primarnom tumoru i pratećim metastazama.
4. usporediti izraženost NEDD9-a i E-kadherina s tradicionalnim prognostičkim čimbenicima (veličina tumora, TNM stadij, operacijski rubovi, mikroskopska vaskularna invazija, perineuralna invazija, status limfnih čvorova, dob i spol bolesnika u trenutku postavljanja dijagnoze).

## 4. BOLESNICI I METODE

### 4.1. Materijal

Ovo istraživanje je retrospektivnog karaktera, a uzorci CRC-a i metastaza u limfne čvorove i jetra predstavljaju arhivski materijal Kliničkog zavoda za patologiju Ljudevit Jurak dobiven od bolesnika kojima je od 2005. do 2013. godine u Kliničkom bolničkom centru Sestre milosrdnice učinjena resekcija crijeva. Tkivo jetrenih metastaza dobiveno je od bolesnika kojima je uz resekciju crijeva istovremeno učinjena metastazektomija, a prethodno nisu primali kemo- i/ili radioterapiju. Podaci o bolesnicima prikupljeni su iz arhive navedenog Zavoda, a podaci o preživljenju dobiveni su iz Odsjeka za zloćudne bolesti s registrom za rak Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo.

Analizirano je:

51 bolesnik s CRC-om koji nije metastazirao

50 bolesnika s CRC-om koji je metastazirao u limfne čvorove

50 bolesnika s CRC-om koji je metastazirao u jetra

### 4.2. Metode

#### 4.2.1. Imunohistokemijska analiza

Materijal je obrađen standardnom histološkom obradom koja uključuje fiksaciju tkiva u 10 % puferiranom formalinu, dehidriranje u uzlaznom nizu alkohola, uklapanje u parafinske blokove, rezanje na debljinu 5 µm, deparafiniziranje u ksilolu i bojenje standardnom metodom hemalaun eozin (HE). Za imunohistokemijsku analizu korištena su primarna mišja monoklonalna protutijela NEDD9-a (razrjeđenje 1 : 100, Dako, Glostrup, Danska) i E-kadherin (razrjeđenje 1 : 50, Abcam, Cambridge, UK). Imunohistokemijska analiza za navedena protutijela učinjena je indirektnom ABC tehnikom, LSAB metodom kao vizualizacijskim sistemom na Dako TechMate TM automatiziranom stroju za imunohistokemijsko bojenje uz upotrebu streptavidin imunoperoksidaze MSIP (od engl. „Microwave Streptavidin ImmunoPeroxidase“) protokola prema preporuci proizvođača.

Imunohistokemijska reakcija na NEDD9 određivana je semikvantitativno (prema Kim i sur.) kako slijedi (266):

Intenzitet reakcije označen kao:

- „0“ predstavlja odsutnost reakcije,
- „1“ slabo izraženu reakciju, do 10 % pozitivnih stanica,
- „2“ umjereno izraženu reakciju: > 10 - 25 % pozitivnih stanica,
- „3“ za jako izraženu reakciju, > 25 % pozitivnih stanica.

Imunohistokemijska reakcija na E-kadherin određena je semikvantitativnim određivanjem imunohistokemijskog indeksa bojenja (IIB), uzimajući u obzir intenzitet reakcije kako slijedi (269):

- „0“ nema reakcije,
- „1“ slaba reakcija,
- „2“ umjerena reakcija,
- „3“ jaka reakcija.

Postotak imunoreaktivnih stanica određen je kako slijedi:

- 0, nema reaktivnih stanica;
- 1, do 10 % pozitivnih stanica;
- 2, > 10 – 50 % pozitivnih stanica;
- 3, > 50 % pozitivnih stanica.

Imunohistokemijski indeks bojenja (IIB) dobiven je kao umnožak intenziteta bojenja (IB) i postotka reaktivnih stanica (PRS):  $IIB = IR \times PRS$ , a iznosi od 0 do 9. IIB 0 predstavlja odsustvo reakcije, IIB 1-4 predstavlja nisku izraženost E-kadherina, IIB 5-9 predstavlja visoku izraženost E-kadherina.

Pozitivne kontrole za NEDD9 i E-kadherin su bile normalni epitel sluznice crijeva i normalni epitel žučnih vodova.

Područje analize određeno je pregledavanjem cijelog uzorka na malom povećanju ( $\times 40$ ). Izraženost protutijela očitavana je na 1000 stanica pod velikim povećanjem ( $\times 400$ ) na mjestu najjače aktivnosti (tzv. "hot spot").

#### **4.2.2. Statističke metode**

Podaci su prikazani tablično i grafički. Obzirom na vrstu uzorka te kvantifikaciju izraženosti NEDD9-a i E-kadherina u statističkoj analizi su korišteni neparametrijski testovi. Kvantitativne varijable su prikazane kroz medijane i pripadajuće interkvartilne raspone, a kategorijske varijable su prikazane kroz frekvencije i odgovarajuće udjele. Razlike u izraženosti NEDD9-a i E-kadherina u stanicama CRC-a koji je metastazirao u odnosu na stanice CRC-a koji nije metastazirao su analizirane  $X^2$  testom nakon kategorizacije u skupine izraženosti (slaba prema jaka izraženost). Odgovarajućim korelacijskim koeficijentima (Spearmanov koeficijent korelacije ( $\rho$ ) te Kendallov Tau-b koeficijent) se procijenila povezanost izraženosti NEDD9-a i E-kadherina s tradicionalnim prognostičkim čimbenicima (veličina tumora, TNM stadij, operacijski rubovi, mikroskopska vaskularna invazija, perineuralna invazija, status limfnih čvorova, dob i spol bolesnika u trenutku postavljanja dijagnoze) te su za jake korelacijske koeficijente uzete vrijednosti veće od 0,600 dok za srednje jake vrijednosti od 0,300 do 0,600. Sve P vrijednosti manje od 0,05 su smatrane statistički značajnima. U analizi je korištena programska podrška IBM SPSS Statistics verzija 23 ([www.spss.com](http://www.spss.com)).

## 5. REZULTATI

U našu studiju je bio uključen 141 bolesnik: od toga 86 (61,0 %) muškaraca i 55 (39,0 %) žena. U podskupini Dukes B bio je uključen 51 bolesnik: od toga 33 (64,7 %) muškaraca i 18 (35,3 %) žena s medijanom dobi 68,0 godina. U podskupini Dukes C bilo je uključeno 50 bolesnika: od toga 30 (60 %) muškaraca i 20 (40 %) žena s medijanom dobi 64,0 godine. U podskupini Dukes D bilo je uključeno 50 bolesnika: od toga 27 (54,0 %) muškaraca i 23 (46,0 %) žene s medijanom dobi 64,1 godine. Zbog nedostatka kliničkih podataka, odnosno nedostupnosti parafinskih blokova iz statističke analize je bilo izuzeto 10 bolesnika te su potom ostali 23 (57,5 %) muškarca i 17 (42,5 %) žena s medijanom dobi 64,0 godine. Veličina uzorka je i dalje dopuštala statističku analizu. Razlike u spolnoj raspodjeli bolesnika između pojedinih podskupina CRC-a prikazane su u Tablici 3. Nije bilo značajnih razlika između bolesnika obzirom na njihov spol i podskupine CRC-a po Dukesu ( $P = 0,771$ , Tablica 3.). Također, nije bilo značajnih razlika obzirom na dob bolesnika ( $P = 0,438$ , Tablica 4.) te se može tvrditi da su ispitivane skupine spolno i dobno ujednačene.

**Tablica 3.** Razlike u spolnoj raspodjeli bolesnika između pojedinih podskupina CRC-a:  $X^2$  test

		Dukes						P
		B		C		D		
		N	%	N	%	N	%	
Spol	Muški	33	64,7%	30	60,0%	23	57,5%	0,771
	Ženski	18	35,3%	20	40,0%	17	42,5%	

**Tablica 4.** Razlike u dobi bolesnika s pojedinom podskupinom CRC-a: Kruskal-Wallisov test

Dukes		N	Aritmetička sredina	SD	Min	Max	Centile			P
							25.	Medijan	75.	
Dob (godine)	B	51	66,49	11,99	33,00	87,00	61,00	68,00	75,00	0,438
	C	50	65,04	8,88	45,00	82,00	58,00	64,00	70,00	
	D	40	64,50	11,13	38,00	84,00	57,25	64,00	73,50	

Tablica 5. prikazuje razlike u raspodjeli pojedinih lokalizacija između analiziranih podskupina CRC-a. Razlike su statistički značajne ( $P=0,033$ ) i najočitije su obzirom na lokalizaciju C20 (rektum) koja je najzastupljenija u karcinomima Dukes B stadija.

**Tablica 5.** Razlike u raspodjeli pojedinih lokalizacija između pojedinih podskupina CRC-a: X<sup>2</sup> test

		Dukes						P
		B		C		D		
		N	%	N	%	N	%	
Lokalizacija	C18.0	1	2,0%	2	4,0%	7	17,5%	0,033
	C18.2	8	15,7%	3	6,0%	3	7,5%	
	C18.3	1	2,0%	2	4,0%	2	5,0%	
	C18.4	1	2,0%	2	4,0%	2	5,0%	
	C18.5	3	5,9%	0	0,0%	1	2,5%	
	C18.6	4	7,8%	4	8,0%	3	7,5%	
	C18.7	9	17,6%	16	32,0%	10	25,0%	
	C19	3	5,9%	10	20,0%	2	5,0%	
	C20	21	41,2%	11	22,0%	10	25,0%	

Razlike u TNM klasifikaciji između pojedinih podskupina CRC-a prikazane su u Tablici 6. Zabilježene su značajne razlike u T (P = 0,003), N (P < 0,001) i M klasifikaciji (P < 0,001) gdje je veće stupnjevanje bilo zastupljenije u tumorima Dukes C i D stadija.

**Tablica 6.** Razlike u TNM klasifikaciji između analiziranih podskupina CRC-a: X<sup>2</sup> test

		Dukes						P
		B		C		D		
		N	%	N	%	N	%	
T klasifikacija	T2	0	0,0%	0	0,0%	3	7,5%	0,003
	T3	51	100,0%	50	100,0%	34	85,0%	
	T4	0	0,0%	0	0,0%	3	7,5%	
N klasifikacija	N0 ili Nx	51	100,0%	0	0,0%	9	22,5%	<0,001
	N1	0	0,0%	37	74,0%	18	45,0%	
	N2	0	0,0%	13	26,0%	13	32,5%	
M klasifikacija	M0 ili Mx	51	100,0%	50	100,0%	0	0,0%	<0,001
	M1	0	0,0%	0	0,0%	40	100,0%	

Od promatranih patohistoloških karakteristika između pojedinih podskupina CRC-a jedina značajna razlika bila je u raspodjeli pozitivnih nalaza MVI (P = 0,001) koje su bile najzastupljenije u karcinomima Dukes D podskupine (Tablica 7.).



**Tablica 7.** Razlike u patohistološkim karakteristikama između pojedinih podskupina CRC-a:  
X<sup>2</sup> test

		Dukes						P
		B		C		D		
		N	%	N	%	N	%	
Operacijski rubovi	Negativan	51	100,0%	49	98,0%	39	97,5%	0,552
	Pozitivan	0	0,0%	1	2,0%	1	2,5%	
Mikroskopska vaskularna invazija	Negativan	48	94,1%	36	72,0%	25	62,5%	0,001
	Pozitivan	3	5,9%	14	28,0%	15	37,5%	
Perineuralna invazija	Negativan	45	88,2%	37	74,0%	28	70,0%	0,079
	Pozitivan	6	11,8%	13	26,0%	12	30,0%	
Tumorski depoziti	1					2	40,0%	NA
	2					2	40,0%	
	9					1	20,0%	

U Tablici 8. prikazane su razlike u izraženosti E-kadherina u CRC-ima s i bez metastaza u limfne čvorove i jetra, što je izravan odgovor na hipotezu te jedan od specifičnih ciljeva disertacije. Obzirom na stupnjevanje E-kadherina u primarnom tumoru, značajne su razlike u IR ( $P < 0,001$ ) te IIB ( $P < 0,001$ ). Također, značajne razlike zabilježene su između metastaza u limfne čvorove i metastaza u jetra u IIB E-kadherina ( $P = 0,027$ ).

**Tablica 8.** Razlike u izraženosti E-kadherina u CRC-ima s i bez metastaza u limfne čvorove i jetra: X<sup>2</sup> test

		Dukes						P
		B		C		D		
		N	%	N	%	N	%	
E-kadherin primarni tumor IR	0	1	2,0%	1	2,0%	2	5,0%	<0,001
	1	1	2,0%	15	30,0%	2	5,0%	
	2	10	19,6%	15	30,0%	5	12,5%	
	3	39	76,5%	19	38,0%	31	77,5%	
E-kadherin primarni tumor % stanica	0	1	2,0%	1	2,0%	2	5,0%	0,157
	1	0	0,0%	4	8,0%	1	2,5%	
	2	1	2,0%	5	10,0%	2	5,0%	
	3	49	96,1%	40	80,0%	35	87,5%	
E-kadherin primarni tumor IIB	0	1	2,0%	1	2,0%	2	5,0%	<0,001
	1	1	2,0%	16	32,0%	3	7,5%	
	2	49	96,1%	33	66,0%	35	87,5%	
E-kadherin LČ IR	0			9	18,4%	4	12,9%	0,142
	1			0	0,0%	3	9,7%	
	2			9	18,4%	4	12,9%	
	3			31	63,3%	20	64,5%	
E-kadherin LČ % stanica	0			9	18,4%	4	12,9%	0,198
	1			0	0,0%	2	6,5%	
	2			3	6,1%	4	12,9%	
	3			37	75,5%	21	67,7%	
E-kadherin LČ IIB	0			9	18,4%	4	12,9%	0,027
	1			1	2,0%	6	19,4%	
	2			39	79,6%	21	67,7%	
E-kadherin jetra IR	0					1	2,5%	NA
	1					6	15,0%	
	2					15	37,5%	
	3					18	45,0%	
E-kadherin jetra % stanica	0					1	2,5%	NA
	2					3	7,5%	
	3					36	90,0%	
E-kadherin jetra IIB	0					1	2,5%	NA
	1					8	20,0%	
	2					31	77,5%	

Legenda IIB, imunohistokemijski indeks bojanja; IR, intenzitet reakcije; LČ, limfni čvorovi.

U Tablici 9. prikazane su razlike u izraženosti NEDD9-a u CRC-ima s i bez metastaza u limfne čvorove i jetra što je izravan odgovor na hipotezu te jedan od specifičnih ciljeva disertacije. Nisu zabilježene značajne razlike.

**Tablica 9.** Razlike u izraženosti NEDD9-a u CRC-ima s i bez metastaza u limfne čvorove i jetra: X<sup>2</sup> test

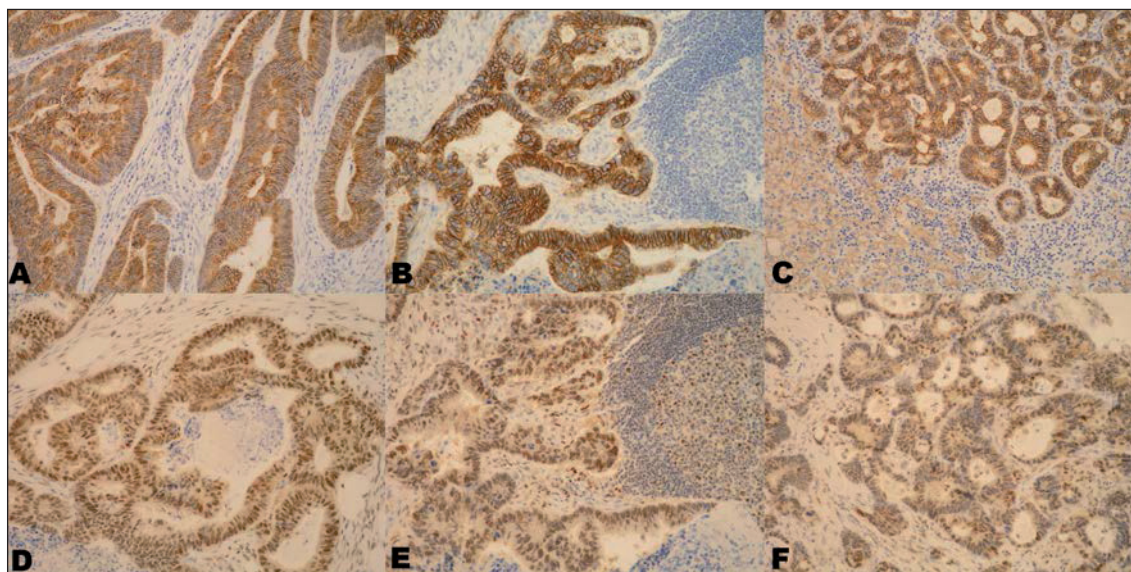
		Dukes						P
		B		C		D		
		N	%	N	%	N	%	
NEDD9 tumor	0	8	15,7%	19	38,0%	8	20,0%	0,093
	1	18	35,3%	10	20,0%	9	22,5%	
	2	12	23,5%	9	18,0%	14	35,0%	
	3	13	25,5%	12	24,0%	9	22,5%	
NEDD9 limfni čvorovi	0			4	8,2%	7	22,6%	0,319
	1			9	18,4%	5	16,1%	
	2			13	26,5%	8	25,8%	
	3			23	46,9%	11	35,5%	
NEDD9 jetra	0					3	7,5%	NA
	1					11	27,5%	
	2					14	35,0%	
	3					12	30,0%	

Preživljenje obzirom na metastaze u limfne čvorove i jetra prikazano je u Tablici 10. Zabilježene su značajne razlike (P = 0,029) te je više od polovice ispitanika (55 %) Dukes D podskupine imalo smrtni ishod u odnosu na 27,5 % ispitanika bez metastaza.

**Tablica 10.** Razlike u preživljenju obzirom na pojedine podskupine CRC-a: X<sup>2</sup> test

		Dukes						P
		B		C		D		
		N	%	N	%	N	%	
Smrtni ishod	Preživljenje	37	72,5%	30	60,0%	18	45,0%	0,029
	Smrtni ishod	14	27,5%	20	40,0%	22	55,0%	

Razlike u pojedinim kliničkim pokazateljima obzirom na podskupine CRC-a prikazane su u Tablici 11. Značajne razlike zabilježene su u medijanima broja pozitivnih limfnih čvorova (P < 0,001), udjelu pozitivnih limfnih čvorova (P < 0,001) te duljini preživljenja (P < 0,001).



**Slika 3.** Jaka imunohistokemijska izraženost E-kadherina u primarnom tumoru (A), metastazama u limfnim čvorovima (B), metastazama u jetra (C). Jaka imunohistokemijska izraženost NEDD9 u primarnom tumoru (D), metastazama u limfnim čvorovima (E), metastazama u jetra (F).

**Tablica 11.** Razlike u pojedinim kliničkim pokazateljima obzirom na podskupine CRC-a: Kruskal-Wallisov test

Dukes	N	Aritmetička sredina	SD	Min	Max	Centile			P	
						25.	Medijan	75.		
Veličina tm (mm)	B	51	52,57	20,25	23,00	130,00	40,00	50,00	63,00	0,113
	C	50	46,28	18,11	20,00	100,00	35,00	40,00	50,00	
	D	40	51,95	18,78	20,00	105,00	36,25	50,00	60,00	
Pozitivni limfni čvorovi	B	51	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	<0,001
	C	50	2,60	2,19	1,00	10,00	1,00	2,00	4,00	
	D	40	3,80	4,94	0,00	24,00	0,00	2,00	6,00	
Udio pozitivnih limfnih čvorova	B	51	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	<0,001
	C	50	0,17	0,15	0,01	0,67	0,07	0,12	0,21	
	D	40	0,25	0,26	0,00	0,92	0,00	0,14	0,44	
Duljina preživljenja (dani)	B	51	1359,16	731,60	1,00	2782,00	923,00	1409,00	1744,00	<0,001
	C	50	1321,36	717,12	99,00	2907,00	861,50	1344,00	1816,50	
	D	40	741,48	751,34	5,00	3371,00	164,75	620,50	964,75	

Usporedba izraženosti NEDD9-a i E-kadherina s tradicionalnim prognostičkim čimbenicima (veličina tumora, TNM stadij, operacijski rubovi, MVI, PNI, status limfnih čvorova, dob i spol bolesnika u trenutku postavljanja dijagnoze) u podskupini Dukes B prikazana je u Tablici 12. Nije bilo značajnih korelacijskih koeficijenata.

Usporedba izraženosti NEDD9-a i E-kadherina s tradicionalnim prognostičkim čimbenicima (veličina tumora, TNM stadij, operacijski rubovi, mikroskopska vaskularna invazija, perineuralna invazija, status limfnih čvorova, dob i spol bolesnika u trenutku postavljanja dijagnoze) u podskupini Dukes C prikazana je u Tablici 13. Značajne su pozitivne korelacije IIB E-kadherina u primarnom tumoru s dobi ( $\rho = 0,311$ ,  $P = 0,028$ ) te NEDD9-a u primarnom tumoru s N klasifikacijom ( $\rho = 0,307$ ,  $P = 0,030$ ) dok je značajna negativna korelacija zabilježena između IIB E-kadherina u primarnom tumoru s veličinom tumora ( $\rho = -0,289$ ,  $P = 0,042$  – što upućuje da je veća izraženost E-kadherina u primarnom tumoru kod manjih tumora).

Nije bilo značajnih korelacijskih koeficijenata između izraženosti NEDD9-a i E-kadherina s tradicionalnim prognostičkim čimbenicima (veličina tumora, TNM stadij, operacijski rubovi, MVI, PNI, status limfnih čvorova, dob i spol bolesnika u trenutku postavljanja dijagnoze) u podskupini Dukes D (Tablica 14.)

U Tablicama 15. do 20. kao i na Slikama 4. do 9. prikazane su Kaplan-Meierove krivulje preživljenja, kao i *log-rank* analize preživljenja. Nije bilo značajnih razlika u preživljenju obzirom na izraženost E-kadherina te NEDD9-a u primarnom tumoru, metastazama u limfne čvorove kao ni u jetrenim metastazama.

**Tablica 12.** Usporedba izraženosti NEDD9-a i E-kadherina s tradicionalnim prognostičkim čimbenicima (veličina tumora, TNM stadij, operacijski rubovi, mikroskopska vaskularna invazija, perineuralna invazija, status limfnih čvorova, dob i spol bolesnika u trenutku postavljanja dijagnoze) u podskupini Dukes B: Spearmanovi rho i Kendallovi tau\_b koeficijenti korelacije

		<b>E-kadherin primarni tumor IIB</b>	<b>NEDD9 tumor</b>
Dob (godine)	Rho	-0,090	-0,254
	P	0,531	0,072
	N	51	51
Veličina tumora (mm)	Rho	-0,236	-0,092
	P	0,095	0,520
	N	51	51
T klasifikacija*	Rho		
	P		
	N	51	51
N klasifikacija*	Rho		
	P		
	N	51	51
M klasifikacija*	Rho		
	P		
	N	51	51
Operacijski rubovi*	Rho		
	P		
	N	51	51
Mikroskopska vaskularna invazija	Rho	0,050	0,189
	P	0,725	0,185
	N	51	51
Perineuralna invazija	Rho	0,074	0,200
	P	0,607	0,159
	N	51	51
Udio pozitivnih limfnih čvorova*	Rho		
	P		
	N	51	51
Spol	Tau_b	0,148	-0,092
	P	0,291	0,479
	N	51	51
Duljina preživljenja (dani)	Rho	-0,134	0,137
	P	0,348	0,336
	N	51	51

\*Vrijednosti su bile konstantne te nije bilo moguće izračunati korelacijske koeficijente.

**Tablica 13.** Usporedba izraženosti NEDD9-a i E-kadherina s tradicionalnim prognostičkim čimbenicima (veličina tumora, TNM stadij, operacijski rubovi, mikroskopska vaskularna invazija, perineuralna invazija, status limfnih čvorova, dob i spol bolesnika u trenutku postavljanja dijagnoze) u podskupini Dukes C: Spearmanovi rho i Kendalovi tau\_b koeficijenti korelacije

		<b>E-kadherin primarni tumor IIB</b>	<b>E-kadherin limfni čvorovi IIB</b>	<b>NEDD9 tumor</b>	<b>NEDD9 limfni čvorovi</b>
Dob (godine)	Rho	0,311	-0,037	-0,015	-0,249
	P	<b>0,028</b>	0,799	0,917	0,085
	N	50	49	50	49
Veličina tumora (mm)	Rho	-0,289	0,074	0,027	0,201
	P	<b>0,042</b>	0,614	0,852	0,167
	N	50	49	50	49
T klasifikacija*	Rho				
	P				
	N	50	49	50	49
N klasifikacija	Rho	0,048	0,048	0,307	0,198
	P	0,741	0,744	<b>0,030</b>	0,173
	N	50	49	50	49
M klasifikacija*	Rho				
	P				
	N	50	49	50	49
Operacijski rubovi	Rho	0,102	0,073	0,196	0,142
	P	0,481	0,619	0,172	0,330
	N	50	49	50	49
Mikroskopska vaskularna invazija	Rho	-0,105	0,000	0,006	0,157
	P	0,469	1,000	0,965	0,280
	N	50	49	50	49
Perineuralna invazija	Rho	0,048	-0,047	0,026	0,240
	P	0,741	0,750	0,856	0,097
	N	50	49	50	49
Udio pozitivnih limfnih čvorova	Rho	-0,118	0,078	0,165	0,066
	P	0,413	0,596	0,252	0,654
	N	50	49	50	49
Spol	Tau_b	0,161	0,105	-0,077	0,102
	P	0,254	0,464	0,556	0,448
	N	50	49	50	49
Duljina preživljenja (dani)	Rho	-0,243	0,243	-0,222	-0,240
	P	0,089	0,093	0,122	0,097
	N	50	49	50	49

Legenda IIB, imunohistokemijski indeks bojanja.

\*Vrijednosti su bile konstantne te nije bilo moguće izračunati korelacijske koeficijente.

**Tablica 14.** Usporedba izraženosti NEDD9-a i E-kadherina s tradicionalnim prognostičkim čimbenicima (veličina tumora, TNM stadij, operacijski rubovi, mikroskopska vaskularna invazija, perineuralna invazija, status limfnih čvorova, dob i spol bolesnika u trenutku postavljanja dijagnoze) u podskupini Dukes D: Spearmanovi rho i Kendallovi tau\_b koeficijenti korelacije

		E-kadherin primarni tumor IIB	E-kadherin limfni čvorovi IIB	E-kadherin jetra IIB	NEDD9 tumor	NEDD9 limfni čvorovi	NEDD9 jetra
Dob (godine)	Rho	0,245	-0,048	0,305	-0,084	-0,139	0,052
	P	0,127	0,799	0,055	0,605	0,457	0,748
	N	40	31	40	40	31	40
Veličina tumora (mm)	Rho	-0,166	-0,281	-0,265	-0,025	0,080	0,175
	P	0,305	0,126	0,098	0,880	0,669	0,281
	N	40	31	40	40	31	40
T klasifikacija	Rho	0,000	-0,191	0,000	0,000	0,047	0,299
	P	1,000	0,304	1,000	1,000	0,803	0,061
	N	40	31	40	40	31	40
N klasifikacija	Rho	0,263	0,345	0,084	0,106	0,261	0,195
	P	0,102	0,057	0,604	0,515	0,156	0,227
	N	40	31	40	40	31	40
M klasifikacija*	Rho						
	P						
	N	40	31	40	40	31	40
Operacijski rubovi	Rho	0,060	-0,334	0,086	-0,108	-0,255	0,015
	P	0,711	0,066	0,598	0,507	0,166	0,929
	N	40	31	40	40	31	40
Mikroskopska vaskularna invazija	Rho	0,292	-0,022	0,176	-0,053	-0,041	0,108
	P	0,067	0,907	0,278	0,743	0,825	0,508
	N	40	31	40	40	31	40
Perineuralna invazija	Rho	0,070	0,041	0,225	0,039	0,192	-0,094
	P	0,668	0,826	0,163	0,810	0,300	0,563
	N	40	31	40	40	31	40
Udio pozitivnih limfnih čvorova	Rho	0,200	0,372	-0,016	0,026	0,451	0,175
	P	0,217	<b>0,039</b>	0,922	0,872	<b>0,011</b>	0,281
	N	40	31	40	40	31	40
Spol	Tau_b	0,177	0,249	0,107	0,129	0,207	0,217
	P	0,263	0,157	0,497	0,378	0,217	0,143
	N	40	31	40	40	31	40
Duljina preživljenja (dani)	Rho	-0,137	-0,075	-0,292	-0,035	-0,229	0,068
	P	0,398	0,688	0,067	0,829	0,215	0,676
	N	40	31	40	40	31	40

Legenda IIB, imunohistokemijski indeks bojanja.

\*Vrijednosti su bile konstantne te nije bilo moguće izračunati korelacijske koeficijente.

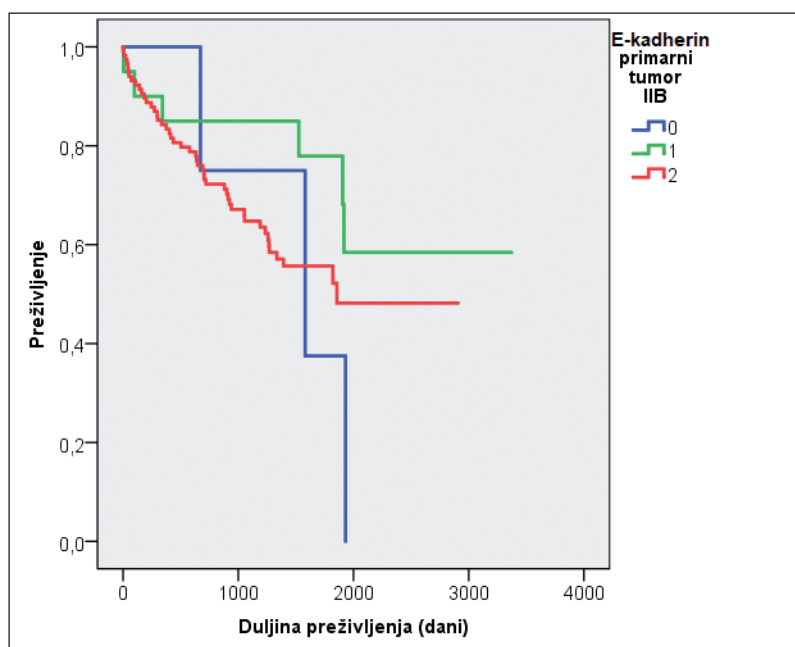


**Tablica 15.** Analiza preživljenja obzirom na izraženost E-kadherina u primarnom tumoru:  
*log-rank test*

E-kadherin primarni tumor IIB	Total N	Broj smrtnih slučajeva	Cenzorirani	
			N	Udio
0	4	3	1	25,0%
1	20	6	14	70,0%
2	117	47	70	59,8%
Ukupno	141	56	85	60,3%

	Vrijednost	df	P
Log Rank (Mantel-Cox)	2,233	2	0,327

Legenda IIB, imunohistokemijski indeks bojanja.



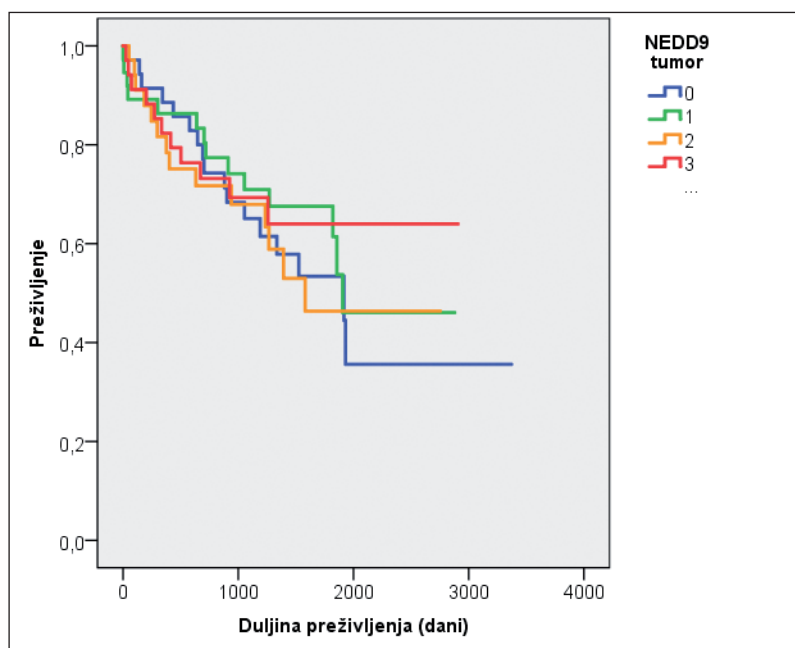
**Slika 4.** Analiza preživljenja obzirom na izraženost E-kadherina u primarnom tumoru

**Tablica 16.** Analiza preživljenja obzirom na izraženost NEDD9-a u primarnom tumoru: *log-rank test*

NEDD9 primarni tumor IIB	Total N	Broj smrtnih slučajeva	Cenzorirani	
			N	Udio
0	35	17	18	51,4%
1	37	14	23	62,2%
2	35	14	21	60,0%
3	34	11	23	67,6%
Ukupno	141	56	85	60,3%

	Vrijednost	df	P
Log Rank (Mantel-Cox)	1,338	3	0,720

Legenda IIB, imunohistokemijski indeks bojanja



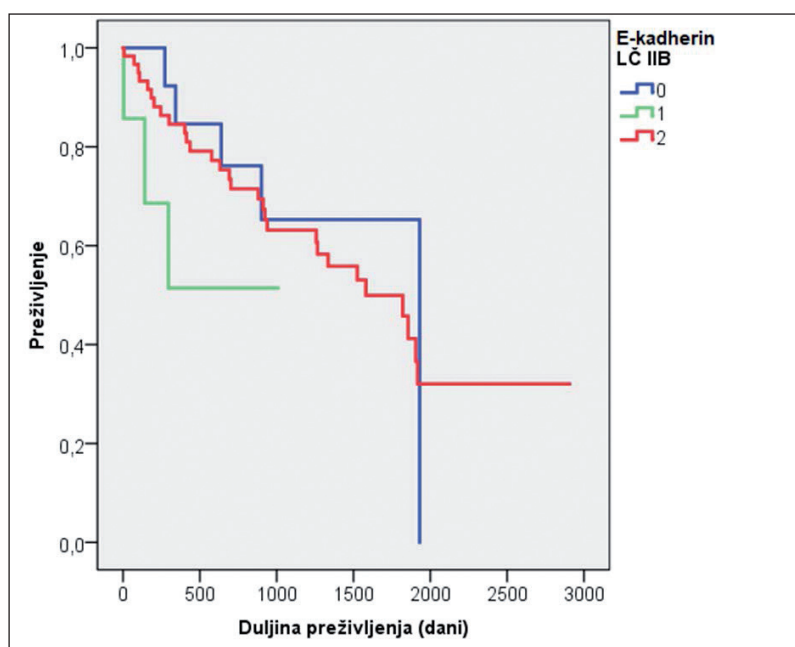
**Slika 5.** Analiza preživljenja obzirom na izraženost NEDD9-a u primarnom tumoru

**Tablica 17.** Analiza preživljenja obzirom na izraženost E-kadherina u limfnim čvorovima:  
*log-rank test*

E-kadherin limfni čvorovi IIB	Total N	Broj smrtnih slučajeva	Cenzorirani	
			N	Udio
0	13	5	8	61,5%
1	7	3	4	57,1%
2	60	29	31	51,7%
Ukupno	80	37	43	53,8%

	Vrijednost	df	P
Log Rank (Mantel-Cox)	2,193	3	0,334

Legenda IIB, imunohistokemijski indeks bojanja

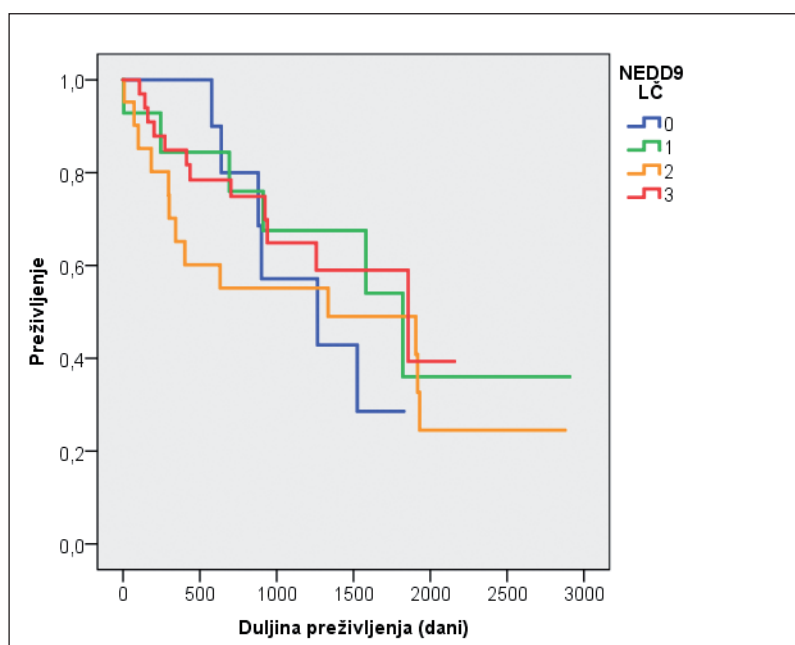


**Slika 6.** Analiza preživljenja obzirom na izraženost E-kadherina u limfnim čvorovima

**Tablica 18.** Analiza preživljenja obzirom na izraženost NEDD9-a u limfnim čvorovima:  
log-rank test

NEDD9 limfni čvorovi	Total N	Broj smrtnih slučajeva	Cenzorirani	
			N	Udio
0	11	6	5	45,5%
1	14	6	8	57,1%
2	21	13	8	38,1%
3	34	12	22	64,7%
Ukupno	80	37	43	53,8%

	Vrijednost	df	P
Log Rank (Mantel-Cox)	1,253	3	0,740



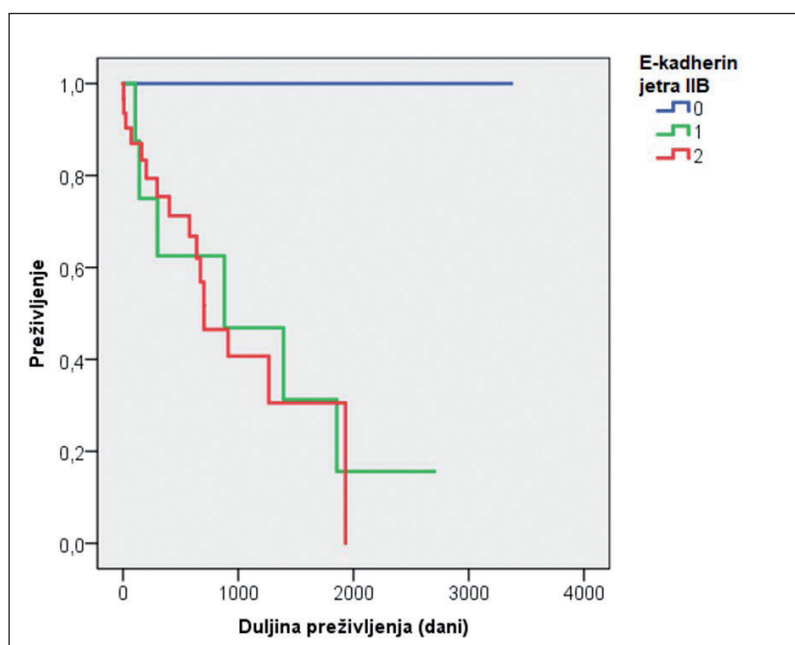
**Slika 7.** Analiza preživljenja obzirom na izraženost NEDD9-a u limfnim čvorovima

**Tablica 19.** Analiza preživljenja obzirom na izraženost E-kadherina u metastazama u jetra:  
*log-rank test*

E-kadherin limfni čvorovi IIB	Total N	Broj smrtnih slučajeva	Cenzorirani	
			N	Udio
0	1	0	1	100,0%
1	8	6	2	25,0%
2	31	16	15	48,4%
Ukupno	40	22	18	45,0%

	Vrijednost	df	P
Log Rank (Mantel-Cox)	2,072	3	0,355

Legenda IIB, imunohistokemijski indeks bojanja

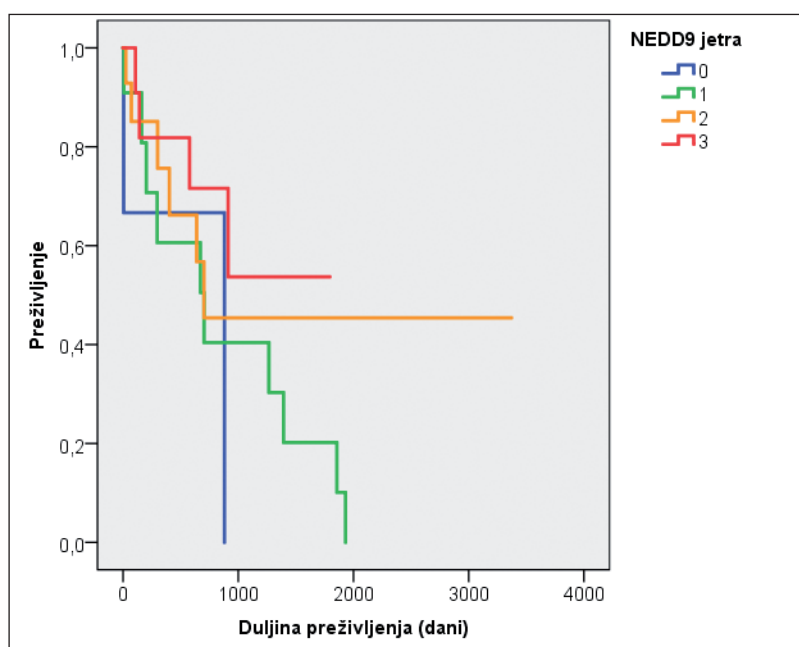


**Slika 8.** Analiza preživljenja obzirom na izraženost E-kadherina u metastazama u jetra

**Tablica 20.** Analiza preživljenja obzirom na izraženost NEDD9-a u metastazama u jetra:  
log-rank test

NEDD9 limfni čvorovi	Total N	Broj smrtnih slučajeva	Cenzorirani	
			N	Udio
0	3	2	1	33,3%
1	11	10	1	9,1%
2	14	6	8	57,1%
3	12	4	8	66,7%
Ukupno	40	22	18	45,0%

	Vrijednost	df	P
Log Rank (Mantel-Cox)	3,369	3	0,339



**Slika 9.** Analiza preživljenja obzirom na izraženost NEDD9-a u metastazama u jetra

## 6. RASPRAVA

CRC je heterogena bolest s različitom kliničkom prezentacijom, molekularnim karakteristikama, odgovorom na liječenje i prognozom preživljenja. Iako je dokazana prognostička vrijednost klasičnih prognostičkih čimbenika i dalje se nastoje otkriti novi prognostički čimbenici za CRC koji će pomoći u razotkrivanju očekivanog biološkog ponašanja. Ovaj rad imao je za cilj ukazati na ulogu izraženosti E-kadherina i NEDD9-a u različitim podskupinama CRC-a, o čemu postoje nekonzistentni literaturni podaci. Rezultati istraživanja Dorudija i sur. prvi su klinički dokaz negativne povezanosti izraženosti E-kadherina s histološkim gradusom i Dukesovom klasifikacijom. Izvijestio je da 85,7 % nediferenciranih CRC-a ne izražava E-kadherin, za razliku od 81,2 % dobro i umjereno diferenciranih CRC-a koji izražavaju E-kadherin (270). U studiji Gagliardiya i sur. učinjena je distinkcija između membranske i citoplazmatske izraženosti E-kadherina te su dokazali da u karcinomima rektuma gubitak membranske izraženosti korelira s višim tumorskim gradusom (271). Mohri i sur. su analizirali izraženost E-kadherina koristeći trostupanjsku Okovu klasifikaciju na 100 uzoraka CRC-a svih stadija. Izraženost E-kadherina je bila potpuno očuvana u 43 uzorka, djelomično očuvana u 32 uzorka te negativna u 25 uzoraka. Djelomično očuvana ili negativna izraženost E-kadherina bila je povezana s višim kliničkim stadijem, tumorskim probojem, nediferenciranim karcinomima, zahvaćenošću većeg broja limfnih čvorova, jetrenim metastazama, limfovaskularnom invazijom, povećanom učestalošću povrata bolesti, smanjenim preživljenjem bez povrata bolesti (DFS) i OS (273). Gu i sur. su analizirali imunohistokemijsku izraženost E-kadherina na uzorcima 32 CRC-a te su dokazali pozitivnu izraženost u 46,9 % uzoraka, a u metastatskim CRC-ima je dokazano i značajno smanjenje izraženosti E-kadherina na samo 20 % uzoraka (273). U radu koji je procjenjivao povezanost izraženosti E-kadherina i koneksina na 151 uzorku CRC-a, Kanczuga-Koda i sur. su izvijestili o pozitivnoj membranskoj izraženosti E-kadherina u 35,1 % (53) uzoraka CRC-a. U 83 % (44) tih uzoraka CRC-a pokazana je pozitivna citoplazmatska izraženost E-kadherina (274). Iako se analizirala samo membranska izraženost E-kadherina te je skupina bolesnika bila usporediva s našom podskupinom bolesnika s CRC-om koji nije metastazirao, Tóth i sur. su našli pozitivnu izraženost E-kadherina u znatno manjem postotku uzoraka (61,7 % uzoraka karcinoma kolona i 54,8 % uzoraka karcinoma rektuma). Smanjena izraženost E-kadherina je korelirala s razvojem metastatske bolesti, ali bez statističke značajnosti (275). Slične rezultate objavili su 2012. godine Elzagheid i sur. gdje je 59 % CRC-a svih stadija ( $n = 230$ ) izražavalo E-kadherin. Gubitak izraženosti E-kadherina je bio statistički značajno povezan sa starijom životnom dobi ( $P < 0.03$ ), a granično statistički značajno s višim stadijem ( $P < 0.09$ ) i tumorskim metastazama ( $P < 0.09$ ) (276). U svom radu Kim i sur. su analizirali izraženost E-kadherina na 689 uzoraka CRC-a svih stadija te su našli očuvanu izraženost u 48 % (333) uzoraka. Gubitak izraženosti E-kadherina je bio povezan sa starijom dobi, infiltrativnim tumorskim rastom i *BRAF* mutacijom ( $P < 0.003$ ) (277). Za razliku od svih dosad navedenih studija, Yun i sur. su analizirajući 409 uzoraka CRC-a stadija III, našli pozitivnu izraženost u 98,3 % uzoraka,

što je znatno više u usporedbi s izraženošću E-kadherina u našoj skupini bolesnika istog stadija. Izraženost E-kadherina je bila povezana s dobrom do umjerenom diferenciranošću karcinoma i statusom MSI (278). U svojoj studiji, Palaglia i sur. su analizirajući CRC-e s i bez metastaza u limfne čvorove, pronašli da je u 72,3 % (47) uzoraka pozitivna izraženost E-kadherina, što se podudara s našim rezultatima, ali s aberantnom izraženosti u 51 % uzoraka (279). Koristeći u ovom radu klasifikaciju inicijalno razvijenu za karcinom želuca, pokazali su u 67,7 % (44) uzoraka CRC-a membransku izraženost E-kadherina što je znatno manje u usporedbi s 83,33 % (20) uzoraka normalne sluznice što se možda može objasniti citoplazmatskom redistribucijom (279). Slične rezultate u svom radu prikazali su Miladi-Abdennadher i sur. koji su utvrdili pozitivnu membransku izraženost E-kadherina u 74,3 % uzoraka CRC-a. Izraženost E-kadherina je korelirala sa životnom dobi kod dijagnoze ( $P = 0.01$ ) i veličinom tumora ( $P = 0.02$ ) (280). U našem radu našli smo pozitivnu korelaciju izraženosti E-kadherina i životne dobi kod dijagnoze u podskupini Dukes C što odgovara rezultatima Miladi-Abdennadhera i sur., ali je oprečna rezultatima Elzagheida i sur. te Kima i sur. Ostaje nejasno zašto su rezultati oprečni, pogotovo zato što su u studiju Elzagheida i sur. bili uključeni bolesnici svih stadija CRC-a. U našoj studiji je zabilježena negativna korelacija između IIB E-kadherina u primarnom tumoru u podskupini Dukes C s veličinom tumora ( $\rho = -0,289$ ,  $P = 0,042$ ), što upućuje da je veća izraženost E-kadherina u primarnom tumoru kod manjih tumora. Miladi i sur. te Kwak i sur. su u svojim studijama zabilježili pozitivne korelacije između veličine tumora te izraženosti E-kadherina. Manji broj studija je analizirao izraženost E-kadherina u metastatski promijenjenim limfnim čvorovima te povezanost izraženosti E-kadherina u primarnom tumoru s metastaziranjem u limfne čvorove. Dorudi i sur. su našli da je 80,6 % uzoraka (29/36) E-kadherin negativnih CRC-a metastazirao u limfne čvorove. Također, zanimljivo je istaknuti da je u 9 od 26 (34,6 %) uzoraka metastatski promijenjenih limfnih čvorova pozitivna izraženost E-kadherina, iako primarni tumor nije izražavao E-kadherin (270). To je objašnjeno mogućnošću metastaziranja stanica iz neanaliziranog područja tumora koje su izražavale E-kadherin, tj. kao posljedica heterogenosti tumora ili da su se tijekom metastaziranja akumulirale nove mutacije koje su utjecale na promjenu izraženosti E-kadherina. U studiji Roce i sur. nije dokazana povezanost između izraženosti E-kadherina i metastaza u limfnim čvorovima (281). Za razliku od prethodno spomenute studije, studija Kwaka i sur. je pokazala kako je smanjena izraženost E-kadherina koja je primijećena u 15 % uzoraka kolorektalnog karcinoma statistički povezana s metastaziranjem u limfne čvorove ( $P = 0.004$ ) (282). Lugli i sur. su u svom radu bolesnike s CRC-om podijelili u tri skupine; MMR-nemutirani, *MLH1*- i HNPCC. U MMR-nemutiranih CRC-a i *MLH1*-CRC-a gubitak membranske izraženosti E-kadherina je bio povezan s višim N stadijem ( $P < 0.0001$ ,  $P = 0.05$ ). U HNPCC-a se nije dokazala povezanost gubitka izraženosti E-kadherina s kliničko-patološkim čimbenicima (283). Karamitopoulou i sur. analizirali su izraženost različitih proteinskih biljega u 221 uzorku CRC-a te su našli da je gubitak izraženosti E-kadherina značajno povezan s pozitivnim limfnim čvorovima ( $P = 0.007$ ). Kako je



jedino gubitak izraženosti E-kadherina i u multivarijantnoj analizi bio neovisni čimbenik statusa limfnih čvorova, predložili su da se određuje u svakodnevnom radu kako bi poboljšao ishod liječenja (284). Özgüven i sur. su analizirajući 60 uzoraka CRC-a prvog do trećeg stadija pronašli da smanjena izraženost E-kadherina značajno korelira s metastaziranjem u limfne čvorove ( $P = 0.01$ ) (285). Elzagheid i sur. su također u svom radu pronašli statistički značajnu povezanost između gubitka izraženosti E-kadherina i zahvaćenosti limfnih čvorova ( $P = 0.02$ ) (276). Metaanaliza 27 studija u koje je bilo uključeno ukupno 4244 bolesnika s CRC-om je pokazala da je smanjena izraženost E-kadherina povezana sa statusom limfnih čvorova (OR 0.49 (95%CI: 0.32–0.74,  $Z = 3.02$ ,  $P = 0.002$ )) (286). U studiji Kima i sur. gubitak izraženosti E-kadherina je bio značajno povezan s višim N stadijem (OR, 1.73; 95% CI, 1.23–2.43;  $P = 0.001$ ) (277). Prvi su izraženost E-kadherina u jetrenim metastazama CRC-a analizirali Dorudi i sur. te našli negativnu izraženost E-kadherina u 7 od 8 uzoraka jetrenih metastaza (270). Nakon njih, Gagliardi i sur. su uspoređivali izraženost E-kadherina u jetrenim metastazama te u primarnom tumoru te su našli negativnu izraženost u 50 % uzoraka jetrenih metastaza, iako je 80 % uzoraka primarnih tumora dobro izražavalo E-kadherin (271). I Mohri i sur. su našli povezanost negativne izraženosti E-kadherina i jetrenih metastaza (273). Iako u svom radu nisu uspjeli pokazati da je smanjena izraženost E-kadherina rizični čimbenik za hematogeno metastaziranje, u radu Ikeguchija i sur. u 80 % bolesnika koji su imali hematogene metastaze bila je smanjena izraženost E-kadherina u primarnom tumoru (287). Kaihara i sur. su na svom uzorku od 48 bolesnika s CRC-om zamijetili sniženju izraženost E-kadherina u primarnom tumoru koji je dao jetrene metastaze, što se podudara s rezultatima Ikeguchija i sur (288). Od svih kliničko-patoloških čimbenika jedino su metastaze u limfnim čvorovima pokazale povezanost s jetrenim metastazama. Na relativno malom uzorku bolesnika ( $n = 26$ ) kojima je učinjen kirurški zahvat zbog primarnog tumora i jetrenih metastaza, Kim i sur. su pokazali da je zbroj izraženosti E-kadherina u tumorskom centru veći od onog na tumorskom rubu u primarnom tumoru i jetrenim metastazama ( $P < 0.001$  do  $0.006$ ). Izraženost mRNA E-kadherina bila je najveća u normalnom jetrenom tkivu, potom u uzorku primarnog tumora, a najmanja u uzorku jetrenih metastaza ( $P < 0.001$  do  $0.002$ ) (277). Za razliku od njih, u studiji Truanta i sur. izraženost mRNA E-kadherina je bila značajno veća u tkivu jetrenih metastaza u odnosu na normalno jetreno tkivo te je korelirala s TNM stadijem primarnog tumora; više vrijednosti su nađene za prvi i drugi stadij TNM klasifikacije. Također, više vrijednosti mRNA E-kadherina u jetrenim metastazama su bile povezane s rjeđom pojavnošću metastaza drugih anatomskih sjela nakon resekcije jetrenih metastaza (289). Elzagheid i sur. su u studiji s 42 bolesnika s CRC-om Dukes stadija B, C i D pokazali da je indeks membranske izraženosti E-kadherina statistički značajno veći u primarnom tumoru u odnosu na metastaze ( $P = 0.0001$ ) (290). Mi smo to pokazali samo za skupinu bolesnika s CRC-om koji je metastazirao u jetra (Dukes stadij D). Također, pokazali su da su indeksi membranske i citoplazmatske izraženosti veći u jetrenim metastazama u odnosu na metastaze drugih anatomskih sjela ( $P = 0.034$ ,  $P = 0.022$ ) (290). U našem istraži-

vanju nismo određivali citoplazmatsku izraženost. U istom radu su pokazali da je indeks citoplazmatske izraženosti E-kadherina značajan prediktivni čimbenik preživljenja bez povrata bolesti (DFS) ( $P = 0.042$ , univarijatna analiza) te jaku negativnu korelaciju između njih ( $P = 0.006$ , multivarijatna analiza). Indeks membranske izraženosti je značajan pozitivni prediktivni čimbenik za preživljenje specifično za bolest (DSS) ( $P = 0.016$ ) (290). Kwak i sur. su pokazali da je smanjena izraženost E-kadherina u primarnom tumoru povezana s kraćim OS ( $P = 0.028$ ), ali u multivarijatnoj analizi nije bilo statistički značajne razlike (282). Kang i sur. su pokazali da je gubitak izraženosti E-kadherina značajno korelirao s lošijim OS-om u bolesnika s CRC-om drugog i trećeg stadija (291). Yun i sur. su pokazali da je smanjena izraženost E-kadherina povezana s lošijim OS-om u univarijatnoj analizi ( $P = 0.016$ ), ali ne i u multivarijatnoj analizi. U multivarijatnoj analizi je negativna izraženost E-kadherina bila loš prognostički čimbenik za DFS ( $P = 0.002$ , relativni rizik = 5.098, 95 % CI = 1.801–14.430) (278). Rezultati metaanalize Hea i sur. su pokazali da je smanjena izraženost E-kadherina značajno povezana s lošijim OS-om u azijskoj populaciji ( $n = 1054$  u 9 studija; HR = 2.86, 95 % CI: 2.13-3.7,  $Z = 7.11$ ;  $P = 0.000$ ), ali ne i u Europljana ( $n = 1552$  u 4 studije; HR = 1.14, 95 % CI: 0.95-1.35,  $Z = 1.39$ ;  $P = 0.165$ ) (286). Fang i sur. su našli značajnu povezanost između izraženosti E-kadherina i stadija Dukes B za stopu petogodišnjeg preživljenja ( $P < 0,01$ ), a povezanost nije nađena za A i C stadij (292). Izraženost E-kadherina bi mogla služiti kao prediktivni čimbenik odgovora na adjuvantnu kemoterapiju u bolesnika s CRC-om. Filiz i sur. su pokazali da smanjena izraženost E-kadherina korelira s kraćim preživljenjem nakon resekcije primarnog tumora ( $P = 0.04$ ) (293). Elzagheid i sur. su u studiji iz 2012. godine pokazali da je pozitivna izraženost E-kadherina značajan prediktivni čimbenik DFS ( $P = 0.009$ ) i DSS ( $P = 0.007$ ) u univarijatnoj analizi. U multivarijatnoj analizi, izraženost E-kadherina se zadržala kao neovisni prediktivni čimbenik DFS-a (HR = 1.56; 95 % CI: 1.01–2.42,  $P = 0.043$ ), ali ne i DSS-a (276). Lee i sur. su pokazali da je aberantna izraženost E-kadherina u invazivnom rubu značajan i neovisan rizični čimbenik za DFS i OS u multivarijatnoj analizi (294). U našoj studiji nije zabilježena razlika u preživljenju obzirom na izraženost E-kadherina u primarnom tumoru, metastazama u limfne čvorove, kao ni u jetrenim metastazama što se podudara s rezultatima metaanalize Hea i sur. na europskoj populaciji. Malo je studija koje su se bavile izraženošću NEDD9-a u CRC-ima. Li i sur. su analizirali izraženost NEDD9-a u 92 uzorka CRC-a i normalnog tkiva. Visoka izraženost je pronađena u 68 od 92 uzorka CRC-a u usporedbi s 12 od 92 uzorka normalnog tkiva, što čini statistički značajnu razliku ( $P < 0.01$ ). Korelacijska analiza je pokazala da je veća izraženost NEDD9-a značajno povezana s višim TNM stadijem ( $P = 0.014$ ), gradusom tumora ( $P = 0.009$ ), pN stadijem ( $P = 0.013$ ) i pM statusom ( $P = 0.047$ ) (295). U našem radu smo pokazali pozitivnu povezanost između izraženosti NEDD9-a u primarnom tumoru te N klasifikacije u podskupini Dukes C. Slične rezultate bismo mogli objasniti time da je i u studiji Lia i sur. najviše bolesnika bilo stadija III. Li i sur. su pokazali da bolesnici s visokom izraženošću NEDD9-a imaju značajnije kraće OS ( $P < 0.01$ ). U multivarijatnoj analizi je poka-

zано да би израženost NEDD9-a mogla služiti kao neovisni prediktivni čimbenik OS (295). Xia i sur. su našli da je израženost NEDD9-a veća u 50 % uzoraka CRC-a u usporedbi s normalnim tkivom (296). Kim i sur. su našli da hipoksija inducira povećanu израženost NEDD9-a u tumorskim staničnim linijama kolona (297). Li i sur. su u svojoj studiji našli povećanu израženost NEDD9-a u svim tumorskim staničnim linijama kolona u usporedbi sa staničnim linijama kolona. Također, povećana израženost NEDD9-a je nađena u 94 % (189/202) uzoraka primarnog tumora u usporedbi s 8 % (3/40) uzoraka normalne sluznice kolona što sugerira da je израženost NEDD9-a povezana sa stadijem bolesti (298). NEDD9 bi mogao biti biljeg agresivnosti CRC-a. Nije pokazana jasna veza između израženosti NEDD9-a i metastatskog statusa CRC-a. Dva su moguća razloga za to, jedan je što su kao metastaze analizirane metastaze u limfnim čvorovima. Primijećeno je da je razina израženosti NEDD9-a veća u tumorskoj staničnoj liniji kolona SW480 nego u metastatskoj tumorskoj staničnoj liniji kolona SW620, iako su obje uzete od istog bolesnika. Kao drugi razlog je navedena moguća potreba za drugim proteinima (PRL-3, S100A4 i BAMBI) koji su odgovorni za nastanak udaljenih metastaza. Njihovi rezultati su pokazali novu ulogu NEDD9-a kao medijatora kanonijskog Wnt/ $\beta$ -catenin signalnog puta za staničnu proliferaciju, migraciju i invaziju. Za razliku od navedenih studija mi nismo uspjeli pokazati povezanost između preživljenja, metastatskog potencijala i израženosti NEDD9-a. To bi se dijelom moglo objasniti i našim relativno malim uzorkom.

## 7. ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata dobivenih u ovom istraživanju može se zaključiti:

1. Obzirom na stupnjevanje E-kadherina u primarnom tumoru, značajne su razlike u IR-u ( $P < 0,001$ ) te IIB-u ( $P < 0,001$ ). Ako promatramo IR na E-kadherin, stupanj 3 je značajno zastupljeniji u tumorima podskupina Dukes B i D, u odnosu na tumore podskupine Dukes C: 39 (76,5 %) i 31 (77,5 %) (podskupine Dukes B i D) u odnosu na 19 (38,0 %) u podskupini Dukes C ( $P < 0,001$ ). Slično je i kod razlika u IIB gdje je stupanj 2 najmanje zastupljen u tumorima podskupine Dukes C (66,0 %) u odnosu na podskupine Dukes B (96,1 %) i D (87,5 %). Također, značajne razlike zabilježene su između metastaza u limfne čvorove i metastaza u jetra u IIB E-kadherina gdje je stupanj 2 reakcije zastupljeniji u tumorima podskupine Dukes B (79,6 %) u odnosu na tumore podskupine Dukes C (67,7 %) ( $P = 0,027$ ).

2. Nisu zabilježene značajne razlike u izraženosti NEDD9-a u CRC-ima s i bez metastaza u limfne čvorove i jetra.

3. Utvrđene su značajne razlike ( $P = 0,029$ ) u preživljenju obzirom na metastaze u limfne čvorove i jetra te je više od polovice ispitanika (55 %) podskupine Dukes D imalo smrtni ishod u odnosu na 27,5 % ispitanika bez metastaza.

4. Značajne razlike zabilježene su u medijanama broja pozitivnih limfnih čvorova ( $P < 0,001$ ), udjelu pozitivnih limfnih čvorova ( $P < 0,001$ ) te duljini preživljenja ( $P < 0,001$ ). Tumori podskupina Dukes C i D imaju značajno veći broj pozitivnih limfnih čvorova u odnosu na podskupinu Dukes B, što je vidljivo i u udjelu pozitivnih limfnih čvorova. Razlike između podskupina Dukes C i D obzirom na udio ( $P = 0,684$ ) i broj pozitivnih limfnih čvorova ( $P = 0,855$ ) nisu bile statistički značajne. Tumori podskupina Dukes B i C se međusobno ne razlikuju u preživljenju ( $P = 0,757$ ) dok se značajne razlike očituju u značajno kraćem preživljenju podskupine Dukes D u odnosu na ostale podskupine ( $P < 0,001$ ).

5. U podskupini Dukes B nije bilo značajnih korelacijskih koeficijenata između izraženosti NEDD9-a i E-kadherina s tradicionalnim prognostičkim čimbenicima (veličina tumora, TNM stadij, operacijski rubovi, MVI, PNI, status limfnih čvorova, dob i spol bolesnika u trenutku postavljanja dijagnoze).

6. U podskupini Dukes C značajne su pozitivne korelacije IIB E-kadherina u primarnom tumoru s dobi ( $\rho = 0,311$ ,  $P = 0,028$ ) te NEDD9-a u primarnom tumoru s N klasifikacijom ( $\rho = 0,307$ ,  $P = 0,030$ ) dok je značajna negativna korelacija zabilježena između IIB E-kadherina u primarnom tumoru s veličinom tumora ( $\rho = -0,289$ ,  $P = 0,042$ ) što upućuje da je veća izraženost E-kadherina u primarnom tumoru kod manjih tumora).

7. U podskupini Dukes D nije bilo značajnih korelacijskih koeficijenata između izraženosti NEDD9-a i E-kadherina s tradicionalnim prognostičkim čimbenicima (veličina tumora, TNM stadij, operacijski rubovi, MVI, PNI, status limfnih čvorova, dob i spol bolesnika u trenutku postavljanja dijagnoze).

8. Nisu nađene značajne razlike u preživljenju obzirom na izraženost E-kadherina te NEDD9-a u primarnom tumoru, metastazama u limfne čvorove kao ni u jetrenim metastazama.

## 8. SAŽETAK

### Imunohistokemijska izraženost NEDD9-a i E-kadherina u bolesnika s metastatskim i nemetastatskim kolorektalnim karcinomima

Kolorektalni karcinom je heterogena bolest s različitom kliničkom prezentacijom, molekularnim karakteristikama, odgovorom na liječenje i prognozom preživljenja. Smatra se da je gubitak izraženosti E-kadherina i pojačana izraženost NEDD9-a čimbenik lošije prognoze u bolesnika s kolorektalnim karcinomom. Cilj naše studije je bio ispitati imunohistokemijsku izraženost NEDD9-a i E-kadherina kao biljega metastatskog potencijala. Analizirana je izraženost NEDD9-a i E-kadherina u 51 uzorku kolorektalnog karcinoma koji nije metastazirao, 50 uzoraka kolorektalnog karcinoma s metastazama u limfne čvorove te 40 uzoraka kolorektalnog karcinoma s jetrenim metastazama. Dodatno je uspoređena izraženost NEDD9-a i E-kadherina s tradicionalnim prognostičkim čimbenicima (veličina tumora, TNM stadij, operacijski rubovi, mikroskopska vaskularna invazija, perineuralna invazija, status limfnih čvorova, dob i spol bolesnika u trenutku postavljanja dijagnoze). Zabilježene su značajne razlike u intenzitetu reakcije ( $P < 0,001$ ) te imunohistokemijskom indeksu bojanja ( $P < 0,001$ ) obzirom na stupnjevanje E-kadherina u primarnom tumoru te između metastaza u limfne čvorove i metastaza u jetra u imunohistokemijskom indeksu bojanja E-kadherina ( $P = 0,027$ ). Nisu nađene značajne razlike u izraženosti NEDD9-a u kolorektalnim karcinomima s i bez metastaza u limfne čvorove i jetra. U podskupinama Dukes B i D nije bilo značajnih korelacijskih koeficijenata između izraženosti NEDD9-a i E-kadherina s tradicionalnim prognostičkim čimbenicima. U podskupini Dukes C značajne su pozitivne korelacije imunohistokemijskog indeksa bojanja E-kadherina u primarnom tumoru s dobi ( $\rho = 0,311$ ,  $P = 0,028$ ) te NEDD9-a u primarnom tumoru s N klasifikacijom ( $\rho = 0,307$ ,  $P = 0,030$ ) dok je značajna negativna korelacija zabilježena između imunohistokemijskog indeksa bojanja E-kadherina u primarnom tumoru s veličinom tumora ( $\rho = -0,289$ ,  $P = 0,042$ ). Nije bilo značajnih razlika u preživljenju obzirom na izraženost E-kadherina te NEDD9-a u primarnom tumoru, metastazama u limfne čvorove kao ni u jetrenim metastazama.

Naši rezultati ukazuju na potencijalnu ulogu određivanja izraženosti E-kadherina i NEDD9-a u primarnom tumoru kao metastatskih biljega u bolesnika s kolorektalnim karcinomom koji je metastazirao u limfne čvorove. Osim toga, ta saznanja bi mogla koristiti pri izboru liječenja.

**Ključne riječi:** kolorektalni karcinom, metastaza, NEDD9, E-kadherin

## 9. SUMMARY

### **Immunohistochemical expression of NEDD9 and E-Cadherin in Patients with Metastatic and Non-Metastatic Colorectal Carcinoma**

Colorectal carcinoma (CRC) is a heterogeneous disease with different clinical presentation, molecular characteristics, response to treatment and survival prognosis. In patients with CRC, the loss of E-Cadherin expression and the higher expression of NEDD9 are considered as factors of worse prognosis. The aim of our study was to analyse immunohistochemical expression of NEDD9 and E-Cadherin as markers of metastatic potential. We have analysed the expression of NEDD9 and E-Cadherin in 51 samples of non-metastatic CRC, 50 samples of CRC with metastases in lymph nodes and 40 samples of CRC with liver metastases. The expression of NEDD9 and E-Cadherin was compared with the traditional prognostic factors (the size of the tumour, TNM stage, surgery margins, microscopic vascular invasion, perineural invasion, and the state of the lymph nodes, the age and sex of the patients at the time of diagnosis) as well. Significant differences in the intensity of reactions ( $P < 0,001$ ) and immunohistochemical index of staining ( $P < 0,001$ ) with regards to E-Cadherin staging in primary tumour were discovered. Significant differences between metastases in lymph nodes and liver metastases regarding the immunohistochemical staining of E-Cadherin were also discovered ( $P = 0,027$ ). No significant differences in the expression of NEDD9 in CRC with or without metastases in lymph nodes and liver were discovered. In Dukes B and D tumours no significant correlation coefficients between the expression of NEDD9 and E-Cadherin and traditional prognostic factors were found. In Dukes C tumours, we found a significant positive correlation of E-Cadherin immunohistochemical staining index in primary tumour with regards to age ( $\rho = 0,311$ ,  $P = 0,028$ ), and positive correlation of NEDD9 in primary tumour regarding the N classification ( $\rho = 0,307$ ,  $P = 0,030$ ), while a significant negative correlation was found between E-Cadherin immunohistochemical staining index in primary tumour regarding the size of tumour ( $\rho = -0,289$ ,  $P = 0,042$ ). No significant differences in survival were found regarding the expression of E-Cadherin and NEDD9 in primary tumour, lymph node metastases, and liver metastases. Our results point to the potential role of determination of E-Cadherin and NEDD9 in primary tumour as metastatic markers, in patients with CRC that has metastasized in lymph nodes. Additionally, these discoveries could be useful for prescribing the correct treatment.

**Key words:** colorectal carcinoma, metastasis, NEDD9, E-Cadherin.

## 10. POPIS LITERATURE

1. Townsend CM Jr, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL, ur. Sabiston Textbook of Surgery. 19. izd. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2012.
2. Gilbert, SF. Developmental Biology. 6. izd. Sunderland: Sinauer Associates, Inc., 2000.
3. Sadler TW, Langman J. Langman's medical embryology. 13. izd.. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2014.
4. Schwartz, SI, Brunicki FC. Schwartz's principles of surgery. ABSITE and board review. 9. izd. New York: McGraw-Hill Medical Pub. Division; 2011.
5. Gray H, Lewis WH. Gray's Anatomy of the Human Body. 20. izd. New York: Bartleby; 2000.
6. Sinnatamby CS. Last's Anatomy: Regional and Applied. 10. izd. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1999.
7. Martini FH, Timmons MJ, Tallitsch RB. Human Anatomy. 7. izd. San Francisco: Pearson Benjamin Cummings; 2012.
8. Anthony L Mescher, ur. Junqueira's basic histology : text and atlas. 14. izd. New York: McGraw-Hill; 2016.
9. GLOBOCAN 2012 [pristupljeno 27.12.2014.] Dostupno na: [globocan.iarc.fr](http://globocan.iarc.fr)
10. Jemal A, Center MM, DeSantis C, Ward EM. Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2010;19(8):1893-907. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-10-0437.
11. Center MM, Jemal A, Ward E. International trends in colorectal cancer incidence rates. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009; 18(6):1688-94. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-09-0090.
12. Bosetti C, Levi F, Rosato V, Bertuccio P, Lucchini F, Negri E, i sur. Recent trends in colorectal cancer mortality in Europe. *Int J Cancer.* 2011;129(1):180-91. doi: 10.1002/ijc.25653.
13. Coleman MP, Quaresma M, Berrino F, Lutz JM, De Angelis R, Capocaccia R, i sur.; CONCORD Working Group. Cancer survival in five continents: a worldwide population-based study (CONCORD). *Lancet Oncol.* 2008;9(8):730-56. doi: 10.1016/S1470-2045(08)70179-7.
14. Croatian Institute of Public Health. Croatian National Cancer registry. Cancer incidence in Croatia 2013. Bulletin No. 38.
15. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell.* 1990;61(5):759-67.
16. Grady WM. Genomic instability and colon cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2004;23(1-2): 11-27.
17. Taketo MM. Shutting down Wnt signal-activated cancer. *Nat Genet.* 2004;36(4):320-2.

18. Behrens J, Jerchow BA, Würtele M, Grimm J, Asbrand C, Wirtz R, i sur. Functional interaction of an axin homolog, conductin, with beta-catenin, APC, and GSK3beta. *Science*. 1998;280(5363):596-9.
19. Rajagopalan H, Jallepalli PV, Rago C, Velculescu VE, Kinzler KW, Vogelstein B, i sur. Inactivation of hCDC4 can cause chromosomal instability. *Nature*. 2004;428(6978):77-81. doi: 10.1038/nature02313.
20. Grady WM, Carethers JM. Genomic and epigenetic instability in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology*. 2008;135(4):1079-99. doi: 10.1053/j.gastro.2008.07.076.
21. Gervaz P, Bucher P, Morel P. Two colons-two cancers: paradigm shift and clinical implications. *J Surg Oncol*. 2004;88(4):261-6. doi: 10.1002/jso.20156.
22. Jiricny J. The multifaceted mismatch-repair system. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2006;7(5):335-46. doi: 10.1038/nrm1907.
23. Martín-López JV, Fishel R. The mechanism of mismatch repair and the functional analysis of mismatch repair defects in Lynch syndrome. *Fam Cancer*. 2013;12(2):159-68. doi: 10.1007/s10689-013-9635-x.
24. Li GM. Mechanisms and functions of DNA mismatch repair. *Cell Res*. 2008;18(1):85-98. doi: 10.1038/cr.2007.115.
25. Duval A, Hamelin R. Genetic instability in human mismatch repair deficient cancers. *Ann Genet* 2002;45:71-5.
26. Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, Sidransky D, Eshleman JR, Burt RW, i sur. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res*. 1998;58(22):5248-57.
27. Jenkins MA, Hayashi S, O'Shea AM, Burgart LJ, Smyrk TC, Shimizu D, i sur.; Colon Cancer Family Registry. Pathology features in Bethesda guidelines predict colorectal cancer microsatellite instability: a population-based study. *Gastroenterology*. 2007;133(1):48-56. doi: 10.1053/j.gastro.2007.04.044.
28. Popat S, Hubner R, Houlston RS. Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. *J Clin Oncol*. 2005;23(3):609-18. doi: 10.1200/JCO.2005.01.086.
29. Gryfe R, Kim H, Hsieh ET, Aronson MD, Holowaty EJ, Bull SB, i sur. Tumor microsatellite instability and clinical outcome in young patients with colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2000 Jan 13;342:69-77. doi: 10.1056/NEJM200001133420201.
30. Bapat B, Lindor NM, Baron J, Siegmund K, Li L, Zheng Y, i sur. The association of tumor microsatellite instability phenotype with family history of colorectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009;18(3):967-75. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-08-0878.
31. Toyota M, Ahuja N, Ohe-Toyota M, Herman JG, Baylin SB, Issa JP. CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96(15):8681-6.



32. Greger V, Passarge E, Höpping W, Messmer E, Horsthemke B. Epigenetic changes may contribute to the formation and spontaneous regression of retinoblastoma. *Hum Genet.* 1989;83(2):155-8.
33. Feinberg AP, Tycko B. The history of cancer epigenetics. *Nat Rev Cancer.* 2004;4(2):143-53. doi: 10.1038/nrc1279.
34. Curtin K, Slattery ML, Samowitz WS. CpG island methylation in colorectal cancer: past, present and future. *Patholog Res Int.* 2011;2011:902674. doi: 10.4061/2011/902674.
35. Ward RL, Cheong K, Ku SL, Meagher A, O'Connor T, Hawkins NJ. Adverse prognostic effect of methylation in colorectal cancer is reversed by microsatellite instability. *J Clin Oncol.* 2003;21(20):3729-36. doi: 10.1200/JCO.2003.03.123.
36. Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature.* 2012;487(7407):330-7. doi: 10.1038/nature11252.
37. Guinney J, Dienstmann R, Wang X, de Reynies A, Schlicker A, Soneson C, et al. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med.* 2015;21(11):1350-6. doi: 10.1038/nm.3967.
38. Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. 1889. *Cancer Metastasis Rev.* 1989;8(2):98-101.
39. Kinsey DL. An experimental study of preferential metastasis. *Cancer.* 1960;13:674-6.
40. Greene HS, Harvey EK. The relationship between the dissemination of tumor cells and the distribution of metastases. *Cancer Res.* 1964;24:799-811.
41. Auerbach R, Lu WC, Pardon E, Gumkowski F, Kaminska G, Kaminski M. Specificity of adhesion between murine tumor cells and capillary endothelium: an in vitro correlate of preferential metastasis in vivo. *Cancer Res.* 1987;47(6):1492-6.
42. Ewing J. *Neoplastic diseases.* 3. izd. Philadelphia: WB Saunders; 1928.
43. Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression. *Nat Rev Cancer.* 2002;2(6):442-54. doi: 10.1038/nrc822.
44. Tse JC, Kalluri R. Mechanisms of metastasis: epithelial-to-mesenchymal transition and contribution of tumor microenvironment. *J Cell Biochem.* 2007;101(4):816-29. doi: 10.1002/jcb.21215.
45. Gottardi CJ, Wong E, Gumbiner BM. E-cadherin suppresses cellular transformation by inhibiting beta-catenin signaling in an adhesion-independent manner. *J Cell Biol.* 2001;153(5):1049-60.
46. Lynch HT, de la Chapelle A. Hereditary colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2003;348(10):919-32. doi: 10.1056/NEJMra012242.
47. Cunningham D, Atkin W, Lenz HJ, Lynch HT, Minsky B, Nordlinger B, et al. Colorectal cancer. *Lancet.* 2010;375(9719):1030-47. doi: 10.1016/S0140-6736(10)60353-4.

48. Sieber OM, Lipton L, Crabtree M, Heinemann K, Fidalgo P, Phillips RK, i sur. Multiple colorectal adenomas, classic adenomatous polyposis, and germ-line mutations in MYH. *N Engl J Med.* 2003;348(9):791-9. doi:10.1056/NEJMoa025283.
49. Lynch HT, Shaw MW, Magnuson CW, Larsen AL, Krush AJ. Hereditary factors in cancer. Study of two large midwestern kindreds. *Arch Intern Med.* 1966;117(2):206-12.
50. Win AK, Lindor NM, Winship I, Tucker KM, Buchanan DD, Young JP, i sur. Risks of colorectal and other cancers after endometrial cancer for women with Lynch syndrome. *J Natl Cancer Inst.* 2013;105(4):274-9. doi: 10.1093/jnci/djs525.
51. Strate LL, Syngal S. Hereditary colorectal cancer syndromes. *Cancer Causes Control.* 2005;16(3):201-13. doi: 10.1007/s10552-004-3488-4.
52. Parry S, Win AK, Parry B, Macrae FA, Gurrin LC, Church JM, i sur. Metachronous colorectal cancer risk of mismatch repair gene mutation carriers: the advantage of more extensive colon surgery. *Gut.* 2011;60(7):950-7. doi: 10.1136/gut.2010.228056.
53. Bertagnolli MM, Niedzwiecki D, Compton CC, Hahn HP, Hall M, Damas B, i sur. Microsatellite instability predicts improved response to adjuvant therapy with irinotecan, fluorouracil, and leucovorin in stage III colon cancer: Cancer and Leukemia Group B Protocol 89803. *J Clin Oncol.* 2009;27(11):1814-21. doi: 10.1200/JCO.2008.18.2071.
54. Hendriks YM, de Jong AE, Morreau H, Tops CM, Vasen HF, Wijnen JT, i sur. Diagnostic approach and management of Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma): a guide for clinicians. *CA Cancer J Clin.* 2006;56(4):213-25.
55. Vasen HF, Watson P, Mecklin JP, Lynch HT. New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative group on HNPCC. *Gastroenterology.* 1999;116(6):1453-6.
56. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, Syngal S, de la Chapelle A, Rüschoff J, i sur. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst.* 2004;96(4):261-8.
57. Lindor NM, Rabe K, Petersen GM, Haile R, Casey G, Baron J, i sur. Lower cancer incidence in Amsterdam-I criteria families without mismatch repair deficiency: familial colorectal cancer type X. *JAMA.* 2005;293(16):1979-85. doi: 10.1001/jama.293.16.1979.
58. Barrow P, Khan M, Lalloo F, Evans DG, Hill J. Systematic review of the impact of registration and screening on colorectal cancer incidence and mortality in familial adenomatous polyposis and Lynch syndrome. *Br J Surg.* 2013;100(13):1719-31. doi: 10.1002/bjs.9316.
59. Bisgaard ML, Fenger K, Bülow S, Niebuhr E, Mohr J. Familial adenomatous polyposis (FAP): frequency, penetrance, and mutation rate. *Hum Mutat.* 1994;3(2):121-5. doi: 10.1002/humu.1380030206.
60. Nagase H, Miyoshi Y, Horii A, Aoki T, Ogawa M, Utsunomiya J, i sur. Correlation

between the location of germ-line mutations in the APC gene and the number of colorectal polyps in familial adenomatous polyposis patients. *Cancer Res.* 1992;52(14):4055-7.

61. Vasen HF, 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. doi: 10.1136/gut.2007.136127.

62. Belchetz LA, Berk T, Bapat BV, Cohen Z, Gallinger S. Changing causes of mortality in patients with familial adenomatous polyposis. *Dis Colon Rectum.* 1996;39(4):384-7.

63. Nielsen M, Hes FJ, Nagengast FM, Weiss MM, Mathus-Vliegen EM, Morreau H, i sur. Germline mutations in APC and MUTYH are responsible for the majority of families with attenuated familial adenomatous polyposis. *Clin Genet.* 2007;71(5):427-33. doi: 10.1111/j.1399-0004.2007.00766.x.

64. Young J, Simms LA, Tarish J, Buttenshaw R, Knight N, Anderson GJ, i sur. A family with attenuated familial adenomatous polyposis due to a mutation in the alternatively spliced region of APC exon 9. *Hum Mutat.* 1998;11(6):450-5. doi: 10.1002/(SICI)1098-1004(1998)11:6<450::AID-HUMU5>3.0.CO;2-P.

65. Al-Tassan N, Chmiel NH, Maynard J, Fleming N, Livingston AL, Williams GT, i sur. Inherited variants of MYH associated with somatic G:C-->T:A mutations in colorectal tumors. *Nat Genet.* 2002;30(2):227-32. doi:10.1038/ng828.

66. Cheadle JP, Sampson JR. MUTYH-associated polyposis -from defect in base excision repair to clinical genetic testing. *DNA Repair (Amst).* 2007;6(3):274-9. doi: 10.1016/j.dna-rep.2006.11.001.

67. Wang L, Baudhuin LM, Boardman LA, Steenblock KJ, Petersen GM, Halling KC, i sur. MYH mutations in patients with attenuated and classic polyposis and with young-onset colorectal cancer without polyps. *Gastroenterology.* 2004;127(1):9-16.

68. Aretz S, Uhlhaas S, Goergens H, Siberg K, Vogel M, Pagenstecher C, i sur. MUTYH-associated polyposis: 70 of 71 patients with biallelic mutations present with an attenuated or atypical phenotype. *Int J Cancer.* 2006;119(4):807-14. doi: 10.1002/ijc.21905.

69. Vogt S, Jones N, Christian D, Engel C, Nielsen M, Kaufmann A, i sur. Expanded extracolonic tumor spectrum in MUTYH-associated polyposis. *Gastroenterology.* 2009;137(6):1976-85.e1-10. doi: 10.1053/j.gastro.2009.08.052.

70. Aaltonen L, Jass J, Howe J. Juvenile polyposis. Lyon, France: IARC Press; 2000.

71. Gammon A, Kohlmann W, Burt R. Can we identify the high-risk patients to be screened? A genetic approach. *Digestion.* 2007;76(1):7-19. doi: 10.1159/000108389.

72. Rowan A, Churchman M, Jefferey R, Hanby A, Poulson R, Tomlinson I. In situ analysis of LKB1/STK11 mRNA expression in human normal tissues and tumours. *J Pathol*

- 2000;192:203-6. doi: 10.1002/1096-9896(2000)9999:9999<::AID-PATH686>3.0.CO;2-J.
73. Boardman LA. Heritable colorectal cancer syndromes: recognition and preventive management. *Gastroenterol Clin North Am* 2002; 31:1107-31.
74. Hearle N, Schumacher V, Menko FH, Olschwang S, Boardman LA, Gille JJ, i sur. Frequency and spectrum of cancers in the Peutz-Jeghers syndrome. *Clin Cancer Res* 2006; 12:3209-15. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-06-0083
75. Ponti G, Ponz de Leon M. Muir-Torre syndrome. *Lancet Oncol.* 2005;6:980-7. DOI: 10.1016/S1470-2045(05)70465-4
76. Lyons LA, Lewis RA, Strong LC, Zuckerbrod S, Ferrell RE. A genetic study of Gardner syndrome and congenital hypertrophy of the retinal pigment epithelium. *Am J Hum Genet* 1988; 42:290-6.
77. Lew D, DeWitt A, Hicks RJ, Cavalcanti MG. Osteomas of the condyle associated with Gardner's syndrome causing limited mandibular movement. *J Oral Maxillofac Surg.* 1999;57(8):1004-9.
78. Turina M, Pavlik CM, Heinimann K, Behrensmeier F, Simmen HP. Recurrent desmoids determine outcome in patients with Gardner syndrome: a cohort study of three generations of an APC mutation-positive family across 30 years. *Int J Colorectal Dis.* 2013;28(6):865-72. doi: 10.1007/s00384-012-1600-x.
79. Marsh DJ, Coulon V, Lunetta KL, Rocca-Serra P, Dahia PL, Zheng Z, i sur. Mutation spectrum and genotype-phenotype analyses in Cowden disease and Bannayan-Zonana syndrome, two hamartoma syndromes with germline PTEN mutation. *Hum Mol Genet.* 1998;7(3):507-15.
80. Lloyd KM II, Dennis M. Cowden's disease. A possible new symptom complex with multiple system involvement. *Ann Intern Med* 1963;58:136-42.
81. Tan MH, Mester JL, Ngeow J, Rybicki LA, Orloff MS, Eng C. Lifetime cancer risks in individuals with germline PTEN mutations. *Eng C Clin Cancer Res* 2012;18:400-7. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-2283.
82. Eddy DM. Screening for colorectal cancer. *Ann Intern Med.* 1990;113(5):373-84.
83. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin.* 2010;60(5):277-300. doi: 10.3322/caac.20073.
84. Rex DK, Johnson DA, Anderson JC, Schoenfeld PS, Burke CA, Inadomi JM; American College of Gastroenterology. American College of Gastroenterology guidelines for colorectal cancer screening 2009 [corrected]. *Am J Gastroenterol.* 2009;104(3):739-50. doi: 10.1038/ajg.2009.
85. Cash BD, Banerjee S, Anderson MA, Ben-Menachem T, Decker GA, Fanelli RD, i sur. Ethnic issues in endoscopy. *Gastrointest Endosc.* 2010;71(7):1108-12. doi: 10.1016/j.gie.2010.03.001.

86. Schoenfeld P1, Cash B, Flood A, Dobhan R, Eastone J, Coyle W, i sur.; CONCeRN Study Investigators. Colonoscopic screening of average-risk women for colorectal neoplasia. *N Engl J Med.* 2005;352(20):2061-8. doi: 10.1056/NEJMoa042990.
87. Atkin WS, Morson BC, Cuzick J. Long-term risk of colorectal cancer after excision of rectosigmoid adenomas. *N Engl J Med.* 1992;326(10):658-62. doi: 10.1056/NEJM199203053261002.
88. Tuohy TM, 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. doi: 10.1002/cncr.28227.
89. Ekblom A, Helmick C, Zack M, Adami HO. Ulcerative colitis and colorectal cancer. A population-based study. *N Engl J Med.* 1990;323(18):1228-33. doi: 10.1056/NEJM199011013231802.
90. 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. doi: 10.1093/aje/kwu357.
91. 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; quiz 1922. doi: 10.1038/ajg.2011.301.
92. Koenuma M, Yamori T, Tsuruo T. Insulin and insulin-like growth factor 1 stimulate proliferation of metastatic variants of colon carcinoma 26. *Jpn J Cancer Res.* 1989;80(1):51-8.
93. Watkins LF, Lewis LR, Levine AE. Characterization of the synergistic effect of insulin and transferrin and the regulation of their receptors on a human colon carcinoma cell line. *Int J Cancer.* 1990;45(2):372-5.
94. Bouvard V, Loomis D, Guyton KZ, Grosse Y, Ghissassi FE, Benbrahim-Tallaa L, i sur.; International Agency for Research on Cancer Monograph Working Group. Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. *Lancet Oncol.* 2015;16(16):1599-600. doi: 10.1016/S1470-2045(15)00444-1.
95. 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. doi: 10.1001/jama.2008.839.
96. Burnett-Hartman AN, Newcomb PA, Potter JD. Infectious agents and colorectal cancer: a review of *Helicobacter pylori*, *Streptococcus bovis*, JC virus, and human papillomavirus. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17(11):2970-9. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-08-0571.
97. Lieberman DA, Weiss DG; Veterans Affairs Cooperative Study Group 380. One-time screening for colorectal cancer with combined fecal occult-blood testing and examination of the distal colon. *N Engl J Med.* 2001;345(8):555-60. doi: 10.1056/NEJMoa010328.

98. Burch JA, Soares-Weiser K, St John DJ, Duffy S, Smith S, Kleijnen J, i sur. Diagnostic accuracy of faecal occult blood tests used in screening for colorectal cancer: a systematic review. *J Med Screen*. 2007;14(3):132-7. doi: 10.1258/096914107782066220.
99. Sidransky D, Tokino T, Hamilton SR, Kinzler KW, Levin B, Frost P, i sur. Identification of ras oncogene mutations in the stool of patients with curable colorectal tumors. *Science*. 1992;256(5053):102-5.
100. Tagore KS, Lawson MJ, Yucaitis JA, Gage R, Orr T, Shuber AP, i sur. Sensitivity and specificity of a stool DNA multitarget assay panel for the detection of advanced colorectal neoplasia. *Clin Colorectal Cancer*. 2003;3(1):47-53. doi: 10.3816/CCC.2003.n.011.
101. Itzkowitz SH, Jandorf L, Brand R, Rabeneck L, Schroy PC 3rd, Sontag S, i sur. Improved fecal DNA test for colorectal cancer screening. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007;5(1):111-7. doi: 10.1016/j.cgh.2006.10.006.
102. Levin B, Lieberman DA, McFarland B, Andrews KS, Brooks D, Bond J, i sur.; American Cancer Society Colorectal Cancer Advisory Group; US Multi-Society Task Force; American College of Radiology Colon Cancer Committee. Screening and surveillance for the early detection of colorectal cancer and adenomatous polyps, 2008: a joint guideline from the American Cancer Society, the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer, and the American College of Radiology. *Gastroenterology*. 2008;134(5):1570-95. doi: 10.1053/j.gastro.2008.02.002.
103. Erkek B, Ozkan N, Bayar S, Genc V, Ekrem U, Kuzu A, i sur. Subsite distribution of colorectal carcinoma and implications for screening; a retrospective audit of 1771 cases. *Hepatogastroenterology*. 2007;54(73):77-80.
104. Schoen RE, Pinsky PF, Weissfeld JL, Yokochi LA, Church T, Laiyemo AO, i sur.; PLCO Project Team. Colorectal-cancer incidence and mortality with screening flexible sigmoidoscopy. *N Engl J Med*. 2012;366(25):2345-57. doi: 10.1056/NEJMoa1114635.
105. Rex DK, Cutler CS, Lemmel GT, Rahmani EY, Clark DW, Helper DJ, i sur. Colonoscopic miss rates of adenomas determined by back-to-back colonoscopies. *Gastroenterology*. 1997;112(1):24-8.
106. Pickhardt PJ, Nugent PA, Mysliwiec PA, Choi JR, Schindler WR. Location of adenomas missed by optical colonoscopy. *Ann Intern Med*. 2004;141(5):352-9.
107. Bressler B, Paszat LF, Vinden C, Li C, He J, Rabeneck L. Colonoscopic miss rates for right-sided colon cancer: a population-based analysis. *Gastroenterology*. 2004;127(2):452-6.
108. Glick S. Double-contrast barium enema for colorectal cancer screening: a review of the issues and a comparison with other screening alternatives. *AJR Am J Roentgenol*. 2000;174(6):1529-37. doi: 10.2214/ajr.174.6.1741529.
109. 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. doi: 10.1148/radiol.11101887.
110. Eliakim R, Yassin K, Niv Y, Metzger Y, Lachter J, Gal E, i sur. Prospective multicenter performance evaluation of the second-generation colon capsule compared with colonoscopy. *Endoscopy*. 2009;41(12):1026-31. doi: 10.1055/s-0029-1215360.
111. Spada C, Hassan C, Munoz-Navas M, Neuhaus H, Deviere J, Fockens P, i sur. Second-generation colon capsule compared with colonoscopy. *Gastrointest Endosc*. 2011;74(3):581-589.e1. doi: 10.1016/j.gie.2011.03.1125.
112. Segnan N, Patnick J, von Karsa L (eds), 2010. *European Guidelines for Quality Assurance in Colorectal Cancer Screening and Diagnosis - First Edition* Luxembourg: Publications Office of the European Union
113. Šamija M, Strnad M, Ebling Z, Kovačić L, Znaor A. *Prijedlog Nacionalnog programa ranog otkrivanja raka u Hrvatskoj*. Zagreb, Ministarstvo zdravstva; 2006.
114. Katičić M, Antoljak N, Kujundžić M, Stamenić V, Skoko Poljak D, Kramarić D, i sur. Results of National Colorectal Cancer Screening Program in Croatia (2007-2011). *World J Gastroenterol*. 2012;18(32):4300-7. doi: 10.3748/wjg.v18.i32.4300.
115. Hamilton SR, Aaltonen L. *World Health Organization Classification of Tumours*. Lyon, France: IARC Press; 2000.
116. Dukes CE, Bussey HJ. The spread of rectal cancer and its effect on prognosis. *Br J Cancer* 1932;12:309-20.
117. Astler VB, Coller FA. The prognostic significance of direct extension of carcinoma of the colon and rectum. *Ann Surg* 1954;139:846-52.
118. Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Ann Surg Oncol*. 2010;17(6):1471-4. doi: 10.1245/s10434-010-0985-4.
119. 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. doi: 10.1309/903UT10VQ3LC7B8L.
120. Liebig C, Ayala G, Wilks J, Verstovsek G, Liu H, Agarwal N, i sur. Perineural invasion is an independent predictor of outcome in colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2009;27(31):5131-7. doi: 10.1200/JCO.2009.22.4949.
121. Fujita S, Shimoda T, Yoshimura K, Yamamoto S, Akasu T, Moriya Y. Prospective evaluation of prognostic factors in patients with colorectal cancer undergoing curative resection. *J Surg Oncol*. 2003;84(3):127-31. doi: 10.1002/jso.10308.
122. Quah HM, Chou JF, Gonen M, Shia J, Schrag D, Landmann RG, i sur. Identification of patients with high-risk stage II colon cancer for adjuvant therapy. *Dis Colon Rectum*. 2008;51(5):503-7. doi: 10.1007/s10350-008-9246-z.

123. Ryan R, Gibbons D, Hyland JM, 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. doi: 10.1111/j.1365-2559.2005.02176.x.
124. 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. doi: 10.1043/0003-9985(2000)124<0979:PFIC C>2.0.CO;2.
125. Washington MK, Berlin J, Branton P, Burgart LJ, Carter DK, Fitzgibbons PL, i sur.; Members of the Cancer Committee, College of American Pathologists. Protocol for the examination of specimens from patients with primary carcinoma of the colon and rectum. *Arch Pathol Lab Med*. 2009;133(10):1539-51. doi: 10.1043/1543-2165-133.10.1539.
126. Thompson MR, Perera R, Senapati A, Dodds S. Predictive value of common symptom combinations in diagnosing colorectal cancer. *Br J Surg*. 2007;94(10):1260-5. doi: 10.1002/bjs.5826.
127. Cappell MS. The pathophysiology, clinical presentation, and diagnosis of colon cancer and adenomatous polyps. *Med Clin North Am*. 2005;89(1):1-42, vii. doi: 10.1016/j.mcna.2004.08.011.
128. Kronborg O, Backer O, Sprechler M. Acute obstruction in cancer of the colon and rectum. *Dis Colon Rectum*. 1975;18(1):22-7.
129. Ogawa M, Watanabe M, Eto K, Omachi T, Kosuge M, Hanyu K, i sur. Clinicopathological features of perforated colorectal cancer. *Anticancer Res*. 2009;29(5):1681-4.
130. Balthazar EJ, Megibow AJ, Hulnick D, Naidich DP. Carcinoma of the colon: detection and preoperative staging by CT. *AJR Am J Roentgenol*. 1988;150(2):301-6. doi: 10.2214/ajr.150.2.301.
131. Bipat S, Glas AS, Slors FJ, Zwinderman AH, Bossuyt PM, Stoker J. Rectal cancer: local staging and assessment of lymph node involvement with endoluminal US, CT, and MR imaging--a meta-analysis. *Radiology*. 2004;232(3):773-83. doi: 10.1148/radiol.2323031368.
132. Lahaye MJ, Engelen SM, Nelemans PJ, Beets GL, van de Velde CJ, van Engelshoven JM, i sur. Imaging for predicting the risk factors--the circumferential resection margin and nodal disease--of local recurrence in rectal cancer: a meta-5 analysis. *Semin Ultrasound CT MR*. 2005;26(4):259-68.
133. Taylor FG, Quirke P, Heald RJ, Moran BJ, Blomqvist L, Swift IR, i sur.; Magnetic Resonance Imaging in Rectal Cancer European Equivalence Study Study Group. Preoperative magnetic resonance imaging assessment of circumferential resection margin predicts disease-free survival and local recurrence: 5-year follow-up results of the MERCURY study. *J Clin Oncol*. 2014;32(1):34-43. doi: 10.1200/JCO.2012.45.3258.



134. Beets-Tan RG, Lambregts DM, Maas M, Bipat S, Barbaro B, Caseiro-Alves F, i sur. Magnetic resonance imaging for the clinical management of rectal cancer patients: recommendations from the 2012 European Society of Gastrointestinal and Abdominal Radiology (ESGAR) consensus meeting. *Eur Radiol.* 2013;23(9):2522-31. doi: 10.1007/s00330-013-2864-4.
135. Søreide K, Søreide JA, Kørner H. Prognostic role of carcinoembryonic antigen is influenced by microsatellite instability genotype and stage in locally advanced colorectal cancers. *World J Surg.* 2011;35(4):888-94. doi: 10.1007/s00268-011-0979-9.
136. Eskicioglu C, Forbes SS, Fenech DS, McLeod RS; Best Practice in General Surgery Committee. Preoperative bowel preparation for patients undergoing elective colorectal surgery: a clinical practice guideline endorsed by the Canadian Society of Colon and Rectal Surgeons. *Can J Surg.* 2010;53(6):385-95.
137. Güenaga KF, Matos D, Wille-Jørgensen P. Mechanical bowel preparation for elective colorectal surgery. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011 Sep 7;(9):CD001544. doi: 10.1002/14651858.CD001544.pub4.
138. Nelson RL, Gladman E, Barbateskovic M. Antimicrobial prophylaxis for colorectal surgery. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014;(5):CD001181. doi: 10.1002/14651858.CD001181.pub4.
139. Lyman GH, Bohlke K, Khorana AA, Kuderer NM, Lee AY, Arcelus JI, i sur.; American Society of Clinical Oncology. Venous thromboembolism prophylaxis and treatment in patients with cancer: american society of clinical oncology clinical practice guideline update 2014. *J Clin Oncol.* 2015;33(6):654-6. doi: 10.1200/JCO.2014.59.7351.
140. Cohen AM. Surgical considerations in patients with cancer of the colon and rectum. *Semin Oncol.* 1991;18(4):381-7.
141. Nelson H, Petrelli N, Carlin A, Couture J, Fleshman J, Guillem J, i sur.; National Cancer Institute Expert Panel. Guidelines 2000 for colon and rectal surgery. *J Natl Cancer Inst.* 2001;93(8):583-96.
142. Turnbull RB Jr, Kyle K, Watson FR, Spratt J. Cancer of the colon: the influence of the no-touch isolation technic on survival rates. *Ann Surg.* 1967;166(3):420-7.
143. McGory ML, Shekelle PG, Ko CY. Development of quality indicators for patients undergoing colorectal cancer surgery. *J Natl Cancer Inst.* 2006;98(22):1623-33. doi: 10.1093/jnci/djj438.
144. Bonjer HJ, Hop WC, Nelson H, Sargent DJ, Lacy AM, Castells A, i sur.; Transatlantic Laparoscopically Assisted vs Open Colectomy Trials Study Group. Laparoscopically assisted vs open colectomy for colon cancer: a meta-analysis. *Arch Surg.* 2007;142(3):298-303. doi: 10.1001/archsurg.142.3.298.
145. Di B, Li Y, Wei K, Xiao X, Shi J, Zhang Y, i sur. Laparoscopic versus open surgery for colon cancer: a meta-analysis of 5-year follow-up outcomes. *Surg Oncol.* 2013;22(3):e39-

43. doi: 10.1016/j.suronc.2013.03.002.
146. Ohtani H, Tamamori Y, Arimoto Y, Nishiguchi Y, Maeda K, Hirakawa K. A meta-analysis of the short- and long-term results of randomized controlled trials that compared laparoscopy-assisted and open colectomy for colon cancer. *J Cancer*. 2012;3:49-57. doi: 10.7150/jca.3621.
147. Vernava AM 3rd, Moran M, Rothenberger DA, Wong WD. A prospective evaluation of distal margins in carcinoma of the rectum. *Surg Gynecol Obstet*. 1992;175(4):333-6.
148. Andreola S, Leo E, Belli F, Lavarino C, Bufalino R, Tomasic G, i sur. Distal intramural spread in adenocarcinoma of the lower third of the rectum treated with total rectal resection and coloanal anastomosis. *Dis Colon Rectum*. 1997;40(1):25-9.
149. Heald RJ, Husband EM, Ryall RD. The mesorectum in rectal cancer surgery: the clue to pelvic recurrence? *Br J Surg*. 1982;69(10):613-6.
150. Hojo K, Koyama Y, Moriya Y. Lymphatic spread and its prognostic value in patients with rectal cancer. *Am J Surg*. 1982;144(3):350-4.
151. Miles WE. *Cancer of the Rectum*. London, Harrison & Sons, 1926.
152. Coco C, Verbo A, Manno A, Mattana C, Covino M, Pedretti G, i sur. Impact of emergency surgery in the outcome of rectal and left colon carcinoma. *World J Surg*. 2005;29(11):1458-64. doi: 10.1007/s00268-005-7826-9.
153. Merkel S, Meyer C, Papadopoulos T, Meyer T, Hohenberger W. Urgent surgery in colon carcinoma. *Zentralbl Chir*. 2007;132(1):16-25. doi: 10.1055/s-2006-958708.
154. Wong SK, Jalaludin BB, Morgan MJ, Berthelsen AS, Morgan A, Gatenby AH, i sur. Tumor pathology and long-term survival in emergency colorectal cancer. *Dis Colon Rectum*. 2008;51(2):223-30. doi: 10.1007/s10350-007-9094-2.
155. Biondo S, Martí-Ragué J, Kreisler E, Parés D, Martín A, Navarro M, i sur. A prospective study of outcomes of emergency and elective surgeries for complicated colonic cancer. *Am J Surg*. 2005;189(4):377-83. doi: 10.1016/j.amjsurg.2005.01.009.
156. Ansaloni L, Andersson RE, Bazzoli F, Catena F, Cennamo V, Di Saverio S, i sur. Guidelines in the management of obstructing cancer of the left colon: consensus conference of the world society of emergency surgery (WSES) and peritoneum and surgery (PnS) society. *World J Emerg Surg*. 2010;5:29. doi: 10.1186/1749-7922-5-29.
157. Muratore A, Zorzi D, Bouzari H, Amisano M, Massucco P, Sperti E, i sur. Asymptomatic colorectal cancer with un-resectable liver metastases: immediate colorectal resection or up-front systemic chemotherapy? *Ann Surg Oncol*. 2007;14(2):766-70. doi: 10.1245/s10434-006-9146-1.
158. Hayashi M, Inoue Y, Komeda K, Shimizu T, Asakuma M, Hirokawa F, i sur. Clinicopathological analysis of recurrence patterns and prognostic factors for survival after hepatectomy for colorectal liver metastasis. *BMC Surg*. 2010;10:27. doi: 10.1186/1471-

2482-10-27.

159. Tsai MS, Su YH, Ho MC, Liang JT, Chen TP, Lai HS, i sur. Clinicopathological features and prognosis in resectable synchronous and metachronous colorectal liver metastasis. *Ann Surg Oncol.* 2007;14(2):786-94. doi: 10.1245/s10434-006-9215-5.

160. Pawlik TM, Scoggins CR, Zorzi D, Abdalla EK, Andres A, Eng C, i sur. Effect of surgical margin status on survival and site of recurrence after hepatic resection for colorectal metastases. *Ann Surg.* 2005;241(5):715-22, discussion 722-4.

161. Choti MA, Sitzmann JV, Tiburi MF, Sumetchotimetha W, Rangsri R, Schulick RD, i sur. Trends in long-term survival following liver resection for hepatic colorectal metastases. *Ann Surg.* 2002;235(6):759-66.

162. Kanas GP, Taylor A, Primrose JN, Langeberg WJ, Kelsh MA, Mowat FS, i sur. Survival after liver resection in metastatic colorectal cancer: review and meta-analysis of prognostic factors. *Clin Epidemiol.* 2012;4:283-301. doi: 10.2147/CLEP.S34285.

163. Covey AM, Brown KT, Jarnagin WR, Brody LA, Schwartz L, Tuorto S, i sur. Combined portal vein embolization and neoadjuvant chemotherapy as a treatment strategy for resectable hepatic colorectal metastases. *Ann Surg.* 2008;247(3):451-5. doi: 10.1097/SLA.0b013e31815ed693.

164. Adam R, Miller R, Pitombo M, Wicherts DA, de Haas RJ, Bitsakou G, i sur. Two-stage hepatectomy approach for initially unresectable colorectal hepatic metastases. *Surg Oncol Clin N Am.* 2007 Jul;16(3):525-36, viii. Doi: 10.1016/j.soc.2007.04.016.

165. Abdalla EK, Vauthey JN, Ellis LM, Ellis V, Pollock R, Broglio KR, i sur. Recurrence and outcomes following hepatic resection, radiofrequency ablation, and combined resection/ablation for colorectal liver metastases. *Ann Surg.* 2004;239(6):818-25; discussion 825-7.

166. de Jong MC, Pulitano C, Ribero D, Strub J, Mentha G, Schulick RD, i sur. Rates and patterns of recurrence following curative intent surgery for colorectal liver metastasis: an international multi-institutional analysis of 1669 patients. *Ann Surg.* 2009;250(3):440-8. doi: 10.1097/SLA.0b013e3181b4539b.

167. Gillams A, Khan Z, Osborn P, Lees W. Survival after radiofrequency ablation in 122 patients with inoperable colorectal lung metastases. *Cardiovasc Intervent Radiol.* 2013;36(3):724-30. doi: 10.1007/s00270-012-0500-3.

168. Cirocchi R, Trastulli S, Boselli C, Montedori A, Cavaliere D, Parisi A, i sur. Radiofrequency ablation in the treatment of liver metastases from colorectal cancer. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;(6):CD006317. doi: 10.1002/14651858.CD006317.pub3.

169. Weng M, Zhang Y, Zhou D, Yang Y, Tang Z, Zhao M, i sur. Radiofrequency ablation versus resection for colorectal cancer liver metastases: a meta-analysis. *PLoS One.* 2012;7(9):e45493. doi: 10.1371/journal.pone.0045493.

170. Fernández E, Molins L, Fibla JJ, Mier JM. Simultaneous bilateral posterior thoracotomy with the patient in the prone position for resection of bilateral posterior lung metastases. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2011;13(4):437-9. doi: 10.1510/icvts.2011.275495.
171. McCormack PM, Bains MS, Begg CB, Burt ME, Downey RJ, Panicek DM, i sur. Role of video-assisted thoracic surgery in the treatment of pulmonary metastases: results of a prospective trial. *Ann Thorac Surg*. 1996;62(1):213-6; discussion 216-7.
172. Chao YK, Chang HC, Wu YC, Liu YH, Hsieh MJ, Chiang JM, i sur. Management of lung metastases from colorectal cancer: video-assisted thoracoscopic surgery versus thoracotomy--a case-matched study. *Thorac Cardiovasc Surg*. 2012;60(6):398-404. doi: 10.1055/s-0031-1295574.
173. Daniel TM. A proposed diagnostic approach to the patient with the subcentimeter pulmonary nodule: techniques that facilitate video-assisted thoracic surgery excision. *Semin Thorac Cardiovasc Surg*. 2005;17(2):115-22. doi: 10.1053/j.semtcvs.2005.05.001.
174. Hamaji M, Cassivi SD, Shen KR, Allen MS, Nichols FC, Deschamps C, i sur. Is lymph node dissection required in pulmonary metastasectomy for colorectal adenocarcinoma? *Ann Thorac Surg*. 2012;94(6):1796-800. doi: 10.1016/j.athoracsur.2012.04.049.
175. Petre EN, Jia X, Thornton RH, Sofocleous CT, Alago W, Kemeny NE, i sur. Treatment of pulmonary colorectal metastases by radiofrequency ablation. *Clin Colorectal Cancer*. 2013;12(1):37-44. doi: 10.1016/j.clcc.2012.07.003.
176. Tabrizian P, Shrager B, Jibara G, Yang MJ, Romanoff A, Hiotis S, i sur. Cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy for peritoneal carcinomatosis: outcomes from a single tertiary institution. *J Gastrointest Surg*. 2014;18(5):1024-31. doi: 10.1007/s11605-014-2477-5.
177. Haslinger M, Francescutti V, Attwood K, McCart JA, Fakhri M, Kane JM 3rd, i sur. A contemporary analysis of morbidity and outcomes in cytoreduction/hyperthermic intraperitoneal chemoperfusion. *Cancer Med*. 2013;2(3):334-42. doi: 10.1002/cam4.80.
178. Goéré D, Malka D, Tzani D, Gava V, Boige V, Eveno C, i sur. Is there a possibility of a cure in patients with colorectal peritoneal carcinomatosis amenable to complete cytoreductive surgery and intraperitoneal chemotherapy? *Ann Surg*. 2013;257(6):1065-71. doi: 10.1097/SLA.0b013e31827e9289.
179. Franko J, Shi Q, Goldman CD, Pockaj BA, Nelson GD, Goldberg RM, i sur. Treatment of colorectal peritoneal carcinomatosis with systemic chemotherapy: a pooled analysis of north central cancer treatment group phase III trials N9741 and N9841. *J Clin Oncol*. 2012;30(3):263-7. doi: 10.1200/JCO.2011.37.1039.
180. Schmidt O, Merkel S, Hohenberger W. Anastomotic leakage after low rectal stapler anastomosis: significance of intraoperative anastomotic testing. *Eur J Surg Oncol*.

2003;29(3):239-43.

181. Platell C, Barwood N, Dorfmann G, Makin G. The incidence of anastomotic leaks in patients undergoing colorectal surgery. *Colorectal Dis.* 2007;9(1):71-9. doi: 10.1111/j.1463-1318.2006.01002.x.

182. McArdle CS, McMillan DC, Hole DJ. Impact of anastomotic leakage on long-term survival of patients undergoing curative resection for colorectal cancer. *Br J Surg.* 2005;92(9):1150-4. doi: 10.1002/bjs.5054.

183. Artinyan A, Nunoo-Mensah JW, Balasubramaniam S, Gauderman J, Essani R, Gonzalez-Ruiz C, i sur. Prolonged postoperative ileus-definition, risk factors, and predictors after surgery. *World J Surg.* 2008;32(7):1495-500. doi: 10.1007/s00268-008-9491-2.

184. Smyth ET, Emmerson AM. Surgical site infection surveillance. *J Hosp Infect.* 2000;45(3):173-84. doi: 10.1053/jhin.2000.0736.

185. Kirchhoff P, Clavien PA, Hahnloser D. Complications in colorectal surgery: risk factors and preventive strategies. *Patient Saf Surg.* 2010;4(1):5. doi: 10.1186/1754-9493-4-5.

186. Renzulli P, Laffer UT. Learning curve: the surgeon as a prognostic factor in colorectal cancer surgery. *Recent Results Cancer Res.* 2005;165:86-104.

187. Gianotti L, Tamini N, Nespoli L, Rota M, Bolzonaro E, Frego R, i sur. A prospective evaluation of short-term and long-term results from colonic stenting for palliation or as a bridge to elective operation versus immediate surgery for large-bowel obstruction. *Surg Endosc.* 2013;27(3):832-42. doi: 10.1007/s00464-012-2520-0.

188. Manes G, de Bellis M, Fuccio L, Repici A, Masci E, Ardizzone S, i sur. Endoscopic palliation in patients with incurable malignant colorectal obstruction by means of self-expanding metal stent: analysis of results and predictors of outcomes in a large multicenter series. *Arch Surg.* 2011;146(10):1157-62. doi: 10.1001/archsurg.2011.233.

189. Meisner S, González-Huix F, Vandervoort JG, Goldberg P, Casellas JA, Roncero O, i sur. Self-expandable metal stents for relieving malignant colorectal obstruction: short-term safety and efficacy within 30 days of stent procedure in 447 patients. *Gastrointest Endosc.* 2011;74(4):876-84. doi: 10.1016/j.gie.2011.06.019.

190. Zhao XD, Cai BB, Cao RS, Shi RH. Palliative treatment for incurable malignant colorectal obstructions: a meta-analysis. *World J Gastroenterol.* 2013;19(33):5565-74. doi: 10.3748/wjg.v19.i33.5565.

191. Courtney ED, Raja A, Leicester RJ. Eight years experience of high-powered endoscopic diode laser therapy for palliation of colorectal carcinoma. *Dis Colon Rectum.* 2005;48(4):845-50. doi: 10.1007/s10350-004-0833-3.

192. Rao VS, Al-Mukhtar A, Rayan F, Stojkovic S, Moore PJ, Ahmad SM. Endoscopic laser ablation of advanced rectal carcinoma--a DGH experience. *Colorectal Dis.* 2005;7(1):58-60. doi: 10.1111/j.1463-1318.2004.00733.x.

193. Ronnekleiv-Kelly SM, Kennedy GD. Management of stage IV rectal cancer: palliative options. *World J Gastroenterol*. 2011;17(7):835-47. doi: 10.3748/wjg.v17.i7.835.
194. Efficacy of adjuvant fluorouracil and folinic acid in colon cancer. International Multicentre Pooled Analysis of Colon Cancer Trials (IMPACT) investigators. *Lancet*. 1995;345(8955):939-44.
195. Efficacy of adjuvant fluorouracil and folinic acid in B2 colon cancer. International Multicentre Pooled Analysis of B2 Colon Cancer Trials (IMPACT B2) Investigators. *J Clin Oncol*. 1999;17(5):1356-63.
196. National Comprehensive Cancer Network. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: Colon Cancer. V.2.2016. dostupno na: [www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/colon.pdf](http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/colon.pdf)
197. Labianca R, Nordlinger B, Beretta GD, Mosconi S, Mandalà M, Cervantes A, i sur.; ESMO Guidelines Working Group. Early colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2013;24 Suppl 6:vi64-72. doi: 10.1093/annonc/mdt354.
198. Biagi JJ, Raphael MJ, Mackillop WJ, Kong W, King WD, Booth CM. Association between time to initiation of adjuvant chemotherapy and survival in colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*. 2011;305(22):2335-42. doi: 10.1001/jama.2011.749.
199. National Comprehensive Cancer Network. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: Rectal Cancer. V.1.2016. dostupno na : [www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/rectal\\_blocks.pdf](http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/rectal_blocks.pdf)
200. Glimelius B, Tiret E, Cervantes A, Arnold D; ESMO Guidelines Working Group. Rectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2013;24 Suppl 6:vi81-8. doi: 10.1093/annonc/mdt240.
201. Sauer R, Becker H, Hohenberger W, Rödel C, Wittekind C, Fietkau R, i sur.; German Rectal Cancer Study Group. Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for rectal cancer. *N Engl J Med*. 2004;351(17):1731-40. doi: 10.1056/NEJMoa040694.
202. Bujko K, Nowacki MP, Nasierowska-Guttmejer A, Michalski W, Bebenek M, Kryj M. Long-term results of a randomized trial comparing preoperative short-course radiotherapy with preoperative conventionally fractionated chemoradiation for rectal cancer. *Br J Surg*. 2006;93(10):1215-23. doi: 10.1002/bjs.5506.
203. Latkauskas T, Pauzas H, Gineikiene I, Janciauskiene R, Juozaityte E, Saladzinskas Z, i sur. Initial results of a randomized controlled trial comparing clinical and pathological downstaging of rectal cancer after preoperative short-course radiotherapy or long-term chemoradiotherapy, both with delayed surgery. *Colorectal Dis*. 2012;14(3):294-8. doi: 10.1111/j.1463-1318.2011.02815.x.

204. Schmoll HJ, Cartwright T, Taberero J, Nowacki MP, Figer A, Maroun J, i sur. Phase III trial of capecitabine plus oxaliplatin as adjuvant therapy for stage III colon cancer: a planned safety analysis in 1,864 patients. *J Clin Oncol.* 2007;25(1):102-9. doi: 10.1200/JCO.2006.08.1075.
205. Van Cutsem E, Cervantes A, Adam R, Sobrero A, Van Krieken JH, Aderka D, i sur. ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol.* 2016;27(8):1386-422. doi: 10.1093/annonc/mdw235.
206. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, Cartwright T, Hainsworth J, Heim W, i sur. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2004;350(23):2335-42. doi: 10.1056/NEJMoa032691.
207. Petrelli F, Barni S; Anti-EGFR agents for liver metastases. Resectability and outcome with anti-EGFR agents in patients with KRAS wild-type colorectal liver-limited metastases: a meta-analysis. *Int J Colorectal Dis.* 2012;27(8):997-1004. doi: 10.1007/s00384-012-1438-2.
208. Falcone A, Ricci S, Brunetti I, Pfanner E, Allegrini G, Barbara C, i sur.; Gruppo Oncologico Nord Ovest. Phase III trial of infusional fluorouracil, leucovorin, oxaliplatin, and irinotecan (FOLFOXIRI) compared with infusional fluorouracil, leucovorin, and irinotecan (FOLFIRI) as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: the Gruppo Oncologico Nord Ovest. *J Clin Oncol.* 2007;25(13):1670-6. doi: 10.1200/JCO.2006.09.0928.
209. Maughan TS, Adams RA, Smith CG, Meade AM, Seymour MT, Wilson RH, i sur.; MRC COIN Trial Investigators. Addition of cetuximab to oxaliplatin-based first-line combination chemotherapy for treatment of advanced colorectal cancer: results of the randomised phase 3 MRC COIN trial. *Lancet.* 2011;377(9783):2103-14. doi: 10.1016/S0140-6736(11)60613-2.
210. Tveit KM, Guren T, Glimelius B, Pfeiffer P, Sorbye H, Pyrhonen S, i sur. Phase III trial of cetuximab with continuous or intermittent fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin (Nordic FLOX) versus FLOX alone in first-line treatment of metastatic colorectal cancer: the NORDIC-VII study. *J Clin Oncol.* 2012;30(15):1755-62. doi: 10.1200/JCO.2011.38.0915.
211. Chibaudel B, Maindrault-Goebel F, Lledo G, Mineur L, André T, Bennamoun M, i sur. Can chemotherapy be discontinued in unresectable metastatic colorectal cancer? The GERCOR OPTIMOX2 Study. *J Clin Oncol.* 2009;27(34):5727-33. doi: 10.1200/JCO.2009.23.4344.
212. Adams RA, Meade AM, Seymour MT, Wilson RH, Madi A, Fisher D, i sur; MRC COIN Trial Investigators. Intermittent versus continuous oxaliplatin and fluoropyrimidine combination chemotherapy for first-line treatment of advanced colorectal cancer: results of the randomised phase 3 MRC COIN trial. *Lancet Oncol.* 2011;12(7):642-53. doi: 10.1016/S1470-2045(11)70102-4.
213. Giantonio BJ, Catalano PJ, Meropol NJ, O'Dwyer PJ, Mitchell EP, Alberts SR, i sur.; Eastern Cooperative Oncology Group Study E3200. Bevacizumab in combination with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin (FOLFOX4) for previously treated metastatic co-

lorectal cancer: results from the Eastern Cooperative Oncology Group Study E3200. *J Clin Oncol.* 2007;25(12):1539-44. doi: 10.1200/JCO.2006.09.6305.

214. Bennouna J, Sastre J, Arnold D, Österlund P, Greil R, Van Cutsem E, i sur.; ML18147 Study Investigators. Continuation of bevacizumab after first progression in metastatic colorectal cancer (ML18147): a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2013;14(1):29-37. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70477-1.

215. Van Cutsem E, Tabernero J, Lakomy R, Prenen H, Prausová J, Macarulla T, i sur. Addition of aflibercept to fluorouracil, leucovorin, and irinotecan improves survival in a phase III randomized trial in patients with metastatic colorectal cancer previously treated with an oxaliplatin-based regimen. *J Clin Oncol.* 2012;30(28):3499-506. doi: 10.1200/JCO.2012.42.8201.

216. Tabernero J, Yoshino T, Cohn AL, Obermannova R, Bodoky G, Garcia-Carbonero R, i sur.; RAISE Study Investigators. Ramucirumab versus placebo in combination with second-line FOLFIRI in patients with metastatic colorectal carcinoma that progressed during or after first-line therapy with bevacizumab, oxaliplatin, and a fluoropyrimidine (RAISE): a randomised, double-blind, multicentre, phase 3 study. *Lancet Oncol.* 2015;16(5):499-508. doi: 10.1016/S1470-2045(15)70127-0.

217. Sobrero AF, Maurel J, Fehrenbacher L, Scheithauer W, Abubakr YA, Lutz MP, i sur. EPIC: phase III trial of cetuximab plus irinotecan after fluoropyrimidine and oxaliplatin failure in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2008;26(14):2311-9. doi: 10.1200/JCO.2007.

218. Seymour MT, Brown SR, Middleton G, Maughan T, Richman S, Gwyther S, i sur. Panitumumab and irinotecan versus irinotecan alone for patients with KRAS wild-type, fluorouracil-resistant advanced colorectal cancer (PICCOLO): a prospectively stratified randomised trial. *Lancet Oncol.* 2013;14(8):749-59. doi: 10.1016/S1470-2045(13)70163-3.

219. Hecht JR, Cohn A, Dakhil S, Saleh M, Piperdi B, Cline-Burkhardt M, i sur. SPIRITT: a randomized, multicenter, phase II study of panitumumab with FOLFIRI and bevacizumab with FOLFIRI as second-line treatment in patients with unresectable wild type KRAS metastatic colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer.* 2015;14(2):72-80. doi: 10.1016/j.clcc.2014.12.009.

220. Price TJ, Peeters M, Kim TW, Li J, Cascinu S, Ruff P, i sur. Panitumumab versus cetuximab in patients with chemotherapy-refractory wild-type KRAS exon 2 metastatic colorectal cancer (ASPECCT): a randomised, multicentre, open-label, non-inferiority phase 3 study. *Lancet Oncol.* 2014;15(6):569-79. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70118-4.

221. Cunningham D, Humblet Y, Siena S, Khayat D, Bleiberg H, Santoro A, i sur. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2004;351(4):337-45. doi: 10.1056/NEJMoa033025.

222. Grothey A, Van Cutsem E, Sobrero A, Siena S, Falcone A, Ychou M, i sur.; CORRECT Study Group. Regorafenib monotherapy for previously treated metastatic colorectal cancer



- (CORRECT): an international, multicentre, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet*. 2013;381(9863):303-12. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61900-X.
223. Mayer RJ, Van Cutsem E, Falcone A, Yoshino T, Garcia-Carbonero R, Mizunuma N, i sur. Randomized trial of TAS-102 for refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2015;372(20):1909-19. doi: 10.1056/NEJMoa1414325.
224. Cameron MG, Kersten C, Vistad I, Fosså S, Guren MG. Palliative pelvic radiotherapy of symptomatic incurable rectal cancer - a systematic review. *Acta Oncol*. 2014;53(2):164-73. doi: 10.3109/0284186X.2013.837582.
225. O'Connell MJ, Childs DS, Moertel CG, Holbrook MA, Schutt AJ, Rubin J, i sur. A prospective controlled evaluation of combined pelvic radiotherapy and methanol extraction residue of BCG (MER) for locally unresectable or recurrent rectal carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1982;8(7):1115-9.
226. Carlsson G, Hafström L, Jönsson PE, Ask A, Kallum B, Lunderquist A. Unresectable and locally recurrent rectal cancer treated with radiotherapy or bilateral internal iliac artery infusion of 5-fluorouracil. *Cancer*. 1986;58(2):336-40.
227. Pählman L, Glimelius B, Ginman C i sur. Preoperative irradiation of primarily non-resectable adenocarcinoma of the rectum and rectosigmoid. *Acta Radiol Oncol* 1985;24:35-9.
228. 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*. 2009;27(6):872-7. doi: 10.1200/JCO.2008.19.5362.
229. Seo SI, Lim SB, Yoon YS, Kim CW, Yu CS, Kim TW, i sur. Comparison of recurrence patterns between  $\leq 5$  years and  $> 5$  years after curative operations in colorectal cancer patients. *J Surg Oncol*. 2013;108(1):9-13. doi: 10.1002/jso.23349.
230. Rex DK, Kahi CJ, Levin B, Smith RA, Bond JH, Brooks D, i sur. Guidelines for colonoscopy surveillance after cancer resection: a consensus update by the American Cancer Society and US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer. *CA Cancer J Clin*. 2006;56(3):160-7; quiz 185-6.
231. Locker GY, Hamilton S, Harris J, Jessup JM, Kemeny N, Macdonald JS, i sur.; ASCO. ASCO 2006 update of recommendations for the use of tumor markers in gastrointestinal cancer. *J Clin Oncol*. 2006;24(33):5313-27. doi: 10.1200/JCO.2006.08.2644.
232. Meyerhardt JA, Mangu PB, Flynn PJ, Korde L, Loprinzi CL, Minsky BD, i sur. Follow-up care, surveillance protocol, and secondary prevention measures for survivors of colorectal cancer: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline endorsement. *J Clin Oncol*. 2013;31(35):4465-70. doi: 10.1200/JCO.2013.50.7442.
233. Martin EW Jr, Minton JP, Carey LC. CEA-directed second-look surgery in the asymptomatic patient after primary resection of colorectal carcinoma. *Ann Surg*. 1985;202(3):310-7.
234. Ramsey SD, Berry K, Moinpour C, Giedzinska A, Andersen MR. Quality of life in

- long term survivors of colorectal cancer. *Am J Gastroenterol.* 2002;97(5):1228-34. doi: 10.1111/j.1572-0241.2002.05694.x.
235. Caravati-Jouvencaux A, Launoy G, Klein D, Henry-Amar M, Abeilard E, Danzon A, et al. Health-related quality of life among long-term survivors of colorectal cancer: a population-based study. *Oncologist.* 2011;16(11):1626-36. doi: 10.1634/theoncologist.2011-0036.
236. Lynch BM, Steginga SK, Hawkes AL, Pakenham KI, Dunn J. Describing and predicting psychological distress after colorectal cancer. *Cancer.* 2008;112(6):1363-70. doi: 10.1002/cncr.23300.
237. Deimling GT, Wagner LJ, Bowman KF, Sterns S, Kercher K, Kahana B. Coping among older-adult, long-term cancer survivors. *Psychooncology.* 2006;15(2):143-59. doi: 10.1002/pon.931
238. Taskila-Brandt T, Martikainen R, Virtanen SV, Pukkala E, Hietanen P, Lindbohm ML. The impact of education and occupation on the employment status of cancer survivors. *Eur J Cancer.* 2004;40(16):2488-93. doi: 10.1016/j.ejca.2004.06.031.
239. Liu L, Herrinton LJ, Hornbrook MC, Wendel CS, Grant M, Krouse RS. Early and late complications among long-term colorectal cancer survivors with ostomy or anastomosis. *Dis Colon Rectum.* 2010;53(2):200-12. doi: 10.1007/DCR.0b013e3181bdc408.
240. Breukink SO, Donovan KA. Physical and psychological effects of treatment on sexual functioning in colorectal cancer survivors. *J Sex Med.* 2013;10 Suppl 1:74-83. doi: 10.1111/jsm.12037.
241. Donovan KA, Thompson LM, Hoffe SE. Sexual function in colorectal cancer survivors. *Cancer Control.* 2010;17(1):44-51.
242. Hulpiau P, van Roy F. Molecular evolution of the cadherin superfamily. *Int J Biochem Cell Biol.* 2009;41(2):349-69. doi: 10.1016/j.biocel.2008.09.027.
243. Takeichi M. Morphogenetic roles of classic cadherins. *Curr Opin Cell Biol.* 1995;7(5):619-27.
244. Ozawa M, Ringwald M, Kemler R. Uvomorulin-catenin complex formation is regulated by a specific domain in the cytoplasmic region of the cell adhesion molecule. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990;87(11):4246-50.
245. Humphries MJ, Newham P. The structure of cell-adhesion molecules. *Trends Cell Biol.* 1998;8(2):78-83.
246. Pećina-Slaus N. Tumor suppressor gene E-cadherin and its role in normal and malignant cells. *Cancer Cell Int.* 2003;3(1):17. doi: 10.1186/1475-2867-3-17.
247. Huber AH, Weis WI. The structure of the beta-catenin/Ecadherin complex and the molecular basis of diverse ligand recognition by beta-catenin. *Cell.* 2001;105(3):391-402.
248. Yap AS, Niessen CM, Gumbiner BM. The juxtamembrane region of the chaderin cytoplasmic tail supports lateral clustering, adhesive strenghtening, and interaction with p120ctn.

J Cell Biol. 1998;141(3):779-89.

249. Gumbiner BM. Regulation of cadherin-mediated adhesion in morphogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2005;6(8):622-34. doi: 10.1038/nrm1699.

250. Rietmacher D, Brinkmann V, Birchmeier CA. Targeted mutation in the mouse E-cadherin gene results in defective preimplantation development. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995;92(3):855-9.

251. Beavon IR. The E-cadherin-catenin complex in tumour metastasis: structure, function and regulation. *Eur J Cancer.* 2000;36(13 Spec No):1607-20

252. Clevers H. Wnt/beta-catenin signaling in development and disease. *Cell.* 2006;127(3):469-80. doi: 10.1016/j.cell.2006.10.018.

253. Grigoryan T, Wend P, Klaus A, Birchmeier W. Deciphering the function of canonical Wnt signals in development and disease: conditional loss- and gain-of-function mutations of beta-catenin in mice. *Genes Dev.* 2008;22(17):2308-41. doi: 10.1101/gad.1686208.

254. Law SF, Estojak J, Wang B, Mysliwiec T, Kruh G, Golemis EA. Human enhancer of filamentation 1, a novel p130cas-like docking protein, associates with focal adhesion kinase and induces pseudohyphal growth in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol.* 1996;16(7):3327-37.

255. Minegishi M, Tachibana K, Sato T, Iwata S, Nojima Y, Morimoto C. Structure and function of Cas-L, a 105-kD Crk-associated substrate-related protein that is involved in beta-1 integrin-mediated signaling in lymphocytes. *J Exp Med.* 1996;184(4):1365-75.

256. Kumar S, Tomooka Y, Noda M. Identification of a set of genes with developmentally down-regulated expression in the mouse brain. *Biochem Biophys Res Commun.* 1992;185(3):1155-61.

257. Zhen M, McKeown-Longo PJ. Cell adhesion regulates Ser/Thr phosphorylation and proteasomal degradation of HEF1/NEDD9/CAS-L. *J Cell Sci.* 2006;119(Pt 1):96-103 doi: 10.1242/jcs.02712.

258. Singh M, Cowell L, Seo S, O'Neill G, Golemis E. Molecular basis for HEF1/NEDD9/Cas-L action as a multifunctional co-ordinator of invasion, apoptosis and cell cycle. *Cell Biochem Biophys.* 2007;48(1):54-72.

259. Cabodi S, del Pilar Camacho-Leal M, Di Stefano P, Defilippi P. Integrin signalling adaptors: not only figurants in the cancer story. *Nat Rev Cancer.* 2010;10(12):858-70. doi: 10.1038/nrc2967.

260. Astier A, Manié SN, Law SF, Canty T, Haghayghi N, Druker BJ, et al. Association of the Cas-like molecule HEF1 with CrkL following integrin and antigen receptor signaling in human B-cells: potential relevance to neoplastic lymphohematopoietic cells. *Leuk Lymphoma.* 1997;28(1-2):65-72. doi: 10.3109/10428199709058332.

261. Natarajan M, Stewart JE, Golemis EA, Pugacheva EN, Alexandropoulos K, Cox BD, et al.

- sur. HEF1 is a necessary and specific downstream effector of FAK that promotes the migration of glioblastoma cells. *Oncogene*. 2006;25(12):1721-32. doi: 10.1038/sj.onc.1209199.
262. Iwata S, Souta-Kuribara A, Yamakawa A, Sasaki T, Shimizu T, Hosono O, i sur. HTLV-I Tax induces and associates with Crk-associated substrate lymphocyte type (Cas-L). *Oncogene*. 2005;24(7):1262-71. doi: 10.1038/sj.onc.1208261.
263. Donninger H, Bonome T, Radonovich M, Pise-Masison CA, Brady J, Shih JH, i sur. Whole genome expression profiling of advance stage papillary serous ovarian cancer reveals activated pathways. *Oncogene*. 2004;23(49):8065-77. doi: 10.1038/sj.onc.1207959
264. Minn AJ, Gupta GP, Siegel PM, Bos PD, Shu W, Giri DD, i sur. Genes that mediate breast cancer metastasis to lung. *Nature*. 2005;436(7050):518-24. doi: 10.1038/nature03799.
265. Lucas JT Jr, Salimath BP, Slomiany MG, Rosenzweig SA. Regulation of invasive behavior by vascular endothelial growth factor is HEF1-dependent. *Oncogene*. 2010;29(31):4449-59. doi: 10.1038/onc.2010.185.
266. Kim M, Gans JD, Nogueira C, Wang A, Paik JH, Feng B, i sur. Comparative oncogenomics identifies NEDD9 as a melanoma metastasis gene. *Cell*. 2006;125(7):1269-81. doi: 10.1016/j.cell.2006.06.008.
267. Jin Y, Li F, Zheng C, Wang Y, Fang Z, Guo C, i sur. NEDD9 promotes lung cancer metastasis through epithelial-mesenchymal transition. *Int J Cancer*. 2014;134(10):2294-304. doi: 10.1002/ijc.28568.
268. Li J, Rix U, Fang B, Bai Y, Edwards A, Colinge J, i sur. A chemical and phosphoproteomic characterization of dasatinib action in lung cancer. *Nat Chem Biol*. 2010;6(4):291-9. doi: 10.1038/nchembio.332.
269. Hong SM, Li A, Olin K i sur. Loss of E-cadherin expression and outcome among patients with resectable pancreatic adenocarcinomas. *Mod Pathol*. 2011; 24:1237-47.
270. Dorudi S, Sheffield JP, Poulosom R, Northover JM, Hart IR. E-cadherin expression in colorectal cancer. An immunocytochemical and in situ hybridization study. *Am J Pathol*. 1993;142(4):981-6.
271. Gagliardi G, Kandemir O, Liu D, Guida M, Benvestito S, Ruers TG, i sur. Changes in E-cadherin immunoreactivity in the adenoma-carcinoma sequence of the large bowel. *Virchows Arch*. 1995;426(2):149-54.
272. Mohri Y. Prognostic significance of E-cadherin expression in human colorectal cancer tissue. *Surg Today*. 1997;27(7):606-12.
273. Gu J, Zhu X, Ye Y, Qu J, Huang L, Li R, i sur. The level of expression of adhesion molecules CD44v6 and E-cadherin in colorectal cancer and analysis of correlates with metastasis. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi*. 1999;37(2):108-9, 4.
274. Kanczuga-Koda L, Wincewicz A, Fudala A, Abrycki T, Famulski W, Baltaziak M, i sur. E-cadherin and  $\beta$ -catenin adhesion proteins correlate positively with connexins in colorectal

- cancer. *Oncol Lett.* 2014;7(6):1863-1870. doi: 10.3892/ol.2014.1970.
275. Tóth L, András C, Molnár C, Tanyi M, Csiki Z, Molnár P, i sur. Investigation of  $\beta$ -catenin and E-cadherin expression in Dukes B2 stage colorectal cancer with tissue microarray method. Is it a marker of metastatic potential in rectal cancer? *Pathol Oncol Res.* 2012;18(2):429-37. doi: 10.1007/s12253-011-9463-y.
276. Elzagheid A, Buhmeida A, Laato M, El-Faitori O, Syrjänen K, Collan Y, i sur. Loss of E-cadherin expression predicts disease recurrence and shorter survival in colorectal carcinoma. *APMIS.* 2012;120(7):539-48. doi: 10.1111/j.1600-0463.2011.02863.x.
277. Kim SA, Inamura K, Yamauchi M, Nishihara R, Mima K, Sukawa Y, i sur. Loss of CDH1 (E-cadherin) expression is associated with infiltrative tumour growth and lymph node metastasis. *Br J Cancer.* 2016;114(2):199-206. doi: 10.1038/bjc.2015.347.
278. Yun JA, Kim SH, Hong HK, Yun SH, Kim HC, i sur. Loss of E-Cadherin expression is associated with a poor prognosis in stage III colorectal cancer. *Oncology.* 2014;86(5-6):318-28. doi: 10.1159/000360794.
279. Palaghia M, Mihai C, Lozneau L, Ciobanu D, Trofin AM, Rotariu A, i sur. E-cadherin expression in primary colorectal cancer and metastatic lymph nodes. *Rom J Morphol Embryol.* 2016;57(1):205-9.
280. Miladi-Abdennadher I, Abdelmaksoud-Dammak R, Ayed-Guerfali DB, Ayadi L, Khabir A, Amouri A, i sur. Expression of COX-2 and E-cadherin in Tunisian patients with colorectal adenocarcinoma. *Acta Histochem.* 2012;114(6):577-81. doi: 10.1016/j.acthis.2011.11.002
281. Roca F, Mauro LV, Morandi A, Bonadeo F, Vaccaro C, Quintana GO, i sur. Prognostic value of E-cadherin, beta-catenin, MMPs (7 and 9), and TIMPs (1 and 2) in patients with colorectal carcinoma. *J Surg Oncol.* 2006;93(2):151-60. doi: 10.1002/jso.20413.
282. Kwak JM, Min BW, Lee JH, Choi JS, Lee SI, Park SS, i sur. The prognostic significance of E-cadherin and liver intestine-cadherin expression in colorectal cancer. *Dis Colon Rectum.* 2007;50(11):1873-80. doi: 10.1007/s10350-007-9034-1.
283. Lugli A, Zlobec I, Minoo P, Baker K, Tornillo L, Terracciano L, i sur. Prognostic significance of the wnt signalling pathway molecules APC, beta-catenin and E-cadherin in colorectal cancer: a tissue microarray-based analysis. *Histopathology.* 2007;50(4):453-64. doi: 10.1111/j.1365-2559.2007.02620.x.
284. Karamitopoulou E, Zlobec I, Patsouris E, Peros G, Lugli A. Loss of E-cadherin independently predicts the lymph node status in colorectal cancer. *Pathology.* 2011;43(2):133-7. doi: 10.1097/PAT.0b013e3283425b7f.
285. Ozgüven BY, Karaçetin D, Kabukçuoğlu F, Taşkın T, Yener Ş. Immunohistochemical study of E-cadherin and  $\beta$ -catenin expression in colorectal carcinomas. *Pol J Pathol.* 2011;62(1):19-24.
286. He X, Chen Z, Jia M, Zhao X. Downregulated E-cadherin expression indicates worse

- prognosis in Asian patients with colorectal cancer: evidence from meta-analysis. *PLoS One*. 2013;8(7):e70858. doi: 10.1371/journal.pone.0070858.
287. Ikeguchi M, Taniguchi T, Makino M, Kaibara N. Reduced E-cadherin expression and enlargement of cancer nuclei strongly correlate with hematogenic metastasis in colorectal adenocarcinoma. *Scand J Gastroenterol*. 2000;35(8):839-46.
288. Kaihara T, Kusaka T, Nishi M, Kawamata H, Imura J, Kitajima K, *i sur*. Dedifferentiation and decreased expression of adhesion molecules, E-cadherin and ZO-1, in colorectal cancer are closely related to liver metastasis. *J Exp Clin Cancer Res*. 2003;22(1):117-23.
289. Truant SC, Gouyer VP, Leteurtre EA, Zerimech F, Huet GM, Pruvot FR. E-cadherin and beta-catenin mRNA levels throughout colon cancer progression. *J Surg Res*. 2008;150(2):212-8. doi: 10.1016/j.jss.2007.12.800.
290. Elzagheid A, Algars A, Bendardaf R, Lamlum H, Ristamaki R, Collan Y, *i sur*. E-cadherin expression pattern in primary colorectal carcinomas and their metastases reflects disease outcome. *World J Gastroenterol*. 2006;12(27):4304-9.
291. Kang H, Min BS, Lee KY, Kim NK, Kim SN, Choi J, *i sur*. Loss of E-cadherin and MUC2 expressions correlated with poor survival in patients with stages II and III colorectal carcinoma. *Ann Surg Oncol*. 2011;18(3):711-9. doi: 10.1245/s10434-010-1338-z.
292. Fang QX, Lü LZ, Yang B, Zhao ZS, Wu Y, Zheng XC. L1,  $\beta$ -catenin, and E-cadherin expression in patients with colorectal cancer: correlation with clinicopathologic features and its prognostic significance. *Surg Oncol*. 2010;102(5):433-42. doi: 10.1002/jso.21537.
293. Filiz AI, Senol Z, Sucullu I, Kurt Y, Demirbas S, Akin ML. The survival effect of E-cadherin and catenins in colorectal carcinomas. *Colorectal Dis*. 2010;12(12):1223-30. doi: 10.1111/j.1463-1318.2009.01994.x.
294. Lee SJ, Choi SY, Kim WJ, Ji M, Lee TG, Son BR, *i sur*. Combined aberrant expression of E-cadherin and S100A4, but not  $\beta$ -catenin is associated with disease-free survival and overall survival in colorectal cancer patients. *Diagn Pathol*. 2013;8:99. doi: 10.1186/1746-1596-8-99.
295. Li P, Zhou H, Zhu X, Ma G, Liu C, Lin B, *i sur*. High expression of NEDD9 predicts adverse outcomes of colorectal cancer patients. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014;7(5):2565-70.
296. Xia D, Holla VR, Wang D, Menter DG, DuBois RN. HEF1 is a crucial mediator of the proliferative effects of prostaglandin E(2) on colon cancer cells. *Cancer Res*. 2010;70(2):824-31. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-2105.
297. Kim SH, Xia D, Kim SW, Holla V, Menter DG, Dubois RN. Human enhancer of filamentation 1 Is a mediator of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ -mediated migration in colorectal carcinoma cells. *Cancer Res*. 2010;70(10):4054-63. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-2110.
298. Li Y, Bavarva JH, Wang Z, Guo J, Qian C, Thibodeau SN, *i sur*. HEF1, a novel target of Wnt signaling, promotes colonic cell migration and cancer progression. *Oncogene*.

2011;30(23):2633-43. doi: 10.1038/onc.2010.632.

## 11. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 11. lipnja 1987. godine u Zagrebu gdje sam završila osnovnu školu i opću gimnaziju. U srpnju 2011. godine diplomirala sam na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Od listopada 2011. godine do listopada 2012. godine obavila sam obvezan jednogodišnji pripravnički staž u Kliničkoj bolnici Sveti Duh. Nakon polaganja stručnog ispita radila sam kao liječnica u Nastavnom zavodu za hitnu medicinu Grada Zagreba.

U Kliničkom bolničkom centru Sestre milosrdnice od lipnja 2013. godine obavljam specijalističko usavršavanje iz internističke onkologije. Završila sam doktorski studij Biomedicine i zdravstva na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.

Od siječnja 2015. godine sudjelujem kao asistent u nastavi studija sestrinstva. U ožujku 2016. godine bila sam u studijskoj posjeti Sveučilišnoj bolnici AMC u Amsterdamu, na Odjelu gastroenterologije i hepatologije te u veljači 2017. godine u Onkološkom centru Peter MacCallum u Melbourneu na Odjelu onkologije.

Autor sam više članaka i kongresnih sažetaka, od čega su dva rada objavljena u časopisima citiranim u Current Contentu.

Članica sam Hrvatske liječničke komore, Europskog društva za internističku onkologiju (ESMO), Europskog udruženja za istraživanje raka (EACR) te Hrvatskog društva za istraživanje raka (HDIR). Kao aktivna sudionica sudjelovala sam na nekoliko nacionalnih i međunarodnih kongresa.

Aktivno se služim engleskim i njemačkim jezikom.