



UNIVERZITET U NOVOM SADU

MEDICINSKI FAKULTET



**PROGNOSTIČKI I PREDIKTIVNI ZNAČAJ LOKALIZACIJE I
KARAKTERISTIKA PRIMARNOG TUMORA U LEČENJU METASTATSKOG
KOLOREKTALNOG KARCINOMA KOD PACIJENATA BEZ MUTACIJE
KRAS GENA**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentori:

Prof. dr Ivan Nikolić

Prof. dr Slavica Knežević Ušaj

Kandidat:

Asist. dr Jelena Radić

Novi Sad, 2022.godine

Reč autora

... doktorska disertacija... kruna profesionalnog i ličnog uspeha u koju su uložene godine rada i truda... put koji nije ni malo lak i koji sami ne možemo preći zato veliku zahvalnost dugujem svojim mentorima na sugestijama i značajnom doprinosu u realizaciji ove doktorske disertacije... Kolegama na podršci i razumevanju...

Beskrajno se zahvaljujem svojoj porodici i dragim prijateljima na bezuslovnoj ljubavi, podršci, razumevanju i strpljenju...

CRTEŽ



Marko Radić, 6 godina

УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ

ОБРАЗАЦ – 5а

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ НОВИ САД

КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАЦИЈА¹

Врста рада:	Докторска дисертација
Име и презиме аутора:	Јелена Радић
Ментор (титула, име, презиме, звање, институција)	Иван Николић, ванредни професор на Катедри за интерну медицину Медицинског факултета Универзитета у Новом Саду, Институт за онкологију Војводине, онкологија-гастроентерологија Славица Кнежевић Ушај, редовни професор на Катедри за патологију Медицинског факултета Универзитета у Новом Саду (у пензији)
Наслов рада:	„Прогностички и предиктивни значај локализације и карактеристика примарног тумора у лечењу метастатског колоректалног карцинома код пацијената без мутације KRAS гена,,
Језик публикације (писмо):	Српски језик - латиница

¹ Аутор докторске дисертације потписао је и приложио следеће Обрасце:

5б – Изјава о ауторству;

5в – Изјава о истоветности штапане и електронске верзије и о личним подацима;

5г – Изјава о коришћењу.

Ове Изјаве се чувају на факултету у штапаном и електронском облику и не кориче се са тезом.

Физички опис рада:	Унети број: Страница : 151 Поглавља 7 Референци: 360 Табела: 30 Слика: 5 Графикона: 21 Прилога/
Научна област:	Медицинске науке
Ужа научна област (научна дисциплина):	Интерна онкологија
Кључне речи / предметна одредница:	колоректалне неоплазме; метастатске неоплазме; прогноза; туморски биомаркери; рас гени; HER 2 рецептор; моноклонска антитела; исход лечења; анализа преживљавања
Резиме на језику рада:	<p>Увод: Колоректални карцином (КРК) представља глобални проблем, обзиром на његову учесталост. Лечење пацијената који болују од метастатског колокректалног карцинома (мКРК) је веома сложен процес. Доказано је да поред патохистолошких и молекуларних карактеристика, локализација примарног тумора (ЛПТ) такође утиче на укупно преживљавање. Иако се сматра једним органом, сегменти дебелог црева се међусобно разликују, како у хистолошком, физиолошком, тако и у молекуларном смислу. Познато је да одређен проценат пацијената са RAS/RAF немутираним типом тумора, ипак не реагује на анти EGFR терапију. Разлози могу да буду последица примарне или секундарне резистенције, али и прекомерне експерсије HER</p>

	<p>2 рецептора код пацијената са мКРК. Овом студијом желели смо да истакнемо важност ЛПТ као прогностичког и предиктивног маркера, као и да испитамо значај прекомерне HER2 експресије код пацијената са мКРК.</p> <p>Материјал и методе: Студија је била ретроспективно - проспективна, обухватила је укупно 181 пацијента са метастатским KRAS немутираним колоректалним карицномом,. 101 пацијент је имао тумор левог колона, 80 пацијената је имало тумор десног колона. Анализиране су патохистолошке и молекуларне карактеристике тумора (KRAS, HER 2) које су корелиране у односу на локализацију примарног тумора . Такође је испитиван ефекат терапије анти EGFR антителима помоћу <i>progression free survival</i> (PFS) и <i>overall survival</i> (OS), у односу на локализацију примарног тумора, као и у односу на прекомерну експресију HER 2 рецептора код пацијената са KRAS немутираним мКРК.</p> <p>Резултати: 101 пацијент (55,8%) је имао KRAS немутирани КРК локализован у левом колону(КЛК), 80 (44,2%) је имао тумор локализован у десном колону(КДК). Медијана укупног преживљавања OS код пацијената са КЛК је статистички значајно боља (43 vs. 33month, Mantel-Cox $p = 0,005$; Breslow $p = 0,001$). Медијана PFS код пацијената са КЛК је статистички значајно боља него код пацијената са примарним тумором локализованим на десној (6 vs. 3 month, Mantel-Cox $p < 0,001$; Breslow $p < 0,001$). Мултиваријантном анализом, добијени су независни предиктори кумулативног преживљавања (OS) код пацијената са КРК: муцинозни аденокарцином ($p < 0,001$; HR 2,69; 95% CI 1,59-4,56), десна локализација ($p = 0,022$; HR 1,46; 95% CI 1,06-2,01)), присуство перинеуралне инвазије ($p = 0,034$; HR 1,43; 95% CI 1,03-1,98) и присутност тумора на ресекционом рубу ($p =$</p>
--	---

	<p>0,049; HR 1,68; 95% CI, 1,02-2,81). <i>Cox</i> регресионом анализом, методом <i>Conditional Forward</i>, добијени су независни предиктори кумулативног преживљавања без прогресије болести (PFS) код пацијената са карциномом колона: муцинозни аденокарцином ($p = 0,001$; HR 2,53; 95% CI 1,49-4,29) и десна локализација ($p = 0,004$; HR 1,60; 95% CI 1,16-2,21). У групи пацијената са КЛК, <i>Cox</i> регресионом анализом, методом <i>Conditional Forward</i>, добијен је само један независни предиктор кумулативног преживљавања (OS) и то је присуство перинеуралне инвазије ($p = 0,038$; HR 1,60; 95% CI 1,03-2,48). У групи пацијената са КДК, <i>Cox</i> регресионом анализом, методом <i>Conditional Forward</i>, добијен је само један независни предиктор кумулативног преживљавања (OS) и то је муцинозни аденокарцином ($p = 0,038$; HR 3,12; 95% CI 1,72-5,66). OS пацијената са HER2 позитивним налазом 3+ је лошије у односу на пацијенте са HER 2 негативним налазом (0, 1+, 2+) ($p = 0,339$). PSF пацијента са HER2 позитивним налазом је статистички значајно лошије ($p < 0,001$) у односу на пацијенте са HER 2 негативним налазом (и поред изузетно малог броја пацијената са HER2 позитивним налазом).</p> <p>Закључак: Локализација примарног тумора је важан прогностички и предиктивни маркер у лечењу пацијената са KRAS немутираним мКПК. Пацијенти са КДК имају статистички значајно краће укупно преживљавање и време до прогресије болести на анти EGFR терапију. Улога прекомерне експресије HER2 рецептора, код KRAS немутираног мКПК, захтева додатна испитивања, иако смо забележили низак проценат прекомерне експресије HER 2 рецептора, ти пацијенти су имали краће укупно преживљавање и време до прогресије болести на анти EGFR</p>
--	---

	<p>терапију.</p> <p>Кључне речи: метастатски колоректални карцином, локализација примарног тумора, леви и десни карцином колона, анти EGFR анитела, KRAS статус, HER2 прекомерна експресија.</p>
Датум прихватања теме од стране надлежног већа:	14.09.2021.
Датум одбране: (Попуњава одговарајућа служба)	
Чланови комисије: (титула, име, презиме, звање, институција)	<p>Председник: Доц. др Ивана Коларов Бјелобрк – доцент Медицинског факултета Нови Сад Универзитета у Новом Саду, Институт за онкологију Војводине, Сремска Каменица, Катедра за интерну медицину, председник</p> <p>Члан Доц. др Биљана Кукић – доцент Медицинског факултета Нови Сад Универзитета у Новом Саду, Институт за онкологију Војводине, Сремска Каменица, Катедра за интерну медицину, члан</p> <p>Члан Проф. др Миодраг Крстић – редовни професор Медицинског факултета Београд Универзитета у Београду, Клинички центар Србије, Клиника за гастроентерологију и хепатологију, Катедра за интерну медицину, члан</p>
Напомена:	

UNIVERSITY OF NOVI SAD
FACULTY OR CENTER

KEY WORD DOCUMENTATION²

Document type:	Monograph documentation
Author:	Jelena Radić, MD
Supervisor	Prof. Ivan Nikolić, MD, PhD Prof. Slavica Knežević Ušaj, MD, PhD
Thesis title:	Prognostic and predictive significance of primary tumor localization and characteristic in the treatment of patients with metastatic KRAS wild type colorectal cancer.
Language of text (script):	Serbian language (latin script)
Physical description:	Number of: Pages 151 Chapters 7 References 360 Tables 30 Illustrations 5 Graphs 21 Appendices /
Scientific field:	Medical sciences
Scientific subfield (scientific discipline):	Medical oncology
Subject, Key words:	Colorectal Neoplasms; Neoplasm Metastasis; Prognosis; Biomarkers, Tumor; Genes, ras; Receptor, ErbB-2; Antibodies,

	Monoclonal; Treatment Outcome; Survival Analysis
Abstract in English language:	<p>Introduction: Colorectal cancer (CRC) represents a global issue, taking into consideration its frequency. Treating of patients with metastatic colorectal cancer (mCRC) is a very complex process. It has been proven that, in addition to pathohistological and molecular characteristics, the localization of the primary tumour (LPT) also affects the overall survival. Although considered a single organ, segments of the colon differ from each other, histologically, physiologically, and molecularly. It is known that a certain percentage of patients with RAS / RAF wild type (wt) tumour type, however, does not respond to anti-EGFR therapy. The reasons may be a consequence of primary or secondary resistance, but also excessive expression of HER2 receptors in patients with mCRC. With this study, we wanted to highlight the importance of LPT as a prognostic and predictive marker, as well as to examine the importance of overexpression of HER2 in patients with mCRC.</p> <p>Methods: This research included 181 patients with KRAS wild type mCRC, who received anti EGFR therapy at the Oncology Institute of Vojvodina. 101 patients had a tumour of the left colon, 80 patients had a tumour of the right colon. The research analysed pathohistological and molecular characteristics of the tumour (KRAS, HER2) that were correlated with respect to the localization of the primary tumour. It also investigated the effect of anti-EGFR antibody therapy using progression-free survival (PFS) and overall survival (OS), in relation to the localization of the primary tumour, as well as in relation to HER2-receptor overexpression in patients with KRAS wt mCRC.</p> <p>Results: K RAS wt KLK was present in 101 patients (55.8%), KDK in 80 (44.2%). The median OS in patients with KLK was statistically significantly better (43 vs. 33 months, Mantel-Cox p</p>

= 0.005; Breslow $p = 0.001$). Median (PFS) with KLK was statistically significantly better than in patients with primary tumour localized on the right side (6 vs. 3 months, Mantel-Cox $p < 0.001$; Breslow $p < 0.001$). Multivariate analysis of independent predictors of cumulative survival (OS) of patients with colorectal carcinoma: mucinous adenocarcinoma ($p < 0.001$; HR 2.69; 95% CI 1.59-4.56), right localization ($p = 0.022$; HR 1.46; 95% CI 1.06-2.01), presence of perineural invasions ($p = 0.034$; HR 1.43; 95% CI 1.03-1.98) and the presence of tumours at the resection margin ($p = 0.049$; HR 1.6; 95% CI 1.02-2.81). Cox regression analysis, Conditional Forward method obtained independent predictors of cumulative progression-free survival (PFS) of patients with colon cancer: mucinous adenocarcinoma ($p = 0.001$; HR 2.53; 95% CI 1.49-4.29) and right localization ($p = 0.004$; HR 1.60; 95% CI 1.16-2.21). In the group of patients with KLK, Cox regression analysis, Conditional Forward method, obtained only one independent predictor of cumulative survival (OS) and that is the presence of perineural invasion ($p = 0.038$; HR 1.60; 95% CI 1.03-2.48). In the group of patients with KDK, Cox regression analysis, Conditional Forward method, obtained only one independent predictor of cumulative survival (OS) and that is mucinous adenocarcinoma ($p = 0.038$; HR 3.12; 95% CI 1.72-5.66). The OS of patients with HER2 positive result 3+ is worse than that of patients with HER2 negative result (0,1+, 2+) ($p = 0.339$). The PFS of patients with HER2 positive results was statistically significantly worse ($p < 0.001$) compared to patients with HER2 negative results (despite the extremely small number of patients with HER2 positive results).

Conclusion: Localization of the primary tumour is an important prognostic and predictive marker in the treatment of patients with

	wildtype mCRC with anti-EGFR antibodies. Patients with KDK have a statistically significantly shorter time to disease progression to anti-EGFR therapy and overall survival. The role of HER2 receptor overexpression in wild-type mCRC requires further examination, although we noted a low percentage of HER2 receptor overexpression in wt mCRC; these patients also had a shorter time to disease progression to anti-EGFR therapy and overall survival.
Accepted on Scientific Board on:	14.09.2021.
Defended: (Filled by the faculty service)	
Thesis Defend Board: (title, first name, last name, position, institution)	<p>President: Doc. Dr. Ivana Kolarov Bjelobrck - Assistant Professor at the Faculty of Medicine Novi Sad, University of Novi Sad, Institute of Oncology of Vojvodina, Sremska Kamenica, Department of Internal Medicine,</p> <p>Member Doc. Biljana Kukić, PhD - Assistant Professor, Faculty of Medicine, Novi Sad, University of Novi Sad, Institute of Oncology of Vojvodina, Sremska Kamenica, Department of Internal Medicine,</p> <p>Member Prof. Miodrag Krstić, PhD - Associate Professor, Faculty of Medicine, University of Belgrade, Clinical Center of Serbia, Clinic of Gastroenterology and Hepatology, Department of Internal Medicine</p>
Note:	

1. UVOD.....	1
1.1 Epidemiologija kolorektalnog karcinoma	1
1.1.1 Epidemiologija kolorektalnog karcinoma u svetu i Evropi	1
1.1.2 Epidemiologija kolorektalnog karcinoma u Srbiji	2
1.1.3 Epidemiologija kolorektalnog karcinoma u Autonomnoj Pokrajini Vojvodini	4
1.2 Etiologija kolorektalnog karcinoma	4
1.2.1 Nepromenjivi faktori rizika.....	5
1.2.2 Promenjivi faktori rizika	10
1.3 Patogeneza kolorektalnog karcinoma.....	17
1.4 Lečenje pacijenata sa metastatskim kolorektalnim karcinomom	20
1.4.1 Prognostički i prediktivni faktori u lečenju kolorektalnog karcinoma	20
1.4.2 Algoritam lečenja metastatskog kolorektalnog karcinoma.....	31
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA I RADNE HIPOTEZE	42
3. BOLESNICI, MATERIJAL I METODE	45
3.1 Bolesnici i uzorci	45
3.2 Materijal i metode.....	47
4. REZULTATI.....	50
4.1 Demografski podaci.....	50
4.2 Karakteristike primarnog tumora debelog creva.....	53
4.2.1 Patohistološke karakteristike primarnog tumora debelog creva	55
4.3 Patohistološke karakteristike u odnosu na lokalizaciju primarnog tumora debelog creva (levi/desni kolon).....	62
4.4 Karakteristike mKRK	67
4.5 Kumulativno preživljavanje (<i>Overall Survival</i> , OS) kod pacijenata sa metastatskim kolorektalnim karcinomom.....	70
4.6 Kumulativno preživljavanje bez progresije bolesti (<i>Progression Free Survival</i> , PFS) kod pacijenata sa metastatskim kolorektalnim karcinomom	76
4.7 Odgovor na terapiju anti-EGFR antitelima.....	80
4.8 Multivarijantna analiza kumulativnog preživljavanja – OS	83
4.9 Multivarijantna analiza kumulativnog preživljavanja bez progresije – PFS	86

4.10 Analiza HER2 statusa	88
5. DISKUSIJA	94
6. ZAKLJUČCI.....	112
7. LITERATURA	114

1. UVOD

1.1 Epidemiologija kolorektalnog karcinoma

1.1.1 Epidemiologija kolorektalnog karcinoma u svetu i Evropi

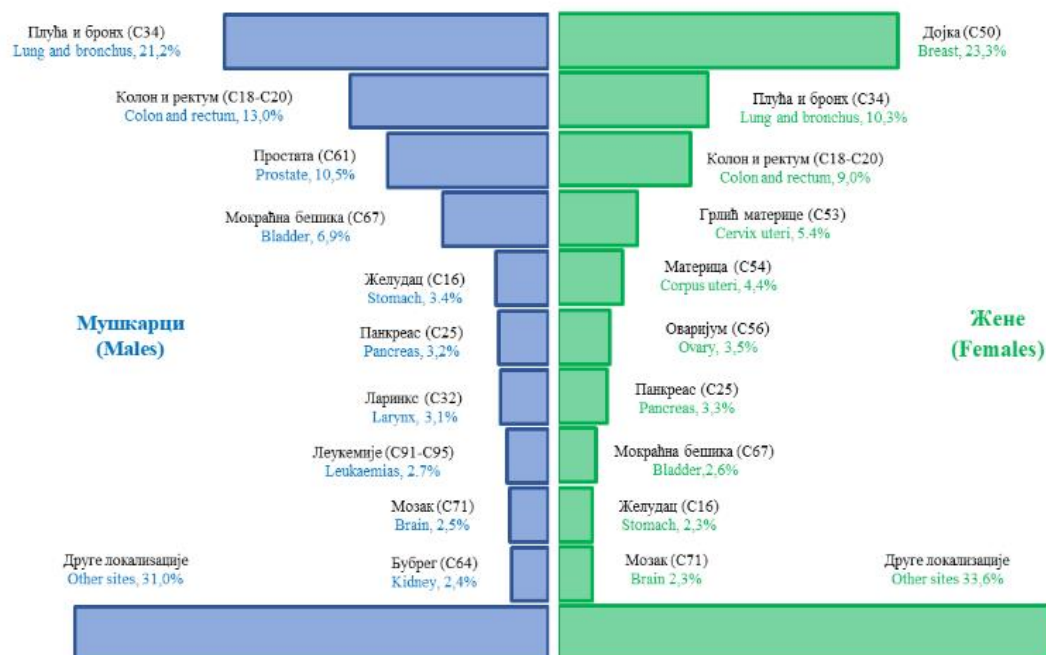
Kolorektalni karcinom (KRK) predstavlja jedan od značajnih zdravstvenih problema celokupne svetske populacije, pogotovo u zemljama sa visokim društvenim standardom (1).

KRK je treći najčešći maligni tumor na svetu i drugi vodeći uzrok smrti od malignih bolesti. Prema GLOBOCAN procenama iz 2020. godine, širom sveta je bilo skoro dva miliona novootkrivenih slučajeva KRK, uz nešto veću incidencu kod muškaraca nego kod žena (1,22: 1), dok je skoro milion osoba umrlo od ove bolesti (1). Procenjuje se da će se broj novih slučajeva KRK širom sveta povećati sa 1,4 miliona prijavljenih u 2012. godini na 2,4 miliona do 2035. godine (2). Incidenca varira na globalnom nivou. Povećanje stope socioekonomskog razvoja, odnosno ljudskog indeksa razvoja (*Human Develop Index*, HDI) dovodi i do povećanja stope incidence. Zato zemlje poput

Australije, Novog Zelanda, te zemlje Severne Amerike i Zapadne Evrope beleže porast incidence, dok zemlje u razvoju, kao što su zemlje Afrike, Južne i Centralne Azije i Japan, prijavljuju trend smanjenja incidence KRK (3, 4). Sjedinjene Američke Države (SAD) poslednjih godina beleže trend smanjenja novoobolelih od KRK, a Francuska i Velika Britanija trend usporavanja i postizanje platoa u obolevanju od ove bolesti (5). U Evropi na godišnjem nivou oboli oko 600.000 ljudi, a od iste bolesti umre oko 250.000 ljudi (3). Smanjenje stope incidence posledica je uvođenja organizovanih skrining programa što omogućava rano otkrivanje bolesti, ali i promena u načinu i stilu života stanovnika. Na smanjenje stope mortaliteta u odnosu na stopu incidence, pored navedenog, uticalo je i uvođenje nove, ciljane (*target*) terapije, te je petogodišnje preživljavanje kod pacijenata sa KRK u razvijenim zemljama oko 60%, a oko 40% u zemljama Istočne Evrope (6, 7). Nekoliko studija sugerise da bi se značajan broj slučajeva KRK mogao sprečiti redovnom fizičkom aktivnošću, održavanjem zdrave telesne težine, i zdravom i uravnoteženom ishranom (8). Prevalencija kolorektalnog karcinoma kod pacijenata mlađih od 20 godina je 0,2%. To je godišnje oko 290 novih slučajeva karcinoma debelog creva u pedijatrijskoj populaciji mlađoj od 20 godina (9).

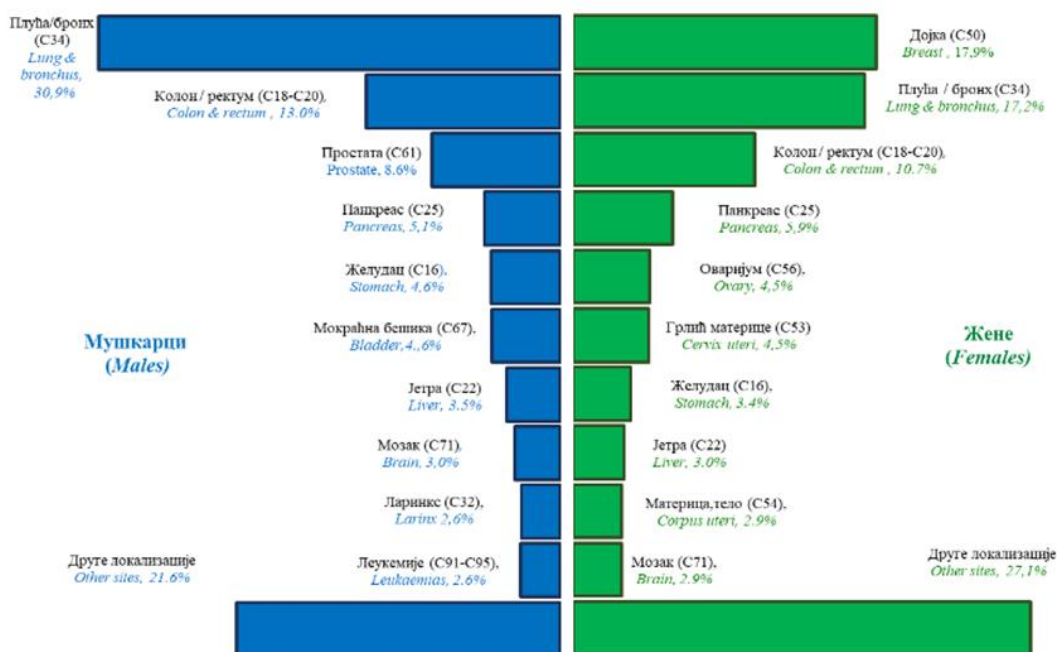
1.1.2 Epidemiologija kolorektalnog karcinoma u Srbiji

Prema podacima Registra za maligne bolesti Republike Srbije iz 2018. godine, registrovano je ukupno 4.646 novih slučajeva KRK, od toga 2.876 kod osoba muškog pola i 1.770 kod osoba ženskog pola, sa standardizovanom stopom incidence 75,9 kod muškaraca i 45,4 kod žena. Broj umrlih je bio 2.591, od toga 1.597 osoba muškog pola i 1.012 osoba ženskog pola, sa standardizovanom stopom mortaliteta 41,7 kod muškaraca i 25,7 kod žena (10).



Slika 1. Vodeće lokalizacije u obolevanju od raka prema polu, Republika Srbija, 2018. godina

Preuzeto sa: <http://www.batut.org.rs/download/publikacije/MaligniTumori2018.pdf> (pristup 21.04.2021)



Slika 2. Vodeće lokalizacije po smrtnosti prema polu, Republika Srbija, 2018. godina

Preuzeto sa: <http://www.batut.org.rs/download/publikacije/MaligniTumori2018.pdf> (pristup 21.04.2021)

Kod muškaraca, KRK se nalazi na drugom mestu po učestalosti i smrtnosti, odmah iza karcinoma pluća, dok se kod žena nalazi na trećem, iza karcinoma dojke i pluća (10) (Slike 1 i 2).

1.1.3 Epidemiologija kolorektalnog karcinoma u Autonomnoj Pokrajini Vojvodini

Prema podacima Registra za maligne bolesti Republike Srbije iz 2018. godine, na teritoriji Vojvodine je registrovano ukupno 1.538 novih slučajeva KRK, od toga 927 osoba muškog i 611 osoba ženskog pola, sa standardizovanom stopom incidence kod muškaraca 102,1, a kod žena 78,4. Broj umrlih je 827 (513 muškarca i 314 žena), sa standardizovanom stopom mortaliteta 55,3 za muškarce i 30,9 za žene (10).

1.2 Etiologija kolorektalnog karcinoma

Kolorektalni karcinom je heterogena bolest, čija etiologija, kao ni većine malignih bolesti, nije u potpunosti poznata. KRK se u najvećem broju slučajeva javlja sporadično, a za manje od 20% slučajeva odgovorni su genetski poremećaji (11). Poznati su faktori povezani sa povećanim rizikom od obolevanja, kao i faktori koji smanjuju rizik od obolevanja. Faktori koji utiču na nastanak kolorektalnog karcinoma mogu da se podele u dve grupe:

- Nepromenjivi faktori rizika: godine života, pol, rasa i nasleđe;
- Promenjivi faktori rizika: način i stil života, pušenje, alkohol, ishrana, fizička neaktivnost, telesna težina (indeks telesne težine – *Body Mass Index*, BMI).

1.2.1 Nepromenjivi faktori rizika

1.2.1.1 Godine života – starost

Starost predstavlja jedan od najvećih faktora rizika za obolevanje od mnogih bolesti, te tako i od kolorektalnog karcinoma. Od ranije je poznato da je kolorektalni karcinom bolest starijeg doba i da se u oko 90% slučajeva KRK obično javlja nakon pedesete godine života, sa incidencom obolevanja između četrdesete i pedesete, i pikom u ranim sedamdesetim godinama (12, 13). Poslednjih godina, u mnogim zemljama je utvrđen porast incidence KRK kod odraslih mlađih od 50 godina, posebno u Evropi i u Sjedinjenim Američkim Državama (14–16). U toj starosnoj grupi, karcinomi se češće javljaju u silaznom delu debelog creva i rektumu (15). Razlozi za povećanje stope KRK u mlađoj populaciji i dalje su nejasni, ali se smatra da će se do 2030. godine incidence karcinoma debelog creva i rektuma povećati za 90%, odnosno 124,2%, u dobi od 20. do 34. godine (17).

1.2.1.2 Rasa

Među različitim rasama i etničkim grupama takođe postoji značajna razlika u pogledu incidence i mortaliteta obolevanja od KRK (18). Incidenca (20%) i mortalitet (45%) su kod pripadnika crne rase veći u odnosu na pripadnike bele rase (19).

1.2.1.3 Pol

Uopšteno govoreći, muškarci češće obolevaju od KRK. Incidenca i mortalitet su za 35–40% veći kod muškaraca; međutim, incidenca i mortalitet kolorektalnog karcinoma u populaciji starijoj od 65 godina veći su kod žena nego kod muškaraca (20). Takođe,

primećena je veća učestalost karcinoma desnog kolona kod žena (21). Smatra se da endogeni i egzogeni polni hormoni imaju ulogu u etiologiji kolorektalnih tumora. Prema podacima studije koja obuhvata 4.246 pacijentkinja, izloženost estrogenu se pokazala kao zaštitni faktor u razvoju mikrosatelitski nestabilnih karcinoma kolorektuma, dok nedostatak estrogena kod starijih žena povećava rizik od nastanka visoko mikrosatelitski nestabilnih karcinoma debelog creva (22). Postoje podaci i da terapija ženskim polnim hormonima u obliku oralnih kontraceptiva (estrogen/progesteron) smanjuje rizik od nastanka kolorektalnog karcinoma. Neke studije pokazuju da progesteron ima važniju ulogu u smanjenju rizika od razvoja KRK nego estrogen (23–25).

1.2.1.4 Naslede

Nasledni predisponirajući faktori u nastanku kolorektalnog karcinoma otkriveni su u 20% slučajeva, dok se u većini slučajeva (oko 80%) radi o sporadičnom obliku KRK, bez dokaza o naslednoj komponenti (1).

Karcinom kolona i rektuma nastaje kao posledica kompleksne i još nedovoljno razjašnjene interakcije genetskih faktora i činilaca spoljašnje sredine. Kolorektalni karcinom može da se javi u hereditarnom, familijarnom ili sporadičnom obliku. Hereditarni kolorektalni karcinomi nasleđuju se autozomno dominantno i mogu se svrstati u dve glavne grupe sindroma: nasledni polipozni sindromi i nasledni nepolipozni kolorektalni karcinom (*Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer*, HNPCC) (26, 27).

1.2.1.4.1 Nasledni polipozni sindrom (familijarna adenomatozna polipoza – FAP) i specifične varijante familijarne adenomatozne polipoze

Familijarna adenomatozna polipoza (FAP) je autozomno dominantno oboljenje koje nastaje kao posledica mutacije APC (*Adenomatosis Polyposis Coli*) gena. Gen APC kodira protein APC, koji učestvuje u razgradnji protoonkoproteina b-katenina. Mutacija je lokalizovana na dugom kraku hromozoma 5, u regionu q21-q2297. Genetska istraživanja su takođe pokazala da često dolazi do delecije jednog alela ovog gena u

sporadičnim oblicima kolorektalnog karcinoma, za razliku od familijarne adenomatozne polipoze kolona gde dolazi do mutacije. FAP čini 1–3% svih karcinoma debelog creva. Ovaj sindrom je najpoznatiji primer nasledne predispozicije za razvoj adenom-karcinom sekvence. Odlikuje se prisustvom nekoliko stotina do hiljada adenoma u kolonu i rektumu. Familijarna adenomatozna polipoza je posledica nasleđivanja ekstremno povećane proliferativne aktivnosti crevne sluzokože, što za posledicu ima i brzu malignu alteraciju, tako da se karcinom javlja kod 100% obolelih, uglavnom između 20. i 40. godine života, a nekad i u kasnijoj životnoj dobi (27, 28). Specifične varijante familijarne adenomatozne polipoze kod kojih je, kao odraz različite fenotipske ekspresije osnovnog genetskog poremećaja, polipoza udružena sa raznovrsnim ekstrakoličnim manifestacijama jesu:

- * Gardnerov sindrom – autozomno dominantna bolest u kojoj se javljaju benigni tumori različitih lokalizacija, uz intestinalnu polipozu. Najčešći su osteomi mandibule (kod 90% pacijenata) i kostiju lobanje, ređe i drugih kostiju (29);
- * Turcotov sindrom – karakteriše ga prisustvo različitog broja adenoma, uz pojavu tumora centralnog nervnog sistema i fokalne nodularne hiperplazije jetre (29);
- * Wolfov sindrom: Wolf, Smith i Lynch su u periodu 1952–1978. godine zapazili da postoji još jedna varijanta familijarne polipoze kolona, jer su kod 45% starijih članova jedne velike familije otkriveni solitarni adenomi. Ovaj sindrom karakteriše velika incidenca karcinoma kolona. Nasleđuje se autozomno dominantno (29);
- * Hereditarni *flat* adenoma sindrom nasleđuje se autozomno dominantno, sa različitim brojem adenoma i mogućom udruženošću sa nekoličnim malignitetom;
- * Muir–Torreov sindrom karakteriše manji broj polipa sa prisustvom tumora kože (30, 31).

1.2.1.4.2 Hereditarni nepolipozni kolorektalni karcinom (HNPCC)

Hereditarni nepolipozni kolorektalni karcinom je poseban nasledni oblik, nazvan *Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer* (HNPCC) ili, po autoru koji ga je prvi opisao – Lynchov sindrom. Karakteristike ovog sindroma ustanovljene su kao Amsterdamski kriterijumi koji podrazumevaju:

- a) porodičnu zahvaćenost – pojavu karcinoma debelog creva kod najmanje tri srodnika,
- b) pojavu karcinoma u najmanje dve uzastopne generacije,
- c) dijagnozu oboljenja kod bar jednog člana porodice u dobi mlađoj od 50 godina (32).

Primećeno je, takođe, da je lokalizacija karcinoma najčešće u proksimalnim delovima debelog creva (60–80%), da se oboljenje pojavljuje u mlađoj životnoj dobi i da se odlikuje i pojavom multiplih primarnih malignih tumora, bilo sinhrono ili metahrono. U okviru HNPCC sindroma postoje dva entiteta: 1) kada se u porodicama javlja samo karcinom debelog creva (*Hereditary Site-Specific Nonpolyposis Colon Cancer*, HSSCC), koji ispunjava sve navedene Amsterdamske kriterijume, kraće nazvan Lynch I sindrom; 2) kada se u porodicama ili čak kod iste osobe, pored kolorektalnog karcinoma, mogu javiti i drugi karcinomi (Amsterdam II kriterijumi): najčešće endometrijuma (čak kod 20% ženskih osoba iz ovih familija), jajnika, želuca, ređe i drugih organa (pankreas, bilijarni trakt, urološke lokalizacije); ovaj oblik se naziva *Cancer Family Syndrome* ili Lynch II. Studije nisu pokazale povećanu incidencu karcinoma pluća, dojke, larinksa, prostate, ćelija hematopoeze u okviru HNPCC sindroma (33).

HNPCC je odgovoran za oko 3% svih kolorektalnih karcinoma. Nasleđuje se autozomno dominantno i posledica je mutacije *Mismatch Repair* gena (MMR); dovodi do sklonosti za razvoj kolorektalnog karcinoma, kao i za karcinome drugih organa. Uzrok HNPCC je mutacija u jednom od četiri DNA MMR gena. MMR geni (hMSH2, hMLH1, hPMS2, hMSH6) odgovorni su za popravke grešaka nastalih u DNK tokom ćelijske replikacije. Mutacije MSH2 i MLH1 u germinativnim ćelijama odgovorne su za više od 90% mutacija utvrđenih u HNPCC familijama. Kod ovog sindroma ne postoji difuzna polipoza debelog creva kakva se sreće kod naslednih polipoznih sindroma. Hereditarni nepolipozni kolorektalni karcinom kod osoba sa mutacijom MMR gena javlja se u proseku dve decenije ranije nego sporadični karcinom, sa medijanom uzrasta javljanja oko 44. godine. Rizik od nastanka kolorektalnog karcinoma kod osoba sa mutacijom MMR gena je oko 80%. Bolesnici sa HNPCC u osnovi imaju poremećaj nazvan mikrosatelitska nestabilnost (*Microsatellite Instability*, MSI). Kod HNPCC pacijenata čija dijagnoza je postavljena po Amsterdamskim kriterijumima, MSI se nalazi kod 90% tumora kolona u poređenju sa 15–20% kod pacijenata sa sporadičnim kolorektalnim karcinomom. Prema usvojenim

preporukama za rano otkrivanje HNPCC sindroma, skrining obuhvata testiranje članova familije obolelih od KRK i detekciju mutacija (34–39).

Hamartomatozni polipozni sindromi (Peutz–Jeghers sindrom, juvenilna polipoza, Gorlinov sindrom i Cowden sindrom) odgovorni su za manje od 1% karcinoma debelog creva.

* Peutz–Jeghers sindrom (PJS) koji se nasleđuje autozomno dominantno karakterišu hamartomi tankih creva, ređe debelog creva i želuca, udruženi sa perioralnom i bukalnom pigmentacijom, kao i pigmentacijom prstiju. Pacijenti sa PJS imaju veoma visok rizik (39%) od nastanka kolorektalnog karcinoma i drugih gastrointestinalnih i negastrointestinalnih tumora (40).

* Juvenilna polipoza se nasleđuje autozomno dominantno. Polipi tankih creva ponekad mogu da budu udruženi sa mikrocefalusom, Meckelovim divertikulumom i mentalnom retardacijom. Rizik od nastanka kolorektalnog karcinoma kod ovih pacijenata je 17–68% (41, 42).

* Gorlinov sindrom je autozomno dominantno oboljenje s nekoliko juvenilnih polipa udruženih sa bazocelularnim karcinomom, i palmarnim i plantarnim promenama i abnormalnostima rebara (43).

* Cowdenov sindrom se nasleđuje autozomno dominantno. Udružen je sa papulama lica, papilomatozom oralne sluznice, palmoplantarnom keratozom. Dugo se verovalo da, za razliku od adenomatoznih polipoza, hamartomatozni polipi ne ukazuju na rizik od maligne alteracije, ali u poslednje vreme je utvrđeno da i kod njih može doći do pojave karcinoma debelog creva, te se danas smatraju prekanceroznim stanjima. Rizik od nastanka kolorektalnog karcinoma u ovom sindromu je viši (9%) nego u opštoj populaciji (44, 45).

1.2.1.4.3 Familijarni kolorektalni karcinom

U ovu grupu se ubrajaju svi slučajevi kod kojih nije jasno dokazan uticaj genetskih faktora na pojavu oboljenja. Detaljnije analize su pokazale da se u familijama obolelih od kolorektalnog karcinoma često nailazi na postojanje istog oboljenja ili prisustvo

adenomatoznih polipa, odnosno da je započela evolucija procesa ka nastanku karcinoma debelog creva. Broj slučajeva u jednoj porodici je isuviše velik da bi se govorilo o sporadičnom kolorektalnom karcinomu. Prema pojedinim autorima, karcinom debelog creva se javlja kod 15–20% srodnika prvog reda (46).

Sporadični kolorektalni karcinom je najčešća forma malignog oboljenja debelog creva (oko 70%) i dijagnoza se uglavnom postavlja kod simptomatskih bolesnika. Sporadični kolorektalni karcinom se najčešće javlja kod osoba starijih od 50 godina (40).

1.2.2 Promenjivi faktori rizika

1.2.2.1 Način i stil života

Savremeni, tzv. zapadnjački način i stil života povećavaju rizik za razvoj KRK. Pod tim načinom života podrazumevamo konzumiranje hrane bogate ugljenim hidratima i mastima, uz smanjenu fizičku aktivnost. U brojnim radovima se navodi da su stil života i fizička neaktivnost značajni faktori rizika za nastanak kolorektalnog karcinoma. Globalna prevalencija neaktivnosti definisana niskim stepenom fizičke aktivnosti, sedentarnim ponašanjem i gojaznošću je velika (47, 48).

Brojne studije su rađene na temu uticaja fizičke aktivnosti i zdrave ishrane na nastanak KRK. Dokazano je da su fizička aktivnost i normalna uhranjenost snažno povezane sa smanjenim rizikom od obolevanja od KRK (49). Rano započinjanje sa fizičkom aktivnošću, tokom adolescencije, takođe smanjuje rizik od razvoja kolorektalnog karcinoma kasnije u životu (50–52).

Prekomerna uhranjenost, odnosno povišen indeks telesne mase (*Body Mass Index*, BMI) povezan je sa povećanim rizikom od recidiva i smrtnosti od KRK, posebno kod muškaraca. Model distribucije gojaznosti je u korelaciji sa rizikom od nastanka kolorektalnog karcinoma – rizik je veći kod abdominalnog tipa gojaznosti (53–55). Gojaznost takođe predstavlja snažan pokazatelj preživljavanja, prognoze, recidiva i odgovora na terapiju (56).

Iako je nedovoljno istraženo, smatra se da unutar masnog tkiva dolazi do brojnih metaboličkih procesa, proinflammatoryh i inflamatornih, usled kojih se oslobađa velik broj medijatora koji utiču na metabolizam lipida, što može da bude jedan od pokretača karcinogeneze (55).

Prema rezultatima iz Studije zdravstvene nege medicinskih sestara i Studije praćenja zdravstvenih radnika (studijama obuhvaćeni 45.351 muškarac i 178.016 žena, ispitivana su 24 faktora rizika), tumori proksimalnog kolona, tj. desnog kolona povezani su sa nasleđem, dok su tumori distalnog, tj. levog kolona više povezani sa faktorima rizika kao što su određen način ishrane (prerađeno meso), pušenje, alkohol i prekomerna telesna težina (57, 58).

1.2.2.2 Ishrana

Hrana je značajan deo kulture ljudi i presudna je za život i blagostanje. Umerenost i raznovrsnost su osnov zdrave ishrane. Iako su se poslednjih godina kancerogeni efekti dijete uglavnom pripisivali ishrani sa visokim udelom masti i kalorija, sve veća pažnja se usmerava ka protektivnim faktorima poput vlakana, vitamina i minerala, kao i metabolizmu crevnog mikrobioma.

Svetski fond za istraživanja raka sugeriše da bi se KRK mogao sprečiti u do 50% slučajeva, uz modifikovanje faktora rizika poput ponašanja u ishrani i načinu života (49).

1.2.2.2.1 Crveno meso

Brojne studije su ukazale na povezanost ukupne količine konzumiranog crvenog mesa i mesnih prerađevina i rizika od razvoja kolorektalnog karcinoma. Dnevni unos od 100 g ili 120 g crvenog mesa i mesnih prerađevina povećava rizik od obolevanja za 15–40% (59).

Međunarodna agencija za istraživanje karcinoma (*International Agency for Research on Cancer, IARC*) analizirala je brojne studije koje su istraživale povezanost razvoja KRK sa konzumiranjem crvenog i prerađenog mesa. Konačan zaključak je da se radi o

„verovatnom kancerogenu”, dok je Međunarodna agencija za istraživanje raka Svetske zdravstvene organizacije ukazala na to da je konzumacija crvenog mesa „verovatno kancerogena” za ljude, a prerađeno meso se smatra „kancerogenom” (60).

Prerađeno meso se definiše kao meso tretirano soljenjem, očvršćavanjem, fermentacijom, dimljenjem ili drugim procesima radi poboljšanja ukusa ili produženja veka trajanja. Tim procesima nastaju štetni produkti kao što su aromatični ugljovodonici, heterociklični amini i N-nitrozoamini koji dalje oštećuju površinski sloj sluznice debelog creva, dovode do reaktivne epitelne proliferacije, pokrećući čitav niz mehanizama karcinogeneze (61).

1.2.2.2.2 Masti

Ishrana bogata mastima doprinosi razvoju kolorektalnog karcinoma. Masti stimulišu hepatičnu sintezu holesterola i žučnih kiselina koje u digestivnom traktu, pod dejstvom bakterija prelaze u sekundarne žučne kiseline, metabolite holesterola i druge toksične materije koje dalje, aktivacijom određenih enzima, dovode do hiperproliferacije ćelija. Uočeno je da omega-3 masne kiseline iz ribljeg ulja redukuju proliferaciju ćelija sluzokože debelog creva i doprinose smanjenju incidence raka kolorektuma (62).

1.2.2.2.3 Mleko i mlečni proizvodi

Konzumiranjem mleka i mlečnih proizvoda smanjuje se rizik od kolorektalnog karcinoma. Smatra se da kalcijum iz ovih namirnica ostvaruje protektivnu ulogu vezivanjem masnih i žučnih kiselina. Na taj način, inhibira se proliferacija kolonocita, redukuje citotoksičnost tečnog dela fecesa i sprečava nastajanje tumora kod životinja (63).

1.2.2.2.4 Voće / povrće

Određene studije i metaanalize ukazuju na značaj odnosa između unosa voća i povrća, i nastanka KRK. Unos tri do pet puta u toku dana za 15% smanjuje rizik od nastanka ovog oboljenja (metaanaliza 2.006 slučajeva KRK i studija sa 3.504 bolesnika) (64, 65). Druge studije pak osporavaju protektivnu ulogu i nisu pokazale statistički značajno smanjenje incidence KRK (66). Moguće objašnjenje za ovo verovatno leži u različitim ciljevima tih studija (incidenca ili mortalitet KRK). Svoj protektivni efekat, voće (jabuka, kruška, šljiva) i neleguminozno povrće (kupus, brokoli) ispoljavaju preko prirodnih vlakana, a manje preko antioksidanasa (vitamin C), fitonutrijenata, folata, raznih minerala, vitamina, kako pojedinačno tako i sinergistički. Takođe, dokazano je da kada se vitamini (C, D, E, i beta-karoten i karoten) i antioksidansi u organizam unose u obliku koktela nemaju protektivnu ulogu u nastanku karcinoma debelog creva (64, 65). Povećan unos biljnih vlakana, voća, povrća, uz smanjen unos crvenog mesa, mogu smanjiti učestalost KRK (67).

1.2.2.2.5 Vitamini / minerali

Uloga vitamina D još uvek nije precizno definisana. Postoje studije koje govore u prilog tome da vitamin D takođe smanjuje rizik od KRK, inhibirajući neoangiogenezu i ćelijsku proliferaciju uz indukciju apoptoze (68, 69). Prospektivne studije sugerišu da nedostatak vitamina D može doprineti učestalosti nastanka KRK (70).

Selen je uključen u mehanizme genske aktivacije metilacije i metabolizma polinezasićenih masnih kiselina. Uloga selena, koji je zbog svojih antioksidativnih i antiinflamatornih svojstava takođe ispitan, još uvek nije jasno definisana, uprkos metaanalizi koja je izvestila da je suplementacija selena povezana sa smanjenjem incidence KRK (71, 72).

Slični zaključci mogu se izvući i za unos kalcijuma. Novija istraživanja nisu potvrdila zaštitnu ulogu ovog minerala; međutim, dokazi se mogu smatrati nešto jačima nego za selen (73). Pojedini radovi ukazuju i na značaj niacina koji ima zaštitni efekat protiv

KRK. Niacin suzbija upale i progresiju tumora, delujući i na makrofage i na dendritične ćelije, te podstičući diferencijaciju T-ćelija koje proizvode određene interleukine (74).

1.2.2.3 Štetne navike

1.2.2.3.1 Alkohol

Konzumiranje alkohola je jedan od glavnih faktora rizika za razvoj karcinoma (75). Postoji korelacija između unosa alkoholnih pića i karcinoma kolona. Konzumiranje alkohola u ranom odraslom dobu (≥ 15 g/dan) povezano je sa većim rizikom za nastanak KRK (multivarijabilni HR 1,28, 95% CI 0,99–1,66, $p=0,02$). Nalazi velikih prospektivnih kohortnih studija sugerišu da veći unos alkohola u ranoj odrasloj dobi može biti povezan sa većim rizikom od razvoja KRK kasnije u životu (76, 77). Mehanizam kojim alkohol može da poveća šansu za karcinogenezu uključuje gastrointestinalnu ćelijsku regeneraciju i inhibiciju imunog odgovora. Takođe, u odsustvu adekvatne količine rezervi folne kiseline, etanol povećava DNK metilaciju (77).

1.2.2.3.2 Pušenje

Pušenje kao faktor rizika za razvoj KRK i ostalih karcinoma predmet je mnogih istraživanja.

Postoji pozitivna korelacija između količine popušanih cigareta dnevno i pušačkog staža sa rizikom od kolorektalnog karcinoma. Dugotrajno pušenje više od 20 cigareta dnevno povećava rizik od kolorektalnog karcinoma 2–3 puta (78). Pušenje povećava rizik od kolorektalnog karcinoma indukcijom tumorske angiogeneze, kao i inhibicijom apoptoze (79).

Smatra se da nikotin i metaboliti duvana povećavaju rizik za mutacije BRAF gena, protoonkogeni kod KRK. Metaanalize ukazuju na to da pušači u odnosu na nepušače imaju za 1,2 puta veći rizik za nastanak KRK (80).

1.2.2.4 Lekovi

Aspirin i drugi antiinflamatorni lekovi

Analizirane su brojne studije o uticaju acetilsalicilne kiseline na razvoj KRK. Antiinflamatorno i antioksidativno dejstvo aspirina i drugih nesteroidnih antiinflamatornih lekova osnova je njihovog antikancerogenog efekta. Antiinflamatorno dejstvo zasniva se na inhibiciji enzima ciklooksigenaze 2 (COX-2), dok se antioksidativni efekat zasniva na eliminaciji slobodnih radikala koji nastaju tokom raznih metaboličkih procesa (81, 82).

1.2.2.5 Ostali faktori spoljašnje sredine

Nedavne studije ukazuju na to da bi infekcija *Helicobacter pylori*, *Fusobacterium spp.* i drugim potencijalnim infektivnim agensima mogla biti povezana sa povećanim rizikom od nastanka karcinoma debelog creva (83, 84).

1.2.2.6 Mikrobiom creva

U ljudskom organizmu nalazi se veliki broj mikroorganizama ($\geq 10^{14}$). U crevima je smešteno 75% celokupne mikroflore (85). Mikroflora creva sastoji se od različitih vrsta bakterija, gljivica, protozoa i virusa, uravnotežena je i jedinstvena za svakog pojedinca. Njena uloga je višestruka. Učestvuje u imunološkoj odbrani tako što mikrobiom creva deluje na intraepitelne limfocite i imune ćelije u lamini proprii što može da utiče na inflamatorne odgovore. Pored toga što direktno utiče na imune ćelije, mikrobiota creva može uticati na propustljivost epitela debelog creva i funkciju barijere, što određuje u kojoj meri luminalne bakterije i bakterijski antigeni dolaze u kontakt sa celularnim imunim sistemom (81, 86, 87). Takođe, mikrobiom creva utiče na metabolizam žučnih soli i hormona, sintezu određenih aminokiselina i vitamina.

U poslednje vreme, sve više značaja se pridaje disbalansu crevne flore koja igra bitnu ulogu u procesu karcinogeneze KRK, u kombinaciji sa faktorima spoljašnje sredine (85,

88). Prehrambene navike i način života mogu dovesti do disbalansa crevne flore (89, 90). Pre svega, konzumiranje hrane životinjskog porekla (crveno meso, masti) dovodi do stvaranja žučnih kiselina, koje bakterije u crevima pretvaraju u vodonik-sulfid, odnosno sekundarne žučne kiseline koje oštećuju sluznicu creva. Mikrobiom creva igra bitnu ulogu u adenoma-karcinom sekvenci (91). *Fusibacterium nucleatum*, *Escherichia coli*, *Streptococcus bovis/gallolyticus* i *Bacteroides fragilis* su mikroorganizmi pronađeni u sluznici i stolici u povećanom broju kod pacijenata sa KRK (87, 90, 92). *Fusibacterium nucleatum* dovodi do inflamatornog odgovora, usled čega nastaju medijatori koji aktiviraju signalne puteve koji, dalje, inhibiraju tumor-supresor gene u procesu karcinogeneze.

E. coli, *S. bovis/gallolyticus* i *B. fragilis* oštećuju epitel sluznice creva, oslobađajući slobodne radikale koji direktno utiču na onkogene ili tumor-supresor gene tako što aktiviraju signalizaciju b-katenina, cepanje E-kadherina i indukciju puta NF- κ B (87). Na taj način posreduju u ćelijskoj proliferaciji u procesu karcinogeneze (93–96).

Kao što je već pomenuto, mikrobiom creva je promenjen kod pacijenata sa KRK, ali postoje dokazi da se nakon tretmana KRK mikrobiota creva menja, postajući sličnija onoj kod zdravih osoba.

Iako nedavne studije sugerišu na moguć pozitivan imunomodulatorni efekat, kao i poboljšanje aktivnosti crevne barijere indukovane od strane probiotika, podaci su i dalje oprečni (97, 98).

1.2.2.7 Stanja sa povećanim rizikom za nastanak KRK

Inflamatorne bolesti creva (IBD)

Pacijenti sa inflamatornim bolestima creva (IBD), od kojih se najčešće pominju ulcerozni colitis i Crohnova bolest, imaju povišen rizik od nastanka kolorektalnog karcinoma. Mnogi radovi ukazuju na to da rizik od razvoja KRK zavisi od dužine trajanja upale, ekstenzivnosti zahvaćenog dela kolorektuma, pozitivne porodične anamneze za KRK, primarnog sklerozirajućeg holangitisa i postavljanja dijagnoze IBD u mlađem uzrastu. Pacijenti sa inflamatornom bolešću creva, imaju 2,4 puta veći rizik za razvoj KRK;

međutim, ukoliko se radi o ekstenzivnom kolitisu, rizik je 4,8 puta veći. Kumulativni rizik od nastanka KRK iznosi 2% deset godina nakon postavljanja dijagnoze KRK, 8% nakon 20 godina i 18% posle 30 godina. Važno je napomenuti da pacijenti s aktivnim kolitisom i oni u remisiji imaju podjednak rizik od nastanka kolorektalnog karcinoma (99–101).

Šećerna bolest (*Diabetes mellitus*)

Tip II dijabetesa povećava rizik od nastanka kolorektalnog karcinoma. Potencijalni mehanizam povišenog rizika uključuje hiperinsulinemijsku stimulaciju ćelijske proliferacije aktivacijom insulinskih receptora ili receptora za *insulin like* faktore rasta (102, 103).

1.3 Patogeneza kolorektalnog karcinoma

Organizam, kao jedan od najkompleksnijih, ali i najsavršenijih mehanizama, omogućava opstanak pomoću složenih procesa homeostaze i očuvanja integriteta.

Karcinom debelog creva je heterogena bolest za čiji nastanak je odgovoran niz genetskih mutacija koje dovode do poremećaja ćelijske homeostaze. Sada je već dobro poznato da u osnovi malignih bolesti leže genetske promene za koje su odgovorne tri grupe gena: protoonkogeni, tumor-supresor geni i geni odgovorni za popravku grešaka unutar DNK, kao i epigenetske promene u metilaciji molekula DNK i promene u funkciji i građi hromozoma. U razvoju KRK postoje sekvencijalni višestepeni mutacijski procesi. Kao i kod mnogih drugih vrsta tumora, kolorektalna karcinogeneza proističe iz mutacija uglavnom onkogeni i tumor-supresor gena i, za razliku od naslednih familijarnih, sporadični kolorektalni karcinomi su rezultat kumulacije više somatskih mutacija (104). Model karcinogeneze se bitno promenio unazad 25 godina. Od identifikacije seratnih karcinoma od strane Jassa i Smitha 1992. godine, opisane su osnovne genetske i epigenetske promene. Različite kombinacije ovih promena rezultiraju različitim KRK

fenotipom (105). Molekularni mehanizmi u osnovi razvoja ovog karcinoma klinički su važni jer su povezani sa prognozom i odgovorom na primenjenu terapiju (106, 107). Do sada, definisana su tri molekularna puta razvoja KRK. Prvi je klasična sekvenca adenom-karcinom (model Fearon i Vogelstein) u kojoj karcinomi obično razvijaju hromozomsku nestabilnost i mikrosatelitski su stabilni (*Microsatelit Stable*, MSS); ovaj put je odgovoran za 70–80% slučajeva kolorektalnog karcinoma (108, 109). Drugi put je mutacija zametnih linija u genima za popravak neusklađenosti (*Mismatch Repair*, MMR) i razvoj mikrosatelitske nestabilnosti (*Microsatelite Instability*, MSI); ovaj put je odgovoran za oko 3% slučajeva KRK i ima svoju paradigmu u Lynch sindromu, kojeg karakteriše nasledna mutacija u jednom od MMR gena. Treći put su seradne lezije za koje se više ne smatra da im nedostaje maligni potencijal i koje su odgovorne za preostalih 15–30% slučajeva KRK kroz tzv. seradni put. Kolorektalne karcinome seradnog puta (SPKRK) karakteriše somatska BRAF mutacija i DNK CpG ostrvska hipermetilacija (fenotip CpG ostrvskog hipermetilatora ili CIMP) (110–112). Pre svega, možemo reći da pojavi karcinoma debelog creva obavezno prethodi prekancerozno stanje, tj. displazija crevnog epitela (113). Ova displazija je po pravilu ograničena na uska područja i lokalizovana na površini egzofitičnih izbočenja, pošto se najčešće razvija u epitelu adenomatoznih polipa. Široko je prihvaćen model *polyp-cancer sequence* Morsona i Mutoa. Po njemu, tipičan proces nastanka kolorektalnog karcinoma odvija se sledećim redom: na uskom području sluzokože debelog creva gde je posebno povećan intenzitet proliferacije epitelnih ćelija (faza II po Lipkinu) postepeno raste adenomatozni polip; vremenom, tokom njegovog sporog povećavanja, posebno ukoliko polip u svojoj građi zadobije i vilozne komponente, na njegovoj površini dolazi do pojave displazije epitela. Ukoliko se polip dijagnostikuje i odstrani (polipektomira) prekida se dalja potencijalna evolucija prema karcinomu, što predstavlja efikasnu sekundarnu prevenciju kolorektalnog karcinoma. Displazija blagog stepena postepeno evoluira do najtežeg III stepena, koji se označava kao karcinom *in situ* i predstavlja „most” između benignog adenoma i invazivnog karcinoma (114). Pojava i stepen displazije u korelaciji su sa veličinom polipa a time, u stvari, i sa vremenskom komponentom, tj. trajanjem njegove prethodne evolucije. Prosečno vreme od nastanka polipa do razvoja karcinoma je oko 10 godina (108). Razvoj tumora odvija se postepeno, od povećavanja proliferativnosti

crevne sluzokože, preko nastanka polipa, njegovog uvećavanja, maligne alteracije epitela, invazivnog rasta i, konačno, metastaziranja. Svi ovi procesi uslovljeni su određenim događajima, na nivou genetskog materijala, tj. određenim molekularnim promenama koje utiču na to da benigna lezija progresivno postaje manje diferentovana (115, 116). Oko 70% procenata KRK nastaje na ovaj način, iz sekvence adenom-karcinom. Tu dolazi do mutacija u APC genu i razvoja hromozomske nestabilnosti. Ovi tumori su uglavnom u vezi sa hiperploidijom, gubicima alela, čestom mutacijom tumor-supresornih gena (APC, p53) i uglavnom se nalaze u levom delu debelog creva. Mutacije u APC-genu (gubitak heterozigotnosti na hromozomu 5q: 5qLOH) javljaju se rano u kolorektalnoj karcinogenezi i obično su praćene mutacijom u KRAS genu, a kasnije u p53 genu. Pored toga, u uznapredovalim adenomima pronađene su mutacije u tri dodatna gena (DCC, SMAD4, SMAD2) na hromozomu 18q. Preostalih 10–15% sporadičnih kolorektalnih tumora odlikuje se mikrosatelitskom nestabilnošću (MIN) i uglavnom se nalaze u proksimalnim delovima debelog creva, tj. desnom delu kolona. Oni su euploidni tumori bez alelnih gubitaka, prisutnih retkih mutacija supresor gena (p53, APC) i češćih mutacija BRAF i PI3KCA onkogeni i nekih drugih gena (TGB-RII, Bax, TCF4, Caspaza5, HIF1) (117–121).

Poslednjih decenija, istraživanja su pokazala da su i hiperplastični polipi povezani sa malignom transformacijom. Početkom devedesetih godina dvadesetog veka opisani su mešoviti polipi sa karakteristikama adenoma i hiperplastičnog polipa. Sredinom devedesetih godina, definišu se kao tradicionalni nazubljeni adenomi, uz naglašavanje neoplastičnog potencijala tih lezija (122–124).

Prema najnovijoj podeli tj. nomenklaturi Svetske zdravstvene organizacije, seradne lezije mogu da se svrstaju u tri grupe: hiperplastični polipi (HP), sesilni seradni adenom / polipi (*Sesil Serrated Adenoma*, polip SSA/Ps) i tradicionalni nazubljeni adenomi (*Tradicional Serrated Adenoma*, TSA) (125).

Navedene lezije imaju različit maligni potencijal. Hiperplastični polipi su najčešće nazubljene lezije i čine 80–90% svih seratnih lezija, te 25–30% svih polipa u debelom crevu (126). SSA/Ps imaju maligni potencijal, čine 8–20% nazubljenih lezija i 1,7–9% svih polipa debelog creva. Vrlo se teško detektuju. Lokalizovani su u desnom delu kolona

i češći su kod žena. Tradicionalni seratni adenomi su izuzetno retki, čine približno 1% svih kolorektalnih polipa (126–129).

Seratni put je, nakon puta adenom-karcinom, drugi najznačajniji put u karcinogenezi KRK. Karcinogeneza ovim putem zasniva se na dva mehanizma: put mutacije BRAF i put mutacije KRAS. Put mutacije BRAF karakterišu visoki nivoi fenotipa CpG ostrvskog metilatora (CIMP), što dovodi do utišavanja gena za popravak neusklađenosti hMLH1, i rezultira velikom mikrosatelitskom nestabilnošću (MSI-H) i posledičnom evolucijom u displaziju visokog stepena te, na kraju, u kolorektalni karcinom (123). KRK sa BRAF mutacijom i visokom mikrosatelitskom nestabilnošću čine većinu sporadičnih nenaslednih KRK, otprilike 12–15% (130).

Suprotno tome, put KRAS mutacije karakteriše nizak nivo metilacije ostrva CpG, bez inaktivacije gena za popravak neusklađenosti hMHL1 i sa mikrosatelitskom stabilnošću. Dakle, glavni podsticaj kancerogenezi u tim slučajevima je mutacija gena supresora, kao što je slučaj sa SLIT-2 i p53 (117, 130–133). Ovaj tip kolorektalnog karcinoma čini približno 5% svih KRK (131).

Analiza histoloških i molekularno-genetskih karakteristika nazubljenih polipa ukazuje na to da su SSA i TSA dva genetski različita entiteta. SSA sa displazijom pretežno ima BRAF mutaciju, dok TSA ima KRAS mutaciju (11, 132, 133).

1.4 Lečenje pacijenata sa metastatskim kolorektalnim karcinomom

1.4.1 Prognostički i prediktivni faktori u lečenju kolorektalnog karcinoma

Poznati su brojni prognostički i prediktivni faktori značajni za praćenje i lečenje metastatskog kolorektalnog karcinoma. Prognostički faktori daju informaciju o ishodu bolesti nezavisno od primenjene terapije, dok su prediktivni faktori oni parametri koji

daju informacije o ishodu bolesti u zavisnosti od primenjene terapije, tj. identifikuju pacijente koji će imati korist od određene terapije. Pojedini faktori mogu da imaju i prediktivni i prognostički značaj. Od prepoznavanja ovih faktora zavisi uspešnost primenjene terapije (134).

1.4.1.1 Patohistološke karakteristike kolorektalnog karcinoma

Patohistološke karakteristike tumora predstavljaju važne prognostičke parametre. Postoji nekoliko desetina podtipova karcinoma debelog creva. Patohistološki tip tumora, kao što je mucinozna varijanta adenokarcinoma, karcinom ćelija pečatnog prstena (*Signet Ring Cell*) imaju nepovoljniju prognozu, s tim što mucinozna komponenta umanjuje odgovor na hemioterapiju i ciljanu (*target*) terapiju (135). Stepem diferencijacije (gradus), kao što je slabo diferentovan tumor, ukazuje na nepovoljnu prognozu. Prisutnost vaskularne i perineuralne invazije takođe su nepovoljni prognostički parametri. Isto tako, na prognozu utiču i morfološke karakteristike limfocitnog infiltrata. Prisustvo tumor-infiltrirajućih limfocita ima povoljniju prognozu jer inhibira rast tumora. Opisuju se tip, gustina i lokalizacija limfocitnog infiltrata (135, 136). Zahvaćenost limfnih čvorova, kao i nedovoljan broj pregledanih limfnih čvorova, nepovoljni su prognostički parametri. Pozitivnost resekcionih rubova, tj. prisustvo malignih ćelija na mestu resekcije tumora, nepovoljan je prognostički znak. Stadijum bolesti, u smislu lokalno uznapredovalog (treći stadijum) i metastatskog (četvrti stadijum) karcinoma ukazuju na nepovoljnu prognozu. Bitan prognostički parametar je i klinička prezentacija bolesti u momentu; npr. opstrukcija i perforacija creva nepovoljni su prognostički parametri (137). Biohemijski nalazi takođe mogu da posluže kao prognostički faktori. Povišene vrednosti transaminaza, bilirubina, alkalne fosfataze, tumorskih markera karcinoembrionalnog antigena (CEA) i karbohidratnog antigena 19-9 (CA 19-9) upućuju na nepovoljniju prognozu bolesti (137).

Pored navedenih, postoje i drugi markeri za predikciju i prognozu, od kojih je većina u fazi ispitivanja i nema upotrebnost u svakodnevnoj kliničkoj praksi.

1.4.1.2 Molekularne karakteristike kolorektalnog karcinoma (RAS, BRAF, MSI, HER status)

Identifikacija novih molekularnih biomarkera je zlatni standard u kliničkoj onkologiji. G-proteini iz porodice Ras prenose signale faktora rasta, preko signalnog puta EGF receptora (*Epidermal Growth Factor Receptor*, EGFR). EGFR je transmembranski glikoproteinski receptor na ćeliji, iz porodice tirozin-kinaza, poznat pod nazivom humani epidermalni faktor rasta, HER (138). Kada se aktivira, vezivanjem za epidermalni faktor rasta (*Epidermal Growth Factor*, EGF), fosforiliše i aktivira druge intracelularne proteine koji utiču na ćelijske signalne puteve, ćelijsku proliferaciju, diferencijaciju i kontrolu apoptoze i angiogeneze (138, 139). Glavna nishodna signalizacija EGFR odvija se preko ras-raf-mitogen aktivnog protein kinaza (RAS-RAF-MAPK) puta.

RAS (rat sarkoma virus 2) protoonokogeni su često pogođeni mutacijama tokom karcinogeneze u različitim karcinomima, kao na primer kod kolorektalnog karcinoma, nemikrocelularnog karcinoma pluća, karcinoma pankreasa itd. Porodica RAS protoonkogeni sastoji se iz HRAS (Harvey RAS), KRAS (Kirsten RAS), NRAS (neuroblastoma RAS). RAS mutacije su odgovorne za signalnu aktivaciju RAS/RAF/MAPK signalnog puta koji je, dalje, odgovoran za proliferaciju i diferencijaciju tumorskih ćelija (140).

Kod KRK, važno je određivanje svih RAS mutacija koje podrazumevaju mutacije gena KRAS na egzonu 2 (kodon 12/13), egzonima 3 i 4, i NRAS mutacije na egzonima 2, 3, 4. U 90% slučajeva radi se o kodonu 12 i 13, ređe o kodonima 59, 61, 117 i 146 (141). KRAS mutacije na egzonu 3 povezane su sa prisustvom defekta na genima za popravku DNK (dMMR) i sa Lynchovim sindromom (140).

Pokazalo se da detekcija statusa ovih gena ima prediktivni značaj za dalji terapijski tretman pacijenata sa KRK. Proteinski produkt KRAS gena je GDP/GTP vezujući protein sa aktivnošću GTPaze i igra bitnu ulogu u brojnim signalnim putevima odgovornim za proliferaciju i diferencijaciju malignih ćelija (141, 142). KRAS protein ima 188 aminokiselina i molekulska masu od 21,6 kDa; u ćeliji se nalazi u neaktivnom stanju dok ne veže GTP, a to je kontrolisano unutrašnjim i spoljašnjim ćelijskim signalima.

Konformaciona promena KRAS proteina omogućava da se u aktivnom GTP stanju može vezati za:

- PLC – fosfolipazu C, RAL (aktivira se JAK signalni put – *Jun Amino-Terminal Kinase*),
- RAF (čime se pokreće MAPK signalni put – *Mitogen-Activated Protein Kinase*)

PI3K – fosfatidil-inozitol-3 kinaza, takođe može biti u interakciji s mnogim signalnim putevima (143).

Aktivacija signalnih puteva i kod zdravih i kod neoplastičnih ćelija omogućava intenziviranu proliferaciju, deobu, regulisanje apoptoze, diferencijacije i angiogeneze, i aktivaciju odgovarajućih mehanizama za popravku DNK. Oko 40% tumora debelog creva poseduje mutacije na KRAS protoonkogenu, koje su povezane sa otpornošću na primenu biološke terapije, tj. monoklonskih antitela usmerenih protiv receptora epidermalnog faktora rasta (*Epidermal Growth Factor Receptor Antibody*, anti-EGFR at). Pacijenti koji imaju KRAS nemutirani tumor, u 10% slučajeva mogu imati NRAS mutacije, što ih čini otpornim na primenu anti-EGFR antitela (144). Međutim, postoje i pacijenti koji, i pored odsustva KRAS i NRAS mutacija, ipak ne reaguju na ciljanu terapiju.

Neuspeh terapije monoklonskim antitelima usmerenim protiv EGFR može biti posledica postojanja primarne ili sekundarne rezistencije. Mehanizam koji leži u osnovi primarne rezistencije uključuje amplifikaciju MET, HER2 ekspresiju, aktivaciju fosfatidilinozitol-3-kinaze (PIK3CA), mutaciju FGFR1 (*Fibroblast Growth Factor Receptor-1*) i PDGFRA (*Platelet Derived Growth Factor Receptor Alpha*), nizak broj kopija EGFR i gubitak PTEN (*Phosphatase and Tensin Homolog*) funkcije (145). Sekundarna rezistencija je strogo povezana sa evolucijom rezistentnih klonova izazvanih selektivnim blokiranjem EGFR (146). Otuda značaj tačne biopsije u praćenju progresije bolesti. KRAS i NRAS mutacije pojavljuju se rano u kolorektalnoj karcinogenezi (aberrantna žarišta kripte bez displazije i polipa) što dovodi do konstitutivne signalizacije i nizvodne aktivacije mitogen-aktivirane protein kinaze (MAPK) i fosfatidilinozitol 3-kinaze (PI3K) zavisnih puteva (147, 148) i, takođe, doprinose progresiji tumora zajedno sa drugim genetskim promenama (149).

RAS mutacije imaju i prognostički i prediktivni značaj. Prisustvo RAS mutacija ukazuje na nepovoljnu prognozu i predviđa nepovoljan odgovor na terapiju anti-EGFR antitelima (150–152).

U RAS/RAF/MAPK/RTK signalnom putu, nishodna meta KRAS mutacije je BRAF (*B-Raf proto-oncogene serine/threonine kinase*) gen koji kodira protein serin treonin kinazu, koja takođe utiče na proliferaciju i diferencijaciju ćelija, ali je zabeležen i uticaj RAF na regulisanje apoptoze, migracije ćelija i preživljavanje (153). BRAF tačkaste mutacije prisutne su kod različitih vrsta tumora. U najvećem procentu, u oko 70%, javljaju se kod melanoma, dok se u oko 8–12% slučajeva javljaju kod pacijenata koji imaju KRAS i NRAS nemutiran tip tumora. BRAF ima i prognostički i prediktivni značaj kod mKRC. Detekcija BRAF mutacije ukazuje na nepovoljnu prognozu (154). Prediktivna vrednost ogleđa se u tome da prisustvo BRAF mutacije predviđa nereagovanje na terapiju anti-EGFR antitelima (154, 155).

Zanimljivo je da je zabeleženo samo nekoliko slučajeva gde su istovremeno bile prisutne mutacije KRAS i BRAF budući da se, generalno, mutacije u dva gena u KRC međusobno isključuju. Razlog za ovaj fenomen je taj što su KRAS i BRAF članovi istog signalnog puta, tj. MAPK puta. Mutacije u BRAF dovode do RAS-nezavisne BRAF aktivacije ili povećane aktivnosti tirozin-kinaze. Kako prvi koraci MAPK puta uključuju GTP-KRAS dimerizaciju i BRAF aktivaciju, onkogeno mutacija KRAS ili BRAF dovoljna je za tumorogene efekte i pojačanu MAPK signalizaciju (154). BRAF mutacije dovode do RAS-nezavisne BRAF aktivacije ili povećane aktivnosti kinaze. Najčešća BRAF mutacija je V600E (valin-glutamin zamena aminokiselina) koja posledično aktivira MAPK signalnu kaskadu (156).

BRAF mutacije su češće kod slabo diferencovanih karcinoma desnog kolona, sa mucinoznom histologijom, udružene sa mikrosatelitskom nestabilnošću, češće se javljaju kod žena i pušača i daju metastaze po trbušnoj maramici i limfnim čvorovima. Prisustvo KRAS i BRAF mutacije je uzajamno isključivo (157).

Uvođenje BRAF inhibitora (vemurafenib) kod BRAF-mutiranih bolesnika u lečenju metastatskog melanoma doprinelo je poboljšanju ukupnog preživljavanja (*Overall Survival*, OS), vremena do progresije bolesti (*Progression Free Survival*, PFS) i terapijskog odgovora (*Response Rate*, RR), što pokazuje BRIM-3 studija. Kod

metastatskog KRK, BRAF mutacije predstavljaju biomarker loše prognoze ali nemaju prediktivni značaj kao određivanje RAS statusa tumora (158–163).

Mikrosatelitska nestabilnost (*Microsatellite Instability*, MSI) je posledica mutacije MMR (*Mismatch Repair Gene*, MMR) gena koji kodiraju sintezu proteina neophodnih za popravku DNK (dezoksiribonukleinske kiseline) tokom replikacije. Visok stepen MSI za pacijente koji imaju lokalizovanu bolest ukazuje na povoljniju prognozu (164).

Određivanje MSI kod metastatskog KRK dobija na značaju, iako se javlja kod 4–8% bolesnika. Po najnovijim preporukama, kod pacijenata sa MSI tumorom, u prvoj liniji lečenja odobrena je primena imunoterapije pembrolizumabom (165).

Studije CAIRO, CAIRO 2, FOCUS i COIN ukazuju na to da se kod BRAF mutacija metastatskog KRK češće javlja MSI nego mikrosatelitska stabilnost (*Microsatellite Stability*, MMS). Smatra se da bolesnici sa MSI fenotipom imaju lošu prognozu i kraće preživljavanje. Međutim, MSI fenotip ima svoju prediktivnu ulogu u planiranju adjuvantne terapije u II stadijumu bolesti (166, 167). Oko 60% karcinoma debelog creva koji su MSI-H imaju mutaciju BRAF V600E (168).

Jedan od potencijalnih prediktivnih faktora kod KRK mogao bi biti i HER2 (receptor humanog epidermalnog faktora rasta 2).

Onkogen HER2/neu (*Human Epidermal Receptor 2*, takođe poznat kao ErbB2 ili p185), nalazi se na dugom kraku humanog hromozoma 17 (17k12) i kodira transmembranski glikoproteinski receptor sa unutrašnjom aktivnošću tirozin-kinaze (169).

Porodicu receptora humanog epidermalnog faktora rasta (HER) čine četiri membranska proteina: HER1 (EGFR), HER2 (poznat i kao neu/c-erb B2), HER3 (c-erb-B3) i HER4 (c-erb-B3). Strukturno, HER receptori se sastoje od tri regiona: ekstracelularnog područja za vezivanje liganda (sa četiri subdomena I–IV), hidrofobnog transmembranskog područja u kome se receptor vezuje za ćelijsku membranu i intracelularnog područja (izuzev HER3) sa aktivnošću tirozin-kinaze. U inaktivnom stanju, HER receptori su monomeri. Vezivanjem liganda i aktivacijom receptora dolazi do njihove homodimerizacije i heterodimerizacije, i aktivacije enzima tirozin-kinaze. Na taj način, aktivira se kaskadni mehanizam biohemijjskih promena u samoj ćeliji, što dovodi do

ćelijske proliferacije, apoptoze, angiogeneze, promena u adhezivnosti i motilitetu ćelija. Poremećaj bilo koje faze ovog mehanizma može da dovede do prekomerne proliferacije, migracije ćelija i njihovog metastaziranja (170).

Prekomerna ekspresija proteina, obično (ali ne uvek) vođena amplifikacijom gena, bila je jedna od najranijih promena identifikovanih kod karcinoma kod ljudi. Prekomerna ekspresija HER2 receptora nađena je u 30% karcinoma dojke (171), ali i kod mnogih drugih vrsta tumora kao što su karcinomi želuca, jednjaka, pluća, bešike, jajnika, endometrijuma, grlića materice, glave i vrata i kolorektalnog karcinoma (171–174).

Ekspresija ovih receptora kod KRK prisutna je kod oko 5% pacijenata sa KRK, ali je prevalencija veća, 5–14%, kod nemutiranih RAS/BRAF tipova tumora.

Od 2011. godine govori se o mogućem uticaju prekomerne ekspresije HER2 receptora na rezistenciju na biološku terapiju monoklonskim antitelima usmerenim na EGFR.

Nekoliko studija je pokazalo da ekspresija HER2 receptora može biti povezana sa slabijim reagovanjem na terapiju anti-EGFR antitelima. U tom smislu, prekomerna ekspresija HER2 receptora je negativan prediktivni faktor za primenu monoklonskih antitela protiv EGFR (174–176).

Takođe, postoje studije koje ukazuju na pozitivne rezultate nakon primene ciljane (*target*) terapije usmerene protiv HER2 receptora (177–179).

Uloga HER2 receptora kao prognostičkog faktora još uvek nije jasna. Pojedini autori povezuju prekomernu ekspresiju HER2 receptora sa lošijom prognozom, tj. kraćim vremenom do progresije bolesti i kraćim ukupnim preživljavanjem (180), dok s druge strane ta veza nije potvrđena (181, 182).

1.4.1.3 Lokalizacija primarnog tumora

Lokalizacija primarnog tumora se, u literaturi, sve više pominje kao bitan prognostički i prediktivni faktor. Brojne razlike između karcinoma levog i desnog kolona mogu da utiču na krajnji ishod bolesti. Tako postoji i razlika u prognozi kod pacijenata sa KRK u istom stadijumu bolesti ali različite lokalizacije. Pacijenti sa mKRK čiji je primarni tumor lokalizovan u desnom delu kolona imaju nepovoljniju prognozu u odnosu na pacijente sa

KRK u levom kolonu (183, 184). Lokalizacija tumora nema prediktivni niti prognostički značaj kada je u pitanju ekspresija vaskularnog endotelnog faktora rasta (*Vascular Endothelial Growth Factor*, VEGF), dok je situacija drugačija kod ekspresije receptora epidermalnog faktora rasta (*Epidermal Growth Factor Receptor*, EGFR) (166, 185–190).

1.4.1.3.1 Razlike između levog i desnog dela kolona

Tačna granica levog i desnog kolona još uvek nije precizno definisana. Tačkom razdvajanja se najčešće smatra lijenalna fleksura, tako da pod desnim kolonom podrazumevamo sve proksimalno od lijenalne fleksure (crvuljak, slepo crevo, uzlazni deo, poprečni deo debelog creva), a sve distalno pripada levom kolonu (silazni deo debelog creva, sigmoidni deo i rektum) (Slika 3) (191).

Iako se smatra jednim organom, segmenti debelog creva se međusobno razlikuju kako u histološkom i fiziološkom, tako i u molekularnom smislu (192).

Funkcije debelog creva podrazumevaju resorpciju vode i hranjivih materija, skladištenje i eliminaciju fekalija. Resorpcija vode i hranjivih materija se odvija u svim segmentima debelog creva sem u rektumu, gde se skladišti feces. Kapilarna mreža oko proksimalnog kolona je višeslojna, stoga je apsorpcija vode i kapacitet transporta hranjivih materija i elektrolita veći nego u distalnim delovima kolona, oko kojih je kapilarna mreža jednoslojna (193).

Koncentracija/apsorpcija proteina je veća na levoj strani debelog creva, dok je koncentracija masti i ugljenih hidrata veća na desnoj strani (194).

Određeni fetalni antigeni kolona prisutni su samo u proksimalnoj sluznici što se ogleda u većoj imunološkoj aktivnosti (195).

Histološki, u levom delu debelog creva (prvenstveno sigmoidni deo) postoji veći procenat Gobletovih ćelija koje proizvode mucin, što može da utiče na veću otpornost sluznice na fizičke i/ili hemijske agense (192).

Rektum sadrži relativno visoku koncentraciju endokrinih ćelija. Razlika između sluznice levog i desnog dela debelog creva ogleda se i u dužini kripti, pri čemu su kripe u distalnom kolonu duže nego u proksimalnom (196).

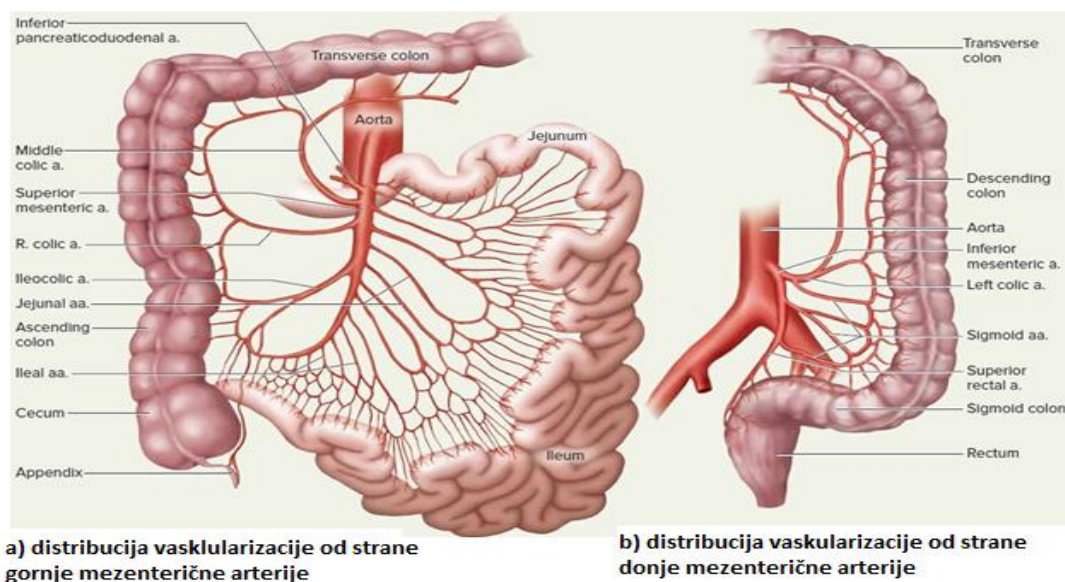
Razlika postoji i u mikroflori creva. U desnom delu kolona primećena je veća učestalost bakterija iz roda *Prevotella*, *Pyramido-bacterium*, *Selenomonas* i *Peptostreptococcus*. U levom delu kolona primećena je veća učestalost bakterija iz roda *Fusobacterium*, *Escherichia Coli*, *Shigella* i *Leptotrichia*. Takođe, utvrđena je veća učestalost *Escherichie Coli* (podtip B2) u sluznici desnog dela kolona u odnosu na levi, dok je infekcija bakterijom *Helicobacter pylori* češća u sluznici levog kolona (197–199). Jedan od mogućih razloga za ove razlike leži u činjenici da levi i desni kolon potiču iz primitivnog endoderma koji ima tri lista: prednji, srednji i zadnji, pri čemu desni kolon (crvuljak, slepo crevo, uzlazni deo, proksimalne dve trećine poprečnog dela debelog creva) nastaje iz prednjeg, a levi (distalna trećina poprečnog dela, silazni deo debelog creva, sigmoidni deo i rektum) iz zadnjeg.



Slika 3. Anatomaska podela debelog creva

Preuzeto sa: *Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN® Guidelines), Colon Cancer Version 2.2017* – March 13, 2017 https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/colon.pdf (pristup jul 2020)

Vaskularizacija se takođe razlikuje. Desni kolon vaskularizovan je od strane gornje, dok je levi vaskularizovan od strane donje mezenterijalne arterije (Slika 4) (191).



Slika 4. Vaskularizacija debelog creva

Preuzeto sa: <https://healthjade.com/mesenteric-artery/> (pristup jul 2020)

Genetski profil sluznice debelog creva razlikuje se u levom i desnom delu kolona. Identifikovan je ukupno 351 gen: 157 prekomerno izraženih u desnom i 194 u levom delu kolona (200).

Nedavne studije otkrile su da se karcinomi levog i desnog dela kolona ponašaju drugačije i u pogledu epidemiologije, patohistologije, kliničke prezentacije, molekularnih karakteristika i prognoze (197).

Takođe, postoji i razlika u prognozi kod pacijenata sa KRK u istom stadijumu bolesti ali različite lokalizacije. Na primer, pacijenti u drugom stadijumu bolesti čiji je primarni tumor lokalizovan u desnom kolonu imaju bolju prognozu u odnosu na pacijente kod kojih je tumor lokalizovan u levom kolonu, dok u trećem stadijumu bolesti imaju lošiju prognozu. Jedno od objašnjenja leži u činjenici da tumore u desnom kolonu karakteriše češće prisustvo visokog stepena mikrosatelitske nestabilnosti. Takođe, pacijenti sa mKRK čiji je primarni tumor lokalizovan u desnom kolonu imaju lošiju prognozu u odnosu na pacijente sa KRK u levom kolonu (193, 201–204).

Tumori desnog kolona javljaju se u oko 28% slučajeva, a levog u oko 72%, pri čemu se tumori desnog kolona češće javljaju kod žena i starijih pacijenata (205).

Karcinomi desnog kolona (KDK) rastu u vidu većih, egzofitnih i polipoidnih lezija. Što se tiče histološkog gradusa, uglavnom su u pitanju loše diferentovani tumori. Najčešće se radi o mucinoznom tipu adenokarcinoma, javljaju se i tumori sa ćelijama pečatnog prstena. Uglavnom se dijagnostikuju u uznapredovalom stadijumu bolesti (205).

Karcinomi levog kolona (KLK) obično rastu u vidu infiltrativnih i stenozantnih lezija, i nižeg su histološkog gradusa. Takođe je dokazano da KDK češće daju metastaze u desni režanj jetre, dok KLK daju metastaze u oba režnja (206).

Razlike postoje i u kliničkoj prezentaciji. KDK se obično prezentuju u uznapredovalo fazi bolesti simptomima anemije, gubitkom telesne težine ili pojavom palpabilne tumefakcije u abdomenu. Obično su otporniji na hemioterapiju u poređenju sa KLK (166).

KLK se uglavnom prezentuju rektalnim krvarenjem, bolnim naponima, lažnim pozivima na pražnjenje, problemima sa pražnjenjem creva (smena proliva i opstipacije) ili akutnim abdomenom (195).

Razlike u molekularnim karakteristikama levog i desnog kolona zasnivaju se na različitom stepenu mutacija onkogenih i tumor-supresor gena. KDK imaju veću ekspresiju citohroma P450, mutacije BRAF V600E (valin glutaminska zamena aminokiselina) i KRAS (*Kirsten Rat Sarcoma-2 virus*). Takođe, češće imaju aneuploidiju, gubitak heterozigotnosti, prekomernu ekspresiju vaskularnog endotelnog faktora rasta, mutacije APC gena (gen za adenomatoznu polipozu creva) i p53 tumor-supresor gena (207, 208).

S obzirom na navedeno, predloženi su različiti klasifikacioni modeli KDK. Jedan model odnosi se na molekularne kancerogene puteve, među kojima su otkrivena tri glavna: mikrosatelitska nestabilnost, epigenetska nestabilnost i hromozomska nestabilnost. Drugi model odnosi se na različite molekularne podtipove određene prema različitom uzorku ekspresije gena, te razlikujemo četiri podtipa CMS (*Consensus Molecular Subtype*) kolorektalnog karcinoma: CMS1 (MSI ili imuni – *Microsatellite Instability*), CMS2 ili kanonički, CMS3 ili metabolički i CMS4 ili mezenhimalni. Distribucija ovih podtipova je različita. U desnom kolonu je najčešći CMS1, u 31% slučajeva, dok je u levom kolonu najčešći CMS2, u 56% slučajeva. Treći model se odnosi na način karcinogeneze koja može biti klasična adenoma-karcinom sekvenca, pri čemu karcinom nastaje iz tubularog ili tubuloviloznih adenoma, ili preko seratnog puta karcinogeneze, pri čemu karcinom

nastaje iz posebne grupe tzv. nazubljenih (seratnih) adenoma uključujući sesilne seratne adenome i tradicionalne seratne sa potencijalom da evoluiraju u kolorektalni karcinom (46, 209).

Sesilni seratni adenom (SSA) i tradicionalni seratni adenom (TSA) nastaju usled BRAF mutacije. KRK sa BRAF mutacijom je uglavnom lokalizovan u desnom delu kolona, javlja se kod starijih osoba, češće kod žena, i povezan je sa MSI. BRAF-mutirani KRK sa MSI je obično povezan s boljom prognozom, ali proksimalni KDK nosi lošu prognozu (190). Gotovo svi slučajevi BRAF-mutiranog KRK su CIMP-pozitivni (191, 210). Dakle, CIMP-pozitivni tumori su karakteristični za tumore nastale iz seratnih adenoma. Oko 50% CIMP-pozitivnih tumora su mikrosatelitski nestabilni. Od svih, 20–30% je CIMP pozitivno, a 10–12% je pozitivno na CIMP i mikrosatelitski su nestabilni (108).

Kod pacijenata nakon kurativnog tretmana primarnog tumora, lokalizacija nije bila povezana sa rizikom od relapsa bolesti ili pojave recidiva. Međutim, među pacijentima kod kojih se razvio recidiv ili relaps bolesti, lokalizacija tumora je povezana sa preživljavanjem, tj. pacijenti sa KDK su imali kraće preživljavanje (211).

1.4.2 Algoritam lečenja metastatskog kolorektalnog karcinoma

Lečenje pacijenata koji boluju od KRK je veoma složen proces i zahteva multidisciplinarni pristup, što podrazumeva učešće više eksperata raznih specijalnosti iz oblasti onkologije (medikalni onkolog, hirur, radioterapeut, patolog), čiji krajnji cilj je unapređenje lečenja ovih pacijenata.

Poslednje tri decenije beleži se značajno produženje ukupnog preživljavanja (*Overall Survival*, OS) pacijenata sa metastatskim kolorektalnim karcinomom sa 12 meseci kod onih koji su bili tretirani hemioterapijskim režimima na bazi 5-fluorouracila (5-FU), na oko 18 meseci uz dodatak hemioterapeutika irinotekana i oksaliplatina. Istraživanje odnosa genetskih mutacija i efikasnosti lečenja pacijenata koji boluju od karcinoma dovelo je do uvođenja novih lekova, pre svega ciljane (biološke – *target*) terapije, što je rezultiralo značajnim napretkom u kontroli pacijenata sa KRK. Uvođenjem ciljane terapije, kao što su monoklonska antitela cetuksimab, panitumumab i bevacizumab,

dotatno je produženo ukupno preživljavanje pacijenata na oko 30 meseci (212–215). Iako je unapređeno lečenje ovih pacijenata, planiranje strategije lečenja je postalo složenije.

Kliničke studije sprovedene u poslednjih nekoliko godina pokazale su da prilagođavanje lečenja patohistološkim i molekularnim karakteristikama tumora utiče pozitivno na ukupno preživljavanje (212–215).

Pored patohistološke verifikacije, određivanje stadijuma bolesti je od ključnog značaja. U svakodnevnom radu, za određivanje stadijuma KRK koristi se TNM klasifikacija (akronim od Tumor, Nodus, Metastaza), preporučena od strane Svetske zdravstvene organizacije i Američkog združenog komiteta za rak (*American Joint Committee on Cancer*, AJCC) i revidirana 2018. godine. Za određivanje stadijuma bolesti kod KRK u upotrebi su još i Dukesova i Astler–Collerova klasifikacija (216).

TNM klasifikacija kolorektalnog karcinoma – stadijum bolesti prema AJCC, 2021 (217):

- **T** – označava primarni tumor, mogućnost širenja u zid creva ili okolne delove
- **N** – označava regionalne limfne čvorove, stepen raširenosti (metastaziranja)
- **M** – označava udaljene metastaze

T kategorizacija

T_x – primarni tumor ne može biti određen

T₀ – nema prisustva primarnog tumora

T_{is} – karcinom *in situ* (intraepitelni ili invazija sloja *lamina propria*)

T₁ – primarni tumor se širi u submukozu

T₂ – primarni tumor se širi u sloj *muscularis propria*

T₃ – primarni tumor se širi kroz sloj *muscularis proprie* u perikolorektalno tkivo

T_{4a} – primarni tumor probija serozu (visceralni peritoneum)

T_{4b} – primarni tumor direktno vrši invaziju ili je adheriran na druge organe ili strukture

N kategorizacija

N_x – regionalni limfni čvorovi ne mogu biti određeni

N₀ – nema metastaza u regionalnim limfnim čvorovima

N1 – metastaze u 1–3 regionalna limfna čvora

N1a – metastaze nađene u jednom regionalnom limfnom čvoru

N1b – metastaze nađene u 2–3 regionalna limfna čvora

N1c – tumorski depoziti u supserozi, mezenterijumu ili u neperitonealizovanom perikoličnom ili perirektalnom, tj. mezorektalnom tkivu bez metastaza u regionalnim limfnim čvorovima

N2 – metastaze nađene u ≥ 4 regionalna limfna čvora

N2a – metastaze nađene u 4–6 regionalnih limfnih čvorova

N2b – metastaze nađene u ≥ 7 regionalnih limfnih čvorova

M kategorizacija

M0 – nema udaljenih metastaza

M1 – postoje udaljene metastaze

M1a – metastaze ograničene na jedan organ ili mesto (npr. jetra, pluća, itd) bez metastaza u peritoneumu

M1b – metastaze u ≥ 2 organa/mesta bez metastaza u peritoneumu

M1c – metastaze u peritoneumu prisutne same ili udružene sa metastazama drugog mesta ili organa

U najnovijem, 8. izdanju TNM klasifikacije AJCC izmenjena je TNM klasifikacija KRK. M1 potkategorija bolesti je podeljena na M1a – metastaze ograničene na jedan organ (npr. jetra, pluća, itd) bez metastaza u peritoneumu, M1b – metastaze u dva ili više organa bez metastaza u peritoneumu, i M1c – metastaze u peritoneumu prisutne same ili udružene sa metastazama drugog organa. Pored toga, jasnije su definisane i patološki klasifikovane tumor *in situ* lezije (Tis), kao i T4a potkategorija. Takođe, u ovoj verziji je vođena diskusija o tumorskim ćelijama i mikorometastazama u regionalnim limfnim čvorovima, te mnogim drugim faktorima koji su važni u personalizovanom tretmanu heterogene bolesti kao što je KRK (217, 218).

Prema TNM karakteristikama pacijente svrstavamo u četiri stadijuma bolesti, od 0 do 4:

- rano lokalizovana bolest,
- ograničeno lokalno proširena bolest bez zahvatanja lokoregionalnih limfnih čvorova,
- lokalno proširena bolest sa zahvatanjem lokoregionalnih limfnih čvorova, i
- lokalno uznapredovala bolest ili bolest samo sa udaljenim metastazama

Tabela 1. Grupisanje u stadijume prema TNM klasifikaciji AJCC i poređenje sa Dukesovom klasifikacijom – prikazano petogodišnje preživljavanje (218)

AJCC	T	N	M	Dukes	Petogodišnje preživljavanje
Stadijum 0	Tis	N0	M0		
Stadijum I	T1	N0	M0	A	93%
Stadijum I	T2	N0	M0	A	93%
Stadijum IIA	T3	N0	M0	B1	85%
Stadijum IIB	T4	N0	M0	B2	72%
Stadijum IIIA	T1-2	N1	M0	C1	83%
Stadijum IIIB	T2-3	N1	M0	C2	64%
Stadijum IIIC	bilo koji T	N2	M0	C3	44%
Stadijum IV	bilo koji T	bilo koji N	M1	D	8%

Nakon patohistološke verifikacije, tj. TNM klasifikacije, kao i određivanja molekularnih karakteristika tumora, za utvrđivanje proširenosti bolesti koriste se radiološke metode. Najčešće se radi kompjuterizovna tomografija (*Computed Tomography, CT*), magnetna rezonanca (*Magnetic Resonance Imaging, MRI*) i, u određenim slučajevima, PET CT (*Positron Emission Tomography, PET*).

Karcinom debelog creva metastazira putem limfnih i krvnih sudova, i *per continuitatem*, tj. širenjem u okolna tkiva i organe. Kod 50–60% pacijenata koji boluju od KRK, bolest se dijagnostikuje u metastatskom stadijumu. U 25% slučajeva metastaze su prisutne u momentu postavljanja dijagnoze (219–221). Ti pacijenti, u 89–90% imaju neresektabilne promene u jetri. Najčešće mesto metastaziranja su regionalni limfni čvorovi (50–70%), jetra (35–50%), pluća (21%), peritoneum (17%) i jajnici (13,1%), te mozak (4–5%) (222). Oko 17% pacijenata ima metastaze po trbušnoj maramici, a kod 2% peritoneum je jedino metastatsko mesto. Uopšteno rečeno, ovi pacijenti imaju kraći period do progresije bolesti (*Progression Free Survival, PFS*) i ukupno preživljavanje (*Overall Survival, OS*) (223).

Brojni faktori utiču na strategiju i način lečenja. Pre svega, lečenje zavisi od karakteristika samog pacijenta, tj. njegovog opšteg stanja, komorbiditeta i preferenci, a zatim i od karakteristika samog tumora (stadijum bolesti, broj i lokalizacija metastaza, tj. resektabilnost, molekularne karakteristike, BRAF i RAS status, MSS, lokalizacija primarnog tumora) (156, 223, 224).

Za procenu opšteg stanja onkoloških pacijenta najčešće se koristi ECOG skala (0–5) koja procenjuje aktivnost bolesnika tokom dana, prisustvo ili odsustvo simptoma, vezanost pacijenta za postelju u procentima (npr. više ili manje od 50%) i potrebu za tuđom negom i pomoći (Tabela 2). Opšte stanje bolesnika je izuzetno važno pri donošenju odluke o intenzitetu lečenja, kao i o tome da li je uopšte moguće započeti diferentno onkološko lečenje, uz obavezno očuvanje kvaliteta života i niskog profila toksičnosti odgovarajućeg hemioterapijskog režima sa ili bez ciljane terapije (225).

Tabela 1. Skala ECOG preformans statusa (156)

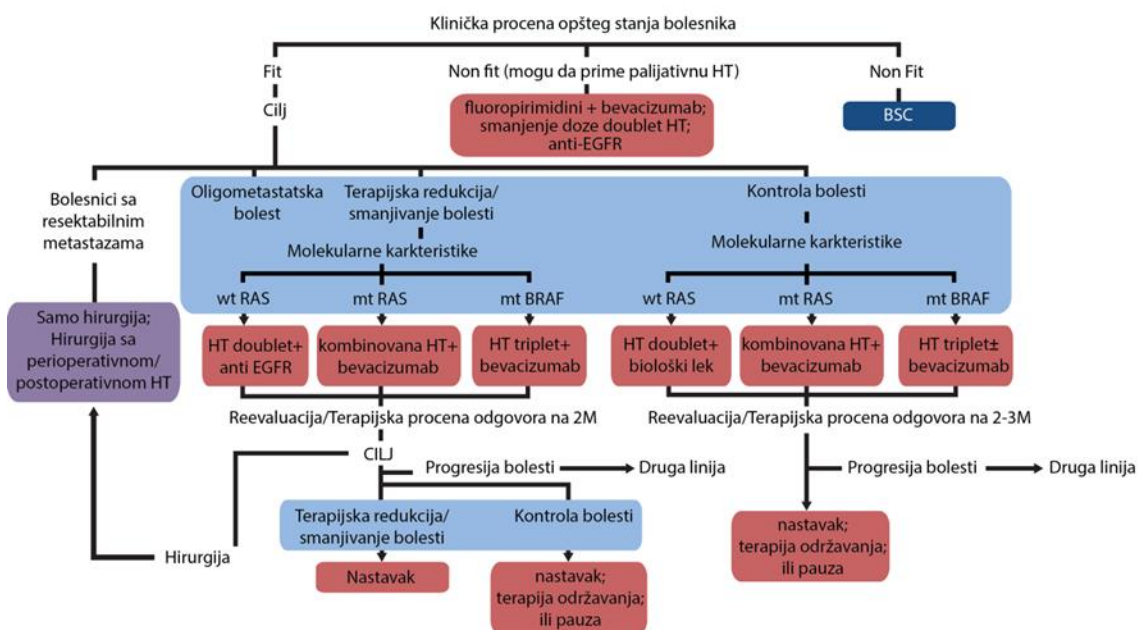
Ocena	ECOG skala (opis opšteg stanja bolesnika)
0	Asimptomatski bolesnik, bolesnik fizički aktivan bez poteškoća
1	Simptomatski bolesnik, ograničeno fizički aktivan na lake poslove (kućne...)
2	Simptomatski bolesnik, provodi < 50% vremena u krevetu tokom dana
3	Simptomatski bolesnik, provodi > 50% vremena u krevetu tokom dana
4	Bolesnik vezan za krevet, ne može da vodi brigu o sebi, potrebna tuđa nega
5	Smrtni ishod

Prema ESMO vodiču, postoje dve grupe bolesnika: *fit* (oni koji su spremni za bilo koji oblik diferentnog onkološkog lečenja) i *non-fit* (oni koji mogu da prime palijativnu diferentnu onkološku terapiju i oni koji mogu da prime samo najbolju suportivnu terapiju, tj. terapiju prema simptomima) (156).

Određeni komorbiditeti takođe utiču na odluku o algoritmu lečenja pacijenta.

Na početku lečenja, jako je važno definisati da li se radi o pacijentima kod kojih je bolest simptomatična i zateva agresivniji pristup ili se radi o asimptomatskim bolesnicima. Na osnovu toga se pravi dalji plan lečenja.

The National Comprehensive Cancer Network (NCCN) i *European Society for Medical Oncology (ESMO)* preporučili su algoritam lečenja metastatskog KRK u svetu (Slika 5).



Slika 5. ESMO algoritam za lečenje metastatskog kolorektalnog karcinoma (156)

Lečenje pacijenata sa metastatskim kolorektalnim karcinomom i dalje se oslanja na primenu sistemske terapije (hemioterapija, biološka terapija, imunoterapija) i to pretežno u paliјativnom režimu.

Izuzetak je oligometastatska bolest kada imamo benefit od multidisciplinarnog pristupa (hirurgija, radioterapija, sistemska terapija) (226).

Hemioterapijski protokoli mogu da sadrže jedan ili više citostatika u kombinaciji, tako da razlikujemo monohemioterapijske i polihemioterapijske režime, tj. dublete i triplete (kombinaciju jednog, dva ili tri citostatika), sa ili bez kombinacije sa biološkim lekovima. Osnovni lek koji se nalazi u gotovo svim protokolima za lečenje kolorektalnog karcinoma je 5-fluorouracil (5-FU), sintetisan krajem pedesetih godina dvadesetog veka. Radi se o antimetabolitu koji inhibira dejstvo enzima timidilat-sintetaze (TS) i posledično stvaranje DNK, i fluorouridin-trifosfata (FUTP) koji se ugrađuje u RNK (ribonukleinska kiselina) i onemogućava njenu funkciju, a krajnji efekat je ćelijska smrt. Kombinacijom 5-fluorouracila i leukovorina, koji je derivat folne kiseline, povećava se citotoksični efekat fluorouracila. Kapecitabin, oralni proleak 5-FU, takođe je jedan od lekova koji su u široj kliničkoj upotrebi kod mnogih maligniteta, uključujući i KRK (227).

Oksaliplatin je platinski derivat, koji spada u grupu alkilirajućih agenasa, i dovodi do ćelijske smrti sprečavanjem replikacije i transkripcije DNK, formirajući ireverzibilnu vezu sa DNK. U kombinaciji sa 5-FU pokazuje značajno veću sinergističku aktivnost u lečenju metastatskog KRK nego sam, što je pokazano u ranim fazama studija za lečenje metastatskog KRK.

Irinotekan je polusintetski derivat kamptotecina. To je antineoplastični lek koji deluje kao specifični inhibitor DNK-topoizomerase, deluje na S-fazu ćelijskog ciklusa kidajući lance DNK što dovodi do apoptoze, tj. ćelijske smrti (227).

Kombinacija fluoropirimidina sa oksaliplatinom i/ili irinotekanom predstavlja osnov za lečenje metastatskog KRK, jer dokazano doprinosi boljem RR, PFS, pa i OS, u odnosu na terapiju samo fluoropirimidinima (227, 228). Takođe, rađene su studije koje su poredile efikasnost hemioterapijskih protokola na bazi irinotekana i oksaliplatina u prvoj i drugoj liniji lečenja i dokazano je da nema razlike u PFS i OS, tj. da su podjednako efikasni, kako u prvoj, tako i u drugoj liniji lečenja (228).

Dodavanje biološke terapije inhibitorima vaskularnog endotelnog faktora rasta (*Vascular Endothelial Growth Factor*, VEGF) – bevacizumaba dokazano povećava OS, daje bolji terapijski odgovor i produžava PFS. To potvrđuju brojna randomizovana ispitivanja faze III i opservacione studije sa protokolima koji uz bevacizumab sadrže oksaliplatin i irinotekan. Benefit bevacizumaba na OS je nezavisan od mutacija KRAS, BRAF ili p53 (81, 86). Svakako je važno od početka znati i molekularne karakteristike tumora – kod RAS nemutiranih bolesnika je obavezna biološka anti-EGFR terapija u kombinaciji sa standardnim HT protokolima jer, kao što je ranije navedeno, ima nesumnjiv značaj i za RR, PFS i OS. Prema NCCN preporukama za lečenje metastatskog karcinoma debelog creva, anti-EGFR antitela (anti-EGFR at, panitumumab i cetuksimab) mogu da se daju u prvoj liniji lečenja ukoliko se radi o pacijentima koji imaju tumor lokalizovan u levom kolonu (194, 212, 229, 230).

Takođe, jedna od opcija za prvu liniju lečenja mKRK može da bude i triplet kao što je Folfoxiri protokol (kombinacija oksaliplatina, irinotekana, 5-FU) koji je zbog svoje toksičnosti rezervisan za pacijente dobrog opšteg stanja i mlađe životne dobi. Dokazana je njegova efikasnost i unapređenje PFS (9,9 vs. 6,9) i OS (22,6 vs. 16,7 meseci) u poređenju sa Folfiri protokolom. Druga linija lečenja mKRK u velikoj meri zavisi od

prve linije. Kada dođe do progresije bolesti, oksaliplatinški režim se menja irinotekanskim režimom i obrnuto, u kombinacijama sa ostalim citostaticima jer između njih nema zanačajnije razlike u PFS i OS (231, 232).

U trećoj liniji za lečenje metastatskog KRK, biološka anti-EGFR terapija (cetuksimab i panitimumab) u poređenju sa drugim lekovima poboljšava ukupno preživljavanje kod pacijenata sa RAS wt tipom tumora (156, 224).

Cetuksimab i panitimumab su dva različita monoklonska antitela (mAt) koja deluju tako što blokiraju receptor epidermalnog faktora rasta (EGFR), vezujući se za različite venčelijske domene EGFR receptora. Cetuksimab je himerno antitelo klase IgG1 čiji su varijabilni regioni mišjeg a konstantni humanog porekla, dok je panitimumab potpuno humano monoklonsko antitelo klase IgG2. Oba se široko koriste u kombinaciji sa hemioterapijom ili kao monoterapija za lečenje pacijenata sa RAS nemutiranim tipom tumora (233).

Kod 50% pacijenata sa metastatskim KRK koji imaju KRAS/NRAS/BRAF nemutiran tip tumora, cetuksimab i panitimumab (monoklonska antitela usmerena protiv EGFR), u kombinaciji sa hemioterapijom, mogu produžiti srednje preživljavanje za 2 do 4 meseca, u poređenju sa preživljavanjem pacijenata koji su primali samo hemioterapiju. Međutim, za 35–40% pacijenata sa KRAS ili NRAS mutiranim tipom tumora, efikasne ciljane – target terapije još nisu dostupne. Kod 5–10% pacijenata sa mutacijom BRAF V600E, ciljane kombinovane terapije inhibitorima BRAF i EGFR produžava ukupno preživljavanje na 9,3 meseca, u poređenju sa 5,9 meseci kod onih koji su primali standardnu hemioterapiju. Za 5% pacijenata čiji tumor poseduje mikrosatelitsku nestabilnost (MSI H) ili defekt na MMR genima (dMMR) imunoterapija (pembrolizumab, nivolumab i ipilimumab) može da se primeni u prvoj liniji lečenja ili nakon progresije bolesti na prethodne linije (234–237).

Ziv-aflibercept, rekombinantni protein koji blokira receptore 1 i 2 vaskularnog endotelnog faktora rasta, može da se daje u drugoj liniji u kombinaciji sa Folfiri protokolom, ukoliko ga pacijenti nisu primili u prvoj liniji lečenja metastatske bolesti. Ima izraženu toksičnost, te nije jedan od prvih izbora u lečenju pacijenata sa mKRK (238, 239).

Ramucirumab je humano monoklonalno antitelo koje se vezuje za ekstracelularni domen VEGF-2 receptora. Prema rezultatima RAIS studije, gde je primenjivan u drugoj liniji lečenja mKrk nakon progresije na oksaliplatinске derivate u kombinaciji sa bevacizumabom, utiče na OS, ali zbog izražene toksičnosti nije prvi izbor u lečenju pacijenata sa mKrk (240, 241).

Uprkos obećavajućim rezultatima ispitivanja u ranoj fazi, ciljana anti-HER2 terapija u lečenju uznapredovalog Krk ostaje predmet daljih istraživanja.

Ciljana anti-HER2 terapija predstavlja dodatnu, ali vrednu terapijsku strategiju za ograničenu podgrupu pacijenata (oko 5%) sa mKrk otpornim na hemioterapijske agense i lekove koji ciljaju anti-EGFR, kao što su cetuksimab i panitumumab. Kada se govori o primeni anti-HER2 terapije, studije su pokazale superiornost u korist dvostruke HER2 blokade. U stvari, očekuje se veća stopa odgovora sa inhibicijom i ekstracelularnih i intracelularnih HER2 domena na malignoj ćeliji. U toku su studije faze II/IIa koje ispituju efikasnost anti-HER2 terapije, kao dualne blokade kod pretretiranih pacijenata sa mKrk bez RAS i BRAF mutacije, i za sada daju obećavajuće rezultate. Prema američkim vodičima za lečenje mKrk, anti-HER2 terapija se preporučuje kod pretretiranih pacijenata, sa dokazanom prekomernom ekspresijom HER2 receptora, kod RAS/RAF nemutiranih tumora, ali Američka agencija za hranu i lekove nije odobrila primenu anti-HER2 terapije za ovu indikaciju. Čekaju se rezultati tekućih ispitivanja pre nego što se ovi lekovi ugrade u svakodnevnu praksu (175, 242–244).

Regorafenib, multikinaza inhibitor (MKI) pokazao je efikasnost u odnosu na placebo kod pacijenata refrakternih na primenjenu terapiju (245–247).

Trifluridin tipiracil, antimetabolit, takođe je pokazao efikasnost u lečenju pacijenata koji nisu odreagovali na prethodne linije lečenja, u poređenju sa placebom (OS 7,1 mesec vs. 5,3 meseca), i može da se daje pre ili posle terapije regorafenibom (248).

Dalje unapređenje lečenja pacijenata sa mKrk zavisice od individualizacije i personalizacije terapije, što podrazumeva selekciju pacijenata spram patohistoloških i molekularnih karakteristika tumora, kao i identifikaciju mehanizama rezistencije na određene lekove i pronalazak alternativnih puteva, tj. slabih tačaka koje bi bile mesto blokade prenosa signala maligne ćelije.

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA I RADNE HIPOTEZE

2.1 Ciljevi istraživanja:

1. Utvrditi da li postoji značajna razlika u dužini perioda do progresije bolesti kod pacijenata sa metastatskim kolorektalnim karcinomom bez KRAS mutacije, u zavisnosti od lokalizacije primarnog tumora (levi i desni kolon);
2. Utvrditi da li postoji značajna razlika u ukupnom preživljavanju kod pacijenata sa metastatskim kolorektalnim karcinomom bez KRAS mutacije, u zavisnosti od lokalizacije primarnog tumora (levi i desni kolon);
3. Utvrditi da li postoji korelacija parametara nepovoljne prognoze (mucinozni adenokarcinom, niži stepen diferencijacije – gradus 3, zahvaćenost limfnih čvorova, nedovoljan broj pregledanih limfnih čvorova, prisutnost tumora na resekcionom rubu, uznapredovali stadijum bolesti – III, IV, prisustvo limfovaskularne i perineuralne invazije, odsutan ili oskudan peritumorski limfocitni infiltrat) i lokalizacije primarnog tumora, kod pacijenata sa

- metastatskim kolorektalnim karcinomom bez KRAS mutacije, u odnosu na ukupno preživljavanje (OS) i vreme do progresije bolesti (PFS);
4. Utvrditi da li postoji korelacija parametara nepovoljne prognoze (mucinozni adenokarcinom, niži stepen diferencijacije – gradus 3, zahvaćenost limfnih čvorova, nedovoljan broj pregledanih limfnih čvorova, prisutnost tumora na resekcionom rubu, uznapredovali stadijum bolesti – III, IV, prisustvo limfovaskularne i perineuralne invazije, odsutan ili oskudan peritumorski limfocitni infiltrat) i ekspresije humanog epidermalnog faktora rasta 2 (HER2), kod pacijenata sa metastatskim kolorektalnim karcinomom bez KRAS mutacije;
 5. Utvrditi da li postoji značajna razlika u dužini perioda do progresije bolesti i ukupnog preživljavanja kod pacijenata sa metastatskim kolorektalnim karcinomom bez KRAS mutacije, u zavisnosti od ekspresije humanog epidermalnog faktora rasta 2 (HER2).

2.2. Radne hipoteze:

1. Pacijenti sa primarnim KRK bez KRAS mutacija, lokalizovanim u desnom kolonu, imaju lošiju prognozu, odnosno kraći PFS u odnosu na pacijente sa primarnim tumorom lokalizovanim u levom kolonu.
2. Pacijenti sa primarnim KRK bez KRAS mutacija, lokalizovanim u desnom kolonu, imaju lošiju prognozu, odnosno kraće OS u odnosu na pacijente sa primarnim tumorom lokalizovanim u levom kolonu.
3. Parametri nepovoljne prognoze (mucinozni adenokarcinom, niži stepen diferencijacije – gradus 3, zahvaćenost limfnih čvorova, nedovoljan broj pregledanih limfnih čvorova, prisutnost tumora na resekcionom rubu, uznapredovali stadijum bolesti – III, IV, prisustvo limfovaskularne i perineuralne invazije, odsutan ili oskudan peritumorski limfocitni infiltrat) kod pacijenata sa mKRK bez KRAS mutacije češći su kod tumora lokalizovanih u desnom delu kolona.
4. Parametri nepovoljne prognoze (mucinozni adenokarcinom, niži stepen diferencijacije – gradus 3, zahvaćenost limfnih čvorova, nedovoljan broj

- pregledanih limfnih čvorova, prisutnost tumora na resekcionom rubu, uznapredovali stadijum bolesti – III, IV, prisustvo limfovaskularne i perineuralne invazije, odsutan ili oskudan peritumorski limfocitni infiltrat) kod pacijenata sa mKrk bez KRAS mutacije češći su kod HER2 pozitivnih tumora, tj. kod tumora koji imaju prekomernu ekspresiju HER2 receptora.
5. Pacijenti sa primarnim Kkrk bez KRAS mutacija, koji su HER2 pozitivni, imaju lošiju prognozu, odnosno kraći PFS, u odnosu na pacijente sa primarnim Kkrk bez KRAS mutacija sa negativnim HER2 statusom.

3. BOLESNICI, MATERIJAL I METODE

3.1 Bolesnici i uzorci

Studija je retrospektivno-prospektivna. Obuhvaćen je 181 bolesnik oba pola, uzrasta preko 18 godina, sa patohistološki verifikovanim karcinomom debelog creva, u periodu od januara 2009. do jula 2021. godine. Bolesnici su u momentu postavljanja dijagnoze imali metastatsku bolest (bez obzira na broj i lokalizaciju metastaza) ili su razvili metastaze tokom bolesti.

U odnosu na lokalizaciju primarnog tumora pacijenti će biti podeljeni u dve grupe:

- Pacijenti sa primarnim tumorom bez KRAS mutacije lokalizovanim u desnom delu kolona (80 pacijenata),
- Pacijenti sa primarnim tumorom bez KRAS mutacije lokalizovanim u levom delu kolona (101 pacijent).

Kod svih pacijenata analizirani su patološki parametri tumora kao što su: patohistološki tip tumora, stepen diferencijacije (gradus, G), prisutnost vaskularne i perineuralne invazije, morfološke karakteristike limfocitnog infiltrata, zahvaćenost limfnih čvorova,

broj pregledanih limfnih čvorova, pozitivnost resekcionih rubova, stadijum bolesti; zatim, klinička prezentacija bolesti u momentu postavljanja dijagnoze, klinički tok bolesti, podaci o ordiniranoj terapiji, vreme do progresije bolesti i ukupno preživljavanje.

Pacijenti sa mKRK sa KRAS nemutiranim tipom tumora, uz standardne hemioterapijske protokole, primali su i ciljanu biološku terapiju monoklonskim antitelima.

Kod pacijenata je praćen odgovor na primenjenu terapiju pomoću radioloških metoda kao što su CT i MRI.

Pod dobrim terapijskim odgovorom (prema RECIST kriterijumima) smatra se kompletna regresija bolesti (KR), parcijalna regresija bolesti (PR), stabilna bolest (SB), dok se pod lošim terapijskim odgovorom podrazumeva progresija bolesti (PB).

RECIST kriterijumi su:

KR – nestanak svih merljivih lezija

PR – smanjenje merljive lezije za minimum 30% od početne dimenzije

SB – nepromenjeno stanje merljivih lezija

PB – pojava jedne ili više novih lezija, ili porast ranije merljivih lezija za najmanje 20% od početne dimenzije.

U odnosu na terapijski odgovor podelili smo pacijente na:

- pacijente sa tumorom bez KRAS mutacije koji su dobro odreagovali na primenjenu terapiju anti-EGFR at (KR, PR, SB),
- pacijente sa tumorom bez KRAS mutacije koji nisu dobro odreagovali na primenjenu terapiju anti-EGFR at (PB).

Kao dodatni prognostički parametar kod pacijenata sa mKRK radilo se imunohistohemijsko ispitivanje tumorskog tkiva na prisustvo ekspresije proteinskog produkta HER2 gena.

U odnosu na HER2 status pacijenti su nadalje podeljeni na:

- pacijente sa ekspresijom HER2 receptora, tj. HER2 pozitivne, i
- pacijente bez ekspresije HER2 receptora, tj. HER2 negativne.

Ispitivana je povezanost lokalizacije primarnog tumora i HER2 ekspresije sa ostalim prognostičkim i prediktivnim faktorima, kao i razlike u odnosu na odgovor na primenjenu terapiju i ukupno preživljavanje kod prethodno pomenutih grupa pacijenata.

Iz studije su isključeni bolesnici u čijem praćenju kliničkog toka bolesti nedostaju podaci u bolničkom informacionom sistemu.

3.2 Materijal i metode

Podaci o patološkim parametrima kao što su patohistološki tip tumora, stepen diferencijacije (gradus, G), prisutnost vaskularne i perineuralne invazije, morfološke karakteristike limfocitnog infiltrata, zahvaćenost limfnih čvorova, broj pregledanih limfnih čvorova, pozitivnost resekcionih rubova, stadijum bolesti (prema sedmoj reviziji TNM klasifikacije, preporučeno od strane Svetske zdravstvene organizacije i Američkog združenog komiteta za rak iz 2010. godine); zatim, podaci o kliničkoj prezentaciji bolesti u momentu dijagnoze, kliničkom toku bolesti, ordiniranoj terapiji, ukupnom preživljavanju prikupljeni su iz medicinske dokumentacije pacijenata koja se nalazi u elektronskoj bazi Instituta za onkologiju Vojvodine, BIRPIS.

Prisustvo mutacija KRAS gena identifikovano je metodom lančane reakcije polimeraze u stvarnom vremenu RT-PCR (*Real Time Polymerase Chain Reaction*) metodom u DNK koja je izolovana iz parafinskih kalupa tkiva humanog kolorektalnog karcinoma fiksiranog u formalinu i ukalupljenog u parafin (*Formalin Fixed Paraffin Embedded Tumor Tissue*, FFPET). Količina izolovane genomske DNK određivana je spektrofotometrijski, podešavanjem razblaženja za amplifikaciju i detekciju. PCR amplifikacija ciljne DNK vršena je pomoću para komplementarnih prajmera i dve oligonukleotidne probe obeležene fluorescentnom bojom. Jedna proba je dizajnirana da detektuje KRAS sekvencu kodona 12/13 u egzonu 2, a druga proba je dizajnirana za detekciju KRAS sekvence kodona 61 u egzonu 3 KRAS gena. Detekcija mutacija vršena je analizom krive topljenja pomoću RT-PCR analizatora. U svako ispitivanje je, zbog validnosti, uključena pozitivna i negativna kontrola, kao i kalibrator. Kod pacijenata je praćen odgovor na primenjenu terapiju. Kod pacijenata sa nemutiranim KRAS statusom radilo se dodatno imunohistohemijsko ispitivanje tumorskog tkiva na prisustvo ekspresije proteinskog produkta HER2 gena. Imunohistohemijska analiza HER2/Neu statusa u tumorskom tkivu vršena je primenom PATHWAY anti-Her2/neu (4B5, *rabbit monoclonal, pre-dilution, Ventana Medical System, Tucson, AZ, USA*) antitela i

ultraView Universal DAB kita (*Ventana Medical System*) na automatskom imunostejneru (*BenchMark XT, Ventana Medical Systems*) prema instrukcijama proizvođača. Kao pozitivna kontrola korišćeno je tumorsko tkivo karcinoma dojke sa pozitivnim HER2 statusom. Za negativnu kontrolu korišćena je negativna reakcija u normalnom tkivu kolona. Analiza HER2/Neu statusa vršena je od strane patologa bez prethodnih kliničko-patoloških informacija. Određivanje intenziteta imunohistohemijske reakcije vršeno je prema konsenzus preporukama panela patologa, odnosno HERACLES dijagnostičkim kriterijumima iz istoimene studije (175):

Skor 0: nema pozitivne membranske reakcije ili slaba nekompletna reakcija u manje od 10% tumorskih ćelija

Skor 1+: slaba, jedva vidljiva segmentna ili granularna reakcija u više od 10% tumorskih ćelija;

Skor 2+: slaba do umerena cirkumferencijala, bazolateralna ili lateralna membranska reakcija u više od 10% tumorskih ćelija;

Skor 3+: intenzivna cirkumferencijalna, bazolateralna ili lateralna membranska reakcija u više od 10% ćelija.

Pozitivnim nalazom, prema HERACLES dijagnostičkim kriterijumima, tumačeni su samo slučajevi sa intenzivnom cirkumferencijalnom, bazolateralnom ili lateralnom reakcijom u više od 10% tumorskih ćelija.

U slučajevima koji su skorirani kao HER2 2+ vršeno je retestiranje metodom srebrne *in situ* hibridizacije (*Silver In Situ Hybridization, SISH*). Kao dvostruka proba, SISH omogućava određivanje odnosa HER2 gena i centromeričnog regiona hromozoma 17 (*Chromosome Enumeration Probe 17, CEP17*), odnosno kvantifikaciju broja centromeričnih regiona hromozoma 17 i specifičnih HER2 signala primenom konvencionalne svetlosne mikroskopije u svetlom polju (175).

Metoda SISH vršena je INFORM® HER2 DNK i hromozom 17 (Chr17) probama (*Ventana Medical Systems*) na parafinskim uzorcima tumorskog tkiva KRK koji su nakon imunohistohemijske analize označeni kao HER2 2+. Hibridizacija je urađena pomoću Banchmark® automatskog imunostejnera prema protokolu proizvođača. Obe probe su označene dinitrofenolom (dinitrophenol, DNP). HER2 DNK i Chr17 proba su denaturisane na 95 °C 12 minuta, nakon čega je rađena hibridizacija na 52 °C, odnosno

44 °C dva sata. Nakon hibridizacije, urađeno je intenzivno ispiranje (tri puta na 72 °C, odnosno 59 °C). HER2 i Chr17 DNP-obeležene probe vizuelizovane su pomoću zečjeg antiDNP primarnog antitela i UltraView™ SISH detekcionog kita. Nakon dodavanja silver acetata, hidrokinon i vodonik-peroksida, preparati su podvrgnuti kontrastnom bojenju pomoću Ventana hematoxylin P i analizirani svetlosnim mikroskopom marke Olympus. Brojanje HER2 i Chr17 SISH signala rađeno je na po 40 ćelija prema DAKO dijagnostičkim kriterijumima. Jasno ograničeni crni i crveni signali u vidu tačaka, brojani su kao jedna kopija HER2, odnosno Chr17. Male grupe multiplih signala brojane su kao 6 signala, a velike grupe kao 12 signala, prema uputstvu proizvođača. Prema ASCO/CAP vodičima za karcinom dojke, pozitivnim se smatra prisustvo više od 6 genskih kopija HER2 signala i HER2/Chr17 odnos veći od 2,2. Apsolutni broj HER2 signala manji od 4 i HER2/Chr17 odnos manji od 1,8 smatran je negativnim. Slučajevi čiji je HER2/Chr17 odnos između 1,8 i 2,2 nisu ušli u studiju jer spadaju u neodređenu (SISH *equivocal*) kategoriju. Tkivo karcinoma dojke sa pozitivnim HER2 statusom korišćeno je kao pozitivna kontrola. Za negativnu kontrolu korišćeno je normalno tkivo kolona.

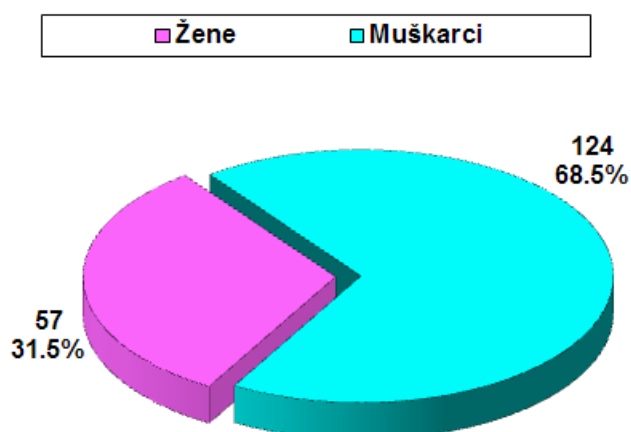
Tokom studije podaci su prikupljeni i unošeni u bazu podataka na računaru.

Za statističku obradu podataka korišćen je programski paket *Statistical Package for Social Sciences – SPSS for Windows* (ver 20). Numerička obeležja prikazana su putem srednjih vrednosti (aritmetička sredina) i mera varijabiliteta (opseg vrednosti, standardna devijacija), a atributivna obeležja korišćenjem frekvencija i procenata. Komparacija vrednosti numeričkih obeležja između dve grupe vršila se primenom Studentovog t-testa, odnosno neparametrijskog Mann–Whitney testa. Testiranje razlike frekvencija atributivnih obeležja vršilo se primenom χ^2 testa. U cilju analiziranja vremena do pojave progresije bolesti, kao i smrtnog ishoda, korišćena je Kaplan–Meier procena funkcije preživljavanja i poređenje pomoću log-rank testa. Za analizu uticaja obeležja na preživljavanje ispitanika korišćen je Cox regresioni model preživljavanja. Statistički značajnim smatrane su vrednosti nivoa značajnosti $p < 0,05$. Rezultati su prikazani tekstualno, tabelarno i grafički. Za izradu grafikona i tabela korišćen je programski paket *Microsoft Office Word 2010*.

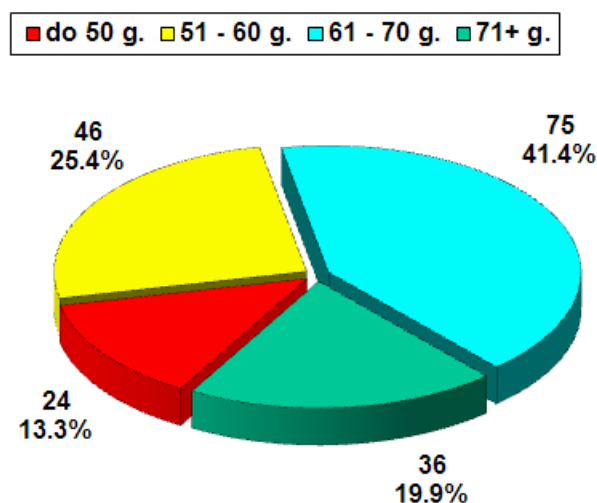
4. REZULTATI

4.1 Demografski podaci

U studiju je uključen 181 pacijent sa metastatskim kolorektalnim karcinomom bez KRAS mutacije. Većina su bili muškarci 68,5%, dok je žena bilo 31,5% (Grafikon 1). Prosečna starost pacijenata je bila 61,5 godina (SD 10,3; medijana 64; opseg 21–79 godina). Do 50 godina starosti bilo je 13,3% pacijenata, od 51 do 60 godina 25,4%, od 61 do 70 godina 41,4% i preko 70 godina 19,9% pacijenata (Grafikon 2).



Grafikon 1. Distribucija pacijenata sa mKRC po polu



Grafikon 2. Distribucija pacijenata sa mKRC po starosnim grupama

Kod pacijenata muškog pola tumor je češće bio lokalizovan u levom delu kolona (60,5%), dok je kod pacijenta ženskog pola češće bio lokalizovan u desnom delu kolona (54,4%), i razlika je na granici statističke značajnosti ($p = 0,061$).

Pacijenti muškog pola su bili statistički značajno stariji ($p = 0,011$) od pacijenata ženskog pola (muškarci $62,8 \pm 9,3$; žene $58,6 \pm 11,7$). Muškarci su bili značajno stariji od žena ($p = 0,015$) u grupi pacijenata sa levom lokalizacijom ($62,9 \pm 9,1$ prema $57,6 \pm 10,4$), dok u

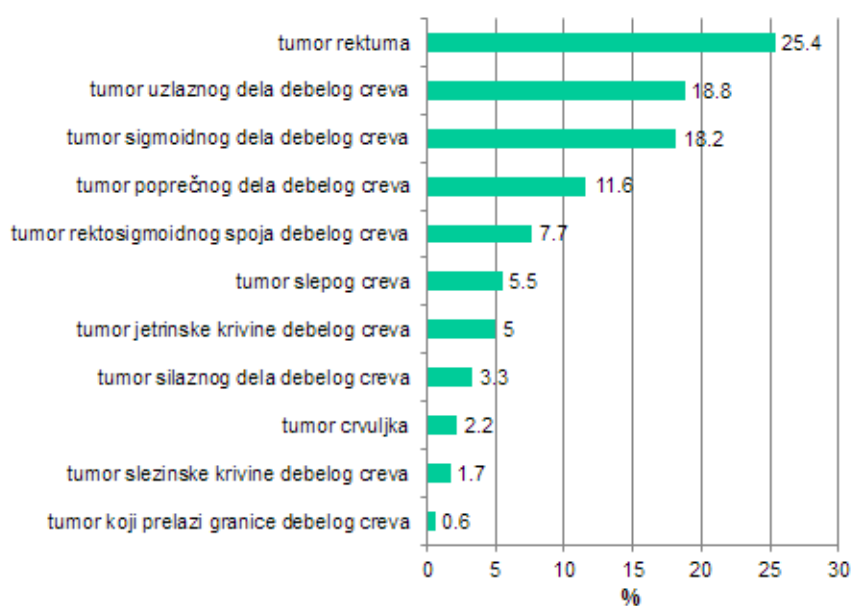
grupi pacijenata sa desnom lokalizacijom karcinoma nije bilo značajne razlike ($p = 0,227$); (muškarci $62,6 \pm 9,8$; žene $59,9 \pm 12,8$). Nije bilo razlike ($p = 0,902$) u prosečnoj starosti u odnosu na lokalizaciju karcinoma (levi $61,6 \pm 9,6$; desni $61,4 \pm 11,1$). Žene sa desnom lokalizacijom su u proseku bile starije od žena sa levom lokalizacijom, ali bez statistički značajne razlike ($p = 0,553$; $59,5 \pm 12,8$ prema $57,6 \pm 10,4$). Kod muškaraca, razlika u odnosu na lokalizaciju karcinoma je zanemarljiva ($p = 0,833$; levi $62,9 \pm 9,1$; desni $62,6 \pm 9,8$) (Tabela 3).

Tabela 3. Prosečna starost pacijenata u odnosu na pol i lokalizaciju KRK

Pol	Vrednosti	Levo	Desno	Ukupno n = 124/57/81	p
Muškarci	n (%)	75 (60,5%)	49 (39,5%)	124 (100%)	
	prosek (SD)	62,9 (9,1)	62,6 (9,8)	62,8 (9,3)	p = 0,833
	min-max	30–75	36–76	30–76	
Žene	n (%)	26 (45,6%)	31 (54,4%)	57 (100%)	
	prosek (SD)	57,6 (10,4)	59,5 (12,8)	58,6 (11,7)	p = 0,553
	min-max	37–79	21–76	21–79	
Ukupno	n (%)	101 (55,8%)	81 (44,2%)	181 (100%)	
	prosek (SD)	61,6 (9,6)	61,4 (11,1)	61,5 (10,3)	p = 0,902
	min-max	30–79	21–76	21–79	
p		p = 0,015	p = 0,227	p = 0,011	

4.2 Karakteristike primarnog tumora debelog creva

Najčešća lokalizacija primarnog tumora debelog creva je bila karcinom rektuma sa 25,4%, potom slede tumori lokalizovani u predelu uzlaznog dela kolona sa 18,8% i sigmoidnog kolona sa 18,2% (Grafikon 3 i Tabela 4). Primarni tumor je bio lokalizovan u levoj polovini kolona kod 101 pacijenta (55,8%), a u desnoj polovini kod 80 pacijenata (44,2%).



Grafikon 3. Distribucija pacijenata prema lokalizaciji primarnog tumora debelog creva

Tabela 4. Distribucija pacijenata prema lokalizaciji primarnog tumora debelog creva kolona (MKB)

MKB 10	Karcinom	N	%
C18.0	Zloćudni tumor slepog creva	10	5,5
C18.1	Zloćudni tumor crvuljka	4	2,2
C18.2	Zloćudni tumor uzlaznog dela debelog creva	34	18,8
C18.3	Zloćudni tumor jetrinske krivine debelog creva	9	5,0
C18.4	Zloćudni tumor poprečnog dela debelog creva	21	11,6
C18.5	Zloćudni tumor slezinske krivine debelog creva	3	1,7
C18.6	Zloćudni tumor silaznog dela debelog creva	6	3,3
C18.7	Zloćudni tumor sigmoidnog dela debelog creva	33	18,2
C18.8	Zloćudni tumor koji prelazi granice debelog creva	1	0,6
C19	Zloćudni tumor rektosigmoidnog spoja debelog creva	14	7,7
C20	Zloćudni tumor rektuma	46	25,4
Ukupno	Kolonorektalni	181	100

4.2.1 Patohistološke karakteristike primarnog tumora debelog creva

Najčešći histološki tip karcinoma je bio klasični adenokarcinom (NOS) – 88,4%, zatim mucinozni – 9,9% i u tri slučaja (1,7%) *signet ring cell* karcinom (Tabela 5).

Tabela 5. Patohistološki tipovi kolorektalnog karcinoma

Histološki tip karcinoma	N	%
NOS	100	88,4
Mucinozni	18	9,9
<i>Signet ring cell</i>	3	1,7
Ukupno	181	100

Kada je reč o polu pacijenata, nije bilo statistički značajne razlike ($p = 0,406$) u distribuciji pacijenata u odnosu na patohistološki nalaz (Tabela 6).

Tabela 6. Patohistološki tip KRK u odnosu na pol pacijenata

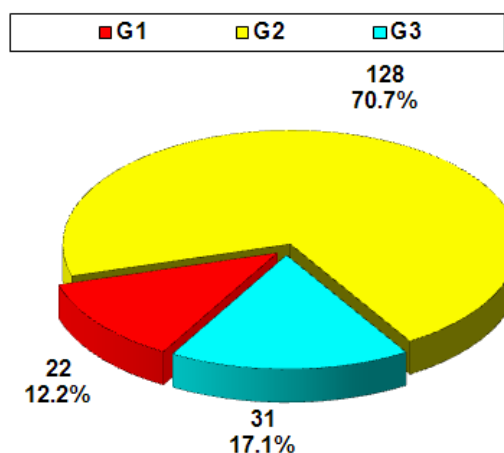
PH nalaz	Muškarci n = 124	Žene n = 57	p
Mucinozni	12 (9,7%)	6 (10,5%)	0,406
NOS	111 (89,5%)	49 (86,0%)	
<i>Signet ring cell</i>	1 (0,8%)	2 (3,5%)	

Prosečna starost pacijenata sa klasičnim adenokarcinomom (NOS) je bila $62,0 \pm 9,3$, sa mucinoznim karcinomom $60,7 \pm 10,8$ godina, dok su pacijenti sa *signet ring cell* karcinomom bili prosečne starosti samo 36,7 godina ($p < 0,001$) (Tabela 7).

Tabela 7. Patohistološki tip kolorektalnog karcinoma u odnosu na starost pacijenata

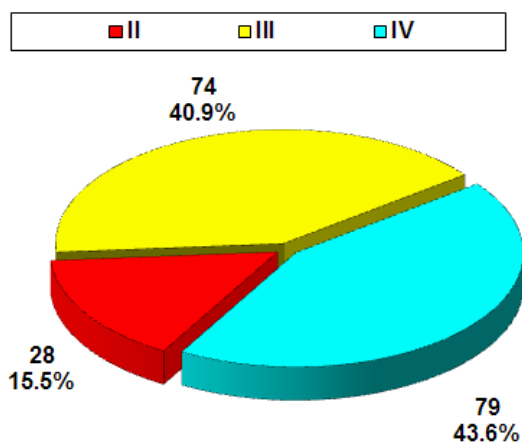
PH nalaz	Vrednosti	Starost pacijenata
Mucinozni n = 18	prosek (SD)	60,7 (10,8)
	min-max	36–76
NOS n = 160	prosek (SD)	62,0 (9,3)
	min-max	30–79
<i>Signet ring cell</i> n = 3	prosek (SD)	36,7 (27,1)
	min-max	21–68

Najčešći stepen diferencijacije, tj. histološki gradus je bio G2 (70,7%), zatim G3 (17,1%) i G1 u samo 12,2% (Grafikon 4).



Grafikon 4. Distribucija pacijenata prema stepenu diferencijacije primarnog tumora

Najčešći stadijum bolesti je bio IV (43,6%), zatim stadijum III (40,9%) i stadijum II (15,5%) (Grafikon 5).



Grafikon 5. Distribucija pacijenata prema stadijumu bolesti KRK

Tumorski depozit u okolnom masnom tkivu je bio prisutan samo kod samo 5% pacijenata, limfovaskularna invazija kod 72,4%, a perineuralna invazija kod 63% pacijenata (Tabela 8).

Tabela 8. Učestalost parametara nepovoljne prognoze (tumorski depoziti u okolnom masnom tkivu, perivaskularna i limfovaskularna invazija) kod pacijenata sa KRK

Parametri	da	ne
Tumorski depozit u okolnom masnom tkivu	9 (5%)	172 (95%)
Limfovaskularna invazija	131 (72,4%)	50 (27,6%)
Perineuralna invazija	114 (63%)	67 (37%)

Prosečan broj zahvaćenih limfnih čvorova kod pacijenata u stadijumu bolesti III ili IV je 5,53. Kod pacijenata sa stadijumom III prosek zahvaćenih limfnih čvorova je 5,70, a kod pacijenata u stadijumu IV 5,37, i nema statistički značajne razlike ($p = 0,364$ Mann–Whitney U test) (Tabela 9).

Tabela 9. Stadijum bolesti i broj zahvaćenih limfnih čvorova kod pacijenata sa KRK

Stadijum bolesti	Vrednosti	Broj zahvaćenih lgl
III n = 74	prosek (SD)	5,70 (5,29)
	min-max	1–25
IV n = 79	prosek (SD)	5,37 (5,19)
	min-max	0–19
Ukupno III i IV n = 153	prosek (SD)	5,53 (5,22)
	min-max	0–25

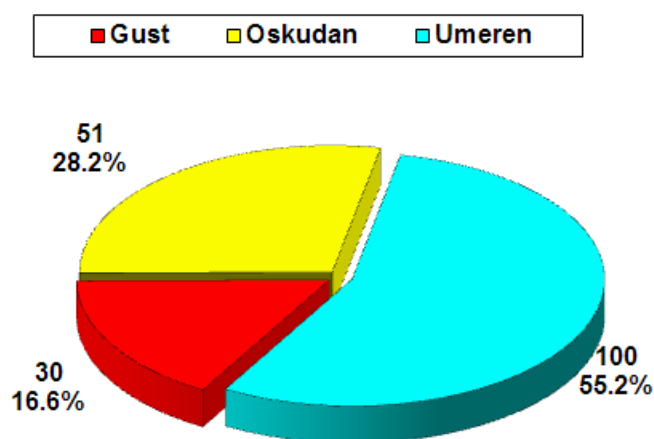
Procenat pacijenata sa limfovaskularnom invazijom se statistički značajno razlikuje ($p < 0,001$) u odnosu na stadijum bolesti. S povećanjem stadijuma bolesti dolazi i do porasta procenta pacijenata sa limfovaskularnom invazijom (II – 32,1%, III – 75,7%, IV – 83,5%) (Tabela 10).

Procenat pacijenata sa perineuralnom invazijom se statistički značajno razlikuje ($p < 0,001$) u odnosu na stadijum bolesti. S povećanjem stadijuma bolesti dolazi i do porasta procenta pacijenata sa perineuralnom invazijom (II – 28,6%, III – 62,2%, IV – 75,9%) (Tabela 10).

Tabela 10. Parametri nepovoljne prognoze, limfovaskularna i perineuralna invazija u odnosu na stadijum bolesti kod pacijenata sa KRK

Stadijum bolesti	II n = 28	III n = 74	IV n = 79	p
Limfovaskularna invazija	9 (32,1%)	56 (75,7%)	66 (83,5%)	< 0,001
Perineuralna invazija	8 (28,6%)	46 (62,2%)	60 (75,9%)	< 0,001

Limfocitni infiltrat kod pacijenata sa kolorektalnim karcinomom je bio najčešće umeren – kod 100 pacijenata (55,2%), oskudan kod 51 pacijenta (28,2%) i gust kod 30 pacijenata (16,6%) (Grafikon 6).



Grafikon 6. Distribucija limfocitnog infiltrata kod pacijenata sa kolorektalnim karcinomom

Ileus je konstatovan kod 52 pacijenta (28,7%).

Adjuvantnu hemioterapiju je primilo 76 pacijenata (42%).

Adjuvantna hemioterapija je bila najzastupljenija među pacijentima u stadijumu bolesti III (60/74 – 81,1%), zatim kod pacijenata u stadijumu bolesti II (13/28 – 46,4%), a kod pacijenata u stadijumu bolesti IV samo kod 3,8% pacijenata (3/79). Razlika u primeni adjuvantne hemioterapije u odnosu na stadijum bolesti je statistički visoko značajna ($p < 0,001$) (Tabela 11).

Tabela 11. Primena adjuvantne terapije prema stadijumima bolesti kod pacijenata sa KRK

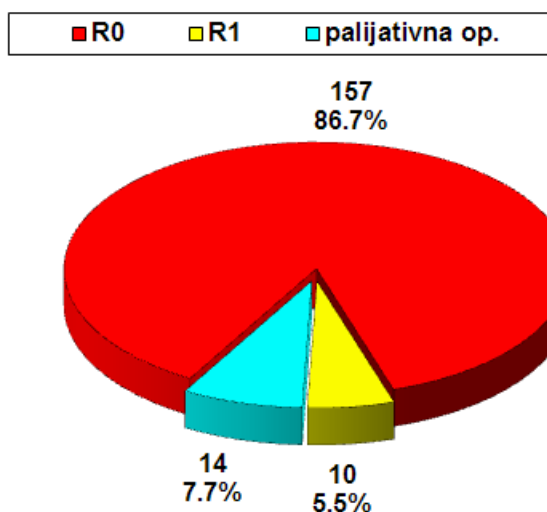
Adjuvantna hemioterapija	Stadijum II n = 28	Stadijum III n = 74	Stadijum IV n = 79	p
Ne	15 (53,6%)	14 (18,9%)	76 (96,2%)	< 0,001
Da	13 (46,4%)	60 (81,1%)	3 (3,8%)	

Tokom operacije, u proseku je uzeto i pregledano 16 limfnih čvorova po pacijentu (opseg 0–50). Kod većine pacijenata (129 – 71,3%) pregledano je 12 i više limfnih čvorova. U proseku je svaki peti pregledani uzorak limfnog čvora bio pozitivan, odnosno 4,7 po pacijentu (opseg 0–25) (Tabela 12).

Tabela 12. Faktori nepovolje prognoze (broj pregledanih i broj zahvaćenih limfnih čvorova) kod pacijenata sa KRK

Limfni čvorovi	Parametar	Vrednost
Broj pregledanih limfnih čvorova	prosek (SD) min-max	16 (9,3) 0–50
Pregledano 12+ limfnih čvorova	N 129	71,3%
Broj pozitivnih limfnih čvorova	prosek (SD) min-max	4,7 (5,2) 0–25

Resekcioni rub je kod većine pacijenata bio bez prisustva malignih ćelija – R0 (157 – 86,7%), kod 10 pacijenata nalaz je bio R1 (5,5%) i kod 14 pacijenata je urađena paliјativna operacija (7,7%) (Grafikon 7).



Grafikon 7. Nalaz resekcionog ruba kod pacijenata sa KRK

4.3 Patohistološke karakteristike u odnosu na lokalizaciju primarnog tumora debelog creva (levi/desni kolon)

U grupi pacijenata sa levim kolorektalnim karcinomom dominantan patohistološki nalaz je bio klasičan adenokarcinom (NOS) (96%). U grupi pacijenata sa primarnim tumorom lokalizovanim sa desne strane najčešći patohistološki nalaz je bio NOS(78,8%), a potom mucinozni (18,8%). Postoji statistički značajna razlika u distribuciji patohistološkog nalaza u odnosu na lokalizaciju karcinoma ($p = 0,001$), tj. mucinozni tip adenokarcinoma je češći kod pacijenata sa primarnim tumorom lokalizovanim u desnom delu kolona. Najčešći stepen diferencijacije, tj. histološki gradus u obe grupe je bio G2 (levi u 74,3%, desni u 66,2%); u grupi pacijenata sa primarnim tumorom lokalizovanim u levom delu kolona slede dobro diferentovani tumori – G1 sa 14,9%, a u grupi sa primarnim tumorom lokalizovanim u desnom delu kolona loše diferentovan tumor, tj. G3 sa 25%. Postoji statistički značajna razlika u distribuciji histološkog gradusa u odnosu na lokalizaciju primarnog tumora debelog creva ($p = 0,031$). Loše diferentovani tumori, G3 su češći kod pacijenata sa primarnim tumorom lokalizovanim u desnom delu kolona, dok su dobro diferentovani tumori, G1 i G2 češće prisutni kod pacijenata sa primarnim tumorom lokalizovanim u levom delu kolona. U grupi pacijenata sa primarnim tumorom lokalizovanim u levom delu kolona najčešći stadijumi bolesti su bili IV (48,5%) i III (38,6%), a u grupi pacijenata sa primarnim tumorom lokalizovanim u desnom kolonu najčešći stadijum bolesti je bio III (43,8%), odnosno IV (37,5%). Nema statistički značajne razlike u distribuciji stadijuma bolesti u odnosu na lokalizaciju primarnog tumora debelog creva ($p = 0,283$) (Tabela 13).

Tabela 13. Patohistološki nalaz karcinoma kolona i lokalizacija primarnog tumora

Parametri	Vrednosti	Levi n = 101	Desni n = 81	p
PH nalaz	Mucinozni	3 (3,0%)	15 (18,8%)	0,001
	NOS	97 (96,0%)	63 (78,8%)	
	<i>Singnet ring cell</i>	1 (1,0%)	2 (2,5%)	
Histološki gradus	G1	15 (14,9%)	7 (7,8%)	0,031
	G2	75 (74,3%)	53 (66,2%)	
	G3	11 (10,9%)	20 (25,0%)	
Stadijum bolesti	II	13 (12,9%)	15 (18,8%)	0,283
	III	39 (38,6%)	35 (43,8%)	
	IV	49 (48,5%)	30 (37,5%)	

Prosečan broj pregledanih limfnih čvorova je statistički značajno veći ($p = 0,003$) u grupi pacijenata sa lokalizacijom primarnog tumora na desnoj ($18,2 \pm 9,6$) nego na levoj strani ($14,4 \pm 8,7$). Prosečan broj pozitivnih limfnih čvorova za desni kolon je 5,29, a za levi 4,19 i nema statistički značajne razlike ($p = 0,414$). Prosečan broj organa/sistema zahvaćenih metastazama je statistički značajno veći ($p = 0,035$) u grupi pacijenata sa lokalizacijom karcinoma kolona na desnoj ($1,60 \pm 0,79$) nego na levoj strani ($1,37 \pm 0,66$) (Tabela 14).

Tabela 14. Broj pregledanih i zahvaćenih limfnih čvorova i broj organskih sistema zahvaćenih metastazama kolorektalnog karcinoma

Parametri	Vrednosti	Levi n = 101	Desni n = 81	p (Mann–Whitney U)
Broj pregledanih Lgl	prosek (SD)	14,4 (8,7)	18,2 (9,6)	0,003
	min-max	0–40	0–50	
Broj pozitivnih Lgl	prosek (SD)	4,19 (4,7)	5,29 (5,8)	0,414
	min-max	0–25	0–25	
Broj organskih sistema zahvaćenih metastazama	prosek (SD)	1,37 (0,66)	1,60 (0,79)	0,035
	min-max	1–5	1–4	

U obe grupe pacijenata najčešći nalaz na resekcionom rubu je bio R0 (levi – 84,2% i desni – 90%) i nema statistički značajne razlike u distribuciji nalaza na resekcionom rubu u odnosu na lokalizaciju primarnog tumora kolona ($p = 0,442$). U obe grupe pacijenata limfocitni infiltrat je opisan kao umeren (levi – 58,4% i desni – 51,2%) i nema statistički značajne razlike u distribuciji nalaza na prisustvo limfocitnog infiltrata u odnosu na lokalizaciju primarnog tumora kolona ($p = 0,176$) (Tabela 15).

Tabela 15. Resekcioni rub i limfocitni infiltrat prema lokalizaciji primarnog tumora debelog creva

Parametri	Vrednosti	Levi n = 101	Desni n = 81	p
Resekcioni rub	R0	85 (84,2%)	72 (90,0%)	0,442
	R1	6 (5,9%)	4 (5,0%)	
	Palijativna op.	10 (9,9%)	4 (5,0%)	
Limfocitni infiltrat	Gust	19 (18,8%)	11 (13,8%)	0,176
	Oskudan	23 (22,8%)	28 (35,0%)	
	Umeren	59 (58,4%)	41 (51,2%)	

Limfovaskularna invazija (LVI) je bila prisutna kod 75,2% pacijenata sa lokalizacijom primarnog tumora u levom kolonu i kod 68,8% pacijenata sa primarnim tumorom lokalizovanim u desnom kolonu, i nije bilo statistički značajne razlike ($p = 0,332$). Perineuralna invazija je bila prisutna kod 63,4% pacijenata sa lokalizacijom levo i kod 62,5% pacijenata sa lokalizacijom desno, i nije bilo statistički značajne razlike ($p = 0,905$). Pojava ileusa je registrovana kod 27,7% pacijenata sa primarnim tumorom lokalizovanim u levom kolonu i kod 30% pacijenata sa lokalizacijom primarnog tumora u desnom kolonu, i nije bilo statistički značajne razlike ($p = 0,737$) (Tabela 16).

Tabela 16. Parametri nepovoljne prognoze u odnosu na lokalizaciju primarnog tumora

Parametri	Vrednosti	Levi	Desni	p
		n = 101	n = 81	
Zahvaćenost limfnih čvorova	Da	6 (5,9%)	3 (3,8%)	0,742
Limfovaskularna invazija	Da	76 (75,2%)	55 (68,8%)	0,332
Perineuralna invazija	Da	64 (63,4%)	50 (62,5%)	0,905
Ileus	Da	28 (27,7%)	24 (30%)	0,737

Adjuvantnu hemioterapiju (AHT) je primilo 40,6% pacijenata sa primarnim tumorom lokalizovanim u levom kolonu i 43,8% pacijenata sa primarnim tumorom lokalizovanim u desnom kolonu, i nije bilo statistički značajne razlike ($p = 0,669$) (Tabela 17).

Tabela 17. Stadijum bolesti, lokalizacija primarnog tumora i primena adjuvantne hemioterapije

Stadijum bolesti	Adjuvantna hemioterapija	Levi	Desni	p
		n = 101	n = 81	
Ukupno (76)	Da	41 (40,6%)	35 (43,8%)	0,669
II (L-13 / D-15)	Da	6 (46,2%)	7 (46,7%)	0,978
III (L-39 / D-35)	Da	33 (84,6%)	27 (77,1%)	0,413
IV (L-49 / D-30)	Da	2 (4,1%)	1 (3,3%)	0,866

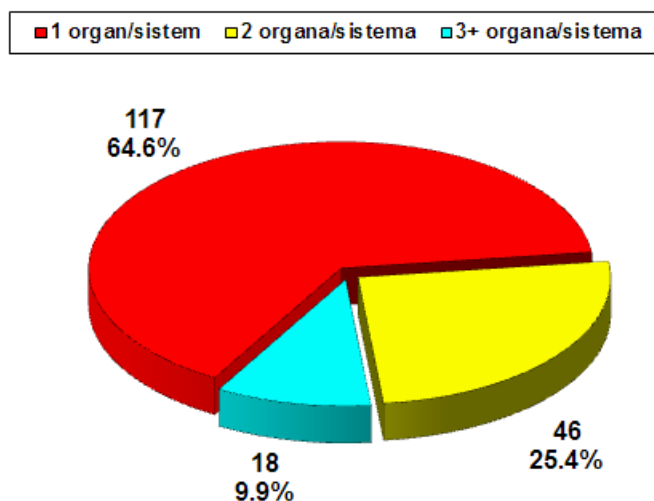
4.4 Karakteristike mKRR

Prosečno vreme bez bolesti (*Disease Free Survival*, DFS) je bilo 16,4 meseca (SD = 12,8; opseg 2–72). Najčešće metastaze su registrovane u jetri (72,9%), plućima (21,5%) i limfnim žlezdama abdomena (18,2%) (Tabela 18).

Tabela 18. Distribucija metastaza

Metastaza	%	Metastaza	%
Jetra	72,9%	Jajnik	2,2%
Pluća	21,5%	Kosti	1,7%
Lgl abdomen	18,2%	Nadbubreg	1,7%
Lokalni recidiv ili samo recidiv	8,3%	Mozak	1,1%
Lgl mala karlica	7,7%	Mokraćna bešika	1,1%
Karcinoza peritoneuma	5,5%	Prostata	0,6%
Lgl toraks (grudni koš)	3,9%	Pankreas	0,6%

Prosečan broj organa/sistema zahvaćenih metastatskim promenama je bio 1,47 (opseg 1–5). Metastaze u jednom organu/sistemu je imalo 117 pacijenata (64,6%), u dva organa/sistema 46 (25,4%), a kod 18 pacijenata (9,9%) su bila zahvaćena tri ili više organa (Grafikon 8).



Grafikon 8. Distribucija pacijenata prema broju metastazama zavaćenih organa/sistema

Prosečno vreme bez bolesti (DFS) je bilo 17,9 meseci (SD = 14,4; opseg 2–72) u grupi pacijenata sa KLK i 15 meseci (SD = 10,8; opseg 2–45) u grupi pacijenata sa KDK, i nije bilo statistički značajne razlike ($p = 0,243$).

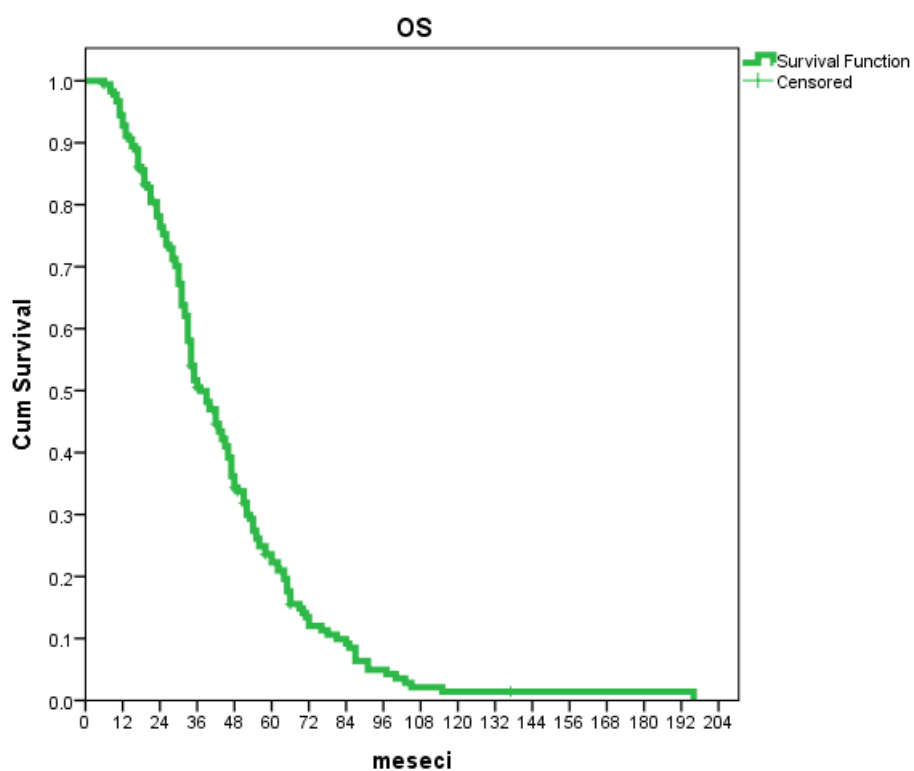
Najčešće metastaze kolorektalnog karcinoma kod pacijenata sa primarnim tumorom lokalizovanim u levom delu bile su u jetri (73,9%), plućima (20,8%), limfnim čvorovima abdomena (12,9%) i lokalni recidiv (9,9%). Kod pacijenata sa primarnim tumorom lokalizovanim u desnoj polovini kolona, prve tri lokalizacije metastaza su takođe jetra (72,5%), pluća (22,5%) i limfni čvorovi abdomena (25,0%), a četvrta lokalizacija su limfni čvorovi male karlice (11,2%) (Tabela 16). Kod pacijenta sa KDK statistički značajno su češće metastaze u limfnim čvorovima abdomena (levo – 12,9%, desno – 25%, $p = 0,036$). Takođe, kod pacijenta sa KDK češće su metastaze u limfnim čvorovima grudnog koša (levo – 1%, desno – 7,5%; $p = 0,062$), karcinoza peritoneuma (levo – 3%, desno – 8,9%; $p = 0,091$) i metastaze u limfnim čvorovima male karlice (levo – 5%, desno – 11,2%; $p = 0,115$) (Tabela 19).

Tabela 19. Distribucija lokalizacije metastaza u odnosu na lokalizaciju primarnog tumora debelog creva

Lokalizacija metastaza	Levi kolon n = 101	Desni kolon n = 80	p
Jetra	73,9%	72,5%	0,908
Pluća	20,8%	22,5%	0,781
Lgl abdomen	12,9%	25%	0,036
Lokalni recidiv ili samo recidiv	9,9%	6,2%	0,376
Lgl male karlice	5,0%	11,2%	0,115
Karcinoma peritoneuma	3,0%	8,9%	0,091
Lgl toraks (grudni koš)	1%	7,5%	0,062
Jajnik	3%	1,2%	0,785
Kosti	2%	1,2%	1,000
Nadbubreg	2%	1,2%	1,000
Mozak	1%	1,2%	1,000
Mokraćna bešika	2%	0%	0,582
Prostata	1%	0%	1,000
Pankreas	1%	0%	1,000

4.5 Kumulativno preživljavanje (*Overall Survival, OS*) kod pacijenata sa metastatskim kolorektalnim karcinomom

Kumulativno preživljanje (*Overall Survival, OS*) kod pacijenata sa metastatskim kolorektalnim karcinomom na 12 meseci je bilo 92,8%, na 24 meseca 76,4%, na 36 meseci 50,5%, a na 5 godina 22,3%. Prosečno vreme preživljavanja je bilo 41,9 meseci (opseg 6–196), a medijana preživljavanja 37 meseci (Grafikon 9).

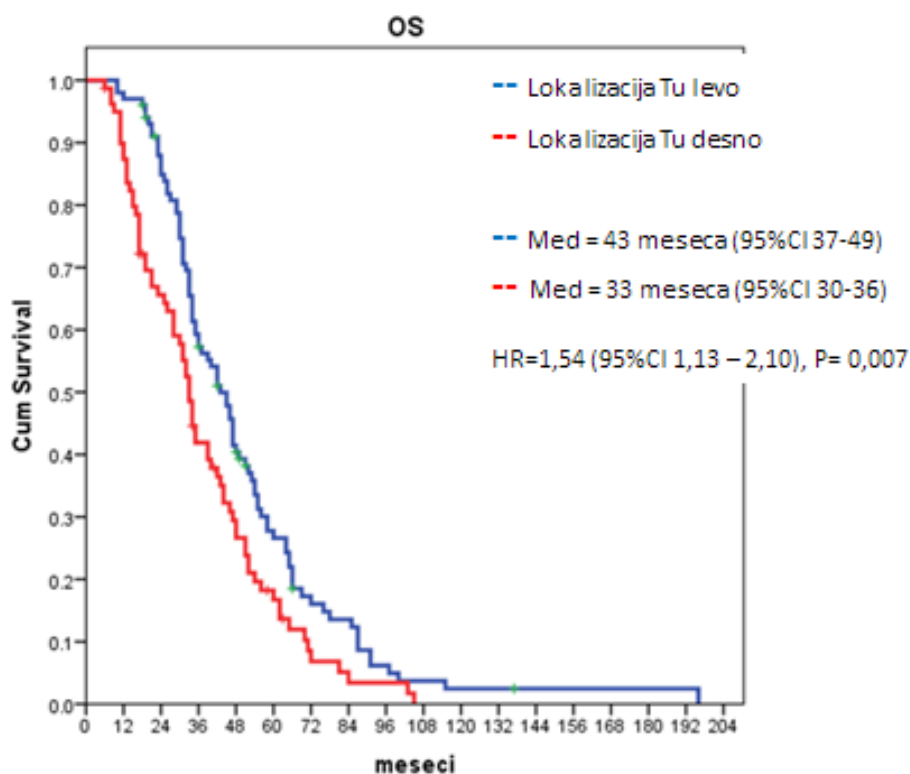


Grafikon 9. Kumulativno preživljavanje kod pacijenata sa metastatskim kolorektalnim karcinomom

Preživljavanje kod pacijenata sa primarnim tumorom lokalizovanim na levoj strani kolona je statistički značajno bolje nego kod pacijenata sa primarnim tumorom lokalizovanim na desnoj strani (Mantel–Cox $p = 0,005$; Breslow $p = 0,001$). Medijana kumulativnog preživljavanja (OS) za pacijente sa KLK je 43 meseca, a za pacijente sa KDK 33 meseca (Tabela 20, Grafikon 10).

Tabela 20. Ukupno vreme preživljavanja (OS) kod pacijenata sa mKRK (meseći) u odnosu na lokalizaciju primarnog tumora

Lokalizacija	N	Prosek				
		(meseći)	SD	Min	Max	Medijana
Levi kolon	101	47,2	27,9	10	196	43
Desni kolon	80	38,2	22,2	6	108	33
Ukupno	181	41,9	26,2	6	196	37



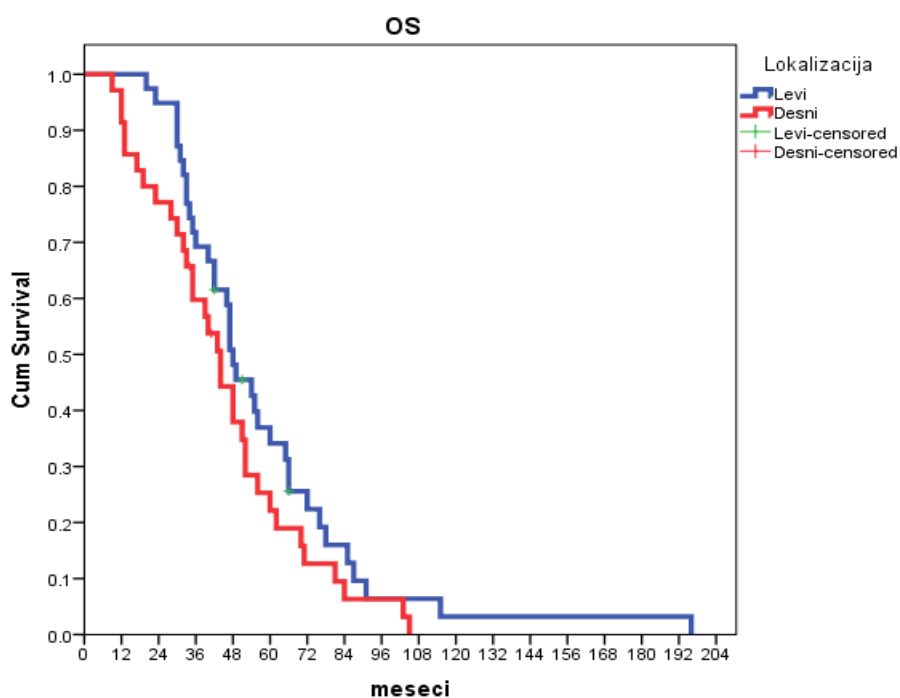
Grafikon 10. Kumulativno preživljavanje kod pacijenata sa mKRK u odnosu na lokalizaciju primarnog tumora

U grupi pacijenata sa KKK u III stadijumu bolesti ($n = 39$) preživljavanje je bolje nego kod pacijenata u istom stadijumu bolesti sa KDK ($n = 35$), ali razlika nije statistički značajna (Mantel–Cox $p = 0,145$; Breslow $p = 0,111$) (Grafikon 11).

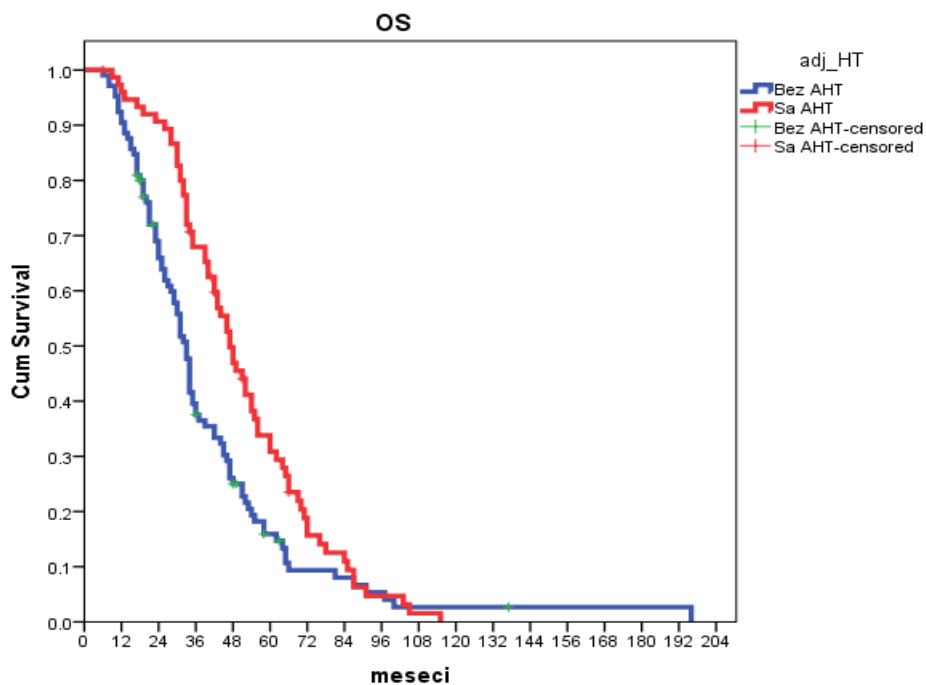
Kumulativno preživljavanje (OS) kod pacijenata kod kojih je primenjena adjuvantna hemioterapija (AHT) statistički je značajno bolje (Mantel–Cox $p < 0,001$) u odnosu na pacijente koji nisu primili adjuvantnu terapiju. Medijana kumulativnog preživljavanja (OS) u grupi pacijenata koji su primili AHT je 47 meseci, a bez AHT 33 meseca (Grafikon 12).

Kumulativno preživljavanje (OS) kod pacijenata u II stadijumu bolesti, koji su primili adjuvantnu hemioterapiju, statistički se značajno ne razlikuje u odnosu na pacijente koji nisu primili AHT (Mantel–Cox $p = 0,350$) (Grafikon 13).

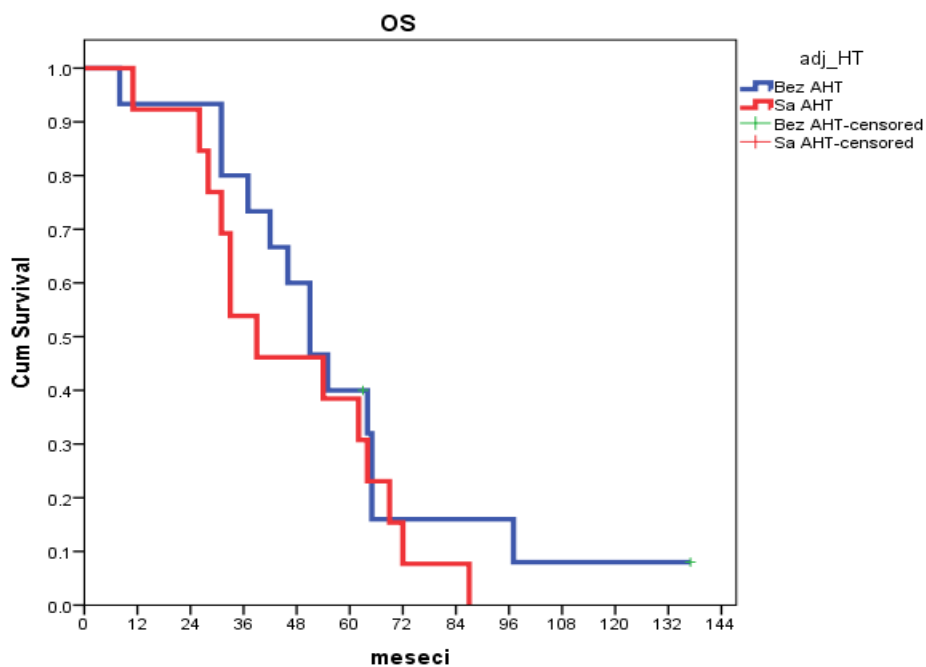
Kumulativno preživljavanje (OS) kod pacijenata u III stadijumu bolesti, koji su primili adjuvantnu hemioterapiju, bolje je u odnosu na pacijente koji nisu primili AHT, ali ne statistički značajno (Mantel–Cox $p = 0,468$) (Grafikon 14).



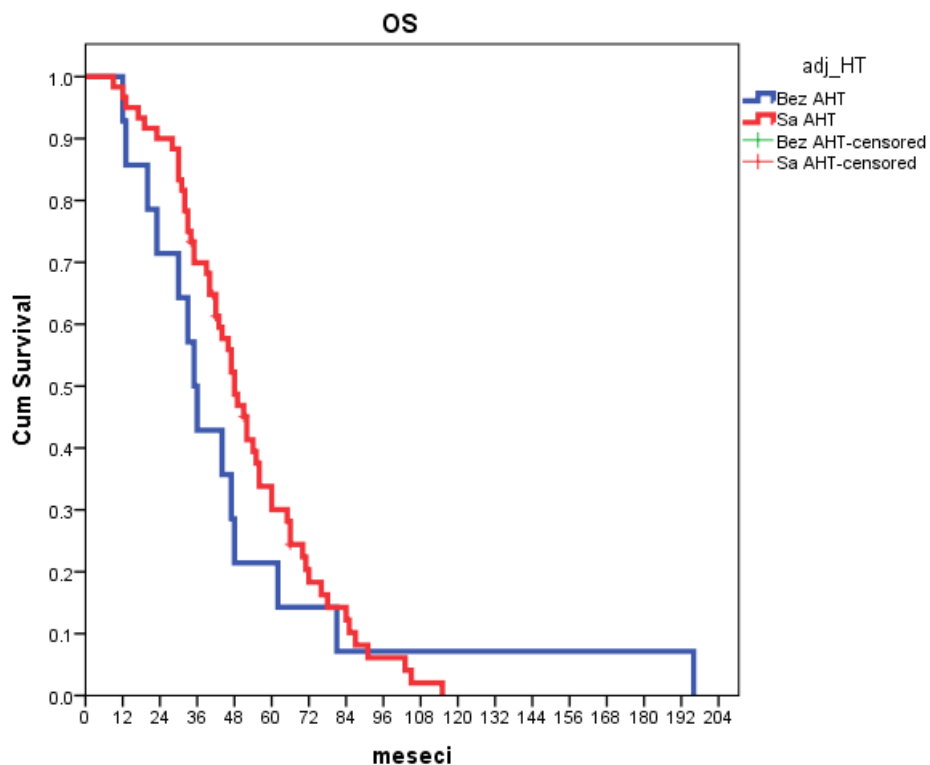
Grafikon 11. Kumulativno preživljavanje kod pacijenata sa KKK u III stadijumu bolesti u odnosu na lokalizaciju primarnog tumora ($p = 0,145$)



Grafikon 12. Kumulativno preživljavanje kod pacijenata sa KRK u odnosu na primenu AHT ($p < 0,001$)



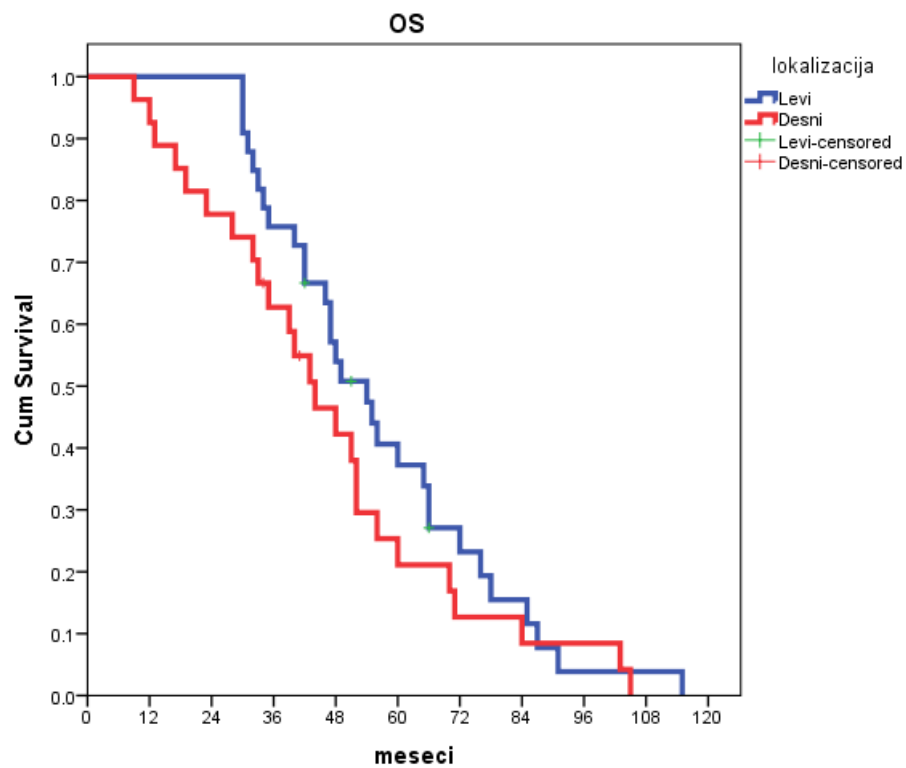
Grafikon 13. Kumulativno preživljavanje pacijenata sa KRK u II stadijumu bolesti u odnosu na primenu AHT ($p = 0,350$)



Grafikon 14. Kumulativno preživljavanje pacijenata sa KRK u III stadijumu bolesti u odnosu na primenu AHT

($p = 0,468$)

U grupi pacijenata sa KKK u III stadijumu bolesti, koji su primili adjuvantnu hemioterapiju ($n = 33$) preživljavanje je bolje nego kod pacijenata sa istim stadijumom bolesti i KDK ($n = 27$), ali razlika nije statistički značajna (Mantel–Cox $p = 0,234$; Breslow $p = 0,101$) (Grafikon 15).



Grafikon 15. Kumulativno preživljavanje pacijenata sa KRK u III stadijumu bolesti sa primenjenom AHT u odnosu na lokalizaciju primarnog tumora ($p = 0,234$)

4.6 Kumulativno preživljavanje bez progresije bolesti (*Progression Free Survival, PFS*) kod pacijenata sa metastatskim kolorektalnim karcinomom

Terapija anti-EGFR antitelima (cetuksimab, panitumumab) je najčešće bila korišćena u III liniji terapije (87,1% kod KLK i 90% kod KDK). Nije bilo statistički značajne razlike u odnosu na primenu terapije anti-EGFR antitelima i lokalizaciju primarnog tumora ($p = 0,162$) (Tabela 21). U najvećem broju slučajeva, pacijenti su primali cetuksimab, i to u trećoj liniji lečenja mKRK (Tabela 22).

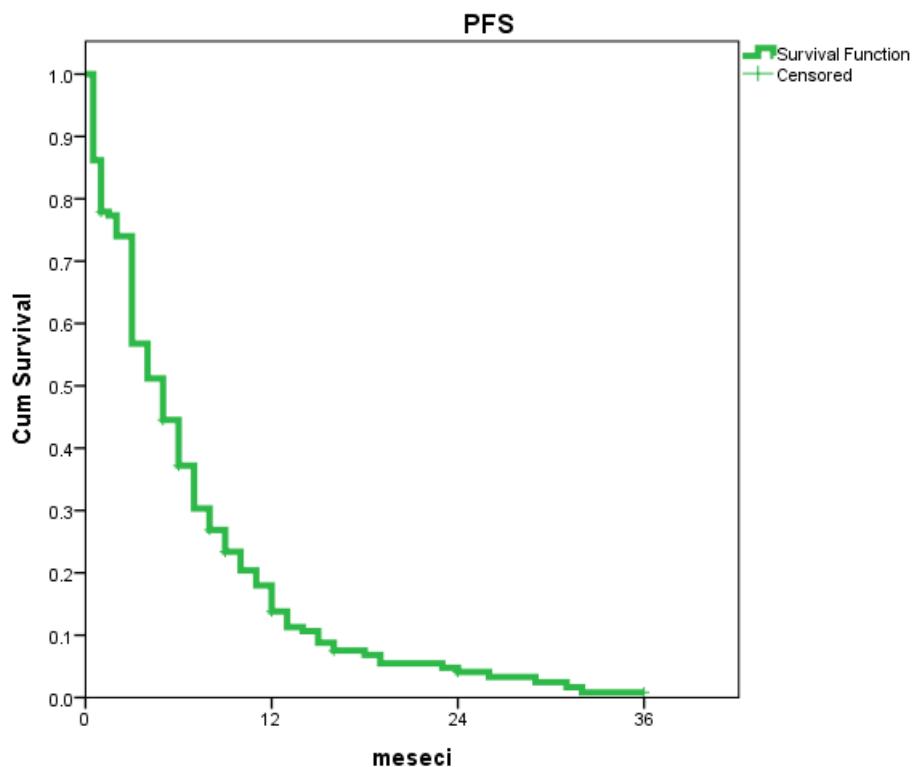
Tabela 21. Sistemska primena anti-EFGR at u lečenju mKRK u odnosu na lokalizaciju primarnog tumora i liniju hemioterapije

Linija terapije	Levi kolon n = 101	Desni kolon n = 80	Ukupno n = 181
II	3 (3,0%)	5 (6,2%)	8 (4,4%)
III	88 (87,1%)	72 (90,0%)	160 (88,4%)
IV	10 (9,9%)	3 (3,8%)	13 (7,2%)

Tabela 22. Sistemska primena cetuksimaba i panitumumaba u lečenju mKRRK u odnosu na liniju hemioterapije

Linija terapije	Cetukimab n = 159	Panitumumab n = 22	Ukupno n = 181
II	7 (4,4%)	1 (4,5%)	8 (4,4%)
III	140 (88,0%)	20 (91,0%)	160 (88,4%)
IV	12 (7,6%)	1 (4,5%)	13 (7,2%)

Kumulativno preživljavanje bez progresije bolesti na anti-EFGR terapiju (PFS) kod pacijenata sa mKRRK na 12 meseci je bilo 13,8%, a na 24 meseca 4,1%. Prosečno vreme bez progresije bolesti je bilo 6,39 meseci (opseg 5–36), a medijana preživljavanja bez progresije bolesti 5 meseci (Grafikon 16).

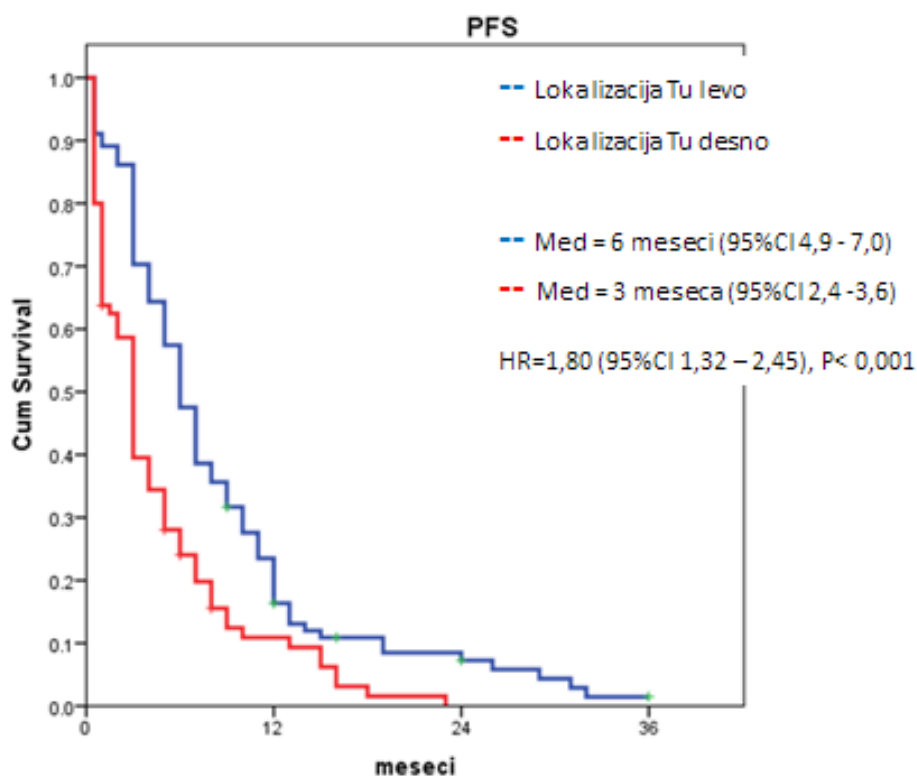


Grafikon 16. Kumulativno preživljavanje bez progresije (PFS) kod pacijenata sa mKRK tokom terapije anti-EGFR at

Preživljavanje bez progresije (PFS) kod pacijenata sa primarnim tumorom lokalizovanim na levoj strani kolona statistički je značajno bolje nego kod pacijenata sa primarnim tumorom lokalizovanim na desnoj strani (Mantel-Cox $p < 0,001$; Breslow $p < 0,001$). Medijana kumulativnog preživljavanja bez progresije bolesti (PFS) za pacijente sa KLK je 6 meseci, a za pacijente sa KDK 3 meseca (Tabela 23, Grafikon 17).

Tabela 23. Vreme preživljavanja bez progresije u odnosu na lokalizaciju primarnog tumora debelog creva

Lokalizacija	N	Prosek	SD	Min	Max	Medijana
Levi kolon	101	8,07	7,17	5	36	6
Desni kolon	80	4,27	4,56	5	23	3
Ukupno	181	6,39	6,45	5	36	5



Grafikon 17. Kumulativno preživljavanje kod pacijenata bez progresije bolesti (PFS) mKRK u odnosu na lokalizaciju primarnog tumora

4.7 Odgovor na terapiju anti-EGFR antitelima

U skladu sa odgovorom na primenjenu terapiju, pacijenti sa tumorom bez KRAS mutacije su podeljeni u dve grupe:

- Pacijenti koji su dobro odreagovali na primenjenu terapiju anti-EGFR at (KR, PR, SB) (bez progresije bolesti nakon prva 3 meseca) (n = 102; 56,4%);
- Pacijenti koji nisu dobro odreagovali na primenjenu terapiju sa anti-EGFR at (PB) (sa progresijom bolesti u prva 3 meseca) (n = 79; 43,6%).

Pacijenti sa lokalizacijom tumora u levom delu debelog creva, statistički su značajno bolje odreagovali na anti-EGFR at terapiju ($p < 0,001$) (levo 70,3% : desno 30,8%) u odnosu na pacijente sa tumorom lokalizovanom u desnom delu kolona. Pacijenti sa mucinoznim patohistološkim nalazom tumora su statistički značajno lošije odreagovali na anti-EGFR at terapiju ($p = 0,001$) (mucinozni 16,7%, a NOS i *signet ring c.* 60,7%) (Tabela 24). Nije bilo statistički značajne razlike u distribucijama odgovora na anti-EGFR at terapiju u odnosu na ostale parametre nepovoljne prognoze (Tabela 25).

Tabela 24. Efikasnost anti-EGFR terapije u odnosu na prognostičke parametre KRK

Parametri	Vrednosti	Nepovoljan odgovor na terapiju (PB) n = 79	Povoljan odgovor na terapiju (KR, PR, SB) n = 102	p
Lokalizacija primarnog tumora	Desno	49 (61,2%)	31 (30,8%)	< 0,001
	Levo	30 (29,7%)	71 (70,3%)	
PH nalaz	NOS, SRCC	64 (39,3%)	99 (60,7%)	0,001
	Mucinozni	15 (83,3%)	3 (16,7%)	
Histološki gradus	G1	7 (31,8%)	15 (68,2%)	0,233
	G2, G3	72 (45,3%)	87 (54,7%)	

Tabela 25. Parametri nepovoljne prognoze i odgovor na anti-EGFR terapiju

Parametri	Vrednosti	Nepovoljan odgovor na terapiju (PB) n = 79	Povoljan odgovor na terapiju (KR, PR, SB) n = 102	p
Histološki gradus	G1	7 (31,8%)	15 (68,2%)	0,233
	G2, G3	72 (45,3%)	87 (54,7%)	
Stadijum bolesti	II	11 (39,3%)	17 (60,7%)	0,613
	III, IV	68 (44,4%)	85 (55,6%)	
Broj pregledanih limfnih čvorova	Do 11	18 (34,6%)	34 (65,4%)	0,120
	12+	61 (47,3%)	68 (52,7%)	
Zahvaćenost limfnih čvorova	Ne	16 (36,4%)	28 (63,6%)	0,263
	Da	63 (46,0%)	74 (54,0%)	
Resekcioni rub R1, paliјativna op.	R0	69 (43,9%)	88 (56,1%)	0,541
	R1, paliјativna operacija	10 (41,7%)	14 (58,3%)	
Limfovaskularna invazija	Ne	20 (40,0%)	30 (60,0%)	0,188
	Da	59 (45,0%)	72 (55,0%)	
Perineuralna invazija	Ne	25 (37,3%)	42 (62,7%)	0,834
	Da	54 (47,4%)	60 (52,6%)	
Limfocitni infiltrat	Odsutan, oskudan	25 (49,0%)	26 (51,0%)	0,361
	Da	54 (41,5%)	76 (58,5%)	

4.8 Multivarijantna analiza kumulativnog preživljavanja – OS

Cox regresionom analizom obuhvaćeni su parametri nepovoljne prognoze:

- desna lokalizacija karcinoma kolona
- mucinozni adenokarcinom
- niži stepen diferencijacije (gradus 3)
- zahvaćenost limfnih čvorova
- nedovoljan broj pregledanih limfnih čvorova (manje od 12)
- prisutnost tumora na resekcionom rubu (R1 ili palijativna op.)
- uznapredovali stadijum bolesti (III, IV)
- prisustvo limfovaskularne i perineuralne invazije
- odsutan ili oskudan peritumorski limfocitni infiltrat,

u odnosu na kumulativno preživljavanje (OS) kod pacijenata sa metastatskim kolorektalnim karcinomom bez KRAS mutacije.

Cox regresionom analizom (metodom *Conditional Forward*) dobijeni su nezavisni prediktori kumulativnog preživljavanja (OS) kod pacijenata sa kolorektalnim karcinomom: mucinozni adenokarcinom ($p < 0,001$), desna lokalizacija ($p = 0,022$), prisustvo perineuralne invazije ($p = 0,034$) i prisutnost tumora na resekcionom rubu ($p = 0,049$) (Tabela 26).

Pacijenti sa mucinoznim adenokarcinomom imaju 2,69 puta kraće preživljavanje od pacijenata sa klasičnim adenokarcinomom (NOS). Pacijenti sa primarnim tumorom lokalizovanim u desnom kolonu imaju 1,46 puta kraće preživljavanje od pacijenata sa primarnim tumorom lokalizovanim u levom kolonu. Pacijenti sa perineuralnom invazijom imaju 1,43 puta kraće preživljavanje od pacijenata bez perineuralne invazije. Pacijenti sa prisustvom tumora na resekcionom rubu imaju 1,68 puta manje

preživljavanje od pacijenata bez prisustva tumora na resekcionom rubu (R1 i palijativne operacije debelog creva) (Tabela 26).

Tabela 26. Uticaj prognostičkih parametara na kumulativno preživljavanje (OS) pacijenata sa KRK (Cox regresiona analiza)

Prediktori	B	SE	P	Exp(B)	95% CI
Mucinozni adenokarcinom	0,990	0,269	< 0,001	2,69	1,59–4,56
Desna lokalizacija	0,375	0,164	0,022	1,46	1,06–2,01
Perineuralna invazija	0,355	0,167	0,034	1,43	1,03–1,98
Resekcioni rub R1 ili palijativna operacija	0,518	0,263	0,049	1,68	1,02–2,81

U grupi pacijenata sa KLK, Cox regresionom analizom (metodom *Conditional Forward*) dobijen je samo jedan nezavisni prediktor kumulativnog preživljavanja (OS) i to je prisustvo perineuralne invazije ($p = 0,038$). Pacijenti sa perineuralom invazijom imaju 1,60 puta kraće preživljavanje od pacijenata bez perineuralne invazije (Tabela 27).

Tabela 27. Parametri nepovoljne prognoze kumulativnog preživljavanja (OS) kod pacijenata sa KLK (Cox regresiona analiza)

Prediktori	B	SE	P	Exp(B)	95% CI
Perineuralna invazija	0,468	0,225	0,038	1,60	1,03–2,48

U grupi pacijenata sa KDK, Cox regresionom analizom (metodom *Conditional Forward*) dobijen je samo jedan nezavisni prediktor kumulativnog preživljavanja (OS) i to je mucinozni adenokarcinom ($p = 0,038$). Pacijenti sa mucinoznim adenokarcinomom imaju 3,12 puta manje preživljavanje (Tabela 28).

Tabela 28. Parametri nepovoljne prognoze kumulativnog preživljavanja (OS) kod pacijenata sa KDK (Cox regresiona analiza)

Prediktori	B	SE	P	Exp(B)	95% CI
Mucinozni adenokarcinom	1,136	0,304	< 0,001	3,12	1,72–5,66

4.9 Multivarijantna analiza kumulativnog preživljavanja bez progresije – PFS

Cox regresionom analizom obuhvaćeni su parametri nepovoljne prognoze:

- desna lokalizacija karcinoma kolona
- mucinozni adenokarcinom
- niži stepen diferencijacije (gradus 3)
- zahvaćenost limfnih čvorova
- nedovoljan broj pregledanih limfnih čvorova (manje od 12)
- prisutnost tumora na resekcionom rubu (R1 ili palijativna op.)
- uznapredovali stadijum bolesti (III, IV)
- prisustvo limfovaskularne i perineuralne invazije
- odsutan ili oskudan peritumorski limfocitni infiltrat,

u odnosu na kumulativno preživljavanje bez progresije bolesti (PFS) kod pacijenata sa metastatskim kolorektalnim karcinomom bez KRAS mutacije, nakon primenjene terapije anti-EGFR at (cetuksimab, panitumumab).

Cox regresionom analizom (metodom *Conditional Forward*) dobijeni su nezavisni prediktori kumulativnog preživljavanja bez progresije bolesti (PFS) kod pacijenata sa karcinomom kolona: mucinozni adenokarcinom ($p = 0,001$) i desna lokalizacija ($p = 0,004$) (Tabela 29).

Pacijenti sa mucinoznim adenokarcinomom imaju 2,53 puta kraće preživljavanje od pacijenata sa klasičnim adenokarcinomom NOS. Pacijenti sa lokalizacijom primarnog tumora na desnoj strani kolona imaju 1,60 puta kraće preživljavanje od pacijenata sa primarnim tumorom lokalizovanim na levoj strani kolona (Tabela 29).

Tabela 29. Parametri nepovoljne prognoze kumulativnog preživljavanja bez progresije (PFS) (Cox regresiona analiza)

Prediktori	B	SE	P	Exp(B)	95% CI
Mucinozni adenokarcinom	0,927	0,270	0,001	2,53	1,49–4,29
Desna lokalizacija	0,471	0,165	0,004	1,60	1,16–2,21

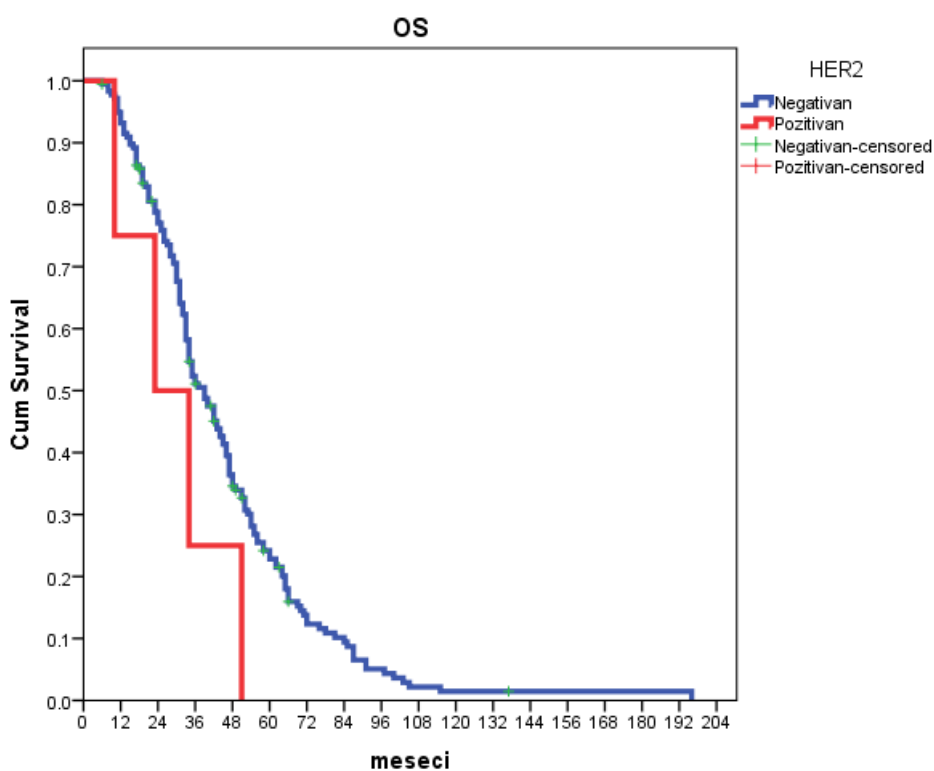
4.10 Analiza HER2 statusa

HER2 pozitivan nalaz (3+) je registrovan kod svega četiri pacijenta (2,21%), potencijalno pozitivan HER2 (2+) kod sedam pacijenata (3,87%), vrednost HER2 1+ kod 26 pacijenata (14,36%), a kod ostala 144 pacijenta HER2 nalaz je bio negativan (79,56%). Nije bilo statistički značajne razlike u distribuciji parametara nepovoljne prognoze i HER2 nalaza (Tabela 30).

Tabela 30. HER2 status i parametri nepovoljne prognoze kod pacijenata sa KRK

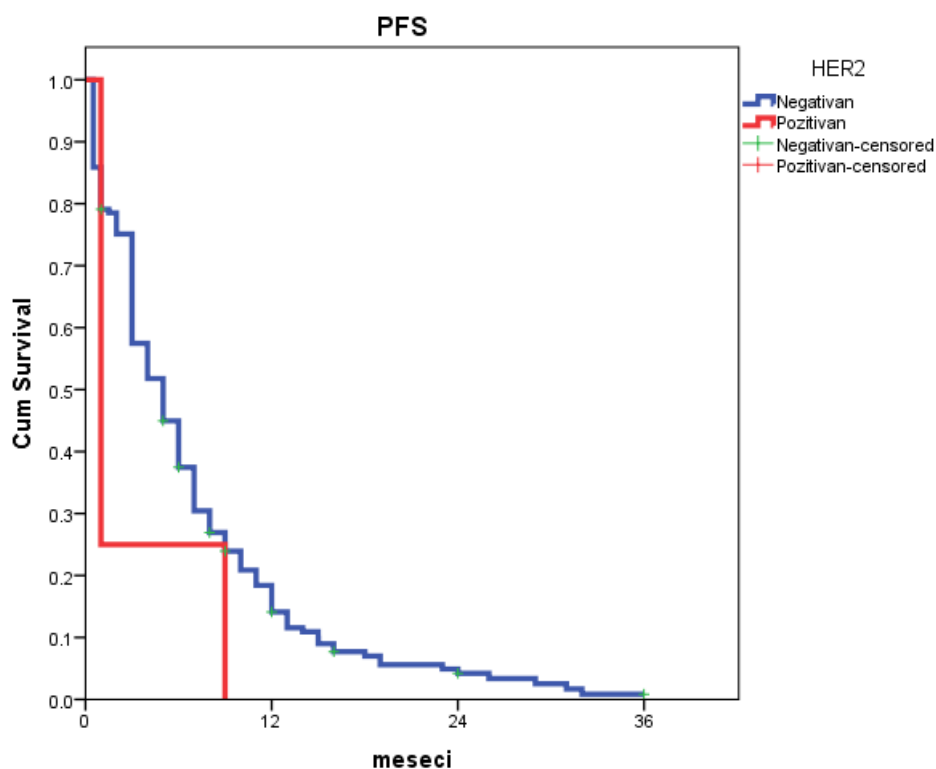
Parametri	Vrednosti	HER2 negativan n = 145	HER2 1+ ,2+, 3+ n = 36	p
Lokalizacija karcinoma	Levo	77 (53,1%)	24 (66,7%)	0,142
	Desno	68 (46,9%)	12 (33,3%)	
PH nalaz	Mucinozni	130 (89,7%)	33 (91,7%)	0,719
	NOS, <i>signet ring c.</i>	15 (10,3%)	3 (8,3%)	
Histološki gradus	G1	17 (11,7%)	5 (13,9%)	0,722
	G2, G3	128 (88,3%)	31 (86,1%)	
Stadijum bolesti	II	20 (13,8%)	8 (22,2%)	0,211
	III, IV	125 (86,2%)	28 (77,8%)	
Broj pregledanih limfnih čvorova	Do 11	105 (72,4%)	24 (66,7%)	0,495
	12+	40 (27,6%)	12 (33,3%)	
Zahvaćenost limfnih čvorova	Ne	32 (22,1%)	12 (33,3%)	0,158
	Da	113 (77,9%)	24 (66,7%)	
Rub R1 ili palijativna op.	R0	124 (85,5%)	33 (91,7%)	0,330
	R1, R2	21 (14,5%)	3 (8,3%)	
Limfovaskularna invazija	Ne	37 (25,5%)	13 (36,1%)	0,203
	Da	108 (74,5%)	23 (63,9%)	
Perineuralna invazija	Ne	51 (35,2%)	16 (44,4%)	0,302
	Da	94 (64,8%)	20 (55,6%)	
Limfocitni infiltrat	Odsutan, oskudan	104 (71,7%)	26 (72,2%)	0,953
	Da	41 (28,3%)	10 (27,8%)	

Kumulativno preživljavanje (OS) kod pacijenata sa HER2 pozitivnim nalazom 3+ je lošije u odnosu na pacijente sa HER negativnim nalazom (0, 1+, 2+), ali zbog izuzetno malog broja pacijenata sa HER2 pozitivnim nalazom nije dobijena statistički značajna razlika ($p = 0,149$) (Grafikon 18).



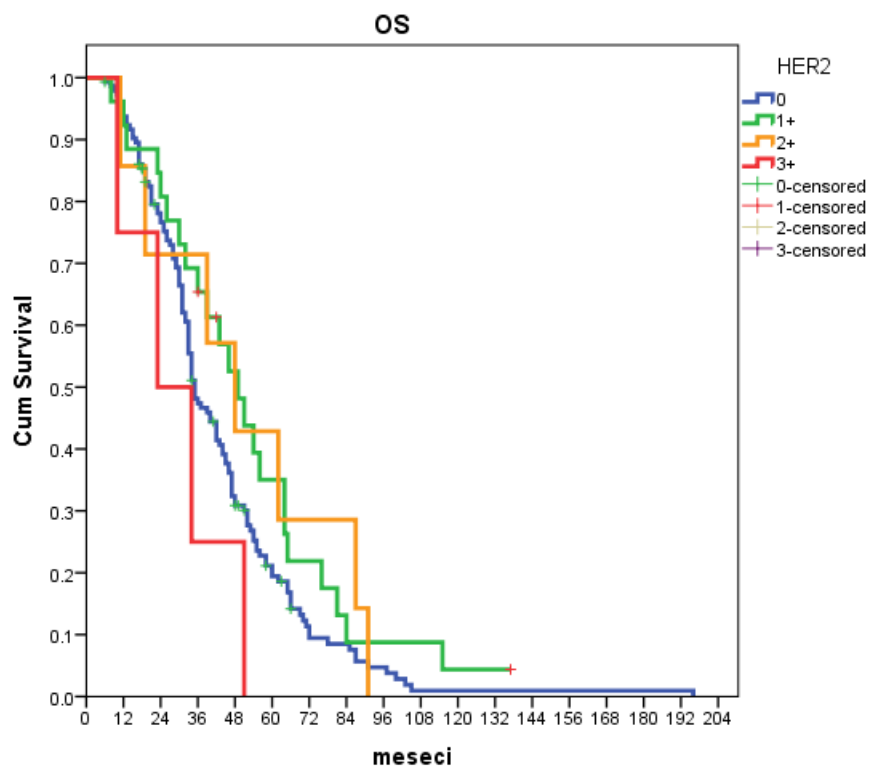
Grafikon 18. Kumulativno preživljavanje (OS) kod pacijenata sa kolorektalnim karcinomom u odnosu na HER2 status ($p = 0,149$)

Kumulativno preživljavanje bez progresije bolesti (PFS) kod pacijenata sa HER2 pozitivnim nalazom je lošije, ali razlika nije statistički značajna ($p = 0,138$) u odnosu na pacijente sa HER2 negativnim nalazom (Grafikon 19).



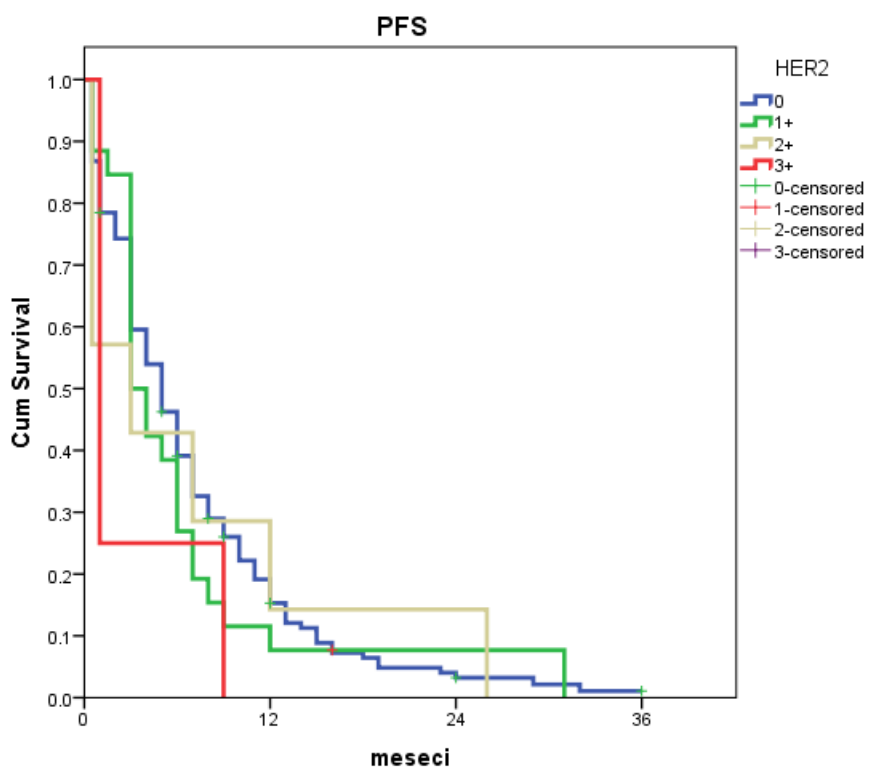
Grafikon 19. Kumulativno preživljavanje bez progresije (PFS) kod pacijenata sa kolorektalnim karcinomom u odnosu na HER2 status ($p = 0,138$)

Kumulativno preživljavanje (OS) kod pacijenata sa HER2 3+ je najlošije, ali nije dobijena statistički značajna razlika ($p = 0,159$) (Grafikon 20).



Grafikon 20. Kumulativno preživljavanje (OS) kod pacijenata sa kolorektalnim karcinomom u odnosu na HER2 status ($p = 0,159$)

Kumulativno preživljavanje bez progresije bolesti (PFS) kod pacijenata sa HER2 nalazom 3+ je najlošije, ali nije bilo statistički značajne razlike ($p = 0,455$) (Grafikon 21).



Grafikon 21. Kumulativno preživljavanje bez progresije (PFS) kod pacijenata sa kolorektalnim karcinomom u odnosu na HER2 status ($p = 0,455$)

5. DISKUSIJA

Uprkos napretku u tehnologiji i lečenju, pojava metastaza i recidiva i dalje smanjuje ukupno preživljavanje pacijenata sa kolorektalnim karcinomom.

Terapijska strategija lečenja metastatskog kolorektalnog karcinoma predstavlja veliko i značajno poglavlje u kliničkoj onkologiji s obzirom na učestalost ove maligne bolesti, ali i s obzirom na činjenicu da se kod trećine pacijenata bolest otkrije u metastatskoj fazi, a da polovina obolelih razvija metastaze tokom svoje bolesti što doprinosi visokim stopama mortaliteta karcinoma kolorektuma. Najveći broj pacijenata ima metastatsku bolest koja nije resektabilna ili bar nije inicijalno resektabilna (249). Prema podacima iz naše studije, u momentu postavljanja dijagnoze najčešći stadijum bolesti je bio IV (43,6%), zatim stadijum III (40,9%) i stadijum II u samo 15,5%.

Lečenje pacijenata sa metastatskim kolorektalnim karcinomom je poslednjih decenija dovelo do produženja ukupnog preživljavanja, od oko 20 do preko 30 meseci (212–215). Pre 2000. godine, 5-FU je bio jedini aktivni agens za lečenje ovih pacijenata i ukupno preživljavanje (OS) u ispitivanjima faze III bilo je 11–12 meseci. Od tada, ishod lečenja je poboljšan korišćenjem citotoksičnih agenasa oksaliplatina i irinotekana, ciljanih terapija koje inhibiraju vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF) – bevacizumab i aflibercept, i receptor epidermalnog faktora rasta (EGFR) – cetuksimab i panitumumab, potom regorafenib (multikinaza inhibitor), trifluridin-tipiracil (TAS-102), oralnog

citotoksičnog agensa (trifluridin) u kombinaciji sa inhibitorom timidin fosforilaze. Takođe, poboljšana je i medijana preživljavanja koja je sada, prema velikim studijama faze III, približno tri godine, posebno kod pacijenata sa RAS nemutiranim tipom tumora i primarnim tumorom lokalizovanim u levom kolonu (191, 214, 215). Pored toga, postignut je napredak i u lokalnom lečenju metastaza hirurškom metastazektomijom, citoreduktivnom hirurgijom (HIPEC), radiofrekventnom ablacijom (RFA) i radioterapijom (215).

S produženim ukupnim preživljavanjem i samo lečenje je postalo komplikovanije.

Osnove savremene onkologije teže ka individualizaciji i personalizaciji u lečenju pacijenata obolelih od malignih bolesti. Kao što je već napomenuto, svaki karcinom se ponaša kao zaseban entitet, te bi ga tako trebalo i tretirati.

Multidisciplinarni pristup je od suštinskog značaja za identifikaciju optimalne strategije lečenja za svakog pacijenta ponaosob.

Standardna hemioterapija u kombinaciji sa ciljanom, tj. biološkom terapijom predstavlja okosnicu lečenja pacijenata sa metastatskim kolorektalnim karcinomom (250).

Molekularne karakteristike tumora, odnosno prediktivni biomarkeri, igraju važnu ulogu u pomenutoj personalizaciji i individualizaciji terapije. Prognostički i prediktivni faktori su od ključnog značaja za adekvatan tretman pacijenata sa mKRK.

Prediktivni biomarkeri nam služe za odabir pacijenata kod kojih je veća verovatnoća da će imati kliničku korist od terapije i samim tim ograničavaju, tj. smanjuju broj pacijenata koji se izlažu nepotrebnoj toksičnosti i potencijalnoj šteti od terapije za koju je malo verovatno da će imati efekta (147). U savremenoj eri onkologije naglasak je na molekularnom testiranju carcinoma; međutim, ne smemo da zaboravimo ni značaj patohistoloških karakteristika tumora, jer je vrlo dobro poznato da upravo one određuju model ponašanja karcinoma. Faktori nepovoljne prognoze kao što su: mucinozni adenokarcinom, niži stepen diferencijacije (gradus 3), zahvaćenost limfnih čvorova, nedovoljan broj pregledanih limfnih čvorova, prisustvo tumora na resekcionom rubu, uznapredovali stadijum bolesti (III, IV), prisustvo limfovaskularne i perineuralne invazije, odsutan ili oskudan peritumorski limfocitni infiltrat, ne skraćuju samo ukupno preživljavanje, već i vreme bez bolesti i vreme do progresije bolesti.

Najčešća patohistološka varijanta karcinoma debelog creva je klasičan adenokarcinom (*Not Otherwise Specified*, NOS). Manje česti podtipovi uključuju mucinozne adenokarcinome (MAK), koji čine oko 10% svih karcinoma debelog creva, i karcinome ćelija pečatnog prstena (*Signet Ring Cell Carcinoma*, SRCC), koji čine oko 1% svih karcinoma debelog creva (251–253). Prema rezultatima naše studije, 88,4% pacijenata je imalo klasičan adenokarcinom, 9,9% je imalo MAK, dok je 1,7% imalo SRCC, što se poklapa sa gore navedenim rezultatima koji ukazuju na to da patohistološki tip tumora utiče na njegovo biološko ponašanje (252, 254).

Naši rezultati se poklapaju sa rezultatima nekoliko studija u kojima je pokazano da patohistološki tipovi tumora, kao što su MAK i SRCC, imaju agresivnije biološko ponašanje (253, 254) Takođe, zabeležena je povezanost sa mlađim uzrastom, uznapređovalim stadijumom tumora, ženskim polom (252). U našoj studiji, SRCC je povezan sa mlađim uzrastom, tj. prosečnom starošću od 36,7 godina ($p < 0,001$).

Prema podacima pojedinih studija, patohistološki tipovi poput MAC i SRCC povezani su sa različitim molekularnim obrascima, kao što su mikrosatelitska nestabilnost, mutacija BRAF gena, što u našoj studiji nije analizirano (255).

U skladu sa većinom objavljenih studija, uključujući kohorte iz SAD i Azije, MAK i SRCC su uglavnom bili lokalizovani u desnom delu kolona, dijagnostikovani u kasnijoj fazi bolesti, sa zahvaćenošću limfnih čvorova i bili su lošije diferentovani (135, 252, 253, 256–260).

Prema našim rezultatima, postoji statistički značajna razlika u distribuciji patohistološkog nalaza u odnosu na lokalizaciju primarnog tumora ($p = 0,001$), tj. mucinozni adenokarcinom se češće javlja kod karcinoma desnog kolona, dok je klasični adenokarcinom bio češći kod karcinoma levog kolona.

Limfovaskularna invazija (LVI) je zahvaćenost malih limfnih ili krvnih (obično venskih) sudova, dok je perineuralna invazija (PNI) rast tumora u, oko i duž nerava i nervne ovojnice. LVI i PNI predstavljaju nepovoljne faktore prognoze i, u ranim stadijumima KRK, mogu biti predznaci metastaziranja u regionalne limfne čvorove. Zato ovi parametri utiču na odluku o adjuvantnom tretmanu KRK (165, 261–263). Rezultati studije Yükses i saradnika, koji su analizirali patohistološke nalaze pacijenata sa operisanim karcinomom debelog creva u drugom i trećem stadijumu, pri čemu su iz

studije isključeni pacijenti operisani kao hitni slučajevi, pokazuju da su LVI i PNI bile prisutne kod 48,3%, odnosno 41,9% pacijenata (264). U našoj studiji, LVI je prisutna kod 72,4%, a PNI kod 63% pacijenata, ali moramo napomenuti da smo analizirali i patohistološke nalaze pacijenata koji su operisani kao hitni slučajevi, kao i one operisane u četvrtom stadijumu bolesti. PNI je povezana sa povećanom zahvaćenošću limfnih čvorova, dok je u našoj studiji primećeno da je uznapredovali stadijum bolesti u vezi sa većim procentom LVI i PNI. PNI je povezana sa lošom prognozom kod mnogih karcinoma i prepoznata je kao nezavisni prediktor preživljavanja kod pacijenata sa KRK (265). OS pacijenata sa prisutnom PNI je značajno lošiji od onog kod pacijenata bez PNI, što se poklapa sa rezultatima našeg istraživanja (266). U našoj studiji, PNI se pokazala kao negativan prediktor ukupnog preživljavanja kod pacijenata sa mKRK ($p = 0,034$), ali se istakla i kao nezavisni prediktor kumulativnog preživljavanja (OS) ($p = 0,038$) i kod pacijenata sa KLK. Pacijenti sa perineuralnom invazijom imaju 1,60 puta kraće preživljavanje od pacijenata bez perineuralne invazije.

Kolorektalni karcinom najčešće metastazira putem limfnih sudova. Zahvaćenost limfnih čvorova određuje stadijum bolesti, predstavlja bitan prognostički parametar i utiče na modalitet lečenja (261).

U našoj studiji, tumorski depoziti u perikoličnom masnom tkivu bili su prisutni samo kod 5% pacijenata. Slični rezultati objavljeni su i u studiji Cadhama i saradnika (267), gde većina pacijenata nije imala depozite u perikoličnom masnom tkivu.

Mnoge studije analizirale su zahvaćenost regionalnih limfnih čvorova kao prognostički parametar kod pacijenata sa KRK. Prema rezultatima tih studija, zahvaćenost regionalnih limfnih čvorova se pokazala kao negativan prognostički parametar koji utiče na ukupno preživljavanje (268–270).

Na primer, pacijenti koji nisu imali zahvaćene regionalne limfne čvorove imali su duže ukupno preživljavanje u odnosu na pacijente koji su imali sedam ili više zahvaćenih regionalnih limfnih čvorova (OS 31 mesec naspram 16 meseci) (271, 272).

Međutim, Ong V. i saradnici navode da se kod pacijenata bez zahvaćenih limfnih čvorova relaps javlja u 20–30% slučajeva, tako da zahvaćenost limfnih čvorova ne može biti pouzdan prognostički factor (273).

Prema našim rezultatima, zahvaćenost regionalnih limfnih čvorova nije se pokazala kao nezavisni prediktor ukupnog preživljavanja pacijenata sa kolorektalnim karcinomom bez KRAS mutacije.

Mnoge studije su pokazale značaj broja uzorkovanih limfnih čvorova na ukupno preživljavanje i preživljavanje bez bolesti nakon resekcije raka debelog creva II do III stadijuma (274, 275). U prospektivnoj studiji koja je obuhvatila 35.787 pacijenata, Svanson i kolege su pokazali petogodišnji OS od 64% kod pacijenata sa T3 tumorima, kada su uzorkovana manje od dva limfna čvora koja su bila negativna, dok je petogodišnji OS dostigao 86% kada je uzorkovano više od 25 limfnih čvorova koji su bili negativni. Ispitivanje Intergroup INT-0089 pokazuje da je, čak i kada su svi čvorovi negativni, uklanjanje većeg broja limfnih čvorova povezano sa poboljšanim preživljavanjem (73% ako je nađeno < 10 limfnih čvorova, 87% ako je nađeno > 20 limfnih čvorova, $p = 0,001$). Ova analiza je u skladu sa navedenim studijama i ukazuje na manji rizik od smrti za pacijente sa najmanje 12 uzorkovanih limfnih čvorova (274, 275). Rezultati naše studije kažu da je u III stadijumu prosečan broj zahvaćenih limfnih čvorova 5,57, a u IV 5,37, dok je kod većine pacijenata (129 – 71,3%) pregledano 12 i više limfnih čvorova. Zahvaćenost limfnih čvorova se Cox regresionom analizom, metodom *Conditional Forward*, nije se pokazala kao nezavisan prediktor kumulativnog preživljavanja (OS) i kumulativnog preživljavanja bez progresije bolesti (PFS) kod pacijenata sa kolorektalnim karcinomom bez KRAS mutacije.

Ćelije tumora imaju mehanizam kojim skrivaju svoje antigene, tako da ostanu nevidljive za T-limfocite. Limfociti koji se mogu naći u području tumora nazivaju se tumor-infiltrirajući limfociti (TIL). TIL su aktivirani limfociti koji mogu da prepoznaju antigene (*Major Histocompatibility Complex I*, MHC I) na površini tumorskih ćelija i na taj način dovode do apoptoze maligne ćelije (preko proteina perforina i granzima B) (276, 277). Iz tog razloga, TIL se smatraju imunim odgovorom koji je koristan u suzbijanju rasta tumora. Step en limfocitnog infiltrata može biti oskudan, srednji i gust (278).

Veća količina TIL, tj. gust limfocitni infiltrat povezan je sa boljom prognozom i kod drugih maligniteta, kao na primer kod karcinoma dojke. Na osnovu rezultata pojedinih studija, gust limfocitni infiltrat povezan je sa boljom prognozom, tj. produžava vreme bez bolesti i ukupno preživljavanje i kod pacijenata sa KRK (279–282). Prema nekim

autorima, TIL može da bude značajniji prognostički parametar za relaps bolesti u prve dve godine od postavljene dijagnoze, od same veličine tumora i zahvaćenosti limfnih čvorova (283).

Prema rezultatima naše studije, TIL je u najvećem broju slučajeva bio umeren (55,2%) i Cox regresionom analizom, metodom *Conditional Forward*, nije se pokazao kao nezavisan prediktor kumulativnog preživljavanja (OS) i kumulativnog preživljavanja bez progresije bolesti (PFS) kod pacijenata sa kolorektalnim karcinomom bez KRAS mutacije.

U našoj studiji, prosečno vreme do pojave metastaza (DFS) je bilo 17,9 meseci (SD = 14,4; opseg 2–72) u grupi pacijenata sa KLK, a 15 meseci (SD = 10,8; opseg 2–45) u grupi pacijenata sa KDK, i nije bilo statistički značajne razlike ($p = 0,243$).

Približno 20% novodijagnostikovanih pacijenata sa kolorektalnim karcinomom ima sinhrono udaljene metastaze i većina ispunjava uslove za palijativno lečenje, a prognoza kod ovih pacijenata je obično loša (284).

Prema našim rezultatima, kod 43,6% pacijenata je bolest dijagnostikovana u metastatskoj fazi, pri čemu su metastaze najčešće bile lokalizovane u jetri (72,9%,) plućima (21,5%) i limfnim čvorovima abdomena (18,2%).

Petogodišnja stopa preživljavanja u grupi sa R0 resekcijom bila je značajno bolja od one u grupi bez R0 resekcije (23,4% naspram 16,7%, respektivno; $p = 0,013$) (285–287).

Cox regresionom analizom, metodom *Conditional Forward*, prisustvo tumora na resekcionom rubu kao R1 se, zajedno sa palijativnim operacijama primarnog tumora, pokazalo kao nezavisan negativan prediktor kumulativnog preživljavanja (OS) kod pacijenata sa kolorektalnim karcinomom bez KRAS mutacije.

Histološki gradus, tj. stepen diferencijacije tumora je takođe bitan prognostički parametar (261, 288). Poznato je da slabo diferentovani tumori imaju agresivniji tok (289).

Niži stepen histološke diferentovanosti se smatra važnim faktorom rizika za lošu prognozu i mnoge studije pokazuju povećani rizik od recidiva i smrti nakon pet godina (290, 291).

U našoj studiji su najzastupljeniji bili srednje diferentovani tumori: G2 (70,7%), G3 (17,1%) i G1 u samo 12,2% slučajeva.

Cox regresionom analizom, metodom *Conditional Forward*, stepen diferencijacije tumora se nije pokazao kao nezavisnan prediktor kumulativnog preživljavanja (OS) kod pacijenata sa kolorektalnim karcinomom bez KRAS mutacije.

Adjuvantna hemioterapija može biti od koristi kod pacijenata u II stadijumu, sa bilo kojim od loših prognostičkih karakteristika kao što su širenje primarnog tumora (probijanje seroze ili invazija drugih organa ili struktura, T4(pT4)), perforacija ili opstrukcija, loše diferentovan tumor, limfovaskularna ili perineuralna invazija, nedovoljan broj pregledanih limfnih čvorova. Nedavne studije su pokazale da su pacijenti sa stadijumom IIB–C bolesti imali bolje ukupno preživljavanje kada su lečeni adjuvantnom hemioterapijom nakon potpune hirurške resekcije (288).

Naši rezultati ukazuju na to da nema statistički značajne razlike u preživljavanju kod pacijenata u II stadijumu bolesti sa i bez primene adjuvantne hemioterapije (Mantel–Cox $p = 0,350$).

Opstrukcija creva se kod pacijenata sa kolorektalnim karcinomom javlja u 8–29% slučajeva (292). U našoj studiji, 28,7% pacijenata je imalo opstrukciju creva, tj. ileus koji se nije pokazao kao negativan prediktor za ukupno preživljavanje i vreme do progresije bolesti kod pacijenata sa mKRK bez KRAS mutacije.

Veza između opstrukcije i ukupnog preživljavanja pacijenata sa KRK ostaje kontroverzna uprkos brojnim studijama. Prema izveštajima iz 1995. godine, dokazano je značajno lošije ukupno preživljavanje kod pacijenata koji su imali opstrukciju u poređenju sa pacijentima bez opstrukcije (293).

Od 26 različitih multivarijantnih analiza, 14 je pokazalo značajno lošiji ishod bolesti kod pacijenata sa opstrukcijom (294–301), dok 12 nije pokazalo značajan efekat (302–304).

Prema rezultatima naše studije, ileus se nije pokazao kao nezavisan prediktor kumulativnog preživljavanja (OS) kod pacijenata sa kolorektalnim karcinomom bez KRAS mutacije.

Postoje podaci da je ukupno preživljavanje kod pacijenata sa KDK kraće nakon pojave recidiva ili metastaza (305).

Lokalizacija primarnog tumora je sve više tema istraživanja, jer su iskustva pokazala da se tumori lokalizovani u levom i desnom delu kolona ne ponašaju na isti način. Dosadašnje studije su dokazale da se tumori lokalizovani u desnom delu kolona javljaju ređe, uglavnom kod žena starije životne dobi, i da imaju lošiju prognozu. Kada govorimo o patohistološkim karakteristikama, češće se javljaju mucinozni tip tumora, tumor izgleda ćelija pečatnog prstena, loše diferentovani tumori, sa većom verovatnoćom metastaziranja u peritoneum. Najčešće nastaju iz seratnih adenoma. Takođe, tumori lokalizovani u desnom delu kolona imaju veću učestalost mikrosatelitske nestabilnosti, CIMP i KRAS, BRAF mutacije (209, 306–308). KLK imaju bolju prognozu, duže ukupno preživljavanje i vreme do progresije bolesti. Češće metastaziraju u jetru, pluća ili, ređe, u kosti (308).

Multivarijantna analiza 1.437.846 pacijenata iz šezdeset šest studija objavljenih između 1995. i 2016. godine pokazuje da je lokalizacija primarnog tumora u distalnom (levom), u odnosu na proksimalni (desni) deo debelog creva, povezana sa boljim preživljavanjem (HR 0,82; CI 95% 0,79–0,84; $p < 0,001$). Osim ishoda, sada su prepoznate razlike u epidemiologiji, patogenezi, genetskim i epigenetskim promenama i molekularnim putevima između tumora lokalizovanih u levom i desnom delu kolona (309).

Rezultati naše studije takođe su pokazali povezanost KDK i lošije prognoze, u smislu kraćeg vremena do progresije bolesti i ukupnog preživljavanja u odnosu na pacijente sa KLK, s tim da u našoj studiji nisu analizirani prediktivni markeri poput MSI i BRAF.

U našoj studiji, kumulativno preživljanje (OS) kod pacijenata sa kolorektalnim karcinomom je na 12 meseci bilo 92,8%, a na 5 godina 22,3%. Prosečno vreme preživljavanja je bilo 41,9 meseci (opseg 6–196), a medijana preživljavanja 37 meseci.

Preživljavanje pacijenata sa KLK je statistički značajno bolje nego kod pacijenata sa KDK (Mantel–Cox $p = 0,005$; Breslow $p = 0,001$). Medijana kumulativnog preživljavanja (OS) za KLK je 43 meseca, a za KDK 33 meseca. Naša studija je pokazala da je lokalizacija primarnog tumora u desnoj polovini kolona povezana sa lošijim preživljavanjem (HR 1,46; CI 95% 1,06–2,01; $p = 0,022$).

Kod pacijenata sa KDK češće se javljao mucinozni tip tumora, dok nije bilo statistički značajne razlike u odnosu na pol i dob u momentu postavljanja dijagnoze.

Statistički značajna razlika primećena je kada govorimo o stepenu diferencijacije tumora. Kod pacijenata sa KDK češće su se javljali loše diferentovani tumori, dok su se kod KKLK češće javljali dobro diferentovani tumori.

Prema podacima iz literature (308), KDK se uglavnom dijagnostikuju u uznapredovalom stadijumu bolesti. To se objašnjava širim lumenom creva i mekšom konzistencijom stolice, što ne izaziva pasažne smetnje, odnosno bolest dugo ostaje asimptomatska. Međutim, prema našim rezultatima, nema statistički značajne razlike u distribuciji stadijuma bolesti u odnosu na lokalizaciju primarnog tumora ($p = 0,283$).

Kod pacijenata sa KDK statistički značajno su češće metastaze u limfnim čvorovima abdomena, grudnog koša, peritoneumu i limfnim čvorovima karlice ($p = 0,036$; $p = 0,062$; $p = 0,091$; $p = 0,115$), što se poklapa sa dostupnim podacima iz literature (209, 308).

Preko 75% opstrukcija debelog creva javlja se na poporečnom delu debelog creva ili distalno od njega, gde je lumen uži. Ileus se najčešće javlja zbog tumora lokalizovanih na sigmoidnom delu kolona (310–313). Prema našim podacima, nije bilo statistički značajne razlike u odnosu na lokalizaciju primarnog tumora i učestalost pojave ileusa.

Što se tiče lokalizacije primarnog tumora debelog creva i učestalosti LVI i PNI, prema našim rezultatima nije bilo statistički značajne razlike ($p = 0,332$).

S druge strane, gust TIL se pokazao kao nezavisni prediktor bolje prognoze što u našoj studiju nije bio slučaj (280, 314–317). Nije bilo ni statistički značajne razlike u distribuciji nalaza na prisustvo limfocitnog infiltrata u odnosu na lokalizaciju primarnog tumora kolona ($p = 0,176$).

Dakle, s obzirom na postojeće dokaze da maligniteti koji potiču iz različitih delova kolona nemaju isto ponašanje, jasno je da su specifični biomarkeri povezani sa desnostrano ili levostrano lokalizovanim primarnim karcinomom debelog creva i da odražavaju različite molekularne karakteristike (154, 169).

Glavne molekularne karakteristike karcinoma distalnog kolona uključuju hromozomsku nestabilnost (CIN), mutacije vezane za CIN put, kao što su APC, SMAD4 i TP53, zajedno sa prekomernom ekspresijom receptora epidermalnog faktora rasta (EGFR) (169).

Koliko god da je raznolik molekularni pejzaž povezan sa levostranim i desnostranim karcinomom debelog creva, ono što igra vodeću ulogu u trenutnoj kliničkoj praksi, služeći kao prognostički ili prediktivni biomarkeri, jesu RAS i BRAF statusi, zajedno sa MSI odnosno dMMR. Ovo je zasnovano na rezultatima brojnih studija, u kojima je potvrđena važnost navedenih molekularnih karakteristika za adekvatan terapijski tretman pacijenata sa mKRK (154, 155).

NRAS mutacije su ređe kod pacijenata sa KRK. Zanimljivo je da su NRAS mutacije kod KRK povezane sa lošijim prognozom nego KRAS mutacije (152).

Ipak, primećeno je da manje od polovine pacijenata sa nemutiranim (wt) statusom RAS ne reaguje na anti-EGFR (169). Jedan od mogućih razloga rezistencije je i BRAF mutacija, koja predstavlja i prognostički i prediktivni marker. Pacijenti sa mKRK kod kojih je detektovana BRAF mutacija imaju lošiju prognozu i kraće ukupno preživljavanje. Prediktivni značaj BRAF mutacije podrazumeva nereagovanje na terapiju anti-EGFR at (155, 156).

S obzirom da u ovoj studiji nisu određivani NRAS i BRAF statusi, ne možemo sa sigurnošću da tvrdimo šta je uticalo na ovakav rezultat. Činjenica je da je kod naših pacijenata sa KDK kraće vreme do progresije bolesti i u drugoj i u trećoj liniji sistemskog lečenja.

Neuspeh anti-EGFR terapije može biti posledica nekog oblika primarne ili sekundarne rezistencije. Mehanizmi koji leže u osnovi primarnih oblika rezistencije uključuju pojačanje MET i HER2 ekspresije, fosfatidilinozimid-3-kinaze (PIK3CA), FGFR1 i PDGFRA mutacije, nisku ekspresiju EGFR i gubitak PTEN funkcije. Sekundarna rezistencija je povezana sa evolucijom otpornih klonova izazvanih anti-EGFR selektivnom blokadom (146).

Objedinjene retrospektivne analize utvrđuju prediktivnu i prognostičku vrednost lokalizacije primarnog tumora u lečenju pacijenata anti-EGFR antitelima, cetuksimabom i panitumumabom. U retrospektivnoj analizi nekoliko studija (CRISTAL, FIRE-3, PEAK, PRIME, 181 i CALGB 80405) u kojima je istraživanje rađeno na različitim populacijama, kontrolnim grupama, tretmanima, itd. analizirano je 5.760 pacijenata. Kod oko 38% pacijenata lokalizacija primarnog tumora se pokazala kao bitan prognostički i prediktivni faktor. Kod pacijenata sa KDK ishodi su bili lošiji, bez obzira na primenjen

tretman. Primena anti-EGFR terapije je poboljšala ishode lečenja kod pacijenata sa RAS nemutiranim tipom tumora lokalizovanog na levoj strani kolona (167, 192).

Na osnovu navedenog, izbor prve linije sistemske terapije kod pacijenata sa mKRK trebalo bi da bude u skladu sa molekularnim karakteristikama tumora (pored preferencija pacijenata, komorbiditeta, opšteg stanja) ali i sa lokalizacijom primarnog tumora (11, 318).

U Srbiji, prema smernicama Republičkog fonda za zdravstveno osiguranje, primena anti-EGFR antitela je odobrena u trećoj liniji lečenja pacijenata sa metastatskim RAS nemutiranim tipom tumora, ili u prvoj liniji lečenja za pacijente sa potencijalno resektabilnim promenama u jetri, ali uz ograničen broj ciklusa (osam). Iz tog razloga, najveći broj pacijenata je primio navedenu terapiju u trećoj liniji (87,1% kod levih i 90,0% kod desnih lokalizacija). Nije bilo statistički značajne razlike u odnosu na lokalizaciju primarnog tumora ($p = 0,162$).

KLK bolje reaguju na hemioterapiju u kombinaciji sa anti-EGFR, nego samo na hemioterapiju ili na hemioterapiju u kombinaciji sa anti-VEGF antitelima, dok tumori lokalizovani u desnom delu kolona izgleda nisu imali koristi od upotrebe inhibitora EGFR u kombinaciji sa hemioterapijom u odnosu na samo hemioterapijski režim.

Rezultati naše studije ukazuju na to da je kumulativno preživljavanje bez progresije bolesti na anti-EGFR terapiju (PFS) kod pacijenata sa mKRK do 12 meseci bilo 13,8%, a do 24 meseca 4,1%. Prosečno vreme bez progresije bolesti je bilo 6,39 meseci (opseg 5–36), a medijana preživljavanja bez progresije bolesti 5 meseci.

Preživljavanje pacijenata bez progresije (PFS) sa lokalizacijom karcinoma kolona na levoj strani je statistički značajno bolje nego kod pacijenata sa karcinomom na desnoj strani (Mantel–Cox $p < 0,001$; Breslow $p < 0,001$). Medijana kumulativnog preživljavanja bez progresije bolesti (PFS) za tumore lokalizovane u levoj polovini kolona je 6 meseci, a kod tumora lokalizovanih u desnom kolonu 3 meseca.

Naša studija je pokazala da je lokalizacija primarnog tumora na desnoj strani kolona povezana sa kraćim vremenom do progresije bolesti (PFS) ($p = 0,004$; HR 1,60; CI 95% 1,16–2,21). Lokalizacija primarnog tumora bi indirektno mogla da bude odgovorna za mehanizme rezistencije na anti-EGFR terapiju.

Prema NCCN preporukama, primena anti-EGFR antitela se preporučuje u prvoj liniji lečenja kod pacijenata sa KLK, dok se u drugoj i trećoj liniji daje bez obzira na lokalizaciju primarnog tumora (250).

Kada je primena bevacizumaba u pitanju, lokalizacija primarnog tumora ima prognostički, ali ne i prediktivni značaj. Analizom dve randomizovane prospektivne studije, u kojima su pacijenti primali hemioterapiju uz biološki lek bevacizumab, nije dokazana statistička značajnost u PFS i OS kod tumora LKK i DKK (193, 194).

U našoj studiji nije analiziran efekat bevacizumaba.

Tumori lokalizovani u levom i desnom delu kolona se razlikuju, između ostalog, i po preživljavanju po stadijumima.

Pojedine studije navode da pacijenti sa KDK imaju bolju prognozu u drugom i trećem stadijumu u odnosu na pacijente sa KLK, za razliku od četvrtog stadijuma bolesti gde pacijenti sa KDK imaju lošiju prognozu, kraći PFS i OS. To je dokazano analizom tri studije, na 2.027 pacijenata koji su primali hemioterapiju u prvoj liniji lečenja i imali bolji OS i PFS (195, 318–321).

Takođe, pacijenti sa KLK koji su primili adjuvantnu terapiju u trećem stadijumu bolesti imali su lošiju prognozu u odnosu na pacijente sa KDK koji su primili adjuvantnu hemioterapiju u istom stadijumu bolesti (322).

Prema rezultatima naše studije, KLK imaju bolju prognozu u trećem stadijumu. U grupi pacijenata sa KLK koji su dijagnostikovani u trećem stadijumu bolesti ($n = 39$), ukupno preživljavanje je bolje u odnosu na pacijente u istom stadijumu bolesti sa KDK ($n = 35$), ali razlika nije statistički značajna (Mantel–Cox $p = 0,145$; Breslow $p = 0,111$).

Takođe, u grupi pacijenata sa KLK u trećem stadijumu bolesti koji su primili adjuvantnu hemioterapiju ($n = 33$), preživljavanje je bolje nego kod pacijenata sa istim stadijumom bolesti i KDK ($n = 27$), ali razlika nije statistički značajna (Mantel–Cox $p = 0,234$; Breslow $p = 0,101$).

U nekoliko randomizovanih kliničkih studija dokazana je statistički značajna razlika u ukupnom preživljavanju i vremenu do progresije bolesti kod pacijenata sa KLK i KDK. Pacijenti sa primarnim tumorom lokalizovanim u levom delu kolona imali su duže vreme do progresije bolesti i duže ukupno preživljavanje (HR 0,28; 95% CI 0,18–0,45) u

odnosu na pacijente sa primarnim tumorom lokalizovanim u desnom delu kolona (203, 323, 324).

Naši rezultati takođe govore u prilog gore navedenom. Preživljavanje pacijenata sa KKK je statistički značajno bolje nego kod pacijenata sa KDK (Mantel–Cox $p = 0,005$; Breslow $p = 0,001$). Medijana kumulativnog preživljavanja (OS) za pacijente sa primarnim tumorom lokalizovanim u levom delu kolona je 43 meseca, dok je kod pacijenata sa lokalizacijom u desnom delu kolona 33 meseca.

S obzirom na navedeno, postoji potreba za identifikacijom pouzdanijih biomarkera za selekciju pacijenata sa KKK koji će imati koristi od pomenute terapije (155).

Kako su istraživanja pokazala da ni određeni procenat RAS/RAF nemutiranih tumora ne reaguje na terapiju anti-EGFR antitelima, što je posledica različitih inherentnih i stečenih mehanizama rezistencije, ukazala se potreba za identifikacijom dodatnih prediktivnih biomarkera, kao ključnim korakom u definisanju profila tumora koji bi imao koristi od terapije anti-EGFR antitelima (179).

Kao jedan takav biomarker prepoznata je prekomerna ekspresija HER2 receptora kod pacijenata sa mKCC.

HER2 humani epidermalni receptor, član iste porodice kao i EGFR, uspešno se blokira u lečenju karcinoma dojke i predstavlja kako prognostički, tako i prediktivni biomaker u lečenju ovih pacijenata. Za razliku od karcinoma dojke, gde je ekspresija HER2 receptora izražena u oko 30% slučajeva, kod KCC postoje različiti podaci. Nekoliko studija navodi da svega 3% pacijenata sa KCC ima ekspresiju HER2 receptora, s tim što je prevalenca veća kod RAS/BRAF nemutiranih tumora jer oni pojačavaju HER2 amplifikaciju koja se kreće se u opsegu 5–14% slučajeva (175, 179, 326–328). Nekoliko studija je prijavilo rezultate prekomerne ekspresije HER2/neu receptora kod KCC u opsegu 2–11% zatim 2–9,5% i 5% u KRAS nemutiranom tipu ili KRAS/BRAF nemutiranom tipu tumora (329, 330). Novije studije pokazuju da prekomerna ekspresija HER2 čini približno 2% svih KCC, povećavajući se do 5% u III ili IV stadijumu kod KRAS nemutiranog tipa tumora (329–340).

U studiji Richmana i saradnika, ekspresija HER2 receptora bila je zastupljena kod samo 1,3% pacijenata u II–III stadijumu i 2,2% pacijenata u IV stadijumu. Iako u malom procentu, i dalje je reč o značajnom broju pacijenata sa ovom bolešću (329).

Prekomerna ekspresija HER2 receptora kod KRK je prisutna kod malog broja pacijenata, ali je značajna jer utiče na progresiju karcinoma dovodeći do povećane proliferativne aktivnosti tumorskih ćelija i povećane sklonosti ka metastaziranju (341).

Brojni faktori mogu objasniti ovako različite stope ekspresije, uključujući male populacije iz studija, različita antitela za imunohistohemiju (IHC), analizu različitih podgrupa pacijenata sa heterogenim kliničko-patološkim karakteristikama KRK i primenu različitih sistema bodovanja (342).

U našoj studiji zabeležen je nizak procenat prekomerne ekspresije HER2 receptora kod pacijenata sa mKRK, svega 2,21% (4/181). Iako je broj pozitivnih slučajeva mali, naši rezultati se poklapaju sa rezultatima iz dostupne literature (329, 330).

Ovako niska pozitivnost može biti posledica starosti bioloških uzoraka, pri čemu starost tkiva direktno utiče na imunohistohemijsku analizu, jer degradacija tkiva rezultira odsustvom reakcije na primenjena imunohistohemijska antitela, pa i na HER2. Drugi razlog je preanalitičke prirode. U standardizovanim laboratorijama se koristi fiksativ koji je puferizovani desetopostotni formalin. Do pre nekoliko godina, u većini laboratorija u sekundarnim centrima u Vojvodini, biološki materijal je umesto u formalinu fiksiran u alkoholu, što takođe rezultira delimičnim ili potpunim odsustvom IHH bojenja.

Amplifikacija gena HER2 (poznatog i kao ERBB2) ispitivana je u kontekstu rezistencije na anti-EGFR antitela u pretkliničkim studijama u mKRK. Mehanizam rezistencije na anti-EGFR antitela uključuje mutacije u KRAS, NRAS i PI3KCA i gubitak PTEN (334, 343–345), odnosno bajpas aktivaciju RAS-MEK-ERK signalnog puta, čime se smanjuje efekat EGFR blokade. Takođe, dokazano je i da pacijenti sa BRAF mutacijama, posebno onim V600E, ne reaguju na anti-EGFR antitela (346). Amplifikacija receptora epidermalnog faktora rasta 2 (HER2) je takođe identifikovana kao medijator bajpas signalizacije, a samim tim i rezistencije, kod pacijenata koji ne reaguju na anti-EGFR antitela (347–349).

Klinički značaj i terapijski potencijal amplifikacije HER2 je dobro utvrđen kod karcinoma dojke i želuca, što se ne može reći i za mKRK. Jedan od bitnih razloga za to je

nizak procenat zastupljenosti kod KRK. Mali broj retrospektivnih studija ukazuje na to da je povećana HER2 ekspresija povezana sa kraćim preživljavanjem pacijenata koji su tretirani anti-EGFR antitelima (329, 343, 346).

Takođe, pojedine studije su analizirale i prekomernu ekspresiju HER2 receptora u odnosu na lokalizaciju primarnog tumora (203, 348–351). Rezultati PETACC-3 studije ukazuju na veću verovatnoću da će ekspresija HER2 receptora biti veća kod tumora lokalizovanih u levom delu kolona (348).

Slični rezultati dobijeni su i kod pacijenata sa uznapredovalim KRK. Retrospektivnom analizom utvrđena je veća učestalost prekomerne HER2 ekspresije kod karcinoma rektuma u poređenju sa karcinomom silaznog ili desnog debelog creva (349). U kliničkoj studiji HERACLES, od 33 pacijenta sa HER2-pozitivnim mCRC, 64% je imalo levostrano lokalizovane tumore i 21% tumore rektuma (175). Kod pacijenata sa visokorizičnim, lokalno uznapredovalim karcinomom rektuma, koji su primali neoadjuvantnu terapiju sa kapecitabinom i oksaliplatinom uz hemioradioterapiju sa ili bez cetuksimaba, retrospektivni podaci iz faze II EKSPERT studije pokazali su prevalencu od 4,3% prekomerne ekspresije/amplifikacije HER2 (51HC/ISH) (352). Ovi nalazi su u skladu sa stopom HER2-pozitivnosti od 5,4% za karcinom rektuma, koju su opisali Marshall i saradnici (349).

U retrospektivnoj analizi dve nezavisne grupe pacijenata sa mKRK nije primećena značajna razlika u ekspresiji HER2 između tumora lokalizovanih u desnom i levom delu kolona (179).

U našoj studiji, iako imamo veoma mali broj HER2-pozitivnih tumora, nije primećena veća učestalost u predelu rektuma.

Kao što je rečeno, mutacije koje aktiviraju prekomernu HER2 ekspresiju kod KRK dovele su do rezistencije na konvencionalne inhibitore EGFR, cetuksimab i panitumumab, koji su standard u lečenju pacijenata sa nemutiranim RAS tipom KRK, održavanjem MAPK (ERK) fosforilacije (353).

Nekoliko studija je analiziralo povezanost HER2 ekspresije i ukupnog preživljavanja kod pacijenata sa KRK. Rezultati su oprečni. Pojedine studije ukazuju da nema razlike u preživljavanju pacijenata sa HER2 pozitivnim i negativnim KRK. Zabeležena je različita zastupljenost HER2 ekspresije (2,5–6%), ali u većini slučajeva su HER2-pozitivni tumori

bili lokalizovani u rektumu (354). Nasuprot tome, u studiji Parka i saradnika, prekomerna ekspresija HER2 receptora kod KRK bila je povezana sa lošijim trogodišnjim (70,8% prema 83,7%) i petogodišnjim preživljavanjem (55,1% naspram 78,3%, $p < 0,05$) (353). Takođe, u studiji Raghava i saradnika, kao i Jeonga i saradnika, PFS se kretao u opsegu od 2,4 do 3,1 meseca kod pacijenata sa RAS/RAF nemutiranim tipom tumora (179, 355). Prema rezultatima naše studije, kumulativno preživljavanje (OS) kod pacijenata sa HER2-pozitivnim nalazom je lošije u odnosu na pacijente sa HER-negativnim nalazom, ali zbog izuzetno malog broja pacijenata sa HER2-pozitivnim nalazom nije dobijena statistički značajna razlika ($p = 0,339$). Kumulativno preživljavanje bez progresije bolesti (PFS) kod pacijenta sa HER2-pozitivnim nalazom je statistički značajno lošije ($p < 0,001$) u odnosu na pacijente sa HER-negativnim nalazom (i pored izuzetno malog broja pacijenata sa HER2-pozitivnim nalazom).

S obzirom na nisku pozitivnost, sve više studija analizira pacijente sa niskom HER2 ekspresijom, tj. tumore kod kojih postoji HER2 2+ pozitivnost sa negativnim FISH nalazom, ili HER2 1+. Dokazano je da pacijenti sa niskom ekspresijom HER2 receptora imaju bolju prognozu od HER2-pozitivnih, i slično se ponašaju kao i HER2-negativni, tako da se izdvajaju kao posebna podgrupa pacijenata (356).

Rezultati Lou i saradnika pokazuju da prekomerna ekspresija HER2 korelira sa dubinom invazije tumora, metastazama u limfnim čvorovima, udaljenim metastazama, perivaskularnom i perineuralnom invazijom (357).

Sa evolucijom našeg razumevanja razvoja KRK i njegovog genomskog profila, terapijske strategije moraju biti modernizovane kako bi se omogućilo bolje preživljavanje pacijenata sa ovom bolešću.

Kao što je napomenuto, HER2 ciljana terapija za HER2-pozitivne karcinome dojke i želuca poboljšala je kliničke ishode lečenja u poslednje dve decenije (358, 359).

Uprkos obećavajućim rezultatima ispitivanja u ranoj fazi, ciljana anti-HER2 terapija u lečenju uznapredovalog KRK ostaje predmet daljih istraživanja.

Ciljana anti-HER2 terapija predstavlja dodatnu, ali vrednu terapijsku strategiju za ograničenu podgrupu pacijenata (oko 5%) sa mKRK otpornim na hemioterapijske agense i lekove koji ciljaju anti-EGFR, kao što su cetuksimab i panitumumab. Kada se govori o primeni anti-HER2 terapije, studije su pokazale superiornost u korist dvostruke HER2

blokade. U stvari, očekuje se veća stopa odgovora sa inhibicijom i ekstracelularnih i intracelularnih HER2 domena na malignoj ćeliji.

U toku su studije faze II/IIa koje ispituju efikasnost anti-HER2 terapije kao dualne blokade kod pretretiranih pacijenata sa mKRK, bez RAS i BRAF mutacije, i za sada daju obećavajuće rezultate (175, 243, 360).

Prema američkim vodičima (NCCN) za lečenje mKRK, anti-HER2 terapija se preporučuje kod pretretiranih pacijenata, sa dokazanom prekomernom ekspresijom HER2 receptora, kod RAS/RAF nemutiranih tumora, ali FDA nije odobrio primenu anti-HER2 terapije za ovu indikaciju (175, 250).

Pre nego što ovi lekovi uđu u svakodnevnu kliničku praksu, potrebno je sačekati rezultate svih tekućih kliničkih studija i njihovu analizu.

Ovim radom želeli smo da istaknemo važnost lokalizacije primarnog tumora u lečenju mKRK, jer je svakako krajnji cilj poboljšanje efikasnosti tretmana ali bez povećanja toksičnosti. Na taj način, selektujemo pacijente koji nemaju koristi od određenih terapijskih tretmana i, samim tim, smanjujemo ne samo potencijalnu toksičnost terapije već i troškove lečenja.

Određivanje prognostičkih i prediktivnih faktora ima veliku ulogu u strategiji lečenja metastatskog kolorektalnog karcinoma. KRK je heterogena bolest sa različitim molekularnim karakteristikama, stoga je jako bitna individualizacija i personalizacija terapije. U okviru ovog istraživanja želeli smo da istaknemo da izbor terapijskih protokola zavisi od brojnih kliničkih, patohistoloških, kao i molekularnih prediktivnih parametara. Pacijenti sa nemutiranim tipom tumora (*All RAS wt*), pogodni su za primenu ciljane terapije monoklonskim antitelima za EGFR. Međutim, unutar grupe pacijenata sa *all RAS* nemutiranim genom, postoji podgrupa koja ipak neće odreagovati na primenjenu terapiju. To su pacijenti koji imaju mutaciju BRAF gena.

Zbog toga je danas standard da se radi takozvano sveukupno *All RAS/RAF* testiranje koje podrazumeva određivanje KRAS, NRAS i BRAF statusa.

Prema evropskim vodičima za lečenje onkoloških bolesnika, lokalizacija primarnog tumora kod pacijenata sa mKRK ne utiče na izbor terapijskih opcija u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Upravo iz tog razloga, na osnovu studija koje govore u prilog značajnosti lokalizacije primarnog tumora, kao i na osnovu rezultata iz naše studije,

ističemo značaj lokalizacije primarnog tumora kao prognostičkog i prediktivnog faktora, jer utiče na modalitet lečenja pacijenata sa mKRK.

Do sada nedovoljan broj studija ukazuje na to da pacijenti koju su KRAS nemutirani a HER2-pozitivni ipak neće reagovati na terapiju sa mAt na EGFR. Ovo nameće potrebu daljeg ispitivanja prediktivnog značaja ekspresije HER2 u tumorskom tkivu KRK. Iz tih razloga, u okviru doktorske disertacije, želeli smo da utvrdimo da li i kakav prediktivni značaj ima prisustvo HER2 receptora u našoj grupi pacijenata. Ovaj podatak je bitan ne samo za pravilnu selekciju pacijenata, već i sa ekonomskog stanovišta.

HER2 amplifikacije predviđaju nedostatak odgovora na terapiju anti-EGFR at kod pacijenata sa mKRK. Rana integracija HER2 testiranja za pacijente sa mKRK bez RAS/BRAF mutacije može poslužiti kao informacija koja će ukazati na rizike i prednosti terapije anti-EGFR antitelima, dodajući viši stepen personalizacije terapiji u ovoj podskupini pacijenata sa mKRK. Ove pacijente je potrebno identifikovati rano u toku lečenja i, kada je moguće, uputiti na klinička ispitivanja pre izlaganja anti-EGFR terapiji. Iako smo u našoj studiji potvrdili nizak procenat HER2 pozitivnosti, ne smemo to zanemariti, jer svaki pacijent zaslužuje tretman od kojeg će imati najveću korist.

S obzirom na veliku varijabilnost kliničkih ishoda i odgovora na lečenje pacijenata sa KRK, jasno je da postoji potreba da se identifikuju novi molekularni biomarkeri, koji bi omogućili što precizniju personalizaciju i individualizaciju u lečenju. Potrebne su veće prospektivne randomizovane kontrolisane studije kako bi se ustanovili dodatni prognostički i prediktivni parametri kod pacijenata sa KRK.

Sav trud ulaže se u pravcu produženja života onkoloških pacijenata, ali jako bitan segment je i sam kvalitet života. Zato je bitno što detaljnije upoznati profil tumora i spram tih saznanja lečiti pacijente.

6. ZAKLJUČCI

Na osnovu dobijenih rezultata i u odnosu na postavljene ciljeve istraživanja, mogu se izvesti sledeći zaključci:

1. Kraće vreme do progresije bolesti, tj. kraća medijana vremena do progresije bolesti kod pacijenata sa primarnim KRK bez KRAS mutacija lokalizovanim u desnom delu kolona ukazuje na to je da lokalizacija primarnog tumora bitan prognostički i prediktivni faktor.
2. Kraće ukupno preživljavanje, tj. kraća medijana ukupnog preživljavanja kod pacijenata sa primarnim KRK bez KRAS mutacija lokalizovanim u desnom delu kolona ukazuje na to je da lokalizacija primarnog tumora bitan prognostički i prediktivni faktor.
3. Lokalizacija primarnog tumora nije povezana sa svim navedenim patohistološkim parametrima nepovoljne prognoze. Mucinozni adenokarcinom i niži stepen diferencijacije (gradus 3) češći su kod tumora lokalizovanih u desnom delu kolona.

4. S obzirom na broj HER2-pozitivnih pacijenata, nije dokazana korelacija, tj. povezanost parametara nepovoljne prognoze kod pacijenata sa mKRK bez KRAS mutacije i prekomerne ekspresije HER2 receptora.
5. Kumulativno preživljavanje bez progresije bolesti (PFS) i ukupno preživljavanje (OS) kod pacijenata sa primarnim KRK bez KRAS mutacija sa HER2-pozitivnim nalazom je lošije u odnosu na pacijente sa HER2-negativnim nalazom, što ukazuje na to da je prekomerna ekspresija HER2 receptora bitan prognostički i prediktivni faktor kod pacijenata sa mKRK.
6. Kao nezavisni prediktori kumulativnog preživljavanja (OS) kod pacijenata sa kolorektalnim karcinomom pokazali su se mucinozni adenokarcinom, prisustvo perineuralne invazije, prisutnost tumora na resekcionom rubu (R1 i paliјativne operacije), ali i desna lokalizacija primarnog tumora, što potvrđuje značaj lokalizacije primarnog tumora kao prognostičkog i prediktivnog faktora.
7. Kao nezavisni prediktori kumulativnog preživljavanja bez progresije bolesti (PFS) kod pacijenata sa kolorektalnim karcinomom pokazali su se mucinozni adenokarcinom i desna lokalizacija, što nam takođe potvrđuje značaj lokalizacije primarnog tumora kao prediktivnog faktora.

7. LITERATURA

1. Sung H, Ferlay J, Siegel LR, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *Ca Cancer J Clin.* 2021;71(3):209–49.
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel LR, Torre AL, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6): 394–424.
3. Siegel RL, Ward EM, Jemal A. Trends in colorectal cancer incidence rates in the United States by tumor location and stage, 1992–2008. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2012;21:411–6.
4. Keum N, Giovannucci E. Global burden of colorectal cancer: emerging trends, risk factors and prevention strategies. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2019;16:713–32.
5. Arnold M, Sierra MS, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. *Gut.* 2017;66:683–91.
6. Meester RGS, Chyke A, Doubeni AC, Lansdorp-Vogelaar I, Goede SL, Levin RT, et al. Colorectal cancer deaths attributable to nonuse of screening in the United States. *Ann Epidemiol.* 2015;25(3):208–13.

7. Hughes AEL, Simons CJM, Van den Brandt AP, Van Engeland M, Matty P, Weijenberg PM, Hughes LAE et al. Lifestyle, Diet, and Colorectal Cancer Risk According to (Epi)genetic Instability: Current Evidence and Future Directions of Molecular Pathological Epidemiology. *Curr Colorectal Cancer Rep.* 2017;13:455–69.
8. Schlesinger S, Lieb W, Koch M, Fedirko V, Dahm CC, Pischon T, et al. Body weight gain and risk of colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Obes Rev.* 2015;16:607–19.
9. Seer.cancer.gov [homepage on the Internet]. Bethesda: National Cancer Institute, Surveillance, Epidemiology, and End Results Program [cited 2021 Jan 19]. Available from: <https://seer.cancer.gov/>
10. Miljuš D, Živković Perišić S, Božić Z, urednici. Maligni tumori u Republici Srbiji [monografija na Internetu]. Beograd: Institut za javno zdravlje Srbije "Dr Milan Jovanović Batut", 2020 [citirano 2021 Jan 10]. Dostupno na: <https://www.batut.org.rs/download/publikacije/MaligniTumori2018.pdf>
11. Quintero E, Carrillo M, Leoz M-L, Cubiella J, Gargallo C, Lanas A, et al. Risk of advanced neoplasia in first-degree relatives with colorectal cancer: a large multicenter cross-sectional study. *PLoS Med.* 2016;13:1002–8.
12. Jemal A, Bray F, Center MM, Feraly J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* 2011;61(2):69–90.
13. Kolligs FT, Crispin A, Munte A, Wagner A, Mansmann U, Göke B. Risk of advanced colorectal neoplasia according to age and gender. *PLoS One.* [Internet] 2011 May [cited 2020 Jan 25];6(5): 20076 [8p] Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0020076>
14. Vuik FE, Nieuwenburg SA, Bardou M, Lansdorp-Vogelaar I, Dinis-Ribeiro M, Bento M, et al. Increasing incidence of colorectal cancer in young adults in Europe over the last 25 years. *Gut.* 2019;68:1820–6.
15. Siegel RL, Fedewa SA, Anderson WF, Miller DK, Ma J, Rosenberg SP, et al. Colorectal cancer incidence patterns in the United States, 1974–2013. *J Natl Cancer Inst.* [Internet] 2017 Feb [cited 2020 Jan 25]; 109(8): djw322 [6p] Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28376186/>

16. El Din KS, Loree MJ, Sayre CE, Gill S, Brown JC, Dau H, et al. Trends in the epidemiology of young-onset colorectal cancer: a worldwide systematic review. *Trends in the epidemiology of young-onset colorectal cancer: a worldwide systematic review*. BMC Cancer. [Internet]. 2020 Apr [cited 2020 Jan 25]; 20: 288 [14p] Available from: <https://bmccancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12885-020-06766-9#citeas>
17. Bailey CE, Hu CY, You YN, Bednarski KB, Rodriguez-Bigas AM, Skibber MJ, et al. Increasing disparities in the age-related incidences of colon and rectal cancers in the United States, 1975–2010. *JAMA Surg*. 2015;150:17–22.
18. Farhood B, Raei B, Ameri H, Shirvani M, Alizadeh A, Najafi M, et al. A review of incidence and mortality of colorectal, lung, liver, thyroid, and bladder cancers in Iran and compared to other countries. *Contemp Oncol*. 2019;23:7–15.
19. American Cancer Society. Colorectal cancer. Causes, risk factors and prevention topics. Available at: <http://www.cancer.org/cancer/colonandrectumcancer/detailedguide/colorectal-cancer-risk-factors> (pristup: 10. april 2019.)
20. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 2014;136(5):359–86.
21. Cai Y, Rattray NJW, Zhang Q, Mironova V, Santos-Neto A, Hsu KS, et al. Sex Differences in Colon Cancer Metabolism Reveal A Novel Subphenotype Scientific Reports [Internet]. 2020 Mar [cited 2020 Jan 25]; 10, 4905 [13p] Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-020-61851-0#citeas>
22. Slattery ML, Potter JD, Curtin K, Edwards S, Ma KN, Anderson K, et al. Estrogens reduce and withdrawal of estrogens increase risk of microsatellite instability-positive colon cancer. *Cancer Res*. 2001;61:126–30.
23. Writing Group for the Women’s Health Initiative Investigators. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women. *JAMA*. 2002;288(3):321–33.
24. The Women’s Health Initiative Randomized Controlled Trial. Effects of conjugated equine estrogen in postmenopausal women with hysterectomy. *JAMA*. 2004;291:1701–12.

25. Giardiello FM, Hyland LM, Trimpath JD, Hamilton SR, Romans KE, Cruz-Correa M, et al. Oral contraceptives and polyp regression in familial adenomatous polyposis. *Gastroenterology*. 2005;128(4):1077–80.
26. Zhang L, Shay JW. Multiple roles of APC and its therapeutic implications in colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* [Internet]. 2017 Aug [cited 2020 Jan 25];109(8):djw332 [10 p.]. Available from:
<https://academic.oup.com/jnci/article/109/8/djw332/3113843?login=true>
27. Leoz ML, Carballal S, Moreira L, Ocana T, Balaguer F. The genetic basis of familial adenomatous polyposis and its implications for clinical practice and risk management. The application of clinical genetics. *Appl Clin Genet*. 2015;8:95–107.
28. Rivera F, Mendoza Y, Medina H. Hereditary colorectal cancer syndromes. *Ann Colorect Res*. 2020;8:157–69.
29. Bertario L, Russo A, Sala P, Varesco L, Giarola M, Mondini P, et al. Multiple approach to the exploration of genotype–phenotype correlations in familial adenomatous polyposis. *J Clin Oncol*. 2003;21(9):1698–707.
30. Vasen HF, Moslein G, Alonso A, Aretz S, Bernstein I, Bertario L, et al. Guidelines for the clinical management of familial adenomatous polyposis (FAP). *Gut*. 2008;57:704–13.
31. Maire F, Hammel P, Terris B, Olschwang S, O’Toole D, Sauvanet A, et al. Intraductal papillary and mucinous pancreatic tumour: a new extracolonic tumour in familial adenomatous polyposis. *Gut*. 2002;51:446–9.
32. Nagorni A. Hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Arch Gastroenterohepatol*. 1996;15:116–22.
33. Vasen HFA, Watson P, Mecklin JP, Lynch HT, ICG-HNPCC. New criteria for hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative on HNPCC. *Gastroenterology*. 1999;116(6):1453–6.
34. Faghani M, Fakhrieh AS, Mansour-Ghanaei F, Aminian K, Tarang A, Seighalani R, et al. The correlation between Microsatellite Instability and the Features of Sporadic Colorectal Cancer in the North Part of Iran. *Gastroenterol Res Pract*. [Internet]. 2012 [cited 2020 Jan 25]; 756263 [6 p.]. Available from:
<https://www.hindawi.com/journals/grp/2012/756263/>

35. Dolatkah R, Somi MH, Bonyadi MJ, Asvadi Kermani I, Farassati F, Dastgiri S. Colorectal cancer in Iran: molecular epidemiology and screening strategies. *J Cancer Epidemiol*. [Internet]. 2015 Jan; [cited 2020 Jan 25]; 643020 [10 p.]. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/jce/2015/643020/>
36. Kawakami H, Zaanan A, Sinicrope FA. Microsatellite instability testing and its role in the management of colorectal cancer. *Curr Treat Options Oncol*. [Internet]. 2015 Jun [cited 2020 Jan 25];16: 30[16 p.]. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11864-015-0348-2#citeas>
37. Biller LH, Syngal S, Yurgelun MB. Recent advances in Lynch syndrome. *Fam Cancer*. 2019;18(2):211–9.
38. Chen E, Xu X, Liu T. Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer and Cancer Syndromes: Recent Basic and Clinical Discoveries. *J Oncol*. [Internet]. 2018 Apr [cited 2020 Jan 25]; 3979135. [11 p.]. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/jo/2018/3979135/>
39. Yilmaz A, Mirili C, Bilici M, Tekin SB. Colorectal cancer in Lynch syndrome associated with PMS2 and MSH6 mutations. *Int J Colorectal Dis*. 2020;35(2):351–3.
40. Syngal S, Brand RE, Church JM, Giardiello MF, Hampel LH, Burt WR, et al. ACG clinical guideline: genetic testing and management of hereditary gastrointestinal cancer syndromes. *Am J Gastroenterol*. 2015;110(2):223–62.
41. Brosens LA, Langeveld D, van Hattem WA, Giardiello MF, Offerhaus GJ, et al. Juvenile polyposis syndrome. *World J Gastroenterol*. 2011;17:4839–44.
42. Latchford AR, Neale K, Phillips RK, Clark K.S. Juvenile polyposis syndrome: A study of genotype, phenotype, and long-term outcome. *Dis Colon Rectum*. 2012;55:1038–43.
43. Dahdaleh FS, Carr JC, Calva D, Howett JR. Juvenile polyposis and other intestinal polyposis syndromes with microdeletions of chromosome 10q22-23. *Clin Genet*. 2012;81:110–6.
44. Wong RF, Burt RW. Colorectal polyps and polyposis. In: Bayless TM, Diehl AM, editors. *Advanced Therapy in Gastrointestinal and Liver Disease*, 5th ed. Philadelphia: BC Decker; 2005. p. 550.

45. Heald B, Mester J, Rybicki L, Orloff MS, Burke CA, Eng C. Frequent gastrointestinal polyps and colorectal adenocarcinomas in a prospective series of PTEN mutation carriers. *Gastroenterology*. 2010;139(6):1927–33.
46. Guinney J, Dienstmann R, Wang X, De Reyniès A, Schlicker A, Soneson C, et al. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med*. 2015;21:1350–6.
47. Guthold R, Stevens GA, Riley ML, Bull CF. Worldwide trends in insufficient physical activity from 2001 to 2016: a pooled analysis of 358 population-based surveys with 1.9 million participants. *Lancet Glob Health*. 2018;6:e1077–e1086.
48. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128.9 million children, adolescents, and adults. *Lancet*. 2017;390:2627–42.
49. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research. Diet, Nutrition, Physical Activity and Cancer: a Global Perspective. Continuous Update Project Expert Report. 2018. Available at: <https://www.wcrf.org/dietandcancer>. (pristup 19. mart 2020.)
50. De Rezende LFM, Lee DH, Keum N, Nimptsch K, Song M, Lee IM, et al. Physical activity during adolescence and risk of colorectal adenoma later in life: results from the Nurses' Health Study II. *Br J Cancer*. 2019;121:86–94.
51. Kohler LN, Harris RB, Oren E, Roe JD, Lance P, Jacobs TE. Adherence to Nutrition and Physical Activity Cancer Prevention Guidelines and Development of Colorectal Adenoma. *Nutrients*. [Internet]. 2018 Aug [cited 2020 Feb 21]; 10(8), 1098 [11 p.]. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6643/10/8/1098>
52. Solans M, Chan DSM, Mitrou P, Norat T, Romaguera D. A systematic review and meta-analysis of the 2007 WCRF/AICR score in relation to cancer health outcomes. *Ann Oncol*. 2020;31:352–68.
53. Ligibel AJ, Alfano MC, Courneya SK, Demark-Wahnefried W, Burger AR, Chlebowski TR, et al. American Society of Clinical Oncology position statement on obesity and cancer. *J Clin Oncol*. 2014;32:3568–74.
54. Cozzo AJ, Fuller AM, Makowski L. Contribution of adipose tissue to development of cancer. *Compr Physiol*. 2017;8:237–82.

55. Martinez-Useros J, Garcia-Foncillas J. Obesity and colorectal cancer: Molecular features of adipose tissue. *J Transl Med.* [Internet]. 2016 Jan; [cited 2020 Feb 21]; 14:21 [12 p.]. Available from:
<https://translational-medicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12967-016-0772-5>
56. Park J, Morley TS, Kim M, Clegg DJ, Scherer PE. Obesity and cancer--mechanisms underlying tumour progression and recurrence. *Nat Rev Endocrinol.* 2014;10:455–65.
57. Conti L, Del Corno M, Gessani S. Revisiting the impact of lifestyle on colorectal cancer risk in a gender perspective. *Crit Rev Oncol Hematol.* [Internet]. 2020 Jan; [cited 2020 Feb 22]; 145:102834 Available from:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1040842819302185?via%3Dihub>
58. Wang L, Lo CH, He X, Hang D, Wang M, Wu K, et al. Risk factor profiles differ for cancers of different regions of the colorectum. *Gastroenterology.* 2020;159:241–56.
59. Santarelli RL, Pierre F, Corpet DE. Processed meat and colorectal cancer: a review of epidemiologic and experimental evidence. *Nutr Cancer.* 2008;60(2):131–44.
60. World Cancer Research Fund; American Institute of Cancer Research. Continuous Update Project Report: Diet, Nutrition, Physical Activity and Colorectal Cancer. 2018. Available online: <https://www.wcrf.org/sites/default/files/Colorectal-cancer-report.pdf> (pristup 3. februar 2020).
61. Hammerling U, Laurila JB, Grafström R, Ilbäck NG. Consumption of red/processed meat and colorectal carcinoma: Possible mechanisms underlying the significant association. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2016;56:614–34.
62. Kühn T, Stepien M, López-Nogueroles M, Damms-Machado A, Sookthai D, Johnson T, et al. Pre-diagnostic plasma bile acid levels and colon cancer risk: A prospective study. *J Natl Cancer Inst.* 2020;112:516–24.
63. Vieira AR, Abar L, Chan D, Vingeliene S, Polemiti E, Stevens C, et al. Foods and beverages and colorectal cancer risk: a systematic review and meta-analysis of cohort studies, an update of the evidence of the WCRF-AICR Continuous Update Project. *Ann Oncol.* 2017;28:1788–802.
64. Johnson CM, Wei C, Ensor JE, Smolenski DJ, Amos CI, Levin B, et al. Meta analyses of Colorectal Cancer Risk Factors. *Cancer Causes Control.* 2013;24(6):1207–22.

65. Tarraga Lopez PJ, Albero JS, Rodriguez-Montes JA. Primary and secondary prevention of colorectal cancer. *Clin Med Insights Gastroenterol*. 2014;7:33–46.
66. Boffeta P, Couto E, Wichmann J, Ferrari P, Trichopoulos D, Bas Bueno-de-Mesquita H, et al. Fruit and vegetables intake and overall cancer risk in the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC). *J Natl Cancer Inst*. 2010;102:529–37.
67. Sasso A, Latella G. Dietary components that counteract the increased risk of colorectal cancer related to red meat consumption. *Int J Food Sci Nutr*. 2018;69:536–48.
68. Fedirko V, Bostick RM, Flanders WD, Long Q, Shaikat A, Rutherford RE, et al. Effects of vitamin D and calcium supplementation on markers of apoptosis in normal colon mucosa: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Cancer Prev Res*. 2009;2:213–23.
69. Manson JE, Cook NR, Lee IM, Christen W, Bassuk SS, Mora S, et al. Vitamin D supplements and prevention of cancer and cardiovascular disease. *N Engl J Med*. 2019;380:33–44.
70. Ekmekcioglu C, Haluza D, Kundi M. 25-Hydroxyvitamin D Status and Risk for Colorectal Cancer and Type 2 Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-Analysis of Epidemiological Studies. *Int J Environ Res Public Health*. [Internet]. 2017 Jan; [cited 2020 Mar 15]; 14(2):127. [26 p.]. Available from: <https://www.mdpi.com/1660-4601/14/2/127>
71. Pais R, Dumitrascu DL. Do antioxidants prevent colorectal cancer? A meta-analysis. *Rom J Intern Med*. 2013;51:152–63.
72. Thompson PA, Ashbeck EL, Roe DJ, Fales L, Buckmeier J, Wang, F, et al. Selenium supplementation for prevention of colorectal adenomas and risk of associated type 2 diabetes. *J Natl Cancer Inst*. [Internet]. 2016 Dec ; [cited 2020 Mar 15]; 108(12):djw152. [10 p.]. Available from: <https://academic.oup.com/jnci/article/108/12/djw152/2706924?login=true>
73. Tu H, Flanders WD, Ahearn TU, Daniel CR, Gonzalez-Feliciano AG, Long Q, et al. Effects of calcium and vitamin D3 on transforming growth factors in rectal mucosa of sporadic colorectal adenoma patients: A randomized controlled trial. *Mol Carcinogen*. 2015;54:270–80.

-
74. Singh N, Gurav A, Sivaprakasam S, Brady E, Padia R, Shi H, et al. Activation of Gpr109a, receptor for niacin and the commensal metabolite butyrate, suppresses colonic inflammation and carcinogenesis. *Immunity*. 2014;40:128–39.
 75. Murphy N, Moreno V, Hughes DJ, Vodicka L, Vodicka P, Aglago EK, et al. Lifestyle and dietary environmental factors in colorectal cancer susceptibility. *Mol Asp Med*. 2019; 69:2–9.
 76. Hur J, Smith-Warner AS, Rimm EB, Willett WC, Wu K, Cao Y, et al. Alcohol intake in early adulthood and risk of colorectal cancer: three large prospective cohort studies of men and women in the United States. *Eur J Epidemiol*. 2021;36:325–33.
 77. Su LF, Arab L. Alcohol consumption and risk of colon cancer: Evidence from the National Health and Nutrition Examination Survey. I. Epidemiologic Follow-up Study. *Nutr Cancer*. 2004;50(2):111–9.
 78. Colangelo LA, Gapstur SM, Gann PH, Dyer AR. Cigarette smoking and colorectal carcinoma mortality in a cohort with long-term follow-up. *Cancer* 2004;100(2):288–93.
 79. O'Byrne KJ, Dalglish AG, Browning MJ, Steward WP, Harris AL. The relationship between angiogenesis and the immune response in carcinogenesis and the progression of malignant disease. *Eur J Cancer*. 2000;36(2):151–69.
 80. Wei PL, Lin SY, Chang YJ. Cigarette smoking and colorectal cancer: From epidemiology to bench. *J Exp Clin Med (Taiwan)*. 2011;3(6):257–61.
 81. Bosetti C, Rosato V, Gallus S, Cuzick J, La Vecchia C. Aspirin and cancer risk: a quantitative review to 2011. *Ann Oncol*. 2012;23:1403–15.
 82. Rothwell PM, Fowkes FG, Belch JF, Ogawa H, Warlow C, Meade TW. Effect of daily aspirin on long-term risk of death due to cancer: analysis of individual patient data from randomised trials. *Lancet*. 2011;377:31–41.
 83. Sonnenberg A, Genta RM. *Helicobacter pylori* is a risk factor for colonic neoplasms. *Am J Gastroenterol*. 2013;108:208–15.
 84. Kostic AD, Gevers D, Pedamallu CS, Michaud M, Duke F, Earl AM, et al. Genomic analysis identifies association of *Fusobacterium* with colorectal carcinoma. *Genome Res*. 2012;22:292–8.
 85. Sekirov I, Russell SL, Antunes LCM, Finlay BB. Gut microbiota in health and disease. *Physiological Rev*. 2010;90:859–904.

86. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011;144:646–74.
87. Itzkowitz SH, Harpaz N. Diagnosis and management of dysplasia in patients with inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*. 2004;126:1634–48.
88. Makki K, Deehan EC, Walter J, Backhed F. The impact of dietary fiber on gut microbiota in host health and disease. *Cell Host Microbe*. 2018;23:705–15.
89. Pothuraju R, Chaudhary S, Rachagani S, Kaur S, Roy HK, Bouvet M, et al. Mucins, gut microbiota, and postbiotics role in colorectal cancer. *Gut Microbes*. [Internet]. 2021 Sept; [cited 2021 Oct 15]; 13:1, 1974795 [17 p.]. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/citedby/10.1080/19490976.2021.1974795?scroll=top&needAccess=true>
90. Bultman SJ. Interplay between diet, gut microbiota, epigenetic events, and colorectal cancer. *Mol Nutr Food Res*. [Internet]. 2017 Jan ;[cited 2021 Oct 15]; 61(1) [12 p.]. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/19490976.2021.1974795?needAccess=true>
91. Pleguezuelos-Manzano C, Puschhof J, Huber AR, van Hoeck A, Wood HM, Nomburg J, et al. Mutational signature in colorectal cancer caused by genotoxic pks (+) *E. coli*. *Nature*. 2020;580:269–73.
92. Yachida S, Mizutani S, Shiroma H, Shiba S, Nakajima T, Sakamoto T, et al. Metagenomic and metabolomic analyses reveal distinct stage-specific phenotypes of the gut microbiota in colorectal cancer. *Nat Med*. 2019;25:968–76.
93. Yan XL, Zhang XB, Ao R, Guan L. Effects of shRNA-mediated silencing of PKM2 gene on aerobic glycolysis, cell migration, cell invasion, and apoptosis in colorectal cancer cells. *J Cell Biochem*. 2017;118(12):4792–803.
94. Gamallat Y, Meyiah A, Kuugbee ED, Hago AM, Chiwala G, Awadasseid A, et al. *Lactobacillus rhamnosus* induced epithelial cell apoptosis, ameliorates inflammation and prevents colon cancer development in an animal model. *Biomed Pharmacother*. 2016;83:536–41.
95. Kuugbee ED, Shang X, Gamallat Y, Bamba D, Awadasseid A, Suliman MA, et al. Structural change in microbiota by a probiotic cocktail enhances the gut barrier and

reduces cancer via tlr2 signaling in a rat model of colon cancer. *Dig Dis Sci.* 2016;61:2908–20.

96. Ma CT, Luo HS, Gao F, Tang QC, Chen W. *Fusobacterium nucleatum* promotes the progression of colorectal cancer by interacting with E-cadherin. *Oncol Lett.* 2018;16:2606–12.

97. Lua X, Heb Y, Kanga Q, Wanga X, Maa X, Liua Y, et al. Discrepant microbiome configurations between hereditary nonpolyposis and sporadic colorectal cancer. *Rev Arg de Clín Psicológ.* 2021;30(2):774–82.

98. Śliżewska K, Markowiak-Kopeć P, Śliżewska W. The Role of Probiotics in Cancer Prevention. *Cancers.* 2021;13(1):20.

99. Ullman TA, Itzkowitz SH. Intestinal inflammation and cancer. *Gastroenterology.* 2011;140:1807–16.

100. Wang R, Leong RW. Primary sclerosing cholangitis as an independent risk factor for colorectal cancer in the context of inflammatory bowel disease: a review of the literature. *World J Gastroenterol.* 2014;20(27):8783–9.

101. Larsen M, Mose H, Gislum M, Skriver MV, Jepsen P, Norgard B, et al. Survival after colorectal cancer in patients with Crohn's disease: A nationwide population-based Danish follow-up study. *Am J Gastroenterol.* 2007;102(1):163–7.

102. Vigneri P, Frasca F, Sciacca L, Pandini G, Vigneri R. Diabetes and Cancer. *Endocr Relat Cancer.* 2009;16(4):1103–23.

103. Leopa N, Dumitru A, Mitroi A, Tocia C, Popescu R. Colorectal cancer in patients with diabetes mellitus. *Rom J Diabetes Nutr Metab Dis.* 2021;28(1):47–53.

104. Sujani M, Kodagoda G, Chenga T, Ting-Wei Lee K, Lakal D, King-Yin A, et al. Hemin, a major heme molecule, induced cellular and genetic alterations in normal colonic and colon cancer cells. *Pathol Res Pract.* [Internet]. 2021 Aug; [cited 2021 Oct 15]; 224:153530 [8 p.]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34243108/>

105. Jass JR, Smith M. Sialic acid and epithelial differentiation in colorectal polyps and cancer: a morphological, mucin and lectin histochemical study. *Pathol.* 1992;24:233–42.

106. Sadanandam A, Lyssiotis CA, Homicsko K, Collisson EA, Gibb WJ, Wullschleger S, et al. A colorectal cancer classification system that associates cellular phenotype and responses to therapy. *Nat Med.* 2013;19: 619–625.

-
107. De Sousa E Melo F, Wang X, Jansen M, Fessler E, Trinh A, de Rooij LPMH, et al. Poor-prognosis colon cancer is defined by a molecularly distinct subtype and develops from serrated precursor lesions. *Nat Med.* 2013;19:614–8.
108. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, Kern SE, Preisinger AC, Leppert M, et al. Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med.* 1988;319:525–32.
109. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell.* 1990;61:759–67.
110. Mäkinen MJ. Colorectal serrated adenocarcinoma. *Histopathology.* 2007;50:131–50.
111. Kambara T, Simms LA, Whitehall VL, Spring K.J, Wynter CV, Walsh MD, et al. BRAF mutation is associated with DNA methylation in serrated polyps and cancers of the colorectum. *Gut.* 2004;53:1137–44.
112. O'Brien MJ, Yang S, Mack C, Huihong X, Huang CS, Mulcahy E, et al. Comparison of microsatellite instability, CpG island methylation phenotype, BRAF and KRAS status in serrated polyps and traditional adenomas indicates separate pathways to distinct colorectal carcinoma end points. *Am J Surg Pathol.* 2006;30:1491–501.
113. Goldman H. Significance and detection of dysplasia in chronic colitis. *Cancer.* 1996;78:2261–3.
114. Nowell PC. Tumor progression: a brief historical perspective. *Semin Cancer Biol.* 2002;12(4):261–6.
115. Varras MN, Koffa M, Koumantakis E, Ergazaki M, Protopapa E, Michalas S, et al. Reagent mutations in human endometrial carcinoma. *Oncology.* 1996;53:505–10.
116. Jass JR. Pathogenesis of colorectal cancer. *Surg Clin North Am.* 2002 Oct; 82(5):891–904.
117. Bolocan A, Ion D, Stoian RV, Serban MB. Maysyndrome (MYH Associated Polyposis) colorectal cancer, etiopathological connections. *J Med Life.* 2011;4(1):109–11.
118. Dinu D, Dobre M, Panaitescu E, Birla R, Iosif C, Hoara P, et al. Prognostic significance of KRAS gene mutations in colorectal cancer—preliminary study. *J Med Life.* 2014;7(4):581–7.

119. Liu B, Nicolaides NC, Markowitz S, Willson JK, Parsons RE, Jen J, et al. Mismatchrepair gene defects in sporadic colorectal cancers with microsatellite instability. *Nat Genet.* 1995;9(1):48–55.
120. Barras D. BRAF Mutation in Colorectal Cancer: An Update. *Biomark Cancer.* 2015;7(1):9–12.
121. Strum WB. Colorectal adenomas. *N Engl J Med.* 2016;374:1065–75.
122. Vleugels JLA, IJspeert JEG, Dekker E. Serrated lesions of the colon and rectum: the role of advanced endoscopic imaging. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2015;29:675–86.
123. Torlakovic E, Snover DC. Serrated adenomatous polyposis in humans. *Gastroenterology.* 1996;110:748–55.
124. Longacre TA, Fenoglio-Preiser CM. Mixed hyperplastic adenomatous polyps/serrated adenomas. A distinct form of colorectal neoplasia. *Am J Surg Pathol.* 1990;1:524–37.
125. Nagtegaal DI, Odze DR, Klimstra D, Paradis V, Rugge M, Schirmacher P, et al. The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system. *Histopathology.* 2020;76(2):182–8.
126. Bettington M, Walker N, Clouston A, Brown I, Leggett B, Whitehallet V. The serrated pathway to colorectal carcinoma: current concepts and challenges *Histopathology.* 2013;62:367–86.
127. Teriaky A, Driman DK, Chande N. Outcomes of a 5-year follow-up of patients with sessile serrated adenomas. *Scand J Gastroenterol.* 2021;47:178–83.
128. Hazewinkel Y, de Wijkerslooth TR, Stoop EM, Bossuyt PM, Biermann K, van de Vijver MJ, et al. Prevalence of serrated polyps and association with synchronous advanced neoplasia in screening colonoscopy. *Endoscopy.* 2014;46:219–24.
129. O’Brien MJ, Yang S, Mack C, Huihong X, Huang CS, Mulcahy E, et al. Comparison of microsatellite instability, CpG island methylation phenotype, BRAF and KRAS status in serrated polyps and traditional adenomas indicates separate pathways to distinct colorectal carcinoma end points. *Am J Surg Pathol.* 2006;30:1491–501.
130. Jass JR. Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical, morphological and molecular features. *Histopathology.* 2007;50:113–30.

131. Yachida S, Mudali S, Martin SA, Montgomery E.A, Iacobuzio-Donahue CA. Beta-catenin nuclear labeling is a common feature of sessile serrated adenomas and correlates with early neoplastic progression after BRAF activation. *Am J Surg Pathol.* 2009;33:1823–32.
132. Martin ES, Tonon G, Sinha R, Xiao Y, Feng B, Kimmelman AC, et al. Common and distinct genomic events in sporadic colorectal cancer and diverse cancer types. *Cancer Res.* 2007;67(22):10736–43.
133. Souglakos J. Genetic alterations in sporadic and hereditary colorectal cancer: Implementations for screening and follow-up. *Dig Dis.* 2007;25(1):9–19.
134. Hisada H, Takahashi Y, Kubota M, Shimura H, Itobayashi E, Shimura K, et al. Clinical and therapeutic features and prognostic factors of metastatic colorectal cancer over age 80: a retrospective study. *BMC Gastroenterology.* [Internet]. 2021 May [cited 2021 May 25]; 21, 199 [9 p.]. Available from: <https://bmcgastroenterol.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s12876-021-01791-9.pdf>
135. Yamaguchi T, Taniguchi H, Fujita S, Sekine S, Yamamoto S, Akasu T, et al. Clinicopathological characteristics and prognostic factors of advanced colorectal mucinous adenocarcinoma. *Histopathology.* 2012;61:162–9.
136. Atreya I, Neurath MF. Immune cells in colorectal cancer: Prognostic relevance and therapeutic strategies. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2008;8:561–72.
137. Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, Sanchez-Cabo F, Kirilovsky A, Mlecnik B, et al. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science.* 2006;313:1960–4.
138. Tedesco KL, Lockhart AC, Berlin JD. The epidermal growth factor receptor as a target for gastrointestinal cancer therapy. *Curr Treat Options Oncol.* 2004;5:393–403.
139. Spano JP, Milano G, Vignot S, Khayat D. Potential predictive markers of response to EGFR-targeted therapies in colorectal cancer. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2008;66:21–30.
140. Palles C, Cazier JB, Howarth KM, Domingo E, Jones AM, Broderick P, et al; WGS500 Consortium. Germline mutations affecting the proofreading domains of POLE and POLD1 predispose to colorectal adenomas and carcinomas. *Nat Genet.* 2013;45:136–44.

-
141. Downward J. Targeting RAS signalling pathways in cancer therapy. *Nat Rev Cancer*. 2003;3:11–22.
142. Petrelli F, Coinu A, Cabiddu M, Ghilardi M, Barni S. KRAS as prognostic biomarker in metastatic colorectal cancer patients treated with bevacizumab: A pooled analysis of 12 published trials. *Med Oncol*. 2013;30(3):4–11.
143. Conlin A, Smith G, Carey FA, Wolf CR, Steele RJC. The prognostic significance of K-ras, p53, and APC mutations in colorectal carcinoma. *Gut*. 2005;54(9):1283–6.
144. Linardou H, Briasoulis E, Dahabreh IJ, Mountzios G, Papadimitriou C, Papadopoulos S, et al. All about KRAS for clinical oncology practice: gene profile, clinical implications and laboratory recommendations for somatic mutational testing in colorectal cancer. *Cancer Treat Rev*. 2011;37(3):221–33.
145. Gong J, Cho M, Sy M, Salgia R, Fakhri M. Molecular profiling of metastatic colorectal tumors using next-generation sequencing: a single-institution experience. *Oncotarget*. 2017;(26):42198–213.
146. Bertotti A, Papp E, Jones S, Adleff V, Anagnostou V, Lupo B, et al. The genomic landscape of response to EGFR blockade in colorectal cancer. *Nature*. 2015;526(7572):263–7.
147. Siravegna G, Mussolin B, Buscarino M, Corti G, Cassingena A, Crisafulli G, et al. Clonal evolution and resistance to EGFR blockade in the blood of colorectal cancer patients. *Nat Med*. 2015;21:795–801.
148. Yoon HH, Tougeron D, Shi Q, Alberts SR, Mahoney MR, Nelson GD, et al. KRAS codon 12 and 13 mutations in relation to disease-free survival in BRAF-wild-type stage III colon cancers from an adjuvant chemotherapy trial (N0147 alliance). *Clin Cancer Res*. 2014;20(11):3033–43.
149. Li W, Zhu T, Guan KL. Transformation potential of Ras isoforms correlates with activation of phosphatidylinositol 3-kinase but not ERK. *J Biol Chem*. 2004;279(36):37398–406.
150. Ebi H, Corcoran RB, Singh A, Chen Z, Song Y, Lifshits E, et al. Receptor tyrosine kinases exert dominant control over PI3K signaling in human KRAS mutant colorectal cancers. *J Clin Invest*. 2011;121(11):4311–21.

151. Sepulveda AR, Hamilton SR, Allegra CJ, Grody W, Cushman-Vokoun AM, Funkhouser WK, et al. Molecular Biomarkers for the Evaluation of Colorectal Cancer: Guideline Summary From the American Society for Clinical Pathology, College of American Pathologists, Association for Molecular Pathology, and American Society of Clinical Oncology. *J Oncol Pract*. 2017;13(5):333–7.
152. Wang Y, Loree JM, Yu C, Tschautscher M, Briggler AM, Overman MJ, et al. Distinct impacts of KRAS, NRAS and BRAF mutations on survival of patients with metastatic colorectal cancer. *JCO*. 2018;36(15):3513–3513.
153. Sjoquist KM, Renfro LA, Simes RJ, Tebbutt NC, Clarke S, Seymour MT, et al. Personalizing survival predictions in advanced colorectal cancer: the ARCAD nomogram project. *J Natl Cancer Inst*. 2018;110(6):638–48.
154. Schirripa M, Cohen SA, Battaglin F, Lenz HJ. Biomarker-driven and molecular targeted therapies for colorectal cancers. *Semin Oncol*. 2018;45(3):124–32.
155. Davis AA, Cristofanilli M. Detection of Predictive Biomarkers Using Liquid Biopsies. *Am J Manag Care*. 2018;24:107–17.
156. Van Cutsem E, Cervantes A, Adam R, Sobrero A, Van Krieken JH, Aderka D, et al. ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol*. 2016;27(8):1386–422.
157. Clarke CN, Kopetz ES. BRAF mutant colorectal cancer as a distinct subset of colorectal cancer: Clinical characteristics, clinical behavior, and response to targeted therapies. *J. Gastrointest Oncol*. 2015;6:660–7.
158. Lee EJ, Choi C, Park CK, Maeng L, Lee J, Lee A, et al. Tracing origin of serrated adenomas with BRAF and KRAS mutations. *Virchows Arch*. 2005;447:597–602.
159. Pikoulis E, Margonis GA, Andreatos N, Sasaki K, Angelou A, Polychronidis G, et al. Prognostic role of BRAF mutations in colorectal cancer liver metastases. *Anticancer Res*. 2016;36:4805–11.
160. Gray-Schopfer V, Wellbrock C, Marias R. Melanoma biology and new targeted therapy. *Nature*. 2007;445(7130):851–7.
161. Vakiani E, Solit DB. KRAS and BRAF: drug targets and predictive biomarkers. *J Pathol*. 2011;223(2):219–29.

162. Wan PTC, Garnett MJ, Roe SM, Lee S, Niculescu-Duvaz D, Good VM, et al; Cancer Genome Project. Mechanism of Activation of the RAF-ERK Signaling Pathway by Oncogenic Mutations of B-RAF. *Cell*. 2004;116(6):855–67.
163. Chapman PB, Hauschild A, Robert C, Larkin JMG, Haanen JBAG, Ribas A, et al. Update overall survival (OS) results BRIM-3, phase III randomized, open label, multicenter trial comparing BRAF inhibitor vemurafenib (vem) with dacarbazine (DTIC) in previously untreated patients with BRAF V600E- mutated melanoma. *J Clin Oncol*. 2012;30(15):8502-8502.
164. Pratilas CA, Xing F, Solit DB. Targeting oncogenic BRAF in human cancer. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2012;355:83–98.
165. Boussios S, Ozturk MA, Moschetta M, Karathanasi A, Zakynthinakis-Kyriakou N, Katsanos KH, et al. The Developing Story of Predictive Biomarkers in Colorectal Cancer. *J Pers Med*. [Internet]. 2019 Feb [cited 2021 Jun 8]; 9(1), 12 [23 p.]. Available from: <https://www.mdpi.com/2075-4426/9/1/12>
166. Sinicrope FA, Shi Q, Allegra CJ, Smyrk TC, Thibodeau SN, Goldberg RM, et al. Association of DNA mismatch repair and mutations in BRAF and KRAS with survival after recurrence in stage III colon cancers: a secondary analysis of 2 randomized clinical trials. *JAMA Oncol*. 2017;3:472–80.
167. Venderbosch S, Nagtegaal ID, Maughan TS, Smith CG, Cheadle JP, Fisher D, et al. Mismatch repair status and BRAF mutation status in metastatic colorectal cancer patients: a pooled analysis of the CAIRO, CAIRO2, COIN, and FOCUS studies. *Clin Cancer Res*. 2014;20(20):5322–30.
168. Des Guetz G, Uzzan B, Nicolas P, Schischmanoff O, Morere JF. Microsatellite instability: a predictive marker in metastatic colorectal cancer? *Target Oncol*. 2009;4(1):57–62.
169. Sveen A, Kopetz S, Lothe RA. Biomarker-guided therapy for colorectal cancer: strength in complexity. *Nat Rev Clin Oncol*. 2020;17(1):11–32.
170. Popescu NC, King CR, Kraus MH. Localization of the human erbB-2 gene on normal and rearranged chromosomes 17 to bands q12–21.32. *Genomics*. 1989;4:362–6.

171. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human breast cancer: Correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science*. 1987;235:177–82.
172. Sartore-Bianchi A, Amatu A, Porcu L, Ghezzi S, Lonardi S, Leone F, et al. HER2 Positivity Predicts Unresponsiveness to EGFR-Targeted Treatment in Metastatic Colorectal Cancer. *Oncologist*. 2019;24(10):1395–402.
173. Fornaro L, Lucchesi M, Caparello C, Vasile E, Caponi S, Ginocchi L, et al. Anti-HER agents in gastric cancer: From bench to bedside. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2011;8:369–83.
174. Bang Y-J, Van Cutsem E, Feyereislova A, Chung H, Shen L, Sawaki A, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA). *Lancet*. 2010;376:687–97.
175. Sartore-Bianchi A, Trusolino L, Martino C, Bencardino K, Lonardi DS, Bergamo F, et al. Dual-targeted therapy with trastuzumab and lapatinib in treatment-refractory, KRAS codon 12/13 wild-type, HER2-positive metastatic colorectal cancer (HERACLES): a proof-of-concept, multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2016;17:738–46.
176. Cameron D, Piccart-Gebhart MJ, Gelber RD, Procter M, Goldhirsch A, de Azambuja E, et al. 11 years' follow-up of trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive early breast cancer: Final analysis of the HERceptin Adjuvant (HERA) trial. *Lancet*. 2017;389:1195–205.
177. Martin V, Landi L, Molinari F, Fountzilias G, Geva R, Riva A, et al. HER2 gene copy number status may influence clinical efficacy to anti-EGFR monoclonal antibodies in metastatic colorectal cancer patients. *Br J Cancer*. 2013;108:668–75.
178. Sawada K, Nakamura Y, Yamanaka T, Kuboki Y, Yamaguchi D, Yuki S, et al. Prognostic and predictive value of HER2 amplification in patients with metastatic colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer*. 2018;17:198–205.
179. Raghav KPS, Overman MJ, Yu R, Meric-Bernstam F, Menter D, Kee BK, et al. HER2 amplification as a negative predictive biomarker for anti-epidermal growth factor

receptor antibody therapy in metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2016;34(15):3517-3517.

180. Meric-Bernstam F, Hurwitz H, Raghav KPS, McWilliams RR, Fakih M, VanderWalde A, et al. Pertuzumab plus trastuzumab for HER2-amplified metastatic colorectal cancer (MyPathway): An updated report from a multicentre, open-label, phase 2a, multiple basket study. *Lancet.* 2019;20:518–30.

181. Press MF, Bernstein L, Thomas PA, Meisner LF, Zhou JY, Ma Y, et al. HER-2/neu gene amplification characterized by fluorescence in situ hybridization: Poor prognosis in node-negative breast carcinomas. *J Clin Oncol.* 1997;15:2894–904.

182. Iqbal N, Iqbal, N. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2) in Cancers: Overexpression and Therapeutic Implications. *Mol Biol Int.* [Internet]. 2014 Aug [cited 2021 Jun 25]; 52748 [9 p.]. Available from:

<https://downloads.hindawi.com/archive/2014/852748.pdf>

183. Heppner BI, Behrens HM, Balschun K, Haag J, Krüger S, Becker T, et al. HER2/neu testing in primary colorectal carcinoma. *Br J Cancer.* 2014;111:1977–84.

184. Wu S-W, Ma C-C, Li W-H. Does overexpression of HER-2 correlate with clinicopathological characteristics and prognosis in colorectal cancer? Evidence from a meta-analysis. *Diagn Pathol.* [Internet]. 2015 Aug [cited 2021 Jul 25]; 10:144. [9 p.]. Available from: <https://diagnosticpathology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13000-015-0380-3#citeas>

185. Richman SD, Southward K, Chambers P, Cross D, Barrett J, Hemmings G, et al. HER2 overexpression and amplification as a potential therapeutic target in colorectal cancer: Analysis of 3256 patients enrolled in the QUASAR, FOCUS and PICCOLO colorectal cancer trials. *J Pathol.* 2016;238:562–70.

186. von Einem JC, Heinemann V, von Weikersthal LF, Vehling-Kaiser U, Stauch M, Hass HG, et al. Left-sided primary tumors are associated with favorable prognosis in patients with KRAS codon 12/13 wild-type metastatic colorectal cancer treated with cetuximab plus chemotherapy: an analysis of the AIO KRK-0104 trial. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2014;140(9):1607–14.

187. Warschkow R, Sulz MC, Marti L, Tarantino I, Schmied MB, Cerny T, Güller U. Better survival in right-sided versus left-sided stage I - III colon cancer patients. *BMC*

- Cancer. [Internet]. 2016 Jul [cited 2021 Jul 25]; 16:554 [14 p.]. Available from: <https://bmccancer.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s12885-016-2412-0.pdf>
188. Taieb J, Kourie HR, Emile JF, Le Malicot K, Balogoun R, Taberero J, et al. Association of prognostic value of primary tumor location in stage III colon cancer with RAS and BRAF mutational status. *JAMA Oncol*. 2018;4(7):e173695.
189. Petrelli F, Tomasello G, Borgonovo K, Ghidini M, Turati L, Dallera P, et al. Prognostic survival associated with left-sided vs right-sided colon cancer: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Oncol*. 2017;3(2):211–9.
190. Shen H, Yang J, Huang Q, Jiang MJ, Tan YN, Fu JF, et al. Different treatment strategies and molecular features between right-sided and left-sided colon cancers. *World J Gastroenterol*. 2015;21(21):6470–8.
191. Venook AP, Niedzwiecki D, Innocenti F, Fruth B, Greene C, O'Neil BH, et al. Impact of primary (1°) tumor location on overall survival (OS) and progression-free survival (PFS) in patients (pts) with metastatic colorectal cancer (mCRC): analysis of CALGB/SWOG 80405 (Alliance). *J Clin Oncol*. 2016;34(15):3504–3504.
192. Tejpar S, Stintzing S, Ciardiello F, Taberero J, Van Cutsem E, Beier F, et al. Prognostic and predictive relevance of primary tumor location in patients with RAS wild-type metastatic colorectal cancer: retrospective analyses of the CRYSTAL and FIRE-3 trials. *JAMA Oncol*. 2017;3(2):194–201.
193. Loupakis F, Yang D, Yau L, Feng S, Cremolini C, Zhang W, et al. Primary tumor location as a prognostic factor in metastatic colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst*. [Internet]. 2015 Mar [cited 2022 Jan 25]; 107(3): dju427 [9 p.]. Available from: <https://academic.oup.com/jnci/article/107/3/dju427/913509?login=true>
194. Arnold D, Lueza B, Douillard JY, Peeters M, Lenz HJ, Venook A, et al. Prognostic and predictive value of primary tumour side in patients with RAS wild-type metastatic colorectal cancer treated with chemotherapy and EGFR directed antibodies in six randomized trials. *Ann Oncol*. 2017;28(8):1713–29.
195. Weiss JM, Pfau PR, O'Connor ES, King J, LoConte N, Kennedy G, et al. Mortality by stage for right- versus left-sided colon cancer: analysis of surveillance, epidemiology, and end results—Medicare data. *J Clin Oncol*. 2011;29:4401–9.

196. Li F, Lai M. Colorectal cancer, one entity or three. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2009;10:219–29.
197. Araki K, Furuya Y, Kobayashi M, Matsuura K, Ogata T, Isozaki H. Comparison of mucosal microvasculature between the proximal and distal human colon. *Article J Electron Microsc (Tokyo)*. 1996;45(3):202–6.
198. Benedix F, Kube R, Meyer F, Uwe S, Ingo G, Hans L. Comparison of 17,641 patients with right- and left-sided colon cancer differences in epidemiology, perioperative course histology and survival. *Dis Colon Rectum*. 2010;53:57–64.
199. Yuan M, Itzkowitz SH, Palekar A, Shamsuddin AM, Phelps PC, Trump BF, et al. Distribution of blood group antigens A, B, H, Lewis^a, and Lewis^b in human normal, fetal, and malignant colonic tissue. *Cancer Res*. 1985;45(9):4499–511.
200. Arai T, Kino I. Morphometrical and cell kinetic studies of normal human colorectal mucosa. Comparison between the proximal and the distal large intestine. *Pathol*. 1989;39(11):725–30.
201. Kohoutova D, Smajs D, Moravkova P, Cyrany J, Moravkova M, Forstlova M, et al. *Escherichia coli* strains of phylogenetic group B2 and D and bacteriocin production are associated with advanced colorectal neoplasia. *BMC Infect Dis*. [Internet]. 2014 Dec [cited 2021 Aug 3]; 14:733. [8 p.]. Available from: <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-014-0733-7#citeas>
202. Gao Z, Guo B, Gao R, Zhu Q, Qin H. Microbiota disbiosis is associated with colorectal cancer. *Front Microbiol*. [Internet]. 2015 Feb [cited 2021 Aug 3]; 6:20 [9 p.]. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2015.00020/full>
203. Missiaglia E, Jacobs B, D'Ario G, Di Narzo AF, Sonesson C, Budinska E, et al. Distal and proximal colon cancers differ in terms of molecular, pathological, and clinical features. *Ann Oncol*. 2014;25:1995–2001.
204. Jess T, Horváth-Puhó E, Fallingborg J, Rasmussen H, Jacobsen B. Cancer Risk in Inflammatory Bowel Disease According to Patient Phenotype and Treatment: A Danish Population-Based Cohort Study. *Am J Gastroenterol*. 2013;108(12):1869–76.
205. Riihimäki M, Hemminki A, Sundquist J, Hemminki K. Patterns of metastasis in colon and rectal cancer. *Sci Rep*. [Internet]. 2016 Jul [cited 2021 Aug 3]; 6:29765. [9 p.]. Available from: <https://www.nature.com/articles/srep29765>

206. Ben-Ishay O, Peled Z, Othman A, Brauner E, Kluger Y. Clinical presentation predicts the outcome of patients with colon cancer. *World J Gastrointest Surg.* 2013;5(4):104–9.
207. Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature.* 2012;487:330–7.
208. Sain Dickson. CRC trends reflect human development. *Nature Rev Gastroenterol Hepatol.* [Internet]. 2016 Feb [cited 2021 Aug 3]; 13:122. [1 p.]. Available from: <https://www.nature.com/articles/nrgastro.2016.29#citeas>
209. Bae JM, Kim JH, Kang GH. Molecular Subtypes of Colorectal Cancer and Their Clinicopathologic Features, With an Emphasis on the Serrated Neoplasia Pathway. *Arch Pathol Lab Med.* 2016;140(5):406–12.
210. Murcia O, Juárez M, Rodríguez-Soler M, Hernández-Illán E, Giner-Calabuig M, Alustiz M, et al. Colorectal cancer molecular classification using BRAF, KRAS, microsatellite instability and CIMP status: Prognostic implications and response to chemotherapy. *PLOS* [Internet]. 2018 Sept [cited 2021 Jun 25]; [13 p.]. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0203051>
211. Malakorn S, Ouchi A, Hu CY, Sandhu L, Dasari A, You YQN, et al. Tumor Sidedness, Recurrence, and Survival After Curative Resection of Localized Colon Cancer. *Clin Colorectal Cancer.* 2021;20(1):e53–e60.
212. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, Cartwright T, Hainsworth J Heim W, et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2004;350:2335–42.
213. Van Cutsem E, Köhne C-H, Hitre E, Zaluski J, Chang Chien CR, Makhson A, et al. Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2009;360:1408–17.
214. Venook AP, Niedzwiecki D, Lenz HJ, Innocenti F, Fruth B, Meyerhardt JA, et al. Effect of first-line chemotherapy combined with cetuximab or bevacizumab on overall survival in patients with KRAS wild-type advanced or metastatic colorectal cancer a randomized clinical trial. *JAMA.* 2017;317:2392–401.
215. Heinemann V, Von Weikersthal LF, Decker T, Kiani A, Vehling-Kaiser U, Al-Batran SE, et al. FOLFIRI plus cetuximab versus FOLFIRI plus bevacizumab as first-line

treatment for patients with metastatic colorectal cancer (FIRE-3): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2014;15:1065–75.

216. Compton CC, Greene FL. The Staging of Colorectal Cancer: 2004 and Beyond. *CA Cancer J Clin.* 2004;54:295–308.

217. Kameda K, Eguchi T, Lu S, Qu Y, Tan KS, Kadota K, et al. Implications of the eighth edition of the TNM proposal: Invasive versus total tumor size for the T descriptor in pathologic stage I-IIA lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol.* 2018;13:1919–29.

218. Weiser MR. AJCC 8th ed: Colorectal Cancer. *Ann Surg Oncol.* 2018;25(6):1454–5.

219. Dawood O, Mahadevan A, Karyn GA. Stereotactic body radiation therapy for liver metastases. *Eur J Cancer.* 2009;45(17):2947–59.

220. Muratore A, Zorzi D, Bouzari H, Amisano M, Massucco P, Sperti E, et al. Asymptomatic colorectal cancer with un-resectable liver metastases: immediate colorectal resection or up-front systemic chemotherapy. *Ann Surg Oncol.* 2007;14(2):766–70.

221. Hayashi C, Inoue Yo, Komeda K, Shimizu T, Asakuma M, Hirokawa F, et al. Clinicopathological analysis of recurrence patterns and prognostic factors for survival after hepatectomy for colorectal liver metastasis *BMC Surg.* 2010 Sept [Internet]. 2010 Sept [cited 2021 Sep 03]; 10:27. [12 p.]. Available from:

<https://bmcsurg.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2482-10-27#citeas>

222. Tabouret E, Chinot O, Metellus P, Tallet A, Viens P, Gonçalves A. Recent trends in epidemiology of brain metastases: an overview. *Anticancer Res.* 2012;32:4655–662.

223. Franko J, Shi Q, Goldman DC, Pockaj AB, Nelson DG, Goldberg MR, et al. 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.

224. Yoshino T, Arnold D, Taniguchi H, Pentheroudakis G, Yamazaki K, Xu RH, et al. Pan-Asian adapted ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer: a JSMO–ESMO initiative endorsed by CSCO, KACO, MOS, SSO and TOS. *Ann Oncol.* 2018;29(1):44–70.

225. Oken MM, Creech RH, Tormey DC, Horton J, Davis TE, McFadden ET, et al. Toxicity And Response Criteria Of The Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol*. 1982;5(6):649–55.
226. De Greef K, Rolfo C, Russo A, Chapelle T, Bronte G, Passiglia F, et al. Multidisciplinary management of patients with liver metastasis from colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 2016;22:7215–25.
227. Schmoll HJ, Van Cutsem E, Stein AE, Valentini V, Glimelius B, Haustermans K, et al. ESMO consensus guidelines for management of patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol*. 2016;27:1386–422.
228. Alfredo Falcone A, Ricci S, Brunetti I, Pfanner E, Allegrini G, Barbara C, et al. 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.
229. Yahagi M, Okabayashi K, Hasegawa H, Tsuruta M, Kitagawa Y. The worse prognosis of right-sided compared with left-sided colon cancers: A systematic review and meta-analysis. *J Gastrointest Surg*. 2016;20:648–55.
230. Cassidy J, Clarke S, Díaz-Rubio E, Scheithauer W, Figuer A, Wong R, et al. XELOX vs FOLFOX-4 as first-line therapy for metastatic colorectal cancer: NO16966 updated results. *Br J Cancer*. 2011;105(1):58–64.
231. Fuchs CS, Marshall J, Mitchell E, Wierzbicki R, Ganju V, Jeffery M, et al. Randomized, controlled trial of irinotecan plus infusional, bolus, or oral fluoropyrimidines in first-line treatment of metastatic colorectal cancer: results from the BICC-C Study. *J Clin Oncol*. 2007;25(30):4779–86.
232. Tomasello G, Petrelli F, Ghidini M, Russo A, Passalacqua R, Barni S, et al. FOLFOXIRI plus bevacizumab as conversion therapy for patients with initially unresectable metastatic colorectal cancer: A systematic review and pooled analysis. *JAMA Oncol*. [Internet]. 2017 Jul [cited 2021 Sept 16]; 3(7):e170278 [6 p.]. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jamaoncology/article-abstract/2628765>
233. Sorich MJ, Wiese MD, Rowland A, Kichenadasse G, McKinnon RA, Karapetis CS. Extended RAS mutations and anti-EGFR monoclonal antibody survival benefit in

- metastatic colorectal cancer: a meta-analysis of randomized, controlled trials. *Ann Oncol.* 2015;26(1):13–21.
234. Masi G, Enrico V, Loupakis F, Cupini S, Fornaro L, Baldi G, et al. Randomized trial of two induction chemotherapy regimens in metastatic colorectal cancer: an updated analysis *J Natl Cancer Inst.* 2011;103(1):21–30.
235. García-Foncillas J, Sunakawa Y, Aderka D, Wainberg Z, Ronga P, Witzler P, et al. Distinguishing Features of Cetuximab and Panitumumab in Colorectal Cancer and Other Solid Tumors. *Front Oncol.* [Internet]. 2019 Sept [cited 2021 Okt 12]; 9:849. [16 p.]. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2019.00849/full>
236. Le DT, Uram JN, Wang H, Bartlett BR, Kemberling H, Eyring AD, et al. PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency. *N Engl J Med.* 2015;72(26):2509–20.
237. Morse MA, Overman M.J, Hartman L, Khoukaz T, Brucher E, Lenz HJ, et al. Safety of Nivolumab plus Low-Dose Ipilimumab in Previously Treated Microsatellite Instability-High/Mismatch Repair-Deficient Metastatic Colorectal Cancer. *Oncologist.* 2019;24(11):1453–61.
238. Biller HL, Schrag D. Diagnosis and Treatment of Metastatic Colorectal Cancer A Review. *JAMA.* 2021;325(7):669–85.
239. Van Cutsem E, Tabernero J, Lakomy R, Prenen H, Prausová J, Macarulla T, et al. 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;30:3499–506.
240. Arnold D, Fuchs CS, Tabernero J, Ohtsu A, Zhu XA, Garon BE, et al. Meta-analysis of individual patient safety data from six randomized, placebo-controlled trials with the antiangiogenic VEGFR2-binding monoclonal antibody ramucirumab. *Ann Oncol.* 2017;28(12):2932–42.
241. Verdager H, Tabernero J, Macarulla T. Ramucirumab in metastatic colorectal cancer: evidence to date and place in therapy. *Ther Adv Med Oncol.* 2016;8(3):230–42.
242. Greally M, Kelly CM, Cercek A. HER2: an emerging target in colorectal cancer. *Curr Probl Cancer.* 2018;42(6):560–71.

243. Meric-Bernstam F, Hurwitz H, Singh RKP, McWilliams RR, Fakih M, Vander Walde A, et al. Pertuzumab and trastuzumab for HER2-amplified metastatic colorectal cancer: an updated report from MyPathway, a multicentre, open-label, Phase IIa multiple basket study. *Lancet Oncol.* 2019;20(4):518–30.
244. Gupta R, Garrett-Mayer E, Halabi S, Mangat PK, D'Andre SD, Meiriet E, et al. Pertuzumab plus trastuzumab (P+T) in patients (Pts) with colorectal cancer (CRC) with ERBB2 amplification or overexpression: Results from the TAPUR Study. *J Clin Oncol.* 2020;38:132–132.
245. Adenis A, de la Fouchardiere C, Paule B, Burtin P, Tougeron D, Wallet J, et al. Survival, safety, and prognostic factors for outcome with Regorafenib in patients with metastatic colorectal cancer refractory to standard therapies: results from a multicenter study (REBECCA) nested within a compassionate use program. *BMC Cancer.* [Internet]. 2016 Jul [cited 2021 Oct 25];16:412 [8 p.]. Available from: <https://bmccancer.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s12885-016-2440-9.pdf>
246. Belum RV, Wu S, Lacouture EM. Risk of hand-foot skin reaction with the novel multikinase inhibitor regorafenib: a meta-analysis. *Invest New Drugs.* 2013;31(4):1078–86.
247. Li J, Qin S, Xu R, Yau TCCC, Ma B, Panet H, et al. Regorafenib plus best supportive care versus placebo plus best supportive care in Asian patients with previously treated metastatic colorectal cancer (CONCUR): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2015 Jun;16(6):619–29.
248. Mayer JR, Van Cutsem E, Falcone A, Yoshino T, Garcia-Carbonero R, Mizunuma N, et al. Randomized trial of TAS-102 for refractory metastatic colorectal cancer *N Engl J Med.* 2015;372(20):1909–19.
249. Poston GJ, Figueras J, Giuliante F, Nuzzo G, Sobrero AF, Gigot JF, et al. Urgent need for a new staging system in advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2008;26:4828–33.
250. National Comprehensive Cancer Network [homepage on the Internet] Washington: Clinical Practice Guidelines in Oncology, Inc.; c1993 [updated 2017 March 13; cited 2017 Nov 28]. Available from: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/colon_blocks.pdf

-
251. Gopalan V, Smith RA, Ho YH, King-Yin Lamal A. Signet-ring cell carcinoma of colorectum—current perspectives and molecular biology. *Int J Colorectal Dis.* 2011;26:127–33.
252. Hyngstrom JR, Hu CY, Xing Y, You NY, Feig BW, Skibber JM, et al. Clinicopathology and outcomes for mucinous and signet ring colorectal adenocarcinoma: analysis from the National Cancer Data Base. *Ann Surg Oncol.* 2012;19:2814–21.
253. Kang H, O'Connell JB, Maggard MA, Sack J, Ko CY. A 10-year outcomes evaluation of mucinous and signet-ring cell carcinoma of the colon and rectum. *Dis Colon Rectum.* 2005;48:1161–8.
254. Nitsche U, Zimmermann A, Späth C, Müller T, Maak M, Schuster T, et al. Mucinous and signet-ring cell colorectal cancers differ from classical adenocarcinomas in tumor biology and prognosis. *Ann Surg.* 2013;258(5):775–83.
255. Fan J-Z, Wang G-F, Cheng X-B, Dong Z-H, Chen X, Deng Y-J, et al. Relationship between mismatch repair protein, RAS, BRAF, PIK3CA gene expression and clinicopathological characteristics in elderly colorectal cancer patients. *World J Clin Cases.* 2021;9(11):2458–68.
256. Chew MH, Yeo SA, Ng ZP, Lim KH, Koh PH, Ng KH, et al. Critical analysis of mucin and signet ring cell as prognostic factors in an Asian population of 2,764 sporadic colorectal cancers. *Int J Colorectal Dis.* 2010;25:1221–9.
257. Lee WS, Chun HK, Lee WY, Yun SH, Cho YB, Yun HR, et al. Treatment outcomes in patients with signet ring cell carcinoma of the colorectum. *Am J Surg.* 2007;194:294–8.
258. Borger ME, Gosens MJ, Jeuken JW, van Kempen LCLT, van de Velde CJH, van Krieken JHJM, et al. Signet ring cell differentiation in mucinous colorectal carcinoma. *J Pathol.* 2007;212:278–86.
259. Song W, Wu SJ, He YL, Cai SR, Zhang CH, Zhang XH, et al. Clinicopathologic features and survival of patients with colorectal mucinous, signet-ring cell or non-mucinous adenocarcinoma: experience at an institution in southern China. *Chin Med J (Engl).* 2009;122:1486–91.

260. Chen JS, Hsieh PS, Chiang JM, Yeh CY, Tsai WS, Tang R, et al. Clinical outcome of signet ring cell carcinoma and mucinous adenocarcinoma of the colon. *Chang Gung Med J*. 2010;33:51–7.
261. Compton CC, Fielding LP, Burgart LJ, Conley B, Cooper HS, Hamilton SR, et al. Prognostic factors in colorectal cancer: College of American Pathologists consensus statement 1999. *Arch Pathol Lab Med*. 2000;124(7):979–94.
262. Liebig C, Ayala G, Wilks J, Verstovsek G, Liu H, Agarwal N, et al. Perineural invasion is an independent predictor of outcome in colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2009;27(31):5131–7.
263. Quah H-M, Chou JF, Gonen M, Shia J, Schrag D, Landmann RG, et al. Identification of patients with high-risk stage II colon cancer for adjuvant therapy. *Dis Colon Rectum*. 2008;51(5):503–7.
264. Yüксе C, Çulcu S, Gojayev A, Demirci S, Ünal AE. Prognostic Value of Lymphovascular and Perineural Invasion in Colon Cancer. *Acta Oncologica Turcica*. 2021;54:166–74.
265. Knijn N, Mogk SC, Teerenstra S, Simmer F, Nagtegaal ID. Perineural invasion is a strong prognostic factor in colorectal cancer: a systematic review. *Am J Surg Pathol*. 2016;40(1):103–12.
266. Cao Y, Deng S, Yan L, Gu J, Li J, Wu K, et al. Perineural invasion is associated with poor prognosis of colorectal cancer: a retrospective cohort study. *Int J Colorectal Dis*. 2020;35:1067–75.
267. Cadham B, Parker B, Yin Y, Gill S, Loree JM, Cheunget WJ, et al. Evaluation of Clinical and Pathological Factors to Predict High Risk of Recurrence in Patients With Stage II Colon Cancer. *Clin Colorectal Cancer*. Epub Oct 2021, <https://doi.org/10.1016/j.clcc.2021.09.003>
268. Stillwell AP, Ho YH, Veitch C. Systematic review of prognostic factors related to overall survival in patients with stage IV colorectal cancer and unresectable metastases. *World J Surg*. 2011;35(3):684–92.
269. Yun HR, Lee WY, Lee OS, Cho YB, Yun SH, Chun HK. The prognostic factors of stage IV colorectal cancer and assessment of proper treatment according to the patient's status. *Int J Colorectal Dis*. 2007;22(11):1301–10.

270. Sudo M, Furuya S, Shimizu H, Nakat Y, Iino H, Shiraishi K, et al. Long-term outcomes after surgical resection in patients with stage IV colorectal cancer: a retrospective study of 129 patients at a single institution. *World J Surg Onc.* [Internet]. 2019 Mar [cited 2021 sep 10];17(56) [8 p.]. Available from: <https://wjso.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12957-019-1599-3#citeas>
271. Ahmed S, Leis A, Chandra-Kanthan S, Fields A, Zaidi A, Abbas T, et al. Regional Lymph Nodes Status and Ratio of Metastatic to Examined Lymph Nodes Correlate with Survival in Stage IV Colorectal Cancer. *Ann Surg Oncol.* 2016;23:2287–94.
272. Zhang ZY, Gao W, Luo QF, Yin XW, Basnet S, Dai ZL, et al. A nomogram improves AJCC stages for colorectal cancers by introducing CEA, modified lymph node ratio and negative lymph node count. *Sci Rep.* [Internet]. 2016 Dec [cited 2021 Oct 25]; 6:39028 [10 p.]. Available from: <https://www.nature.com/articles/srep39028#citeas>
273. Ong W, Zhao R, Lui B, Tan W, Ebrahimi A, Clark JR, et al. Prognostic significance of lymph node density in squamous cell carcinoma of the tongue. *Head Neck.* 2016;38(1):859–66.
274. Swanson RS, Compton CC, Stewart AK, Bland KI. The prognosis of T3N0 colon cancer is dependent on the number of lymph nodes examined. *Ann Surg Oncol.* 2003;10:65–71.
275. Le Voyer TE, Sigurdson ER, Hanlon AL, Mayer RJ, Macdonald JS, Catalano PJ, et al. Colon cancer survival is associated with increasing number of lymph nodes analyzed: a secondary survey of intergroup trial INT-0089. *J Clin Oncol.* 2003;21:2912–9.
276. Weiner LM, Murray JC, Shuptrine CW. Antibody-based immunotherapy of cancer. *Cell.* 2012;148(6):1081–4.
277. Vermijlen D, Froelich CJ, Luo D, Suarez-Huerta N, Robaye B, Wisse E. Perforin and granzyme B induce apoptosis in FasL-resistant colon carcinoma cells. *Cancer Immunol Immunother.* 2001;50(4):212–7.
278. Jakubovska K, Kisielewski W, Kańczuga-Koda L, Koda M, Famulski W. Stromal and intraepithelial tumor-infiltrating lymphocytes in colorectal carcinoma. *Oncol Lett.* 2017;(14)6:6421–32.

279. Kolarov-Bjelobrk I, Ivkovic-Kapicl T, Jovanovic D, Trifunović J, Radic J, Vidovic V, et al. Clinical Relevance of Determination of Tumour Infiltrating Lymphocytes in Breast Carcinoma. *West Indian Med J*. A head of print DOI: 10.7727/wimj.2017.044
280. Mei Z, Liu Y, Liu C, Cui A, Liang Z, Wang G, et al. Tumour-infiltrating inflammation and prognosis in colorectal cancer: systematic review and meta-analysis. *Br J Cancer*. 2014;110(6):1595–605.
281. Böckelman C, Engelmann BE, Kaprio T, Hansen TF, Glimelius B. Risk of recurrence in patients with colon cancer stage II and III: a systematic review and meta-analysis of recent literature. *Acta Oncol*. 2015;54(1):5–16.
282. Chan LF, Sadahiro S, Suzuki T, Okada K, Miyakita H, Yamamoto S, et al. Tissue-Infiltrating Lymphocytes as a Predictive Factor for Recurrence in Patients with Curatively Resected Colon Cancer: A Propensity Score Matching Analysis. *Oncology*. 2020;98(10):680–8.
283. Saraswati PA, Sumarki Budipramana V, Rahniayu A. Grading of lymphocyte infiltrating tumor can be used as a prognosis factor compared to T Pathology and N Pathology on recurrency of colon cancer. *IJBS*. 2021;15(1):39–42
284. Van der Pool A, Damhuis R, Ijzermans J, de Wilt JHW, Eggermont AMM, Kranse R, et al. Trends in incidence, treatment and survival of patients with stage IV colorectal cancer: a population-based series. *Colorectal Dis*. 2012;14(1):56–61.
285. Adam R, de Gramont A, Figueras J, Kokudo N, Kunstlinger F, Loyer E, et al. Managing synchronous liver metastases from colorectal cancer: a multidisciplinary international consensus. *Cancer Treat Rev*. 2015;41(9):729–41.
286. Fitzmaurice C, Allen C, Barber RM, Bhutta ZA, Brenner H, Dicker DJ, et al. Global, regional, and national cancer incidence, mortality, years of life lost, years lived with disability, and disability-adjusted life-years for 32 cancer groups, 1990 to 2015: a systematic analysis for the global burden of disease study. *JAMA Oncol*. 2017;3:524–48.
287. Yuan H, Pao-Shiu H, Sum-Fu C, Cheng-Chou L, Yih-Jong C, Yu-Jen H, et al. Prognostic value of regional lymph node involvement in patients with metastatic colorectal cancer: palliative versus curative resection. *World J Surg Oncol*. [Internet]. 2021 May [cited 2021 Oct 25];150:9 [9 p.]. Available from: <https://wjso.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s12957-021-02260-z.pdf>

288. O'Connell JB, Maggard MA, Ko CY. Colon cancer survival rates with the new American Joint Committee on Cancer Sixth Edition Staging. *J Natl Cancer Inst.* 2004;96:1420–5.
289. MT, Henson DE. The histologic grading of cancer. *Cancer.* 1995;75:406–21.
290. Hihara S, Watanabe T, Akahane T, Shimada R, Horiuchi A, Shibuya H, et al. Tumor location is a prognostic factor in poorly differentiated adenocarcinoma, mucinous adenocarcinoma, and signet-ring cell carcinoma of the colon. *Int J Colorectal Dis.* 2012;27:371–9.
291. Bjerkeset T, Morild I, Mørk S, Søreide O. Tumor characteristics in colorectal cancer and their relationship to treatment and prognosis. *Dis Colon Rectum.* 1987;30:934–8.
292. Frago R, Ramirez E, Millan M, Kreisler E, Del Valle E, Biondo S. Current management of acute malignant large bowel obstruction: a systematic review. *Am J Surg.* 2014;207(1):127–38.
293. Hapuis PH, Dent OF, Fisher R, Newland RC, Pheils MT, Smyth E, et al. A multivariate analysis of clinical and pathological variables in prognosis after resection of large bowel cancer. *Br J Surg.* 1985;72:698–702.
294. Sofò L, Ippoliti M, Merico M, Doglietto GB, Crucitti F. Prognostic factors in colorectal cancer. *Dis Colon Rectum.* 1998;41:1033–49.
295. Chen H-S, Sheen-Chen S-M. Obstruction and perforation in colorectal adenocarcinoma: an analysis of prognosis and current trends. *Surgery.* 2000;127:370–6.
296. Okuda Y, Shimura T, Yamada T, Hirata Y, Yamaguchi R, Sakamoto E, et al. Colorectal obstruction is a potential prognostic factor for stage II colorectal cancer. *Int J Clin Oncol.* 2018;23:1101–11.
297. Carraro PGS, Segala M, Cesana BM, Tiberio G. Obstructing colon cancer: failure and survival patterns after ten-year follow-up after one-stage curative surgery. *Dis Colon Rectum.* 2001;44:243–50.
298. McArdeel CS, McMillan DC, Hole DJ. The impact of blood loss, obstruction and perforation on survival in patients undergoing curative resection for colon cancer. *Br J Surg.* 2006;93:483–8.

299. Chin C-C, Wang J-Y, Changchien C-R, Huang W-S, Tang R. Carcinoma obstruction of the proximal colon cancer and long-term prognosis – obstruction is a predictor of worse outcome in TNM stage II tumor. *Int J Colorectal Dis.* 2010;25:817–22.
300. Cortet M, Grimault A, Cheynel N, Lepage C, Bouvier AM, Faivre J. Patterns of recurrence of obstructing colon cancers after surgery for cure: a population-based study. *Colorectal Dis.* 2013;15:1100–6.
301. Dahdaleh FS, Sherman SK, Poli EC, Vigneswaran J, Polite BN, Sharma MR, et al. Obstruction predicts worse long-term outcome in stage III colon cancer: a secondary analysis of the N0147 trial. *Surgery.* 2018;164:1223–9.
302. Mulcahy HE, Toner M, Patchett SE, Daly L, O'Donoghue DP. Identifying stage B colorectal cancer patients at high risk of tumour recurrence and death. *Dis Colon Rectum.* 1997;40:326–31.
303. Korenaga D, Ueo H, Mochida K, Kusumoto T, Baba H, Tamura S, et al. Prognostic factors in Japanese patients with colorectal cancer: the significance of large bowel obstruction – univariate and multivariate analysis. *J Surg Oncol.* 1991;47:188–92.
304. Cho YB, Yun SH, Hong JS, Yun HR, Lee WS, Lee WY, et al. Carcinoma obstruction of the left colon and long-term prognosis. *Hepatogastroenterology.* 2008;55:1288–92.
305. 308. Sakin A, Arici S, Secmeler S, Can O, Geredeli C, Yasar N, et al. Prognostic significance of primary tumor localization in stage II and III colon cancer. *World J Gastrointest Oncol.* 2018;10(11):410–20.
306. Yang SY, Cho MS, Kim NK. Difference between right-sided and left-sided colorectal cancers: from embryology to molecular subtype. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2018;18(4):351–8.
307. Lee MS, Menter DG, Kopetz S. Right versus left colon cancer biology: integrating the consensus molecular subtypes. *J Natl Compr Canc Netw.* 2017;15(3):411–9.
308. Baran B, Mert Ozupek N, Yerli Tetik N, Acar E, Bekcioglu O, Baskin Y. Difference Between Left-Sided and Right-Sided Colorectal Cancer: A Focused Review of Literature. *Gastroenterology Res.* 2018;11(4):264–73.

309. Lee GH, Malietzis G, Askari A, Bernardo D, Al-Hassi HO, Clark SK. Is right-sided colon cancer different to left-sided colorectal cancer? - a systematic review. *Eur J Surg Oncol.* 2015 Mar;41(3):300–8.
310. Aslar AK, Ozdemir S, Mahmoudi H, Kuzu MA. Analysis of 230 cases of emergent surgery for obstructing colon cancer-lessons learned. *J Gastrointest Surg.* 2011;15:110–9.
311. Buechter KJ, Boustany C, Caillouette R, Cohn I Jr. Surgical management of the acutely obstructed colon. A review of 127 cases. *Am J Surg.* 1988;156:163–8.
312. Biondo S, Parés D, Frago R, Martí-Ragué J, Kreisler E, Javier De Oca J, et al. Large bowel obstruction: predictive factors for postoperative mortality. *Dis Colon Rectum.* 2004;47:1889–97.
313. Frago R, Ramirez E, Millan M, Kreisler E, Valle E, Biondo S. Current management of acute malignant large bowel obstruction: a systematic review. *Am J Surg.* 2014;207:127–38.
314. Lang-Schwarz C, Melcher B, Haumaier F, Lang-Schwarz K, Rupprecht T, Vieth M, et al. Budding and tumor-infiltrating lymphocytes – combination of both parameters predicts survival in colorectal cancer and leads to new prognostic subgroups. *Hum Pathol.* 2018;79:160–7.
315. Huh JW, Lee JH, Kim HR. Prognostic significance of tumor-infiltrating lymphocytes for patients with colorectal cancer. *Arch Surg* 2012;4(147):366–72.
316. Giraldo NA, Peske JD, Sautes-Fridman C, Fridman WH. Integrating histopathology, immune biomarkers and molecular subgroups in solid cancer: the next step in precision oncology. *Vichows Arch.* 2019;474:463–74.
317. Hendry S, Salgado R, Gevaert T, Russell PA, John T, Thapa B, et al. Assessing tumor-infiltrating lymphocytes in solid tumors:a practical review for pathologists and proposal for a standardized method from the International Immuno-Oncology Biomarkers Working Group: Part 2: TILs in melanoma, gastrointestinal tract carcinomas, non–small cell lung carcinoma and mesothelioma, endometrial and ovarian carcinomas, squamous cell carcinoma of the head and neck, genitourinary carcinomas, and primary brain tumors. *Adv Anat Pathol.* 2017;24(6):311–33.
318. Boeckx N, Koukakis R, Op de Beeck K, Rolfo C, Van Camp G, Siena S, et al. Primary tumor sidedness has an impact on prognosis and treatment outcome in metastatic

colorectal cancer: results from two randomized first-line panitumumab studies. *Ann Oncol.* 2017 Aug 1;28(8):1862–8.

319. Schrag D, Weng S, Brooks G, Meyerhardt JA, Venook AP. The relationship between primary tumor sidedness and prognosis in colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2016;34(Suppl):3505.

320. Benedix F, Kube R, Meyer F, Schmidt U, Gastinger I, Lippert H, et al. Comparison of 17,641 patients with right and left-sided colon cancer: differences in epidemiology, perioperative course, histology, and survival. *Dis Colon Rectum.* 2010;53:57–64.

321. Meguid RA, Slidell MB, Wolfgang CL, Pinto RA, Marques CFS, Ceconello I. Is there a difference between right- versus left- sided colon cancers? Does side make any difference in long-term follow-up? *ABCD Arq Bras Cir Dig.* 2019;32(4):e1479 DOI: /10.1590/0102-672020190001e1479

322. Sinicrope FA, Mahoney MR, Smyrk TC, Thibodeau SN, Warren RS, Bertagnolli MM, et al. Prognostic impact of deficient DNA mismatch repair in patients with stage III colon cancer from a randomized trial of FOLFOX-based adjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol.* 2013;31:3664–72.

323. Brule SY, Jonker DJ, Karapetis CS, O'Callaghan C J, Moore M J, Wong R, et al. Location of colon cancer (rightsided versus left-sided) as a prognostic factor and a predictor of benefit from cetuximab in NCIC CO.17. *Eur J Cancer.* 2015;51:1405–14.

324. Moretto R, Cremolini C, Rossini D, Pietrantonio F, Battaglin F, Mennitto A, et al. Location of primary tumor and benefit from anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies in patients with RAS and BRAF wild-type metastatic colorectal cancer. *Oncologist.* 2016;21:988–94.

325. Allegra CJ, Rumble RB, Hamilton SR, Mangu PB, Roach N, Hantel A, et al. Extended RAS Gene Mutation Testing in Metastatic Colorectal Carcinoma to Predict Response to Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Monoclonal Antibody Therapy: American Society of Clinical Oncology Provisional Clinical Opinion Update 2015. *J Clin Oncol.* 2016;34:179–85.

326. Hainsworth JD, Meric-Bernstam F, Swanton C, Hurwitz H, Spigel DR, Sweeney C, et al. Targeted Therapy for Advanced Solid Tumors on the Basis of Molecular Profiles:

Results From MyPathway, an Open-Label, Phase IIa Multiple Basket Study. *J Clin Oncol.* 2018;36:536–42.

327. Wu SW, Ma CC, Li WH. Does overexpression of HER-2 correlate with clinicopathological characteristics and prognosis in colorectal cancer? Evidence from a meta-analysis. *Diagn Pathol.* [Internet]. 2015 Aug [cited 2022 Jan 25];10:144 [9 p.]. Available from:

<https://diagnosticpathology.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s13000-015-0380-3.pdf>

328. De Cuyper A, Van Den Eynde M, Machiels J-P. HER2 as a predictive biomarker and treatment target in colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer.* 2020;19(2):65–72.

329. Richman SD, Southward K, Chambers P, Cross D, Barrett J, Hemmings G, et al. HER2 overexpression and amplification as a potential therapeutic target in colorectal cancer: analysis of 3256 patients enrolled in the QUASAR, FOCUS and PICCOLO colorectal cancer trials. *J Pathol.* 2016;238(4):562–70.

330. Laurent-Puig P, Balogoun R, Cayre A, Le Malicot K, Tabernero J, Mini E, et al. ERBB2 alterations a new prognostic biomarker in stage III colon cancer from a FOLFOX based adjuvant trial (PETACC8). *Ann Oncol.* 2016;27(6):149–206.

331. Wang G, He Y, Sun Y, Wang W, Qian X, Yu X, et al. Prevalence, prognosis and predictive status of HER2 amplification in anti-EGFR-resistant metastatic colorectal cancer. *Clin Transl Oncol.* 2020;22(6):813–22.

332. Ni S, Peng J, Huang D, Xu M, Wang L, Tan C, et al. HER2 overexpression and amplification in patients with colorectal cancer: a large-scale retrospective study in Chinese population. *J Clin Oncol.* [Internet]. 2017 May [cited 2021 Oct 29];35:15099 [9 p.]. Available from: https://ascopubs.org/doi/abs/10.1200/JCO.2017.35.15_suppl.e15099

333. Valtorta E, Martino C, Sartore-Bianchi A, Penault-Llorca F, Viale G, Risio R, et al. Assessment of a HER2 scoring system for colorectal cancer: results from a validation study. *Mod Pathol.* 2015;28(11):1481–91.

334. Song Z, Deng Y, Zhuang K, Li A, Liu S. Immunohistochemical results of HER2/neu protein expression assessed by rabbit monoclonal antibodies SP3 and 4B5 in colorectal carcinomas. *Int J Clin Exp Pathol.* 2014;7(7):4454–60.

335. Ross JS, Ali SM, Elvin JA, Betzig Schrock A, Suh J, Vergilio JA, et al. Targeted therapy for HER2 driven colorectal cancer. *J Clin Oncol*. [Internet]. 2017 May [cited 2021 Oct 29];35:15 [9 p.]. Available from:
https://ascopubs.org/doi/abs/10.1200/JCO.2017.35.15_suppl.3583
336. Shimada Y, Yagi R, Kameyama H, Nagahashi M, Ichikawa H, Tajima Y, et al. Utility of comprehensive genomic sequencing for detecting HER2-positive colorectal cancer. *Hum Pathol*. 2017;6:1–9.
337. Gong J, Cho M, Sy M, Salgia R, Fakhri M. Molecular profiling of metastatic colorectal tumors using next-generation sequencing: a single-institution experience. *Oncotarget*. 2017;8(26):42198–213.
338. Schrock AB, Young L, Klemperer SJ, Bordoni R, Ross J, Stephens P, Devoe C, et al. Genomic profiling of circulating tumor DNA (ctDNA) from patients (pts) with advanced cancers of the GI tract and anus. *J Clin Oncol*. [Internet]. 2017 Feb [cited 2021 Oct 29];35(4):3583. [1 p.]. Available from:
https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2017.35.4_suppl.618
339. Takegawa N, Yonesaka K, Sakai K, Ueda H, Watanabe S, Nonagase Y, et al. HER2 genomic amplification in circulating tumor DNA from patients with cetuximab-resistant colorectal cancer. *Oncotarget*. 2016;7(3):3453–60.
340. Puccini A, Lenz HJ, Marshall LJ, Arguello D, Raghavan D, Korn WM, et al. Impact of patient age on molecular alterations in left-sided colorectal tumors. *Oncologist*. 2019;24(3):319–26.
341. Yalikong A, Li XQ, Zhou PH, Qi ZP, Li B, Cai SL, et al. A Triptolide Loaded HER2-Targeted Nano-Drug Delivery System Significantly Suppressed the Proliferation of HER2-Positive and BRAF Mutant Colon Cancer. *Int J Nanomedicine*. 2021;16:2323–35.
342. Ingold Heppner B, Behrens HM, Balschun K, Haag J, Krüger S, Becker T, et al. HER2/neu testing in primary colorectal carcinoma. *Br J Cancer*. 2014;111(10):1977–84.
343. Nam SK, Yun S, Koh J, Kwak Y, Seo An, Un Park K, et al. BRAF, PIK3CA, and HER2 oncogenic alterations according to KRAS mutation status in advanced colorectal cancers with distant metastasis. *PLoS One*. [Internet]. 2016 Marc [cited 2021 Oct 28];11(3):e015186 395. [14 p.]. Available from:

<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0151865>

344. Mohan S, Heitzer E, Ulz P, Lafer I, Lax S, Auer M, et al. Changes in colorectal carcinoma genomes under anti-EGFR therapy identified by whole-genome plasma DNA sequencing. *PLoS Genet.* [Internet]. 2014 Mar [cited 2021 Oct 28]; 10:e1004271. [13 p].

Available from:

<https://journals.plos.org/plosgenetics/article/file?id=10.1371/journal.pgen.1004271&type=printable>

345. Sorich MJ, Wiese MD, Rowland A, Kichenadasse G, McKinnon RA, Karapetis CS. Extended RAS mutations and anti-EGFR monoclonal antibody survival benefit in metastatic colorectal cancer: a meta-analysis of randomized, controlled trials. *Ann Oncol.* 2015;26:13–21.

346. Di Nicolantonio F, Martini M, Molinari F, Sartore-Bianchi A, Arena S, Saletti P, et al. Wild-type BRAF is required for response to panitumumab or cetuximab in metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2008;26:5705–12.

347. Martin V, Landi L, Molinari F, Fountzilas G, Geva R, Riva A, et al. HER2 gene copy number status may influence clinical efficacy to anti-EGFR monoclonal antibodies in metastatic colorectal cancer patients. *Br J Cancer.* 2013;108:668–75.

348. Bertotti A, Migliardi G, Galimi F, Sassi F, Torti D, Isella C, et al. A molecularly annotated platform of patient-derived xenografts (“xenopatients”) identifies HER2 as an effective therapeutic target in cetuximab-resistant colorectal cancer. *Cancer Discov.* 2011;1:508–23.

349. ZY Yang, XY Wu, YF Huang, Di MY, Zheng DY, Chen JZ, et al. Promising biomarkers for predicting the outcomes of patients with KRAS wild-type metastatic colorectal cancer treated with anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies: a systematic review with meta-analysis. *Int J Cancer.* 2013;133:1914–25.

350. Marx AH, Burandt EC, Choschzick M, Simon R, Yekebas E, Kaifi, JT, et al. Heterogenous high-level HER-2 amplification in a small subset of colorectal cancers. *Hum Pathol.* 2010;41:1577–85.

351. Leto SM, Trusolino L. Primary and acquired resistance to EGFR-targeted therapies in colorectal cancer: impact on future treatment strategies. *J Mol Med.* 2014;92(7):709–22.

352. Dewdney A, Cunningham D, Tabernero J, Capdevila J, Glimelius B, Cervantes A, et al. Multicenter randomized phase II clinical trial comparing neoadjuvant oxaliplatin, capecitabine, and preoperative radiotherapy with or without cetuximab followed by total mesorectal excision in patients with high-risk rectal cancer (EXPERT-C). *J Clin Oncol*. 2012;30(14):1620–7.
353. Parikh A, Atreya C, Korn WM, Venook AP. Prolonged response to HER2-directed therapy in a patient with HER2-amplified, rapidly progressive metastatic colorectal cancer. *J Natl Compr Canc Netw*. 2017;15(1):3–8.
354. Park DI, Kang MS, Oh SJ, Kim HJ, Cho YK, Sohn CI, et al. HER-2/neu overexpression is an independent prognostic factor in colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis*. 2007;22:491–7.
355. Jeong JH, Kim J, Hong YS, Kim D, Kim JE, Kim SY, et al. HER2 amplification and cetuximab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer harboring wild-type RAS and BRAF. *Clin Colorectal Cancer*. 2017;16:e147–e152.
356. Yagisawa M, Sawada K, Nakamura Y, Fujii S, Yuki S, Komatsu Y, et al. Prognostic Value and Molecular Landscape of HER2 Low-Expressing Metastatic Colorectal Cancer. *Clin Colorectal Cancer*. 2021;20(2):113–20.
357. Luo H, Cui L, Shen K, Li R, Wang Z, Xie Z. HER2 Overexpression and Mismatch Repair Deficiency are Correlated with Malignancy in Colorectal Cancer. *Cancer Manag Res*. 2021;13:3443–54.
358. Swain SM, Baselga J, Kim SB, Ro J, Semiglazov V, Campone M, et al. Pertuzumab, trastuzumab, and docetaxel in HER2-positive metastatic breast cancer. *N Engl J Med*. 2015;372:724–7.
359. Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, Chung HC, Shen L, Sawaki A, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet*. 2010;376:687–97.
360. Siena S, Sartore-Bianchi A, Marsoni S, Hurwitz HI, McCall SJ, Penault-Llorca F, et al. Targeting the human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) oncogene in colorectal cancer. *Ann Oncol*. 2018;29(5):1108–19.

Овај Образац чини саставни део докторске дисертације, односно докторског уметничког пројекта који се брани на Универзитету у Новом Саду. Попуњен Образац укоричити иза текста докторске дисертације, односно докторског уметничког пројекта.

План третмана података

Назив пројекта/истраживања
„Прогностички и предиктивни значај локализације и карактеристика примарног тумора у лечењу метастатског колоректалног карцинома код пацијената без мутације KRAS гена,,
Назив институције/институција у оквиру којих се спроводи истраживање
Институт за онкологију Војводине
Назив програма у оквиру ког се реализује истраживање
Докторске академске студије, смер клиничка медицина
1. Опис података
1.1 Врста студије
<i>Укратко описати тип студије у оквиру које се подаци прикупљају</i>
Основни циљ докторске дисертације је да се докаже утцај локализације примарног тумора на исход и лечење пацијената са КРАС немутираним метастатским колоректалним карциномом. Такође, доказати повезаност неповољних фактора прогнозе (патохистолошких и молекуларних) са деснострано локализованим карциномом дебелог црева. Студија је ретроспективно-проспективна. Обухваћен је 181 болесник оба пола, узраста преко 18 година, са патохистолошки верификованим карциномом дебелог црева. Болесници су у моменту постављања дијагнозе имали метастатску болест (без обзира на број и локализацију метастаза) или су развили метастазе током болести.
1.2 Врсте података
а) квантитативни
б) квалитативни
1.3. Начин прикупљања података

а) анкете, упитници, тестови

б) клиничке процене, медицински записи, електронски здравствени записи

в) генотипови: навести врсту _____

г) административни подаци: навести врсту _____

д) узорци ткива: навести врсту Присуство мутација KRAS гена идентификовано је методом ланчане реакције полимеразе у стварном времену RT-PCR (Real Time Polymerase Chain Reaction) методом у ДНК која је изолована из парафинских калупа ткива хуманог колоректалног карцинома фиксираног у формалину и укалупљеног у парафин (Formalin Fixed Paraffin Embedded Tumor Tissue, FFPE). Код пацијената са немутираним KRAS статусом радило се додатно имунохистохемијско испитивање туморског ткива на присуство експресије протеинског продукта HER2 гена. Имунохистохемијска анализа HER2/Neu статуса у туморском ткиву вршена је применом PATHWAY анти- Her2/neu (4B5, rabbit monoclonal, pre-dilution, Ventana Medical System, Tucson, AZ, USA) антитета ultraView Universal DAB kita (Ventana Medical System) на аутоматском имуностејнеру (BenchMark XT, Ventana Medical Systems) према инструкцијама произвођача. _____

ђ) снимци, фотографије: навести врсту _____

е) текст, навести врсту литературни изводи

ж) мапа, навести врсту _____

з) остало: описати _____

1.3 Формат података, употребљене скале, количина података

Формат података: табеларан, текстуалан

1.3.1 Употребљени софтвер и формат датотеке:

а) Excel фајл, датотека .xlsx

б) SPSS фајл, датотека .sav

в) PDF фајл, датотека .pdf

г) Текст фајл, датотека .doc; .docx

д) JPG фајл, датотека .jpg; .png

е) Остало, датотека _____

1.3.2. Број записа (код квантитативних података)

а) број варијабли: велики број варијабли

б) број мерења (испитаника, процена, снимака и сл.) 181 испитаник

1.3.3. Поновљена мерења

а) да

б) не

Уколико је одговор да, одговорити на следећа питања:

а) временски размак између поновљених мера је _____

б) варијабле које се више пута мере односе се на _____

в) нове верзије фајлова који садрже поновљена мерења су именоване као _____

Напомене: _____

Да ли формати и софтвер омогућавају дељење и дугорочну валидност података?

а) Да

б) Не

Ако је одговор не, образложити _____

2. Прикупљање података

2.1 Методологија за прикупљање/генерисање података

2.1.1. У оквиру ког истраживачког нацрта су подаци прикупљени?

а) експеримент, навести тип _____

б) корелационо истраживање: **навести тип опсервационо, ретроспективно-проспективно**

ц) анализа текста, навести тип: **прикупљање података из литературе**

д) остало, навести шта _____

2.1.2 Навести врсте мерних инструмената или стандарде података специфичних за одређену научну дисциплину (ако постоје).

2.2 Квалитет података и стандарди

2.2.1. Третман недостајућих података

а) Да ли матрица садржи недостајуће податке? Да **Не**

Ако је одговор да, одговорити на следећа питања:

- а) Колики је број недостајућих података? _____
- б) Да ли се кориснику матрице препоручује замена недостајућих података? Да **Не**
- в) Ако је одговор да, навести сугестије за третман замене недостајућих података

2.2.2. На који начин је контролисан квалитет података? Описати

Подаци су прикупљани из болничког информационог система, кроз доступну медицинску документацију.

Резултати додатних испитивања директно су унети у матрицу.

Квалитет података је контролисан применом различитих статистичких метода, валидацијом добијених података и поређењем са литературним подацима.

2.2.3. На који начин је извршена контрола уноса података у матрицу?

Контрола уноса података је вршена вишеструким личним проверавањима и независном провером од стране сарадника и ментора. Након тога су подаци уношени у матрицу

3. Третман података и пратећа документација

3.1. Третман и чување података

3.1.1. Подаци ће бити депоновани у репозиторијуму Универзитета у Новом Саду

3.1.2. URL адреса <https://cris.uns.ac.rs/searchDissertation.jsf>

3.1.3. DOI _____

3.1.4. Да ли ће подаци бити у отвореном приступу?

а) Да

б) Да, али после ембарга који ће трајати до _____

в) Не

Ако је одговор не, навести разлог _____

3.1.5. Подаци неће бити депоновани у репозиторијум, али ће бити чувани.

Образложење

3.2 Метаподаци и документација података

3.2.1. Који стандард за метаподатке ће бити примењен? _____

3.2.1. Навести метаподатке на основу којих су подаци депоновани у репозиторијум.

Ако је потребно, навести методе које се користе за преузимање података, аналитичке и процедуралне информације, њихово кодирање, детаљне описе варијабли, записа итд.

3.3 Стратегија и стандарди за чување података

3.3.1. До ког периода ће подаци бити чувани у репозиторијуму? **Трајно**

3.3.2. Да ли ће подаци бити депоновани под шифром? **Да** Не

3.3.3. Да ли ће шифра бити доступна одређеном кругу истраживача? **Да** Не

3.3.4. Да ли се подаци морају уклонити из отвореног приступа после извесног времена?

Да **Не**

Образложити

4. Безбедност података и заштита поверљивих информација

Овај одељак **МОРА** бити попуњен ако ваши подаци укључују личне податке који се односе на учеснике у истраживању. За друга истраживања треба такође размотрити заштиту и сигурност података.

4.1 Формални стандарди за сигурност информација/података

Истраживачи који спроводе испитивања с људима морају да се придржавају Закона о заштити података о личности (https://www.paragraf.rs/propisi/zakon_o_zastiti_podataka_o_licnosti.html) и одговарајућег институционалног кодекса о академском интегритету.

4.1.2. Да ли је истраживање одобрено од стране етичке комисије? **Да** Не

Ако је одговор Да, навести датум и назив етичке комисије која је одобрила истраживање

05.12.2017. Етички одбор Института за Онкологију Војводине 4/17/1-3862/2-20

4.1.2. Да ли подаци укључују личне податке учесника у истраживању? **Да** Не

Ако је одговор да, наведите на који начин сте осигурали поверљивост и сигурност информација

везаних за испитанике:

- а) Подаци нису у отвореном приступу
- б) Подаци су анонимизирани**
- ц) Остало, навести шта

5. Доступност података

5.1. Подаци ће бити

- а) јавно доступни ((након објављивања појединих публикација)**
- б) доступни само уском кругу истраживача у одређеној научној области
- ц) затворени

Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести под којим условима могу да их користе:

Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести на који начин могу приступити подацима:

5.4. Навести лиценцу под којом ће прикупљени подаци бити архивирани.

Ауторство – некомерцијално - без прераде. Дозвољава се умножавање, дистрибуција и јавно саопштавање дела, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце.)

6. Улоге и одговорност

6.1. Навести име и презиме и мејл адресу власника (аутора) података

Јелена Радић

vukojevic.jelena@gmail.com

6.2. Навести име и презиме и мејл адресу особе која одржава матрицу с подацима

Јелена Радић

vukojevic.jelena@gmail.com

6.3. Навести име и презиме и мејл адресу особе која омогућује приступ подацима другим истраживачима

Јелена Радић

vukojevic.jelena@gmail.com