



UNIVERZITET U NOVOM SADU  
MEDICINSKI FAKULTET  
NOVI SAD



Nemanja Petrović

**TERAPIJSKI I PROGNOŠTIČKI ZNAČAJ  
GUSTINE TUMORSKIH PUPOLJAKA  
KOD RESECIRANIH SINHRONIH I  
METAHRONIH JETRENIH METASTAZA  
KOLOREKTALNOG KARCINOMA**

**- DOKTORSKA DISERTACIJA -**

Mentori:

Prof. dr Ivan Nikolić

Prof. dr Tatjana Ivković-Kapicl

Novi Sad, 2020.



UNIVERSITY OF NOVI SAD  
FACULTY OF MEDICINE  
NOVI SAD



Nemanja Petrović

**THERAPEUTIC AND PROGNOSTIC  
SIGNIFICANCE OF TUMOR BURDEN  
DENSITY IN RESECTED SYNCHRONOUS  
AND METACHRONOUS LIVER  
METASTASES IN COLORECTAL  
CANCER  
- THESIS -**

Mentors:

Prof. dr Ivan Nikolić

Prof. dr Tatjana Ivković-Kapicl

Novi Sad, 2020.



## **Reč autora**

*Sam proces pisanja i izrade doktorske disertacije izgleda kao proces bez završetka. Uvek je prisutan osećaj borbe sa svojim mislima. Završetak ovog dugog procesa, iako je nekada delovao nezamislivo, bio je moguć zahvaljujući podršci mentora, kolega i prijatelja. Međutim, hteo bih da istaknem podršku moje porodice i verenice, a posebno roditelja koji su uvek uz mene i koji su bili i ostali moja najveća podrška.*

**Univerzitet u Novom Sadu**  
**Medicinski fakultet**

**KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA**

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada: VR	Doktorska disertacija
Autor: AU	Ass. dr Nemanja Petrović
Mentor: MN	Prof. dr Ivan Nikolić, vanredni profesor Prof. dr Tatjana Ivković-Kapicl, vanredni profesor
Naslov rada: NR	Terapijski i prognostički značaj gustine tumorskih pupoljaka kod reseciranih sinhronih i metahronih jetrenih metastaza kolorektalnog karcinoma
Jezik publikacije: JP	Srpski
Jezik izvoda: JI	Srpski/ Engleski
Zemlja publikovanja: ZP	Republika Srbija
Uže geografsko područje: UGP	Vojvodina

Godina: GO	2020.
Izdavač: IZ	Autorski reprint
Mesto i adresa: MS	21000 Novi Sad, Hajduk Veljkova 3
Fizički opis rada: FO	7 poglavlja/ stranica 76 / slika 1/ grafikona 22/ tabela 12/ referenci 167
Naučna oblast: NO	Medicinske nauke
Naučna disciplina: ND	Interna medicina, onkologija
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	kolorektalne neoplazme; metastatske neoplazme; antineoplastični hemoterapijski protokoli; bevacizumab; prognoza; neoplazme jetre; analiza preživljavanja; progresija bolesti <b>Ne MeSH:</b> tumorsko pupljenje
UDK	616.348/.35-006.6-085.38 616.348/.35-006.6-036.8/-037
Čuva se: ČU	U biblioteci Medicinskog fakulteta u Novom Sadu, Hajduk Veljkova 3
Važna napomena: VN	
Izvod: IZ	UVOD: Tumorsko pupljenje (TP) u karcinomu je morfološki fenomen koji predstavlja pojavu pojedinačnih ili malih grupa dediferentovanih tumorskih ćelija koje se na invazivnom frontu karcinoma odvajaju od glavne tumorske mase. Kod metastatskog kolorektalnog karcinoma (KRK) definitivno ne možemo odrediti pravi doprinos TP. CILJ: Cilj je bio da se ispita terapijski

	<p>patohistološki odgovor na primenjeni hemioterapijski režim, prognostički i nezavisni negativni značaj TP , kao i korelacija TP i terapijskog odgovora histološke regresije kod R0 reseciranih sinhronih i metahronih jetrenih metastaza KRK, koji su primali polihemioterapije po protokolu Folfox 4, sa i bez VEGF inhibitora – bevacizumaba (AV).</p> <p><b>METODOLOGIJA:</b> Studija je prospektivno – retrospektivna i obuhvata 77 bolesnika oba pola, uzrasta preko 18 godina, sa patohistološki verifikovanim jetrenim metastazama KRK, koji su operisani u Institutu za onkologiju Vojvodine u periodu od 1. maja 2007. do 1. juna 2017. godine. Od ukupno 120 bolesnika, njih 77 je ispunjavalo sledeće kriterijume: da je histološki dokazan metastatski adenokarcinom kolorektuma sa R0 resekcijom i da su preoperativno dobijali HT sa biološkom terapijom ili bez nje. Bolesnike smo podelili u dve grupe: KRK – sinhrona metastatska bolest i KRK – metahrona metastatska bolest. Nakon selekcije bolesnika, rađena je mikroskopska analiza rutinskih histoloških i imunohistohemijskih preparata i određivana je gustina TP, histološka regresija prema mTRG bodovanju komparirala se sa radiološkim odgovorom po RECIST-u. Događaji od interesa u kliničkom toku bolesti jesu progresija nakon hirurškog zahvata jetrenih metastaza i ukupno preživljavanje u periodu od 24 meseca.</p> <p><b>REZULTATI:</b> Nema statistički značajne patohistološke razlike u učestalosti lošijeg terapijskog odgovora (mTRG 3 – 5) u odnosu</p>
--	--

na bolji terapijski odgovor (mTRG 1, 2) između bolesnika sa sinhronom i metahronom metastatskom bolešću KRK, koji su lečeni hemioterapijskim protokolom Folfox4: 13 (76,5%) vs. 13 (72,2%);  $p = 0,774$ . Kod bolesnika sa sinhronim metastazama KRK, lečenih hemioterapijskim protokolom Folfox 4, postoji statistički značajna razlika u učestalosti preživljavanja tokom dve godine, i to kod bolesnika sa malom u odnosu na one sa velikom gustinom TP: 10 (90,9%) vs. 5 (55,6%);  $p = 0,049$ . Kod tih bolesnika, lečenih hemioterapijskim protokolom Folfox4/AV, postoji statistički značajna razlika u učestalosti preživljavanja tokom dve godine, i to kod bolesnika sa malom u odnosu na one sa velikom gustinom TP: 9 (100%) vs. 6 (33,3%);  $p = 0,048$ . Kod bolesnika sa metahronim metastazama KRK lečenih hemioterapijskim protokolom Folfox4, sa i bez AV, nema statistički značajne razlike u učestalosti preživljavanja tokom dve godine u odnosu na gustinu TP. Kod bolesnika sa sinhronim i metahronim metastazama KRK nema statistički značajne razlike u učestalosti lošijeg histološkog odgovora na terapiju (mTRG 3 – 5) kod onih sa malom u odnosu na one sa velikom gustinom (TP): (8 (50%) vs. 15 (78,9%);  $p = 0,072$  i TP: 8 (80%) vs. 13 (72,2%);  $p = 0,649$ ).

**ZAKLJUČAK:** Kod bolesnika sa sinhronim metastazama KRK lečenih hemioterapijskim protokolom Folfox4, sa i bez AV, postoji statistički značajna razlika u učestalosti preživljavanja tokom dve godine u odnosu na



	gustinu TP. Takođe, kod tih bolesnika velika gustina TP je nezavistan negativan faktor prognoze u odnosu na date terapijske režime, što se vidi u preživljavanju tokom dve godine.
Datum prihvatanja teme od strane Senata: DP	16.11.2017.
Datum odbrane: DO	
Članovi komisije: (Ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / stutus ) KO	

**University of Novi Sad**  
**Faculty of Medicine**

**KEY WORD DOCUMENTATION**

Accession number: ANO	
Indentification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	PhD thesis
Author: AU	Nemanja Petrović, MD, MSc
Mentor: MN	Prof. Ivan Nikolić, MD, PhD Prof. Tatjana Ivković-Kapicl, MD, PhD
Title: TI	Therapeutic and prognostic significance of tumor bud density in resected synchronous and metachronous liver metastases in colorectal cancer
Language of text: LT	Serbian
Language of abstract: LA	Serbian/ English
Country of publication: CP	Serbia
Locality of publication: LP	Vojvodina

Publication year: PY	2020.
Publisher: PU	Author reprint
Publication place: PP	21000 Novi Sad, Serbia, Hajduk Veljkova 3
Physical description: PD	7 chapters/ pages 76 / figures 1/ graphs 22/ tables 12/ references 167
Scientific filed: SF	Medicine
Scientific discipline: SD	Internal medicine/ Oncology
Subject/Key words: SKW	Colorectal Neoplasms; Neoplasm Metastasis; Antineoplastic Chemotherapy Protocols; Bevacizumab; Prognosis; Liver Neoplasms; Survival Analysis; Disease Progression <b>Non MeSH:</b> Tumor Budding
UC	616.348/.35-006.6-085.38 616.348/.35-006.6-036.8/-037
Holding data: HD	Library of Faculty of Medicine Novi Sad, Hajduk Veljkova 3 Novi Sad, Serbia
Note: N	
Abstract: AB	INTRODUCTION: Tumor budding (TB) in cancer is a morphological phenomenon representing the appearance of single or small groups of dedifferentiated tumor cells that separate from the main tumor mass on the invasive front of cancer. In metastatic colorectal cancer (MCC), the true contribution of TB cannot be determined. AIM: The aim was to investigate the

therapeutic pathohistological response to the applied chemotherapy, the prognostic and independent negative significance of TB, as well as the correlation of TB and the therapeutic response of histological regression in R0 resectable synchronous and metachronous liver metastases of MCC receiving polychemotherapy according to the Folfox 4 protocol, with and without VEGF inhibitors - bevacizumab (AV).

**METHODOLOGY:** The research was conducted as a prospective – retrospective study that included 77 patients of both sex, over 18 years of age, with pathohistologically verified MCC liver metastases, who underwent surgery at the Institute of Oncology of Vojvodina from 1st May 2007 until 1st June 2017. From 120 patients, 77 patients met the following criteria: they had histologically proven metastatic colorectal adenocarcinoma with R0 resection and also received preoperative chemotherapy with or without biological therapy. The patients were divided into two groups: MCC - synchronous metastatic disease and MCC - metachronous metastatic disease. After the patient selection, microscopic analysis of routine histological and immunohistochemical preparations was performed, the density of TB was determined, and the histological regression according to mTRG scoring was compared with a radiologic response according to the RECIST. The events of interest in the clinical course of the disease were the progression of hepatic metastases after surgery and overall survival during 24

months.

**RESULTS:** There is no statistically significant pathohistological difference in the incidence of worse therapeutic response (mTRG 3 - 5) compared to the better therapeutic response (mTRG 1, 2) between patients with synchronous and metachronous MCC who were treated with the Folfox4 chemotherapy protocol: 13 (76.5%) vs. 13 (72.2%);  $p = 0.774$ . In patients with synchronous MCC metastases treated with the Folfox 4 chemotherapy protocol, there was a statistically significant difference in the survival rates during two years particularly in patients with low versus high TB density: 10 (90.9%) vs. 5 (55.6%);  $p = 0.049$ . In those patients who were treated with the Folfox4 / AV chemotherapy protocol, there was a statistically significant difference in survival rates during two years particularly in patients with low TB density in reference to those with high: 9 (100%) vs. 6 (33.3%);  $p = 0.048$ . In patients with metachronous MCC metastases who were treated with the Folfox4 chemotherapy protocol, with and without AV, there was no statistically significant difference in survival rate during two years when referring to the TB density. In patients with synchronous and metachronous metastases, MCC has no statistically significant difference in the incidence of worse histological response to therapy (mTRG 3 - 5) in patients with low TB density versus the ones with high density (TB): (8 (50%) vs. 15 (78.9%);  $p = 0.072$  and TP: 8 (80%) vs. 13 (72.2%);  $p = 0.649$ ).

	<p>CONCLUSION: In patients with synchronous MCC metastases who were treated with the Folfox4 chemotherapy protocol, with and without AV, there is a statistically significant difference in survival rates during a two-year follow up when referring to the TB density. Also, the high density of TB is an independent negative prognostic factor in these patients in reference to the given therapeutic regimens, as seen in the two-year survival rate.</p>
Accepted on Senat on: AS	16.11.2017.
Defended: DE	
Thesis Defend Board: DB	president: member: member:

# SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1 Epidemiologija kolorektalnog karcinoma u svetu i Srbiji .....	1
1.2 Etiologija i patogeneza kolorektalnog karcinoma.....	4
1.3 Faktori rizika za nastanak kolorektalnog karcinoma .....	4
1.3.1 Promenljivi faktori rizika za nastanak kolorektalnog karcinoma .....	4
1.3.1.1 Ishrana bogata crvenim mesom.....	4
1.3.1.2 Ishrana bogata crvenim mesom.....	5
1.3.1.3 Alkohol i pušenje.....	5
1.3.1.4 Voće i povrće.....	5
1.3.1.5 Acetilsalicilna kiselina .....	6
1.3.2 Genetski (hereditarni) kolorektalni karcinomi.....	6
1.3.2.1 Familijarna adenomatozna polipoza (FAP).....	6
1.3.2.2 Hamartomatozni polipozni sindromi.....	6
1.3.2.3 Hamartomatozni polipozni sindromi.....	7
1.4 Lečenje metastatskog kolorektalnog karcinoma.....	7
1.4.1 Uvod .....	7
1.4.2 Molekularne karakteristike tumora (RAS i BRAF status).....	11
1.4.2.1 KRAS protein, onkogeneza, mutacioni status i značaj kod KRK.....	11
1.4.2.2 Monoklonska antitela na receptor epidermalnog faktora rasta (anti-EGFR terapija) i značaj određivanja RAS statusa kod KRK.....	12
1.4.2.3 BRAF protein, onkogeneza, mutacioni status i značaj kod KRK, kao i mikrosatelitski status.....	13
1.4.2.4 Procena opšteg stanja kod metastatskog kolorektalnog karcinoma .....	14
1.4.2.5 Lokalizacija primarnog tumora i njen značaj kod metastatskog kolorektalnog karcinoma.....	14
1.4.2.6 Terapijski tretman metastatskog kolorektalnog karcinoma – linije lečenja	16
1.4.2.7 Algoritam za lečenje metastatskog kolorektalnog karcinoma.....	18
1.4.2.8 Metastaze kolorektalnog karcinoma u jetru – konverzionu i neoadjuvantnu terapiju.....	20
1.4.2.8.1 Konverzionu terapiju metastatskog kolorektalnog karcinoma u jetri....	22
1.4.2.8.2 Neoadjuvantna terapija resektabilnih metastaza kolorektalnog karcinoma u jetri .....	25
1.5 Prognostički faktori kod metastaza kolorektalnog karcinoma u jetri .....	26

---

1.6 Tumorsko pupljenje i patohistološki odgovor jetrenih metastaza KRK na primenjene terapijske režime .....	28
1.6.1 Molekularne karakteristike tumora (RAS i BRAF status).....	28
1.6.2 Patohistološki odgovor jetrenih metastaza kolorektalnog karcinoma nakon terapije i resekcije .....	29
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA I RADNE HIPOTEZE .....	31
2.1 Epidemiologija kolorektalnog karcinoma u svetu i Srbiji .....	31
2.2 Radne hipoteze .....	32
3. BOLESNICI, MATERIJAL I METODE .....	33
3.1 Bolesnici i uzorci .....	33
3.2 Bolesnici i uzorci .....	34
4. REZULTATI .....	36
4.1 Starosna i polna struktura.....	36
4.2 Starosna i polna struktura.....	37
4.3 Sinhrona i metahrona metastaza kolorektalne bolesti – mKRC .....	37
5. REZULTATI .....	56
6. Zaključci .....	61
7. Literatura.....	62



# 1. UVOD

## 1.1 Epidemiologija kolorektalnog karcinoma u svetu i Srbiji

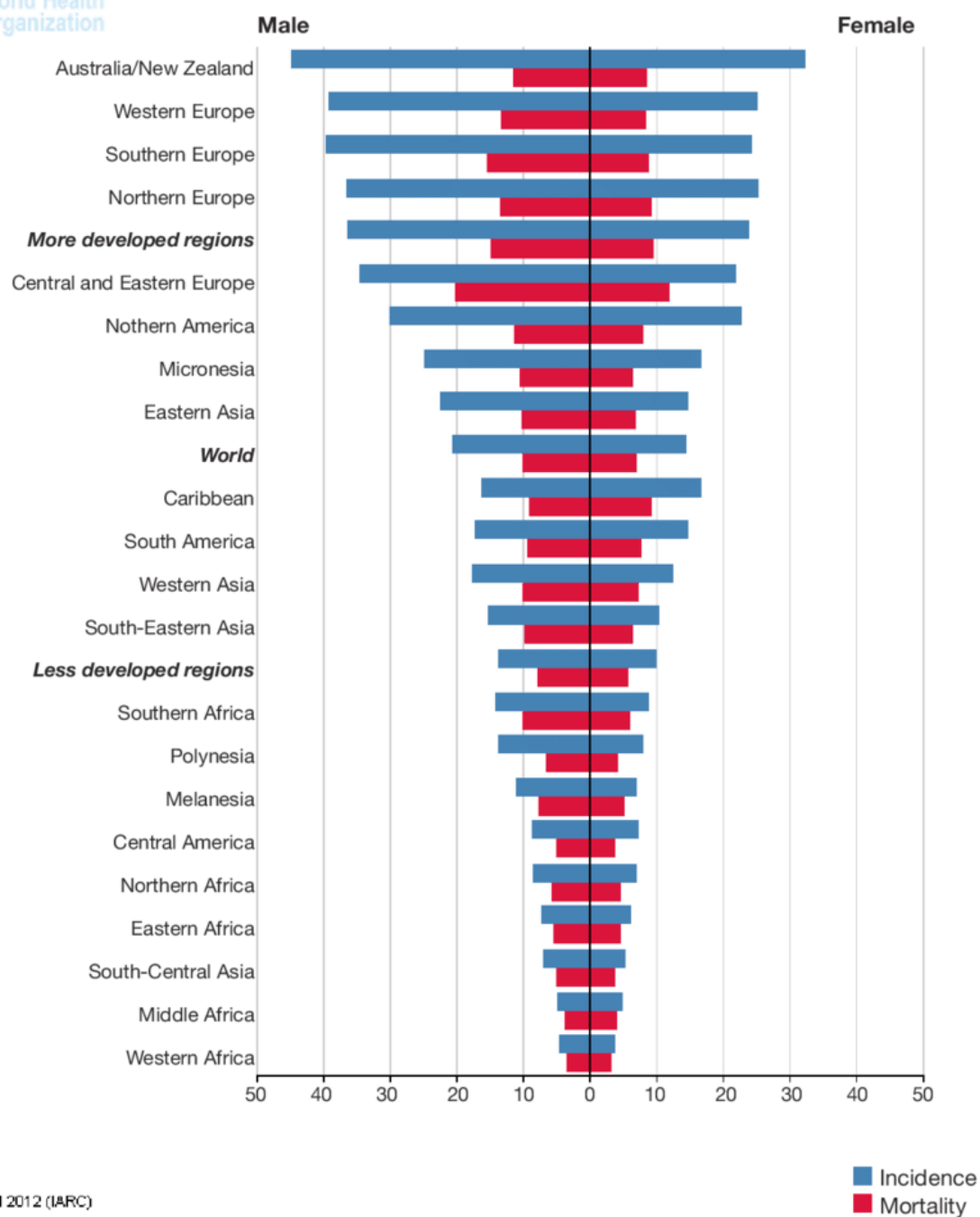
Kolorektalni karcinom (KRK) je treći po učestalosti maligni tumor u svetu kod oba pola. Prema GLOBOCAN procenama iz 2012. godine, prikazano u apsolutnim brojevima, od KRK je obolelo preko milion ljudi, uz nešto veću incidenciju kod muškaraca nego kod žena (1,22 : 1). Godišnje od KRK oboli 746.000 muškaraca i 614.000 žena. Prema mortalitetu, KRK se 2012. godine nalazio na četvrtom mestu u svetu – posle karcinoma pluća, želuca i jetre (Grafikon 1), a po podacima iz 2018. godine na drugom je mestu po mortalitetu (1, 2). Topografski gledano, najveća stopa incidencije KRK je prisutna u visokorazvijenim državama (Australija, Severna Amerika i Zapadna Evropa); tu pripada i Japan koji je posle Drugog svetskog rata imao nisku stopu incidencije ali je prihvatanje zapadnjačkog stila života dovelo do njenog porasta. Sjedinjene Američke Države (SAD) godinama unazad imaju trend smanjenja novoobolelih od KRK, a Francuska i Velika Britanija trend usporavanja i postizanje platoa u obolevanju od ove bolesti (1). Prema najnovijim podacima iz 2018. godine, u većini regiona u Južnoj Aziji i Africi prisutan je trend smanjenja incidencije karcinoma kolona i rektuma (2, 3).

Smatra se da je smanjenju stope incidencije doprinelo uvođenje organizovanih skrining programa, kao i kvantitativne i kvalitativne promene u faktorima rizika. U većini razvijenih država, na smanjenje stope mortaliteta u odnosu na stopu incidencije uticalo je pre svega otkrivanje karcinoma u početnom stadijumu, promene u faktorima rizika i novine u lečenju

uvođenjem ciljane terapije. Petogodišnje preživljavanje kod KRK u razvijenim zemljama je oko 60% , a oko 40% u zemljama Istočne Evrope (4).

U Republici Srbiji (bez Kosova i Metohije) 2010. godine je, prema objedinjenim podacima iz Registra za rak centralne Srbije i Registra za rak Vojvodine, bilo 5.000 novoobolelih i 2.700 umrlih od KRK.

Incidencija KRK u našoj zemlji veća je kod muškaraca, te je tako odnos novoobolelih muškaraca u odnosu na žene 1,45 : 1, a stopa raste sa godinama starosti kod oba pola. Zabeležen je porast broja obolelih osoba mlađih od 40 godina. Stopa mortaliteta obolelih od KRK u Srbiji iznosi 16,6/100.000 kod oba pola a, u poređenju sa drugim zemljama, Srbija spada među one sa visokim mortalitetom. Najnoviji podaci iz 2013. ukazuju da je te godine u Vojvodini bilo 1.312, a u centralnoj Srbiji 2.869 novoobolelih od KRK, dok je broj umrlih u Vojvodini bio 808, a u centralnoj Srbiji 1.811 za oba pola (5, 6).



GLOBOCAN 2012 (IARC)

Grafikon 1. Učestalost i mortalitet kolorektalnog karcinoma u svetu

Preuzeto iz : Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, 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.

## 1.2 Etiologija i patogeneza kolorektalnog karcinoma

Nastanak KRK se vezuje za starije životno doba i, samim tim, godine života predstavljaju najveći faktor rizika za obolevanje od ove bolesti. U oko 90% slučajeva KRK se javlja posle pedesete godine života, sa incidencijom obolevanja između četrdesete i pedesete, i pikom u ranim sedamdesetim godinama (7, 8). Većina skrining programa, kao i sami vodiči za dijagnostiku i lečenje KRK, preporučuju da je u slučaju pojave pre pedesete godine potrebno da se sprovede genetski skrining zbog naslednih sindroma (9).

Patogeneza velikog broja karcinoma, uključujući i KRK, veoma je kompleksna i nejasnog mehanizma. U suštini, KRK nastaje kao rezultat interakcije spoljašnjih i unutrašnjih (genetskih) faktora, bez konstantne proporcije u uticaju između ove dve grupe faktora. Etiološki, razlikujemo sporadični (90–95%) i hereditarni (5–10%) KRK (10). U najvećem broju slučajeva za nastanak KRK se vezuje adenom-karcinom sekvenca, a vremenski period za transformaciju adenoma u invazivni karcinom je 10 do 15 godina (11).

## 1.3 Faktori rizika za nastanak kolorektalnog karcinoma

Spoljašnje faktore rizika sporadičnog KRK delimo na nepromenljive i promenljive.

Nepromenljivi faktori rizika su godine i pol, pozitivna porodična anamneza za polipozu i KRK, inflamatorna oboljenja creva (ulcerozni kolitis i Kronova bolest) i druga oboljenja: dijabetes melitus tip 2, karcinom jajnika, dojke itd.

Promenljivi faktori rizika su ishrana bogata crvenim mesom i smanjen unos dijetetnih vlakana, konzumiranje alkohola i pušenje, gojaznost i fizička neaktivnost, i unos protektivnih faktora (voće i povrće, acetilsalicilna kiselina) i drugo (12, 13, 14).

### 1.3.1 Promenljivi faktori rizika za nastanak kolorektalnog karcinoma

#### 1.3.1.1 Ishrana bogata crvenim mesom

Brojne eksperimentalne studije se bave uticajem povećanog unosa mesa (svinjsko, goveđe), mesnih prerađevina i masnoća životinjskog porekla na porast rizika od nastanka KRK. Dnevni unos od 100 g ili 120 g crvenog mesa i mesnih prerađevina povećava rizik od obolevanja za 15–40%. Smatra se da supstance koje nastaju tokom termičke obrade ili konzerviranja mesa - aromatični ugljovodonici, heterociklični amini i N-nitrozoamini, dovode do KRK. U eksperimentalnim uslovima, ovi produkti dokazano izazivaju kolorektalni karcinom kod mnogih ogleđnih životinja, uključujući i primata. Međutim, koncentracija ovih

jedinjenja je kod oglednih životinja nekoliko puta veća nego ona kojoj su izloženi ljudi (15, 16). S epidemiološke tačke gledišta, KRK je češći u područjima gde se hrana životinjskog porekla konzumira više od hrane biljnog porekla (13).

### **1.3.1.2 Ishrana bogata crvenim mesom**

U brojnim radovima se navodi da su stil života i fizička aktivnost značajni faktori rizika za nastanak karcinoma rektuma. U većini razvijenih zemalja je prisutan sedentarni način života što predstavlja faktor rizika za KRK (17). Međutim, izolovani uticaj ovih faktora na pojavu KRK teško je proceniti bez konteksta ostalih faktora rizika. Gojaznost kao faktor rizika za razvoj KRK, češća je kod karcinoma kolona u odnosu na karcinom rektuma i kod muškaraca i kod žena, što je verovatno posledica smanjene osetljivosti na insulin, kao i uticaja estrogena na metabolizam.

### **1.3.1.3 Alkohol i pušenje**

Pušenje kao faktor rizika za razvoj KRK i ostalih karcinoma predmet je mnogih istraživanja. Smatra se da su nikotin i metaboliti duvana odgovorni za njihov nastanak – dovode do migracije malignih ćelija, povećavaju rizik za BRAF mutacije protoonkogeni kod KRK. Metaanalize ukazuju na to da pušači u odnosu na nepušače imaju za 1,2 puta veći rizik za nastanak KRK i 1,8 puta veći rizik za razvoj adenoma (19, 20).

Alkohol kao faktor rizika i njegova povezanost sa KRK uslovljeni su količinom unosa i tipom alkoholnog pića. „J” kriva predstavlja odnos između unosa i rizika za KRK, tj. manja količina pića ima veći efekat od potpune apstinencije. S druge strane, povećavanjem unosa alkohola povećava se i rizik za nastanak karcinoma (metaanaliza: 10 g alkohola na dan povećava rizik od KRK za 10%, a od karcinoma kolona za 8%), što je dokazano i u studiji rađenoj u Japanu. Određeni tip alkoholnog pića može imati i protektivnu ulogu, kao crveno vino koje sadrži fitonutrijente (npr. resveratrol) (12, 13, 21, 22).

### **1.3.1.4 Voće i povrće**

Određene studije i metaanalize ukazuju na značaj odnosa 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). Druge studije pak osporavaju protektivnu ulogu i nisu pokazale statistički značajno smanjenje incidencije KRK. Moguće objašnjenje za ovo verovatno leži u različitim ciljevima tih studija (incidencija 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 raka debelog creva (12, 13, 23).

### **1.3.1.5 Acetilsalicilna kiselina**

Acetilsalicilna kiselina ima protektivno dejstvo čiji se mehanizam ogleda u inhibiciji enzima ciklo-oksigenaza 2 (COX-2) (od ranije je dobro poznat lek Aspirin i njegovo antiinflamatorno dejstvo). Kod adenoma i KRK je povećana aktivnost enzima, a ekspresija izoenzima COX-2 je indukovana onkogenima, faktorima rasta i inflamatornim citokinima. Brojne studije se bave upotrebom nesteroidnih antiinflamatornih lekova (eng. *Nonsteroidal anti-inflammatory drugs*, NSAIDs), odnosno dozom i dužinom primene, neželjenim pojavama i preporukama za prevenciju kod osoba sa povećanim rizikom za razvoj KRK (24, 25).

## **1.3.2 Genetski (hereditarni) kolorektalni karcinomi**

Hereditarni KRK se mogu podeliti u tri glavne grupe sindroma:

- familijarna adenomatozna polipoza (FAP),
- hamartomatozni polipozni sindromi,
- hereditarni nepolipozni kolorektalni karcinom (HNPCK).

### **1.3.2.1 Familijarna adenomatozna polipoza (FAP)**

FAP sindrom je uzrok oko 1% slučajeva KRK. Uzrok FAP je promena na genu APC (*Adenomatosis Polyposis Coli*) koji se nalazi na dugom kraku hromozoma 5. Ovaj sindrom se manifestuje u vidu nekoliko stotina do nekoliko hiljada adenoma u svim delovima debelog creva, koji se razvijaju u ranom životnom dobu, a do četrdesete godine se kod 90% osoba otkrije KRK. Postoje četiri entiteta FAP: klasičan oblik, Gardnerov sindrom, Turcotov sindrom i atenuirani oblik (26).

### **1.3.2.2 Hamartomatozni polipozni sindromi**

Hamartomatozni polipozni sindromi su grupa polipoza koja se manifestuje u vidu multiplih hamartomatoznih polipa u različitim delovima digestivnog trakta, a nastaje zbog mutacije STK11 tumor-supresor gena. U ovu grupu spadaju: Peutz-Jeghersov sindrom, juvenilna polipoza, Cowdenov sindrom, i svi su u manje od 1% slučajeva uzrok nastanka KRK (27, 28).

### 1.3.2.3 Hamartomatozni polipozni sindromi

Hereditarni nepolipozni kolorektalni karcinom (HNPKK) je uzrok oko 3% slučajeva KRK. Ovde pripada Lynch sindrom 1 i 2 što je u osnovi genetski poremećaj tj. mutacija DNK u MMR genima (eng. *Mismatch Gens Repair*) koji predstavljaju grupu od najmanje 8 gena i tako čine genetski heterogeni sindrom. Deficijencija u MMR genima vodi do mikrosatelitske nestabilnosti (eng. *Microsatellite Instability*, MSI) tumora.

U ovu grupu se ubrajaju familijarni KRK tip X i MUTYH – udruženi KRK koji nemaju genetsku osnovu Lynch sindroma (bez MMR deficijencije). Lynch sindrom se manifestuje bez razvoja adenoma i uglavnom se otkriva u četrdesetim godinama života.

Lynch sindrom tipa 1 karakteriše pojava KRK uglavnom u desnom kolonu bez udruženih maligniteta, dok kod Lynch sindroma tipa 2 dolazi do pojave udruženih maligniteta (karcinom jajnika, endometrijuma i drugi).

Za dijagnozu HNPKK se koristi Amsterdamski kriterijum: patohistolški potvrđen KRK kod najmanje tri rođaka od kojih se kod jednog javlja u dve uzastopne generacije, u porodičnoj anamnezi pojava KRK pre 50. godine u jednom slučaju (27, 28, 29).

## 1.4 Lečenje metastatskog kolorektalnog karcinoma

### 1.4.1 Uvod

U savremenoj praksi, 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 (eng. *American Joint Committee on Cancer*, AJCC). Za određivanje stadijuma bolesti kod KRK u upotrebi su još i Dukesova i Astler–Collerova klasifikacija (30).

Razlika između TNM i druge dve klasifikacije je u stratifikaciji, detaljnosti, preciznosti, obeležavanju stadijuma bolesti (I–IV), te u kombinaciji kategorija T, N i M za svaki individualni tumor (Tabela 1). Određena TNM klasifikacija svrstava pacijenta u neku od grupa:

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

Postoje dva tipa određivanja stadijuma bolesti:

- klinički – kada se na osnovu pregleda, biopsije ili pomoću neke od imidžing tehnika dobija uvid u proširenost bolesti, i
- patološki – kada se nakon urađene hirurške intervencije postavlja dijagnoza (31).

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. T i N kategorije se nisu promenile. Pored toga, jasnije su definisane i patološki klasifikovane tumor in situ lezije (Tis), kao i T4a potkategorija. Takođe, u ovoj verziji vođena je 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 (32, 33).

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%

Tabela 1. Grupisanje u stadijume prema TNM klasifikaciji AJCC i poređenje sa Dukesovom kasifikacijom – prikazano petogodišnje preživljavanje i bolesnika (31)

#### **TNM klasifikacija kolorektalnog karcinoma – stadijum bolesti prema AJCC, 2018 (32):**

- **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**

Tx – primarni tumor ne može biti određen

T0 – nema prisustva primarnog tumora

Tis – 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 propria u perikolorektalno tkivo

T4a – primarni tumor probija serozu (visceralni peritoneum)

T4b – primarni tumor direktno vrši invaziju ili je adheriran na druge organe ili strukture

### **N kategorizacija**

Nx – 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, mezenteri ili u neperitonealnom perikolonu ili perirektalnom tkivu bez metastaza u regionalnim limfnim čvorovima

N2 – metastaze nađene u  $\geq 4$  regionalna limfna čvora

N2a – metastaze nađene u 4–6 regionalnih limfnih čvorova

N2b – metastaze nađene u  $\geq 7$  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  $\geq 2$  organa/mesta bez metastaza u peritoneumu

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

Radiološko praćenje terapijskog odgovora KRK vrši se prema RECIST (eng. *Response Evaluation Criteria in Solid Tumors*), tj. kriterijumima vrednovanja odgovora u slučaju solidnih tumora, a evaluacija se vrši svaka dva ili tri meseca u istim uslovima i istom metodom. Radiološki odgovor može biti:

- kompletna regresija bolesti (eng. *Complete Response*, CR) – nestanak svih praćenih promena,
- parcijalna regresija bolesti (eng. *Partial Response*, PR) – smanjenje promene u najdužem dijametru za najmanje 30%,
- progresija bolesti (eng. *Progressive Disease*, PD) – najmanje uvećanje promene u najdužem dijametru za 20%, i
- stabilna bolest (eng. *Stable Disease*, SD) – između PR i PD (34).

U rutinskoj praksi, za određivanje stadijuma bolesti KRK najčešće se koristi TNM klasifikacija. Bolesnici u metastatskoj bolesti (IV stadijum) leče se multimodalno i multidisciplinarno. Lečenje metastatske bolesti KRK vrlo je složeno jer se radi o heterogenoj bolesti. Po današnjim stavovima i konsenzus preporukama Evropskog udruženja za medicinsku onkologiju (European Society for Medical Oncology, ESMO) tretman je personalizovan, što podrazumeva da se terapija prilagođava svakom bolesniku pojedinačno. Na odluku i izbor personalizovanog terapijskog tretmana utiču sledeći faktori: karakteristike tumora, molekularne karakteristike tumora, preferencije i karakteristike bolesnika.

Karakteristike tumora obuhvataju: proširenost, resektabilnost i lokalizaciju tumora (levi i desni kolon). Obavezno je određivanje molekularnih karakteristika – RAS i BRAF statusa koji predstavljaju prediktivne i prognozne biomarkere, kao i određivanje MSI, dok određivanje transmembranskog humanog epidermalnog faktora rasta 2 (eng. *Human Epidermal Growth Factor Receptor 2*, HER2) tj. HER2 statusa nije standard pre započinjanja lečenja.

Pod karakteristikama bolesnika podrazumevaju se dob, komorbiditeti i opšte stanje (fit i non fit bolesnici) za šta se najčešće koristi ECOG (eng. *Eastern Cooperative Oncology Group*) performans status, dok se preferencije bolesnika tiču kvaliteta života i profila toksičnosti određenog terapijskog režima.

Metastatska bolest se uglavnom leči hemioterapijom (HT) koja može biti palijativna, neoadjuvantna i konverzionna, uz ciljanu ili bez ciljane (eng. *target*) terapije.

Neoadjuvantna terapija se primenjuje u slučaju resektabilne metastatske bolesti, a cilj joj je eradikacija mikrometastaza i kontrola sistemske bolesti.

Konverzionna terapija primenjuje se kod potencijalno resektabilne metastatske bolesti, s ciljem da prevede potencijalno granično resektabilne u resektabilne promene.

Hirurško lečenje resektabilnih promena je prvi izbor, jer predstavlja jedini kurativni vid lečenja.

Radioterapija je palijativna u slučaju lokalnog recidiva karcinoma rektuma i kod koštanih metastaza. U oligometastatskoj bolesti primenjuju se lokalni ablativni tretmani:

- radiofrekventna ablacija (RFA),
- stereotaksična ablativna radioterapija,
- radioembolizacija, transarterijska hemioembolizacija (eng. *TransArterial ChemoEmbolicisation*, TACE).

Supportivna terapija (eng. *Best Supportive Care*, BSC) u vidu infuzija, antidolorozne terapije, diuretske terapije uz abdominalne punkcije kod ascitesa, transfuzije krvnih derivata i ostali medikamentni i nemedikamentni vidovi lečenja imaju za cilj poboljšanje kvaliteta života. Nažalost, u nekim slučajevima je supportivna terapija i jedini vid lečenja zbog opšteg lošeg stanja i komorbiditeta bolesnika.

U Srbiji je 2013. godine uveden nacionalni vodič za dijagnostikovanje i lečenje raka kolona i rektuma. Svake godine se uvode novine i ažuriranja u vodičima za lečenje metastatskog KRK, npr. Panazijski konsenzus novina ESMO vodiča za lečenje metastatskog KRK (35, 36, 37).

## **1.4.2 Molekularne karakteristike tumora (RAS i BRAF status)**

### **1.4.2.1 KRAS protein, onkogeneza, mutacioni status i značaj kod KRK**

KRAS protein je genski produkt i pripada super-familiji malih vezujućih proteina GTP (guanintrifosfat proteini); mase tih monomera kreću se od 20 do 40 kDa. Pronađeno je 150 malih G proteina klasifikovanih u pet familija (RAS, RHO, RAB, SAR1/ARF i RAN).

RAS familija uključuje Harvey-Ras (HRAS), neuroblastoma-RAS (NRAS) i Kirsten-RAS (KRAS) proteine (38).

KRAS protein ima 188 aminokiselina i molekulsku 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 (39, 40).

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

- PLC - fosfolipazu C, RAL (aktivira se JNK signalni put - eng. *jun amino-terminal kinase*),
- RAF (čime se pokreće MAPK signalni put - eng. *mitogen-activated protein kinase*),
- PI3K - fosfatidil-inozitol-3 kinazu i biti u interakciji s mnogim signalnim putevima.

Aktivacija signalnih puteva i kod zdravih i kod neoplastičnih ćelija omogućava intenziviranu proliferaciju, deobu, regulisanje apoptoze, diferencijacije i angiogeneze; aktivaciju odgovarajućih mehanizama za popravku DNK (38, 41).

**KRAS mutacije u onkogenezi KRK.** Onkogeno forma KRAS je prisutna i kod drugih karcinoma, a najučestalija kod karcinoma pankreasa (preko 80%), KRK i karcinoma pluća (30– 50%) (42, 43). Tačkaste mutacije kod KRK su zastupljene u 95% slučajeva; one menjaju ulogu kodona 12 (82%) i 13 (17%) egzona 2, koji su odgovorni za sintezu trajno aktivnog KRAS proteina. Izgubivši normalnu funkciju dovodi do neregulisanje stimulacije nishodnih signalnih puteva (44). Takav KRAS protein doprinosi rastu tumora, invaziji okolnog tkiva, angiogenezi, formiranju metastaza, ali utiče i na ciljanu terapiju u lečenju metastatskog KRK (45, 46, 47).

Receptor epidermalnog faktora rasta (eng. *Epidermal Growth Factor Receptor*, EGFR) pripada Erb/HER familiji glikoproteinskih transmembranskih receptora sa tirozin-kinaznom aktivnošću. Prisutan je kod KRK u velikom procentu i predstavlja metu ciljane terapije monoklonalnim antitelima kao što su cetuksimab i panitimumab (razlika između njih je u tome što je panitimumab potpuno humano-IgG2 antitelo, dok je cetuksimab humano-mišje antitelo- IgG1 tip) (48).

#### **1.4.2.2 Monoklonalno antitelo na receptor epidermalnog faktora rasta (anti-EGFR terapija) i značaj određivanja RAS statusa kod KRK**

Analizirajući retrospektivno više kontrolisanih, randomizovanih studija lečenja metastatskog KRK (CRYSTAL, PRIME, FIRE-3, itd) procenjivao se efekat terapije monoklonalnim antitelima (cetuksimab/panitimumab) na receptor epidermalnog faktora rasta (EGFR) uz odgovarajuće HT režime. Analizom je obuhvaćeno 5.948 bolesnika. Konstatovano je da su efekti terapije monoklonalnim antitelima na EGFR bez bilo kakve RAS mutacije (N i

K) bili bolji u odnosu na one koje su imali RAS mutaciju, i to u smislu produženja ukupnog preživljavanja (eng. *Overall Survival*, OS) i perioda bez progresije bolesti (eng. *Progression Free Survival*, PFS) (49).

Evropska agencija za lekove (eng. *European Medicines Agency*, EMEA) je od 2004. godine ograničila upotrebu monoklonskih antitela (prvo cetuksimab, a potom 2006. panitimumab) na EGFR na bolesnike sa KRK kod kojih nisu nađene mutacije KRAS – „divlji“ tip KRAS (eng. *wild-type KRAS*, wt KRAS) tumora (50). Kod KRK su mnogo češće KRAS (43%) u odnosu na NRAS (4%) mutacije. Zato je u početku lečenja metastatske bolesti KRK monoklonskim antitelima (cetuksimab/panitimumab) dovoljno inicijalno odrediti da li se radi o wt KRAS – egzona 2 tipa tumora pa da bolesnici dobiju navedenu terapiju. RAS analiza je po ESMO konsenzusu obavezna pre započinjanja bilo kakvog lečenja metastatskog KRK. Testiranje bi trebalo da uključi najmanje egzone 2, 3, 4 za KRAS i NRAS, kao i kodone 12, 13, 59, 61, 117, a kodon 146 samo kod KRAS (35, 51).

#### **1.4.2.3 BRAF protein, onkogeneza, mutacioni status i značaj kod KRK, kao i mikrosatelitski status**

Tačkaste somatske mutacije u BRAF genu prisutne su kod različitih tumora, kao što su melanom (70%) i KRK (10–15%). Nemutirani BRAF gen je uključen u normalan ćelijski razvoj i sintezu familije RAF proteina koji igraju važnu ulogu u aktivaciji RAS/RAF/MAPK unutrašnjeg ćelijskog signalnog puta. BRAF protein je jedan od tri serin/treonin protein kinaze (veličine 766 AK i mase oko 84,4 kDa), a njegova aktivacija u ćeliji je zavisna od RAS proteina.

Kod 90% humanih maligniteta zamena valina u kodonu 600 egzona 15 glutamatskom kiselinom (p.V600E) čini BRAF missense mutacije. Izmenjene forme BRAF proteina su aktivne i sposobne da u monomernom obliku fosforilišu MEK na RAS-nezavisan način.

BRAF mutacije su jako važne u karcinogenezi mnogih zloćudnih tumora. Kod karcinoma kolona prisutne su u karcinogenezi na nivou polipa, dok se kod karcinoma rektuma BRAF mutacije retko dešavaju.

Uvođenje BRAF inhibitora (vemurafenib) kod BRAF mutiranih bolesnika u lečenju metastatskog melanoma doprinelo je poboljšanju OS, PFS i terapijskog odgovora (eng. *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 (43, 52, 53, 54, 55, 56, 57).

Određivanje MSI kod metastatskog KRK još uvek nema veliki značaj u lečenju ove bolesti, s obzirom na to da se MSI javlja kod 4–8% bolesnika. Studije CAIRO, CAIRO 2, FOCUS i COIN ukazuju da se kod BRAF mutacija metastatskog KRK češće javlja MSI nego mikrostelitska stabilnost (eng. *Microsatellite Stability*, MSS). Smatra se da bolesnici sa MSI fenotipom imaju lošu prognozu i preživljavanje. Međutim, MSI fenotip ima svoju prognostičku ulogu u planiranju adjuvantne terapije u II stadijumu bolesti (58, 59).

#### 1.4.2.4 Procena opšteg stanja kod metastatskog kolorektalnog karcinoma

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).

U onkologiji se najčešće primenjuje 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 HT režima sa ili bez target terapije (60).

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	Smrtan ishod

Tabela 2. Skala ECOG preformans statusa

#### 1.4.2.5 Lokalizacija primarnog tumora i njen značaj kod metastatskog kolorektalnog karcinoma

Levi i desni kolon se razlikuju anatomski, embriološki i fiziološki. Desni kolon je vaskularizovan ograncima gornje mezenterične arterije, a levi kolon i rektum iz donje mezenterične arterije.

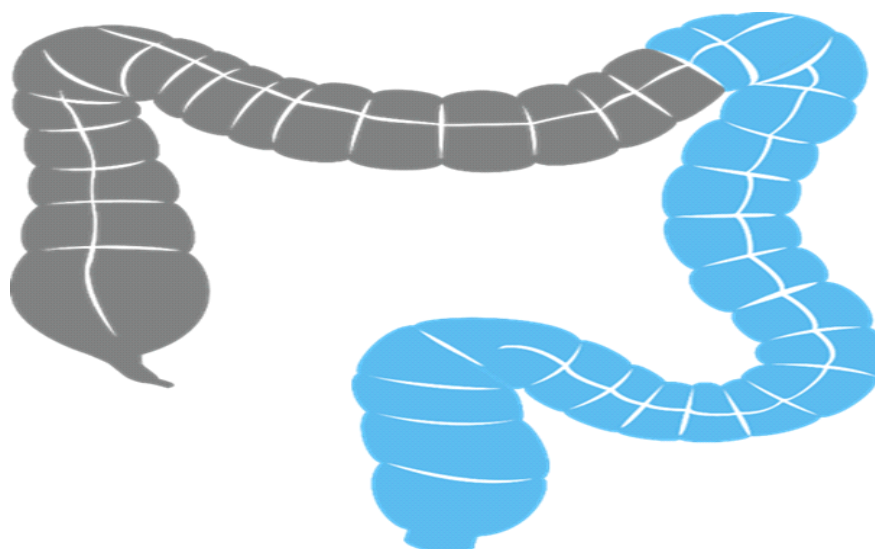
Embriološki, imamo prednje crevo (pluća, želudac, duodenum, gušterača), srednje crevo (jejunum, ileum, apendiks, desni kolon) i zadnje crevo (levi kolon i rektum).

Fiziološki i histološki, desni kolon vrši apsorpciju hranjivih materija i vode, ima izražene crevne resice, neutralni mucin, više imunoloških ćelija. Levi kolon pak ima ulogu u formiranju fecesa, sadrži veći broj bakterija i veći broj kancerogenih i mutagenih metabolita.

Desni i levi kolon genetski se razlikuju po ekspresiji za više od 350 gena.

Anatomska granica između levog i desnog kolona je levi (slezinski) zavijutak kolona (Slika 1). Desni kolon čine cekum, ascendens, desni (jetreni) zavijutak kolona i transverzum. Levi kolon čine levi (slezinski) zavijutak kolona, descendens, sigma i rektum. KRK je heterogena bolest, i u praksi je sve više prisutna podela na karcinom levog i desnog kolona, što bitno utiče na izbor terapije a samim tim i na prognozu i ishod lečenja (61, 62, 63, 64, 65).

## DESNI KOLON



## LEVI KOLON

Slika 1 Anatomski prikaz debelog creva

Karcinomi levog i desnog kolona se razlikuju po incidenciji, kliničkoj prezentaciji, molekularnim karakteristikama i prognozi. Daleko češće se javlja karcinom levog kolona (oko 72%) u odnosu na karcinom desnog kolona (oko 28%) (66).

Simptomi karcinoma levog kolona su često vidljiviji i karakterističniji: krvarenje, promene ritma pražnjenja stolice (naizmenično zatvor i proliv), promena forme stolice (u vidu olovke).

Karcinom rektuma se često može dijagnostikovati klinički digitorektalnim pregledom – digitorektalnim tušeom (DRT).

Simptomi karcinoma desnog kolona su diskretni: sideropenijska anemija, gubitak apetita i telesne težine, kasnije eventualno klinički palpabilna tumefakcija, bez promene ritma pražnjenja stolice. Obično su karcinomi desnog kolona višeg TNM stadijuma, većeg histološkog gradusa; češći je mucinozni tip, i uglavnom se radi o velikim tumorima sa lošim patohistološkim karakteristikama, a učestaliji je kod žena (61, 67, 68).

Molekularne karakteristike ukazuju na to da je veći procenat karcinoma levog kolona BRAF i KRAS nemutirani – wt u odnosu na karcinome desnog kolona. Visoka MIS i epigenetska nestabilnost ili metilacija CpG (CIMP) je više izražena kod karcinoma desnog kolona (69).

<b>Molekularni kancerogeni putevi</b>	<b>Konsenzus molekularni suptipovi</b>	<b>Morfološki višestepeni putevi karcinogeneze</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Mikrosatelitska nestabilnost</li> <li>- Epigenetska nestabilnost ili metilacija CpG ostrvaca</li> <li>- Hromozomska nestabilnost</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- CMS1 (MSI imuni)</li> <li>- CMS2 (kanonički)</li> <li>- CMS3 (metabolički)</li> <li>- CMS4 (mezenhimalni)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Klasični put (adenom-karcinom sekvenca)</li> <li>- Seratni put</li> </ul>

Tabela 3. Molekularni suptipovi i kancerogeni putevi kolorektalnog karcinoma

Metastatski KRK je heterogena bolest. Postoje četiri molekularna suptipa KRK: CMS1 (imuni), CMS2 (kanonički), CMS3 (metabolički) i CMS4 (mezenhimalni) (Tabela 3). Kod karcinoma desnog kolona najzastupljeniji je suptip CMS1 – oko 31%, dok je kod karcinoma levog kolona to suptip CMS2 – oko 56% (kod rektuma oko 51%) (65, 70, 71).

Lokalizacija tumora je prognostički faktor za preživljavanje. Faktori rizika za OS favorizuju karcinom kolona levo u odnosu na one na desnoj strani (metaanaliza 15 studija). Karcinom levog kolona je povezan sa značajno dužim OS u odnosu na karcinom desnog kolona (HR = 1,14; 95%CI 1,06–1,22; p < 0) (72).

#### **1.4.2.6 Terapijski tretman metastatskog kolorektalnog karcinoma – linije lečenja**

Izbor terapije i strategija lečenja metastatskog KRK su veoma složeni procesi i zahtevaju multidisciplinarni tim (MDT), koji sačinjavaju eksperti različitih specijalnosti iz ove oblasti (medikalni onkolog, hirurg, radioterapeut, patolog, itd). Brojni faktori utiču na strategiju i intenzitet lečenja: molekularne karakteristike – BRAF i RAS status, tumorske



---

karakteristike, lokalizacija, resektabilnost i proširenost po TNM klasifikaciji, i karakteristike bolesnika – fit i non fit (35, 36).

Izbor terapije i strategija lečenja metastatskog KRK su veoma složeni procesi i zahtevaju multidisciplinarni tim (MDT), koji sačinjavaju eksperti različitih specijalnosti iz ove oblasti (medikalni onkolog, hirurg, radioterapeut, patolog, itd). Brojni faktori utiču na strategiju i intenzitet lečenja: molekularne karakteristike – BRAF i RAS status, tumorske karakteristike, lokalizacija, resektabilnost i proširenost po TNM klasifikaciji, i karakteristike bolesnika – fit i non fit (35, 36).

Izbor prve linije u lečenju metastatskog KRK je temelj za sve ostale linije lečenja, kao i za OS bolesnika. Kohortna studija u Americi za period 2004–2011, uključila je 4.877 bolesnika sa metastatskim KRK koji su primali HT sa ili bez ciljane terapije kroz sve linije lečenja metastatske bolesti. Prvu liniju HT za lečenje metastatske bolesti je primilo 100% bolesnika, drugu 53%, treću 28%, a četvrtu liniju samo 13% bolesnika (73).

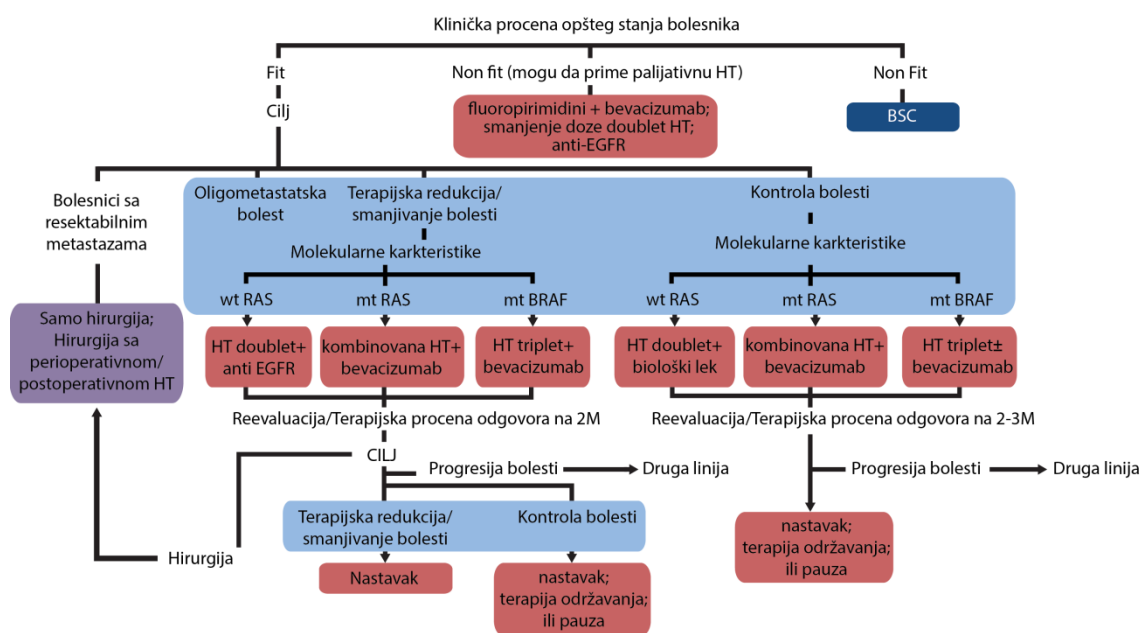
Personalizovani pristup za svakog pacijenta podrazumeva klinički pregled, patohistološku dijagnostiku, krvne analize (KKS i biohemija), onkomarkere CEA (karcinoembrionalni antigen) i CA 19-9 (karbohidratni antigen).

Radiološki stadijum bolesti (eng. *staging*): kompjuterizovana tomografija (CT) / magnetna rezonanca (MR) toraksa i abdomena sa ili bez male karlice, određuje se kod svih bolesnika sa metastatskim KRK.

Opšte stanje bolesnika u metastatskoj bolesti je nesumnjivo glavni faktor za prognozu i prediktor odgovora na HT, ono određuje intenzitet lečenja, tj. da li da se primeni kombinacija dva, tri ili četiri citostatika (doublet, triplet, itd) uz biološku terapiju, manje agresivniji tretman ili samo suportivna terapija.

Postoje tri strateške dileme na samom početku lečenja metastatskog KRK: da li se radi o resektabilnoj bolesti, o potencijalno resektabilnoj bolesti ili nereseptabilnoj bolesti. Na osnovu toga se planiraju intenzitet i cilj lečenja.

The National Comprehensive Cancer Network (NCCN) i ESMO preporučili su algoritam lečenja metastatskog KRK u svetu (Grafikon 2) (35, 36, 74, 75, 76, 77).



Grafikon 2. ESMO algoritam za lečenje metastatskog kolorektalnog karcinoma

#### 1.4.2.7 Algoritam za lečenje metastatskog kolorektalnog karcinoma

Prva linija za lečenje metastatskog KRK podrazumeva jednu kombinaciju HT režima sa:

- fluoropirimidinima tj. 5-fluorouracilom (5-FU) parenteralno intravenozno (i.v.) u kombinaciji sa leukovorinom (LV) ili folnom kiselinom,
- kapecitabinom per os kao monoterapija,
- oksaliplatinom u kombinaciji sa 5FU/LV (Folfox protokol) parenteralno i.v.,
- oksaliplatinom i.v. u kombinaciji sa per os kapecitabinom (Capox protokol),
- irinotekanom u kombinaciji sa 5FU/LV (Folfiri protokol) parenteralno i.v.,
- irinotekanom i.v. u kombinaciji sa per os kapecitabinom (Capiri protokol), i
- oksaliplatinom, irinotekanom, 5FU i LV (Folfoxiri protokol) i.v. (Tabela 4).

Prvi u rutinskoj praksi lečenja metastatskog KRK je svakako 5-FU (antimetabolit), čiji je mehanizam citotoksičnog dejstva inhibicija enzima timidilat-sintetaze (TS) i posledično stvaranje DNK, kao i preko fluorouridin-trifosfata (FUTP) koji se ugrađuje u RNK (ribonukleinska kiselina) i onemogućava njenu funkciju, a krajnji efekat je ćelijska smrt. Uz dodatak LV 5-FU povećava se i citotoksični efekat zbog produženog dejstva i intenziteta

inhibicije enzima TS 5-FU u sklopu HT protokola. Daje se bolusno i/ili kontinuirano infuziono, i od toga zavise efekat dejstva i toksični neželjeni efekti. Infuzioni 5-FU ima bolji terapijski odgovor u odnosu na bolusni 5-FU. Najčešće komplikacije su gastrointestinalne u vidu dijareje i mukozitisa, i hematološke u vidu neutropenije, i u većem procentu su prisutne kod bolusnog 5-FU.

Oksaliplatin je platinski derivat, alkilirajući spoj, a mehanizam dejstva mu je formiranje ireverzibilne veze sa DNK, što sprečava replikaciju i transkripciju DNK i dovodi do ćelijske smrti. U kombinaciji sa 5-FU pokazuje značajnu sinergističku aktivnost u lečenju metastatskog KRK nego sam, što je pokazano u ranim fazama studija za lečenje metastatskog KRK.

Mehanizam dejstva irinotekana je inhibicija enzima topoizomeraze koja dovodi do lomljenja, kidanja DNK lanca što za posledicu ima ćelijsku smrt. Može se dati kao monoterapija kod uznapredovalog KRK, posle neuspešnog lečenja 5-FU. Njegova aktivnost se još više ispoljava u kombinaciji sa ostalim citostaticima u sklopu HT režima za lečenje metastatskog KRK, kao i uz biološku terapiju (78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86).

Kombinacija fluoropirimidina sa oksaliplatinom i/ili irinotekanom predstavlja osnov za lečenje metastatskog KRK, jer nesumnjivo doprinosi boljem RR, PFS, pa i OS, u odnosu na terapiju samo fluoropirimidinima (87, 88).

Dodavanje biološke terapije sa inhibitorima vaskularnog endotelnog faktora rasta (eng. *Vascular Endothelial Growth Factor*, VGFR) – bevacizumab 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 (89, 90). 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 (49).

Druga linija za lečenje metastatskog KRK podrazumeva promenu HT režima nakon neuspeha tj. progresije bolesti. Kao što je navedeno, u prvoj liniji se lečenje započinje dubletima citostatika po protokolu Folfox4 ili Folfiri. Između njih nema zanačajnije razlike u PFS – medijana je 7 meseci, dok kod OS nema značajne statističke razlike (medijana je 15 meseci naspram 14 u korist Folfox4 režima). U slučaju progresije, oksaliplatin se menja irinotekanskim režimom i obrnuto, u kombinacijama sa ostalim citostaticima.

Rađena je komparacija i sa drugim režimima HT kao što su: Capox, Capiri, IFL (irinotekan, 5FU i LV), IROX (irinotekan i oksaliplatin). Suština je u tome da u prvoj liniji

možemo dati dublet HT po protokolu Folfox4 ili Folfiri bez uticaja na OS i PFS, kao što je već rečeno – sa ili bez biološke terapije, u zavisnosti od molekularnih i tumorskih karakteristika, i karakteristika bolesnika (91, 92, 93, 94, 95).

Sve gore navedeno, prikazano je u ESMO algoritmu za lečenje metastatskog KRK (Grafikon 2).

U trećoj liniji za lečenje metastatskog KRK, biološka anti-EGFR terapija (cetuksimab i panitimumab) efikasna je na OS kod RAS wt – bolesnika u odnosu na druge lekove. Cetuksimab i panitimumab su aktivni kako pojedinačno, tako i u kombinaciji sa irinotekanom. Regorafenib multikinazni inhibitor ima svoje mesto u lečenju metastatskog KRK nakon što su iscrpljeni svi prethodni vidovi lečenja, i pokazuje benefit u odnosu na najbolju simptomatsku terapiju ali se zbog velike toksičnosti koristi posebno obazrivo (96, 97, 98).

PROTOKOLI	OKSALIPLATIN	IRINOTEKAN	LEUKOVORIN	FLUOROURACIL (FU)/CAPECITABIN	PRIMENA
FOLFOX4	1 dan – 85 mg/m <sup>2</sup> 90 minuta		1. i 2. dan – 2 h 200 mg/m <sup>2</sup>	FU 1. i 2. dan (bolus 22h) 400 mg i 600 mg/m <sup>2</sup>	Na 2 nedelje
FOLFIRI		1 dan – 180 mg/m <sup>2</sup> 60 minuta	1. i 2. dan – 2 h 200 mg/m <sup>2</sup>	FU 1. i 2. dan (bolus 22h) 400 mg i 600 mg/m <sup>2</sup>	Na 2 nedelje
CAPOX	1 dan – 130 mg/m <sup>2</sup> 90 minuta			Capecitabin 1.000 mg/m <sup>2</sup> 1 – 14 dan	Na 3 nedelje
CAPIRI		1 dan – 180 mg/m <sup>2</sup> 60 minuta		Capecitabin 1.000 mg/m <sup>2</sup> 1 – 14 dan	Na 2 nedelje
FOLFOXIRI	1 dan – 85 mg/m <sup>2</sup>	1 dan – 165 mg/m <sup>2</sup>	1 dan – 2 h 400 mg/m <sup>2</sup>	FU 3.200 mg/m <sup>2</sup> – 48 h	Na 2 nedelje

Tabela 4. Najčešći protokoli u lečenju metastatskog KRK na bazi oksaliplatina i irinotekana

#### 1.4.2.8 Metastaze kolorektalnog karcinoma u jetru – konverzionna i neoadjuvantna terapija

Prema svetskim podacima, kod 20–34% bolesnika KRK se dijagnostikuje u metastatskoj fazi, oko 60% razvije metastatsku bolest u jetri u trenutku donošenja dijagnoze ili kasnije, a 80–90% bolesnika će imati metastatsku bolest koja nije resektabilna (99).

Stopa petogodišnjeg preživljavanja u IV stadijumu bolesti u slučaju karcinoma kolona je 10,4%, a u slučaju karcinoma rektuma 8% (100).

Najčešći putevi metastaziranja KRK su, kao i za ostale karcinome, limfogeni, hematogeni i diseminacija te proboj u okolne organe (per continuitatem). Metastaze KRK u jetri su najučestalije, a u 20% slučajeva su i jedino udaljeno metastatsko žarište; pored toga, metastatska mesta su peritoneum, pluća, i regionalni i udaljeni limfni čvorovi. Sinhronne metastaze u jetri javljaju se kod 15–20% novodijagnostikovanih KRK i otkrivaju se pre operacije ili intraoperativno. Kod preostalih KRK, u 20–30% slučajeva će se u daljem toku bolesti, nakon šest i više meseci, razviti metahrone metastaze u jetri, posle dijagnoze ili operacije primarnog tumora. Neki dokazi govore u prilog tome da su sinhronne metastaze u jetri češće povezane sa većim brojem nodusa, kao i bilobarnom bolešću, te da imaju lošiju i nepovoljniju biologiju u odnosu na metahrone metastaze. Kod sinhronne metastatske bolesti u jetri, s obzirom na to da je najčešće prisutan i primarni tumor, uvek postoji dilema vezana za dalju strategiju lečenja – stavovi su da bi je trebalo tretirati agresivnije uz preporuku da se koristi preoperativna sistemska terapija. I vodiči i različite studije ukazuju na to da ako imamo asimptomatski primarni tumor (bez krvarenja, opstrukcije, perforacije) nije indikovana profilaktička hirurška intervencija ili neka druga neoperativna intervencija (stent, radioterapija), već da bi trebalo inicijalno započeti sistemske lečenje dobro poznatima HT režimima sa i bez biološke terapije. Kod asimptomatskog primarnog KRK retke su komplikacije koje zahtevaju hitan hirurški ili neki drugi neoperativni tretman (krvarenje, ileus, perforacija). S druge strane, inicijalno uvođenje sistemske terapije donosi veliki benefit u PFS i OS, i postizanju sistemske kontrole bolesti, nakon čega može doći i do eventualnog radikalnog hirurškog lečenja u vidu metastazektomije jetre, kao i hirurškog lečenja primarnog tumora u istom ili odloženom aktu (klasični ili obrnuti pristup) (101, 102, 103, 104, 105, 106).

Nekoliko studija je pokazalo nisku stopu petogodišnjeg preživljavanja bolesnika sa neoperisanim jetrenim metastazama. Hirurško lečenje metastatske jetrene bolesti omogućava izlečenje kod ovakvih bolesnika, a petogodišnje preživljavanje bolesnika kojima je resecirana metastatska jetrena bolest je oko 20%, dok je nedavnom metaanalizom ustanovljeno preživljavanje od čak 38% (107, 108).

Pored ovog, metaanalize su pokazale da bolesnici sa solitarnim, operisanim metastazama u jetri imaju petogodišnje preživljavanje do 71% (109, 110).

Pojedine studije pokazuju da se nakon resekcije jetrenih metastaza KRK desetogodišnje preživljavanje bolesnika kreće od 24% do 28% (111, 112).

Prilikom planiranja resekcije jetrenih metastaza KRK važno je imati MDT (iskusnog hirurga, onkologa...) i stalnu komunikaciju između članova tima; isto tako, bitno je uzeti u obzir sve faktore loše prognoze. Nezavisni loši prognostički faktori su: sinhrona metastatska

bolest, visok CEA (preko 200), ekstenzivna ili bilobarna bolest u jetri, pozitivne resekcione margine, metastatski izmenjeni limfni čvorovi u okolini primarnog tumora. Definitivna odluka o podobnosti za resekciju ili odluka o potencijalnoj resektabilnosti od suštinskog je značaja u lečenju metastatske bolesti u jetri (106, 113, 114).

#### **1.4.2.8.1 Konverziona terapija metastatskog kolorektalnog karcinoma u jetri**

Većina bolesnika sa jetrenim metastazama KRK ima neresektabilnu bolest, a samo oko 20% inicijalno resektabilnu bolest (115). Bolesnici koji imaju metastatsku bolest ograničenu na jetru a smatraju se neresektabilnim zbog lokalizacije, veličine i broja promena, zahvatanja vitalnih struktura u jetri, kao i loših prognostičkih faktora, svakako su kandidati za pokušaj smanjenja promena sistemskom konverzionom terapijom, nakon čega dolazi pokušaj resekcije. Definicija neresektabilne bolesti – kada je reč samo o metastazama u jetri KRK – nije široko prihvaćena ako se bazira na gore navedenim parametrima. Takahashi S. i saradnici su predložili definiciju neresektabilnosti: multiple bilobarne jetrene metastaze koje zahtevaju resekciju više od 70% zdrave jetre za uklanjanje svih metastaza što ima za posledicu da ostatak jetre ne može obavljati svoje biološke funkcije (eng. *Future Liver Remnant*, FLR), tumori koji zahvataju krvne sudove (tri hepatične vene, levu i desnu granu hepatične arterije ili portne vene) i ekstrahepatične metastaze izuzev resektabilnih plućnih metastaza.

Konverziona terapija tj. terapija kojom se bolesnici prevode iz neresektabilnog u resektabilno stanje je sve više prihvaćena u lečenju metastatske bolesti KRK. Najbolji rezultati su postignuti kod bolesnika čija je bolest ograničena na jetru; predmet razmatranja je i bolest proširena na pluća, peritoneum i limfne čvorove. Bolesnici kod kojih je bolest proširena u više organa, s velikim brojem metastatskih sekundarnih depozita, svakako su loši kandidati za konverzionu terapiju, a mogućnost postizanja R0 resekcije nakon dobrog terapijskog odgovora na konverzionu terapiju je veoma mala. Ipak, u malom, visokoselektovanom broju slučajeva, bolesnici sa više zahvaćenih metastatskih organa (jetra i pluća) mogu biti kandidati za pokušaj radikalnog hirurškog zahvata nakon dobrog odgovora na konverzionu terapiju (116).

Kada se govori o vrsti hemioterapije koja bi mogla da se koristi kao konverziona, važno je naglasiti da bilo koji aktivni polihemioterapijski protokol može biti primenjen u ovu svrhu. Najčešće su to kombinacije koje uključuju fluoropirimidine, oksaliplatin i irinotekan. S obzirom na to da poslednja dva leka mogu izazvati sinusoidno oštećenje jetre (oksaliplatin) i steatohepatitis (irinotekan), preporuka je da se prilikom njihove upotrebe u sklopu preoperativne terapije jetrenih metastaza daje minimalan broj serija polihemioterapije.

Revizija bolesti se radi na dva do tri meseca do postizanja resektabilnosti, a resekciji se pristupa čim postoji radiološki (CT/MR) dobar odgovor koji bi išao u prilog mogućoj resektabilnosti. Folfox i Folfiri su dva standardna HT režima za nereseptabilni metastatski KRK u jetri. Nakon njihove primene, 24–52% bolesnika postaje resektabilno i podvrgava se operativnom tretmanu. Prema najnovijim podacima, konverzionu hepatektomiju omogućava petogodišnje preživljavanje bolesnika u 63–76% slučajeva (117, 118).

U italijanskoj studiji (Pozzo C. i saradnici), davana je konverzionu HT po protokolu Folfiri. Objavljeno je da je 32,5% bolesnika prevedeno iz nereseptabilnog u resektabilno stanje. Medijana PFS je bila 14,3 meseca, dok je medijana OS bila u praćenju od 19 meseci (119).

Druga studija sa 42 bolesnika tretirana protokolom Folfox pokazuje da je 25 (60%) odgovorilo na terapiju, a kod 17 (42%) je postignuta resektabilnost.

U najvećoj studiji sa 1.104 inicijalno nereseptabilna bolesnika tretirana polihemioterapijom po Folfox protokolu, kod 138 (12,5%) je postignuta resektabilnost, a petogodišnje preživljavanje je bilo 22% (120).

Dve kliničke studije poredile su primenu hemioterapijskog tripleta Folfoxiri sa dubletom Folfiri kod inicijalno nereseptabilnih bolesnika. U obe studije je pokazana superiornost tripleta koji je doveo do postizanja R0 resektabilnosti u 15% prema 6% slučajeva (Gruppo Oncologico Nord Ovest, GONO), i 10% prema 6% slučajeva (Gastrointestinal Committee of the Hellenic Oncology Research Group, HORG). Petogodišnje preživljavanje u GONO trajalo je bilo 15% prema 8% u korist tripleta, sa produženom medijanom OS – 23,4 meseca u odnosu na 16,7 meseci (121, 122).

Kombinacija dva standardna HT režima uz biološke target lekove (cetuksimab, panitimumab i bevacizumab) kod nereseptabilne metastatske bolesti predmet je ispitivanja u mnogim kliničkim studijama. Poznato je da oni doprinose bržem terapijskom odgovoru, smanjenju tumora, dužem OS i PFS. Svakako je važno u startu znati i molekularne karakteristike tumora – RAS i BRAF status; kao što je već rečeno, anti-EGFR terapija je moguća samo kod RAS nemutiranih bolesnika (123).

U nedavno objavljenoj studiji praćen je efekat polihemioterapijskih režima Folfox i Folfiri u kombinaciji sa anti-EGFR terapijom u postizanju resektabilnosti kod KRAS wild type tumora (bolesnici bez mutacija na egzonu 2). U studiji CELIM, faze II, bolesnici sa metastazama ograničenim na jetru randomizovani su u dve grupe – sa i bez anti-EGFR terapije. U grupi koja je primala anti-EGFR terapiju (cetuksimab) u kombinaciji sa Folfox i Folfiri protokolom procenat resektabilnosti je podignut sa 32%, koliki je bio pre tretmana, na

čak 60% kod KRAS wild type tumora. Konačna analiza je pokazala srednje preživljavanje od 35,7 meseci, bez razlike između dve hemioterapijske grane. Važno je napomenuti da su u ovu studiju bili uključeni KRAS wild type bolesnici, sa bolešću ograničenom na jetru (oni inače imaju bolji terapijski odgovor i ukupno bolju prognozu). Mana je što ne možemo da imamo jasan uvid u efikasnost jer se radi o dva različita HT režima kombinovana sa cetuksimabom, kao ni u pojedinačne efekte leka (124).

U nedavnoj metaanalizi koja je obuhvatila četiri randomizovane studije praćeni su KRAS wild type bolesnici sa metastazama u jetri. Uključena su 484 bolesnika tretirana polihemioterapijom, sa ili bez anti-EGFR terapije (cetuksimab i panitumumab). Pokazana je značajna razlika u postizanju R0 resektabilnosti u korist terapije kombinovane sa anti-EGFR u odnosu na samu hemioterapiju: 18% prema 11%. Takođe, zaključeno je da dolazi do produžetka PFS, ali nije uočena značajna razlika u OS. Uloga inhibitora VEGF – bevacizumaba razmatrana je u velikom broju studija. Podaci sugerišu da bevacizumab skromno povećava odgovor na terapiju u kombinaciji sa irinotekanskim protokolima (89, 125). S obzirom na to, kada se u konverzionoj terapiji koriste irinotekanski protokoli bevacizumab bi mogao biti logičan dodatak. S druge strane, dvostruko slepa placebo kontrolisana studija na 1.400 bolesnika koji su primali oksaliplatinске protokole (Folfox i Xelox) sa bevacizumabom ili placeboom nije pokazala benefit u odgovoru na terapiju. Jedino je nešto veći procenat bolesnika u grupi sa bevacizumabom upućen na resekciju metastaza u jetri (8,4% u odnosu 6,1%), ali bez statističke značajnosti. Imajući u vidu ove činjenice, prema najnovijom stavovima, dodatak bevacizumaba oksaliplatinским protokolima nije terapija izbora u pokušaju konverzije nereseptabilne metastatske bolesti u resektabilnu (126).

Multinacionalna otvorena OLIVIA studija – faze II uključila je ukupno 80 bolesnika sa nereseptabilnim metastazama KRK u jetri, podeljenih u dve grupe: jedna je primala bevacizumab i Folfoxiri HT protokol (triplet), a druga bevacizumab i Folfox6 HT protokol (dublet). Stopa resektabilnosti je bila 61% (triplet) i 49% (dublet), stopa R0 resekcije 49% (triplet) i 23% (dublet), a terapijski odgovor tumora je bio 81% (triplet) i 62% (dublet) uz bevacizumab. Doprinos bevacizumaba ne možemo da odredimo sa sigurnošću, s obzirom na to da je uključen u obe grupe a da je intenzitet određen dodavanjem trećeg citostatika; kao što znamo, sam Folfoxiri HT protokol (triplet) postiže visok terapijski odgovor (127).

Benefit bevacizumaba je značajan jer se može koristiti nezavisno od RAS i BRAF statusa u kombinaciji sa potentnim HT protokolima; takođe, bevacizumab doprinosi boljim rezultatima, dužem PFS i OS, kao i terapijskom odgovoru u svim linijama lečenja metastatskog KRK (90, 128).



#### 1.4.2.8.2 Neoadjuvantna terapija resektabilnih metastaza kolorektalnog karcinoma u jetri

Preporuka panela u sklopu NCCN kriterijuma lečenja KRK jeste da je u perioperativnom tretmanu resektabilnih metastaza u jetri indikovano davanje sistemske, neoadjuvantne/adjuvantne hemioterapije za metastatsku bolest jetre. Ovakvim pristupom se povećava mogućnost eradikacije mikroskopskih metastaza (76, 77). Metaanaliza koja je obuhvatila 642 operisana bolesnika sa kolorektalnim metastazama u jetri poredila je rezultate lečenja perioperativne HT i operacije u odnosu na inicijalni operativni tretman (129).

Pristup lečenju perioperativnom hemioterapijom je pokazao benefit u PFS, kao i u periodu bez bolesti (eng. *Disease Free Survival*, DFS), ali nije uočen benefit u OS. Izbor hemioterapijskih protokola uključuje procenu različitih faktora: opšteg stanja bolesnika, komorbiditete, prethodne hemioterapijske protokole, kao i terapijski učinak i njihove nuspojave. Pošto je dokazan benefit u adjuvantnom tretmanu KRK, kombinacija 5-FU i oksaliplatina predstavlja terapiju izbora u neoadjuvantnom režimu. Prema smernicama NCCN i ESMO, za biološku terapiju nema mesta u neoadjuvantnom režimu sem kod neresektabilne bolesti u sklopu konverzije terapije. U slučaju da dođe do progresije bolesti, moguće je razmotriti druge terapijske kombinacije. Preporučuje se ukupno šest meseci hemioterapije, po ugledu na adjuvantnu terapiju kod resekcije primarnog KRK. Hemioterapija se može dati nakon resekcije ili rasporediti u različitom broju serija pre i nakon operativnog tretmana (perioperativna hemioterapija) (130, 131).

Koji je od ovih pristupa najbolji i dalje nije potpuno jasno, i ne postoje dokazi koji bi dali prednost jednom u odnosu na drugi. Potencijalne prednosti perioperativnog hemioterapijskog tretmana su, kao što je napomenuto, eradikacija mikrometastaza ranim terapijskim pristupom, „sterilizacija“ ruba metastaza od malignih ćelija, određivanje terapijskog odgovora (radiološkog – CT/MR i patohistološkog) kako bi se mogla isplanirati najefikasnija postoperativna terapija, izbegavanje operativnog tretmana u slučaju brze progresije bolesti tj. loše biologije tumora. S druge strane, potencijalne mane perioperativnog hemioterapijskog pristupa uključuju propuštanje optimalnog termina za operativni zahvat zbog eventualne progresije bolesti, kao i „previše dobar“ odgovor na terapiju kada dolazi do radiološkog iščezavanja metastaza što otežava identifikaciju mesta resekcije (101, 132).

Takođe, hemioterapija može ispoljiti toksično dejstvo na jetreni parenhim. Oksaliplatin u preoperativnom tretmanu je povezan sa povećanom incidencijom jetrene sinusoidne dilatacije (eng. *blue liver*). Produžen tretman ovakvim protokolima na bazi oksaliplatina pokazuje viši perioperativni morbiditet. Kod bolesnika preoperativno tretiranih irinotekanom

dolazi do razvoja steatohepatitisa (eng. *yellow liver*), povećanog perioperativnog morbiditeta i mortaliteta (133, 134, 135).

Pored navedenog, u planiranju operativnog zahvata i perioperativne hemioterapije neophodna je i čvrsta veza i neprekidna komunikacija između medikalnog onkologa, onkološkog hirurga i radiologa. U slučaju neoadjuvantnog, preoperativnog pristupa potrebno je nakon dva, a najviše tri meseca (IV–VI serija) uraditi reevaluaciju bolesti kako bi se izbegle loše, a maksimalno iskoristile dobre strane ovakvog pristupa. U terapijskom planiranju se moraju uzeti u obzir karakteristike bolesnika, životna dob, komorbiditeti, odgovor na prethodne hemioterapijske protokole i nuspojave, kao i želja bolesnika i njegov stav prema terapijskom pristupu (35, 36, 76, 77).

## **1.5 Prognostički faktori kod metastaza kolorektalnog karcinoma u jetri**

Nekoliko grupa istraživača je ponudilo scoring skale koje bi mogle pomoći u selekciji bolesnika i planiranju strategije lečenja i, u isto vreme, pružiti uvid u prognozu bolesti.

Scoring sistemi Nordlingera, Fonga i Schindlea se sastoje od nivoa CEA, alkalne fosfataze (ALP), albumina, veličine i broja metastaza, vremena do pojave metastatske bolesti nakon resekcije primarnog tumora, statusa resekcionih margina, statusa limfnih čvorova tumora, prisustva recidiva ili ekstrahepatične metastatske bolesti. Smatra se da su oni sa niskim skorom kandidati za primarni hirurški zahvat bez prethodne sistemske terapije, dok bi kod bolesnika sa visokim skorom pre operativnog lečenja trebalo primeniti sistemsko lečenje.

S druge strane, Zakaria i sar. su primenili ovaj scoring sistem na grupi bolesnika lečenih na Mayo Klinici i našli da ni preživljavanje, a ni relaps bolesti nisu u korelaciji sa ovim scoringom. Kao prognostički faktor, detektovani su perioperativne transfuzije krvi i zahvaćenost hepatoduodenalnih limfnih čvorova tumorom (136, 137, 138, 139).

Blazer D. G. i sar. analizirali su grupu od 305 bolesnika tretiranih preoperativnom hemioterapijom sa irinotekanskim i oksaliplatinskim protokolima. Resecirane promene je pregledao patolog bez informacije o kliničkom toku, lečenju i ishodu. Patološki odgovor (eng. *Pathological Response*, PR) je označen kao srednja vrednost procenta vijabilnih tumorskih ćelija u pojedinačnim metastazama. U multivarijantnoj analizi samo su zahvaćenost resekcionog ruba tumorom i PR bili prediktori preživljavanja bolesnika. Kompletan patološki odgovor je bio povezan sa petogodišnjim preživljavanjem od 75%. Nažalost, ovakav odgovor je pronađen kod veoma malog broja bolesnika – oko 9% njih. Ovi podaci sugerišu da je PR

prediktor preživljavanja nakon preoperativne terapije, a procenat odgovora je svakako i prognostički indikator. Ograničenje ovog markera je u tome što se može proceniti tek nakon resekcije, a nikako za vreme terapije pa invazivnost same metode ograničava njenu upotrebu u preoperativnom periodu. Ovo nas dovodi do pitanja da li je radiološki odgovor (eng. *Radiologic Response*, RR) moguće izjednačiti sa PR. U Blazerovoj studiji nije nađena korelacija radiološkog odgovora i PR. Na osnovu standardnih radioloških kriterijuma (RECIST 1.1) nije moguće predvideti kompletan patološki odgovor. Vijabilne tumorske ćelije se nalaze u većini patoloških uzoraka tumorskog tkiva i ne mogu se vizualizovati radiološki, a ukoliko nisu resecirane dolazi do recidiva bolesti (32, 140).

Druga analiza Adama R. i sar. na 767 bolesnika pokazala je da je samo 4% njih imalo kompletan PR, a imidžing metode ni u jednom slučaju nisu pokazale nestanak metastaza. Kod onih koji su imali kompletan PR petogodišnje preživljavanje je bilo 76%, za razliku od onih koji nisu imali kompletan PR kada je petogodišnje preživljavanje bilo 45% (141).

U minucioznoj analizi patohistoloških uzoraka od strane Rubbia-Brandt L. i sar. obrađeno je 196 bolesnika operisanih od kolorektalnih metastaza u jetri; 65 bolesnika preoperativno nije primalo terapiju (ukupno 120 metastaza), dok je 112 tretirano preoperativnom sistemskom terapijom (ukupno 405 metastaza). Prema patohistološkoj slici, procentu vijabilnih tumorskih ćelija, nekroze i fibroze, promene su se karakterisale kao one sa kompletnim ili značajnim patohistološkim odgovorom ili slabim patohistološkim odgovorom. Stepen patohistološkog odgovora je značajno pozitivno korelirao sa trogodišnjim i petogodišnjim DFS, kao i ukupnim OS, dok su oni sa slabim patohistološkim odgovorom imali znatno slabiji procenat u trogodišnjem i petogodišnjem PFS i OS (142).

Pošto je dokazana nesumnjiva prediktivna važnost PR metastaza na primenjenu terapiju te slaba korelacija sa dosadašnjim RECIST, nameće se potreba za pronalaženjem novih radioloških kriterijuma koji bi bolje korelirali sa PR. U istraživanju Chuna Y. S. i saradnika, na 50 bolesnika (ukupno 234 metastaze) preoperativno tretiranih sistemskom terapijom u kombinaciji sa bevacizumabom, u kojem su morfološke promene jetrenih metastaza praćene pomoću CT, uočena je visoka, statistički značajna korelacija između ovih CT morfoloških promena i patohistološkog odgovora, te ukupnog preživljavanja bolesnika (143).

Nivo CEA u serumu je jedan od sastavnih elemenata u Fongovom prognostičkom skoru koji se koristi u planiranju neoadjuvantne terapije metastatske bolesti. Smatra se da bolesnici sa vrednostima CEA preko 200 imaju veću šansu za relaps bolesti nakon resekcije metastaza, te su kandidati za neoadjuvantnu terapiju (144).

Postoji još mnogo parametara koji predstavljaju prognostičke faktore u IV stadijumu bolesti KRK, uglavnom laboratorijskih, kao što su lakatat dehidrogenaza (LDH), odnos neutrofila i limfocita u beloј krvnoj lozi, nivo vitamina D u serumu, i svi oni su predmet brojnih istraživanja. Kao što je rečeno, tumori sa određenim molekularnim karakteristikama, a naročito s njihovim mutiranim formama, imaju lošiju prognozu i slabiji terapijski odgovor. Dakle, ne postoji standardan scoring sistem koji omogućava jasnu strategiju, prognozu i ishod lečenja u metastatskoј bolesti KRK (145, 146).

## **1.6 Tumorsko pupljenje i patohistološki odgovor jetrenih metastaza KRK na primenjene terapijske režime**

### **1.6.1 Molekularne karakteristike tumora (RAS i BRAF status)**

Tumorsko pupljenje u karcinomu je morfološki fenomen koji predstavlja pojavu malih grupa dediferentovanih tumorskih ćelija (do četiri ćelije) ili pojedinačnih tumorskih ćelija, koje „pupe“ sa tumorskih žlezdolikih formacija na invazivnom frontu karcinoma (147). Ove ćelije se mogu videti na standardnim histološkim rezovima, ali je nešto pouzdanija njihova vizualizacija pomoćnim imunohistohemijskim metodama (antitelom na pan-citokeratin ili neki drugi antigen specifičan za dati tumor) (148).

Studije objavljene poslednjih godina pokazale su statistički značajniju povezanost prisustva povećane gustine tumorskih pupoljaka (TP) i citoplazmatskih pseudofragmenata s lošijim ishodom bolesti. Dakle, prisustvo povećane gustine tumorskih pupoljaka (TP) i citoplazmatskih pseudofragmenata predstavlja nezavisni indikator lošije prognoze. Pomenute studije se bave ocenom uloge tumorskih pupoljaka kod lokoregionalnog KRK u II stadijumu (149, 150, 151, 152, 153, 154).

Tumorsko pupljenje visokog intenziteta dovodi se u vezu s predikcijom pojave metastaza u limfnim čvorovima u slučaju karcinoma koji infiltruju samo sluznicu i podsluznicu (T1 stadijum); moguće je identifikovati tumore sa većom gustinom TP, pa i veću verovatnoću prelaska u metastatsku bolest. Neki radovi osporavaju prognostički značaj jer je intenzivno TP zabeleženo samo u slučajevima sa lošim prognostičkim pokazateljima, kao što su limfovaskularna i perineuralna invazija. Nema radova koji se bave značajem i ulogom TP u metastatskoј bolesti KRK, niti njegovim uticajem na prognozu bolesti. No, mnogi radovi se bave značajem intenziteta TP za prognozu bolesti kod drugih karcinoma (dojke, jednjaka, pankreasa, itd) (155, 156, 157, 158).

U Institutu za onkologiju Vojvodine rađena je doktorska disertacija N. Šolajića o prognostičkom značaju TP i citoplazmatskih pseudofragmenta (CPF) kod bolesnika sa karcinomom kolona u II stadijumu bolesti. Dobijeni rezultati su potvrdili da je velika gustina TP/CPF (prisutna u 39,5% slučajeva) nezavisni indikator loše prognoze kod bolesnika sa karcinomom kolona u II stadijumu (radom je obuhvaćeno 114 bolesnika) (159).

TP u metastatskoj bolesti KRK nam ukazuje da smo još uvek na samom početku i da su potrebna dalja istraživanja na subpopulaciji bolesnika koji imaju ograničenu metastatsku bolest u jetri. Svakako su neophodna i ispitivanja u pravcu molekularnih karakteristika i patohistoloških faktora u metastatskoj bolesti (TP, dediferentovane klaster ćelije, peritumorska i tumorska inflamacija, prisustvo i odsustvo pseudokapsule, limfovaskularna invazija, portna invazija, itd). Takođe, važno je proučiti efekat i uticaj različitih terapijskih režima (na primer, vezu RAS statusa, efekta anti-EGFR terapije i TP) (160, 161, 162, 163).

### **1.6.2 Patohistološki odgovor jetrenih metastaza kolorektalnog karcinoma nakon terapije i resekcije**

Stepen tumorske regresije (eng. *Tumor Regression Grade*, TRG) kako su ga definisali Rubbia- Brandt L. i sar. 2007. godine:

- TRG 1 - odsustvo tumorskih ćelija koje su zamenjene obilnom fibrozom
- TRG 2 - rezidualno prisustvo tumorskih ćelija i bogata fibroza
- TRG 3 - velika količina rezidualnih tumorskih ćelija i dominantna fibroza
- TRG 4 - tumorske ćelije prevladavaju nad fibrozom, i
- TRG 5 – prisutne samo tumorske ćelije bez fibroze.

Prisustvo rezidualnih tumorskih ćelija je bodovano – određeno za svaku jetrenu metastazu KRK prema modifikovanom gradusu tumorske regresije (eng. *modified Tumor Regression Grade*, mTRG), koji je sličan tumor-gradusu regresije (TRG), sa izuzetkom da se infarkt-slična lezija smatra ekvivalentom fibroze. Rezultat je kategorisan u tri grupe, uz korišćenje ranije objavljenih vodiča:

- mTRG 1 i mTRG 2 – potpun ili velik histološki odgovor
- mTRG 3 – delimičan histološki odgovor
- mTRG 4 i mTRG 5 – nema histološke regresije ili odgovora (164, 165).

Ranije pomenuti režimi, dubleti HT i tripleti kao što je režim Folfoxiri, pokazuju dobar terapijski odgovor, kontrolu same bolesti i R0 hiruršku resekciju u visokom procentu, dok je upotreba monoklonskih antitela anti-VEGF i anti-EGFR u širokoj primeni u sklopu

konverzije terapije standardnim HT režimima (Folfox4 i Folfiri) kod metastatskog KRK u jetri, kao i u ostalim linijama lečenja kod metastatske bolesti.

Određene studije se bave komparacijom patohistološkog odgovora i kliničkog ishoda. PR je svakako i prognostički indikator; kao što je ranije rečeno, oni koji su imali kompletan patološki odgovor dosegli su petogodišnje preživljavanje od 76%, za razliku od onih koji ga nisu imali – petogodišnje preživljanjanje je bilo 45%. Ograničenja ovog markera su u tome što se može proceniti tek nakon resekcije, a nikako za vreme same terapije pa invazivnost metode ograničava njenu upotrebu u preoperativnom periodu (140, 141, 166, 167).

## **2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA I RADNE HIPOTEZE**

U dostupnoj medicinskoj literaturi nema radova i publikacija u vezi sa značajem tumorskog pupljenja u metastatskoj bolesti KRK. S obzirom na to da se bolest dijagnostikuje kasno – u III i IV stadijumu, i da takvi bolesnici imaju lošu prognozu i preživljavanje, ovo istraživanje bi doprinelo novim saznanjima i uticalo na izbor lečenja metastatskog KRK. Patohistološki nalaz nakon hirurgije jetrenih metastaza KRK veoma je značajan jer daje uvid u to kakav je histološki odgovor na primenjenu terapiju, informiše o tipu resekcije (R0/R1), ukazuje na biologiju tumora i tok bolesti. Iz operativnog materijala, tehnikom lančane reakcije polimeraze može se ustanoviti eventualno postojanje genetskih mutacija, što je značajno za dalji napredak biološke terapije.

### **2.1 Epidemiologija kolorektalnog karcinoma u svetu i Srbiji**

Ciljevi istraživanja su da se dodatnom analizom, van rutinske patološke prakse, ispita:

1. Da li postoji patohistološka razlika u terapijskom odgovoru kod sinhronih i metahronih jetrenih metastaza KRK, kod bolesnika koji su dobijali polihemioterapiju po protokolu Folfox4;
2. Da li postoji prognostički značaj tumorskog pupljenja u slučaju sinhronih i metahronih jetrenih metastaza KRK;
3. Korelaciju gustine tumorskih pupoljaka i terapijskog odgovora histološke regresije kod R0 resekcije sinhronih i metahronih jetrenih metastaza, i

4. Da li tumorsko pupljenje može biti nezavisni negativni faktor prognoze u odnosu na date polihemioterapije po protokolu Folfox4, sa i bez VEGF inhibitora – bevacizumaba.

## **2.2 Radne hipoteze**

1. Patohistološki sinhronne jetrene metastaze kolorektalnog karcinoma imaće lošiji terapijski odgovor na datu polihemioterapiju po protokolu Folfox4 nego metahrone metastaze.

2. Veća gustina tumorskih pupolja kod sinhronih i metahronih jetrenih metastaza ukazuje na lošiju prognozu.

3. Terapijski odgovor histološke regresije će izostati u slučaju veće gustine tumorskih pupolja nakon R0 resekcije sinhronih i metahronih jetrenih metastaza.

4. Tumorsko pupljenje je nezavisan negativan faktor prognoze u odnosu na date polihemioterapije po protokolu Folfox4, sa i bez VEGF inhibitora – bevacizumaba.



## **3. BOLESNICI, MATERIJAL I METODE**

### **3.1 Bolesnici i uzorci**

Studija je dizajnirana kao prospektivno – retrospektivna i obuhvata 77 bolesnika oba pola, uzrasta preko 18 godina, sa patohistološki verifikovanim jetrenim metastazama KRK, koji su operisani u Institutu za onkologiju Vojvodine u periodu od 1. maja 2007. do 1. juna 2017. godine. Od ukupno 120 bolesnika, njih 77 je ispunjavalo sledeće kriterijume: da je histološki dokazan metastatski adenokarcinom kolorektuma sa R0 resekcijom i da su preoperativno dobijali HT sa biološkom terapijom ili bez nje. Bolesnike smo podelili u dve grupe: KRK – sinhrona metastatska bolest i KRK – metahrona metastatska bolest.

U grupu metahrone metastatske bolesti uključeni su i bolesnici koji su startno operisali jetrene metastaze i nisu dobijali terapiju po protokolu Folfox4, dok su u grupu sinhrona metastatske bolesti uvršteni bolesnici koji su dobijali terapiju po protokolu Folfox4 i oni koji su uz Folfox4 dobijali i VEGF-inhibitor bevacizumab (AV). Radilo se isključivo o IVa stadijumu bolesti po TNM klasifikaciji, koja je bila ograničena na jetru kao jedino udaljeno metastatsko žarište. Podaci iz patoloških izveštaja, iz izveštaja bolničkih hospitalizacija, ambulantnih kontrola i sa onkoloških komisija od interesa u kliničkom toku bolesti, u celosti su dobijeni iz bolničkog informacionog sistema Instituta za onkologiju Vojvodine, a iz studije su isključeni oni bolesnici u čijem su praćenju kliničkog toka bolesti nedostajali podaci iz bolničkog informacionog sistema.

## 3.2 Bolesnici i uzorci

Nakon selekcije bolesnika kod kojih je izvršena R0 resekcija sinhronih i metahronih jetrenih metastaza u IV stadijumu bolesti, svetlosnim mikroskopom su analizirani histološki preparati napravljeni od isečaka fiksiranih u formalinu i kalupljenih u parafin, i to sa invazivnog fronta tumora. Ovi preparati su nakon sečenja na rezove debljine 4  $\mu\text{m}$  bili deparafinirani, dehidrirani i bojani standardnim histološkim metodama (hematoksilin i eozin), kao i imunohistohemijski – tehnikom imunoperoksidaze sa hematoksilinskim kontrastnim bojenjem, antitelom na citokeratin koji se eksprimira u karcinomu kolona (citokeratin 20).

Pošto je izvršena deparafinizacija i blokiranje endogene peroksidaze tropostotnim rastvorom  $\text{H}_2\text{O}_2$  u trajanju od 5 minuta, isecci su zbog demaskiranja antigena tretirani sa 10 mM citratnim puferom (0,1 M limunska kiselina  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ , 0,1 M natrijum citrat  $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7$ , pH 6,0) u mikrotalasnoj rerni, 2 puta po 10 minuta, nakon čega su bili ispirani dejonizovanom vodom. Isecci su inkubirani 30 minuta na sobnoj temperaturi anti-CK20 antitelom (proizvođač „DAKO”, Danska), zatim još 30 minuta streptavidin-peroksidaza kompleksom. Kao hromogeni supstrat korišćen je 3-amino-9-etilkarbazol (proizvođač „DAKO”, Danska). Nakon svakog inkubiranja uzorci su ispirani u TRIS puferisanom rastvoru (TBS: 0,05 M, pH 7,6), a potom kontrastno bojani hematoksilinom.

Imunohistohemijska analiza je vršena svetlosno-mikroskopski, kvalitativno i semikvantitativno, uz kontrole.

Metodologija određivanja gustine TP je bila sledeća: nakon definisanja područja sa najvećom gustinom TP na skenirajućem uveličanju  $\times 200$  (objektiv 20) svi tumori su, prema preporuci Ueno H. i saradnika (149), podeljeni na grupu sa malom gustinom TP (0–9 po vidnom polju) i grupu sa velikom gustinom TP (10 i više po vidnom polju). Histološka regresija prema mTRG bodovanju na primenjenu terapiju komparirala se sa radiološkim odgovorom po RECIST. Pripadnost bolesnika ovim grupama je korelirana sa terapijskim i radiološkim odgovorom, kao i sa PFS i OS. Podatak o dijametru jetrene metastaze KRK dobijen je iz makroskopskog opisa u patohistološkom izveštaju. Događaji od interesa u kliničkom toku bolesti jesu progresija nakon hirurškog zahvata jetrenih metastaza i ukupno preživljavanje u periodu od 24 meseca.

U radu su, od metoda deskriptivne statistike, primenu našle mere centralne tendencije - aritmetička sredina, mere varijabiliteta – standardna devijacija, kao i relativni brojevi.

Od metoda analitičke statistike korišćene su metode identifikacije empirijskih raspodela, metode za procenu značajnosti razlike i to: u zavisnosti od tipa raspodele podataka t-test, Mann-Whitney U test i  $\chi^2$  test.

Za procenu značajnosti povezanosti ulaznih varijabli i ishoda, korišćene su univarijantna i multivarijantna Cox proporcionalna hazardna regresiona analiza, kao i logistička regresiona analiza.

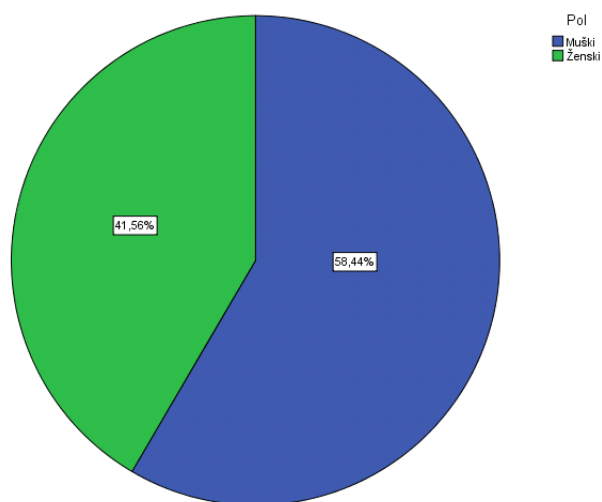
Kaplan–Meierove krive su korišćene da se proceni stopa ishoda za praćene varijable tokom dve godine.

Za statističku obradu korišćen je SPSS program.

## 4. REZULTATI

### 4.1 Starosna i polna struktura

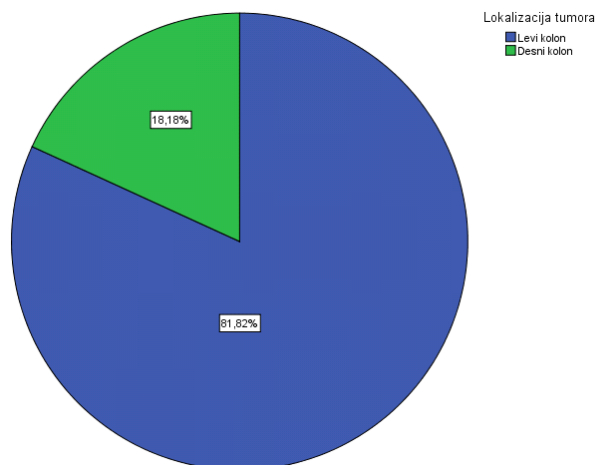
U studiju je uključeno 77 bolesnika sa kolorektalnim karcinomom, čija je prosečna starost u vreme postavljanja dijagnoze bolesti bila  $61,92 \pm 9,97$  godina (medijana 63 godine, a raspon od 37 do 77 godina), od kojih je 45 (58,4%) bilo muškog pola (Grafikon 3).



Grafikon 3. Polna struktura bolesnika u studiji

## 4.2 Starosna i polna struktura

Kod 63 (81,8%) bolesnika tumor je bio lokalizovan u levoj polovini debelog creva, dok je kod 14 (18,2%) bolesnika bolest lokalizovana u desnom kolonu (Grafikon 4).



Grafikon 4. Lokalizacija tumora bolesnika u studiji

## 4.3 Sinhrona i metahrona metastaze kolorektalne bolesti – mKRRK

Sinhronu metastatsku bolest imao je 41 (53,2%) bolesnik, a metahronu 36 (46,8%) bolesnika.

**U vreme postavljanja dijagnoze, bolesnici sa metahronom metastatskom bolešću su bili stariji od bolesnika sa sinhronom metastatskom bolešću, što je visokostatistički značajno ( $65,19 \pm 8,17$  vs.  $59,05 \pm 10,60$  godina;  $p = 0,006$ ).**

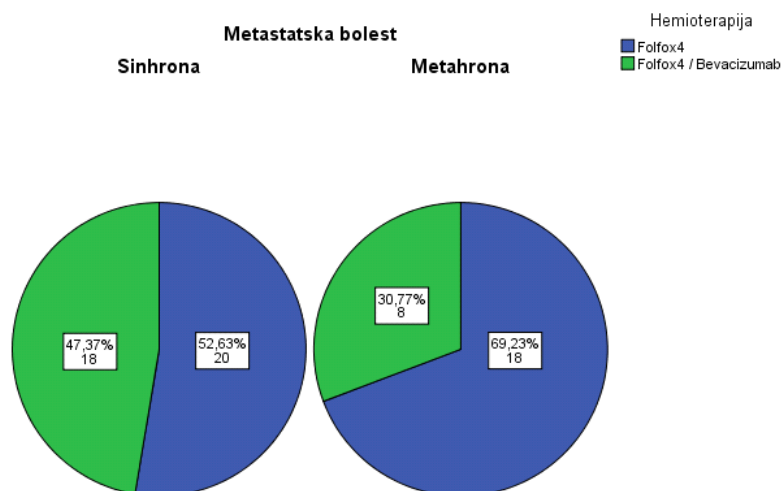
Nije bilo statistički značajne razlike po polu između bolesnika sa sinhronom metastatskom bolešću: muški pol – 22 (48,9%), ženski – 23 (51,1%), i metahronom metastatskom bolešću: ženski pol – 19 (59,4%), muški – 13 (40,6%);  $p = 0,363$ .

Statistički nije bilo značajne razlike u učestalosti lokalizacije tumora na desnoj u odnosu na levu polovinu debelog creva između bolesnika sa sinhronom i metahronom metastatskom bolešću: desna polovina debelog creva 7 (17,1%), leva 7 (19,4%);  $p = 0,788$ .

Od 36 bolesnika sa metahronom metastatskom bolešću kod 10 (27,8%) metastatska bolest je startno operisana, dok je to učinjeno kod 3 (7,32%) od 41 bolesnika sa sinhronom metastatskom bolešću. Hemioterapijom je lečeno 26 (69,44%) bolesnika sa metahronom i 38 (92,68%) bolesnika sa sinhronom metastatskom bolešću.

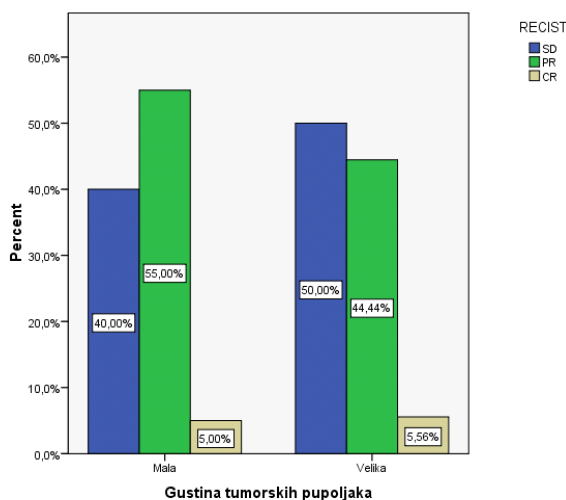
Terapijski protokol Folfox4 je primenjen kod 38 (60,3%), a Folfox4/AV kod 26 (39,7%) bolesnika. Nije bilo statistički značajne razlike u učestalosti primene ova dva terapijska

protokola kod bolesnika sa sinhronom i metahronom metastatskom bolešću ( $p = 0,124$ ) (Grafikon 5).



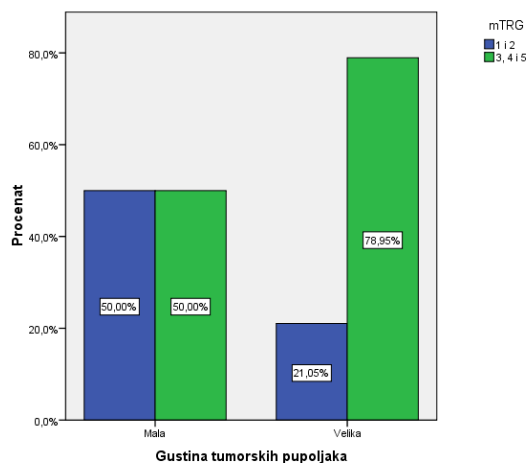
Grafikon 5. Učestalost različitih terapijskih protokola u odnosu na tip metastatske bolesti kolorektalnog karcinoma

U grupi bolesnika sa sinhronim metastazama nema statistički značajne razlike u učestalosti različitog stepena radiološkog odgovora na terapiju kod onih sa malom u odnosu na one sa velikom gustinom tumorskih pupoljaka ( $p = 0,807$ ) (Grafikon 6).



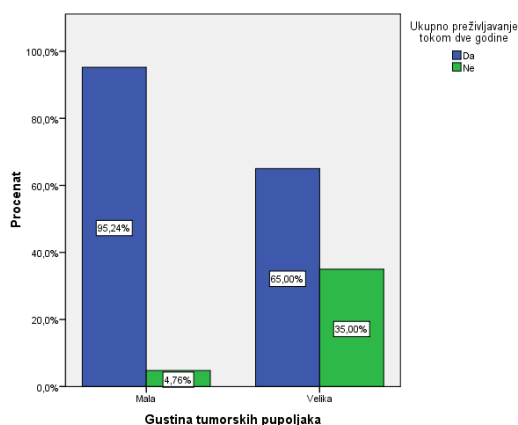
Grafikon 6. Učestalost različitog stepena radiološkog odgovora na terapiju bolesnika sa sinhronim metastazama, prema gustini tumorskih pupoljaka

U grupi bolesnika sa sinhronim metastazama nema statistički značajne razlike u učestalosti lošijeg histološkog odgovora na terapiju (mTRG 3 – 5) kod onih sa malom u odnosu na one sa velikom gustinom tumorskih pupoljaka: 8 (50%) vs. 15 (78,9%);  $p = 0,072$  (Grafikon 7).



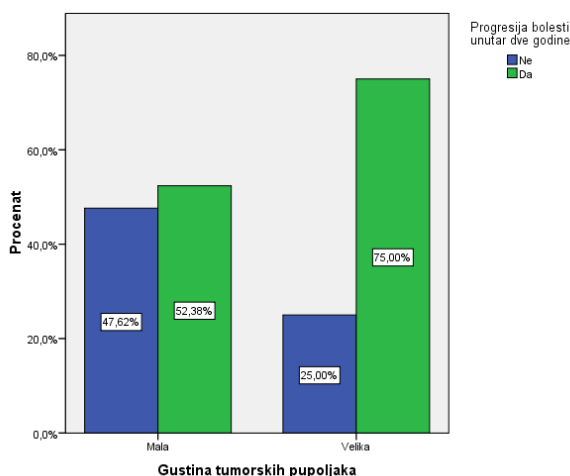
Grafikon 7. Učestalost različitog stepena histološkog odgovora na terapiju bolesnika sa sinhronim metastazama, prema gustini tumorskih pupoljaka

Bolesnici sa sinhronim metastazama i malom gustinom tumorskih pupoljaka statistički značajno češće preživljavaju tokom dve godine, u odnosu na bolesnike kod kojih je gustina tumorskih pupoljaka velika: 20 (95,2%) vs. 13 (65%);  $p = 0,015$  (Grafikon 8).



Grafikon 8 Učestalost bolesnika sa sinhronom metastatskom bolešću koji preživljavaju tokom dve godine ili ne, u odnosu na gustinu tumorskih pupoljaka

U grupi bolesnika sa sinhronim metastazama nema statistički značajne razlike u učestalosti progresije bolesti kod onih sa malom u odnosu na one sa velikom gustinom tumorskih pupoljaka: 11 (52,4%) vs. 15 (75%);  $p = 0,133$  (Grafikon 9).



Grafikon 9 Učestalost progresije kod bolesnika sa sinhronom metastatskom bolešću, u odnosu na gustinu tumorskih pupoljaka

Kod bolesnika sa sinhronim metastazama i malom gustom tumorskih pupoljaka u odnosu na veliku, nema statistički značajne razlike u vremenu preživljavanja do progresije bolesti:  $17,79 \pm 20,97$  vs.  $15,16 \pm 17,45$  meseci;  $p = 0,697$ .

Kod bolesnika sa sinhronim metastazama lečenih hemioterapijskim protokolom Folfox4 nema statistički značajne razlike u učestalosti CR/PR radiološkog u odnosu na patohistološki odgovor (mTRG 1 – 2 prema mTRG 3 – 5): 3 (75%) vs. 5 (38,5%);  $p = 0,200$ .

Kod bolesnika sa sinhronim metastazama lečenih hemioterapijskim protokolom Folfox4/AV nema statistički značajne razlike u učestalosti CR/PR radiološkog u odnosu na patohistološki odgovor (mTRG 1 – 2 prema mTRG 3 – 5): 6 (75%) vs. 4 (44,4%);  $p = 0,201$ .

Kod bolesnika sa metahronim metastazama lečenih hemioterapijskim protokolom Folfox4 nema statistički značajne razlike u učestalosti CR/PR radiološkog u odnosu na patohistološki odgovor (mTRG 1 – 2 prema mTRG 3 – 5): 3 (60%) vs. 7 (53,8%);  $p = 0,814$ .

Kod bolesnika sa metahronim metastazama lečenih hemioterapijskim protokolom Folfox4/AV nema statistički značajne razlike u učestalosti CR/PR radiološkog u odnosu na patohistološki odgovor (mTRG 1 – 2 prema mTRG 3 – 5): 0 (0%) vs. 3 (50%);  $p = 0,206$ .

U grupi bolesnika sa sinhronim metastazama lečenih hemioterapijskim protokolom Folfox4 nema statistički značajne razlike u učestalosti progresije bolesti kod onih sa velikom u odnosu na one sa malom gustom tumorskih pupoljaka: 5 (45,5%) vs. 7 (77,8%);  $p = 0,142$ .

**U grupi bolesnika sa sinhronim metastazama lečenih hemioterapijskim protokolom Folfox4 postoji statistički značajna razlika u učestalosti preživljavanja tokom dve godine kod onih sa malom u odnosu na one sa velikom gustom tumorskih pupoljaka: 10 (90,9%) vs. 5 (55,6%);  $p = 0,049$ .**

U grupi bolesnika sa sinhronim metastazama lečenih hemioterapijskim protokolom Folfox4 nema statistički značajne razlike u učestalosti lošijeg histološkog odgovora na terapiju



(mTRG 3 – 5) kod onih sa malom u odnosu na one sa velikom gustinom tumorskih pupoljaka: 5 (62,5%) vs. 8 (88,9%);  $p = 0,200$ .

U grupi bolesnika sa sinhronim metastazama lečenih hemioterapijskim protokolom Folfox4 nema statistički značajne razlike u učestalosti CR/PR u odnosu na SD stepena radiološkog odgovora na terapiju kod onih sa malom i onih sa velikom gustinom tumorskih pupoljaka: 6 (54,5%) vs. 4 (44,4%);  $p = 0,653$ .

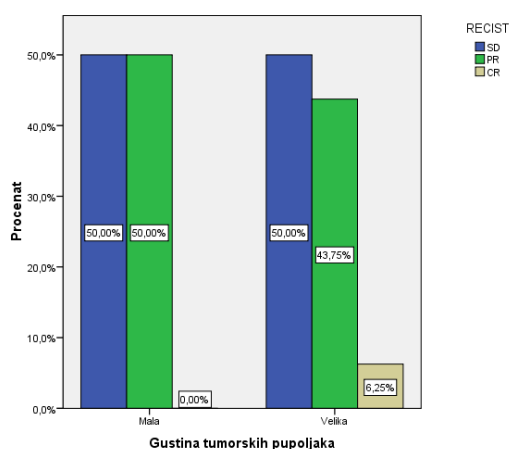
U grupi bolesnika sa sinhronim metastazama lečenih hemioterapijskim protokolom Folfox4/AV nema statistički značajne razlike u učestalosti progresije kod onih sa malom u odnosu na one sa velikom gustinom tumorskih pupoljaka: 5 (55,6%) vs. 8 (88,9%);  $p = 0,114$ .

**U grupi bolesnika sa sinhronim metastazama lečenih hemioterapijskim protokolom Folfox4/AV postoji statistički značajna razlika u učestalosti preživljavanja tokom dve godine kod onih sa malom u odnosu na one sa velikom gustinom tumorskih pupoljaka: 9 (100%) vs. 6 (33,3%);  $p = 0,048$ .**

U grupi bolesnika sa sinhronim metastazama lečenih hemioterapijskim protokolom Folfox4/AV nema statistički značajne razlike u učestalosti lošijeg histološkog odgovora na terapiju (mTRG 3 – 5) kod onih sa malom u odnosu na one sa velikom gustinom tumorskih pupoljaka: 3 (37,5%) vs. 6 (66,7%);  $p = 0,229$ .

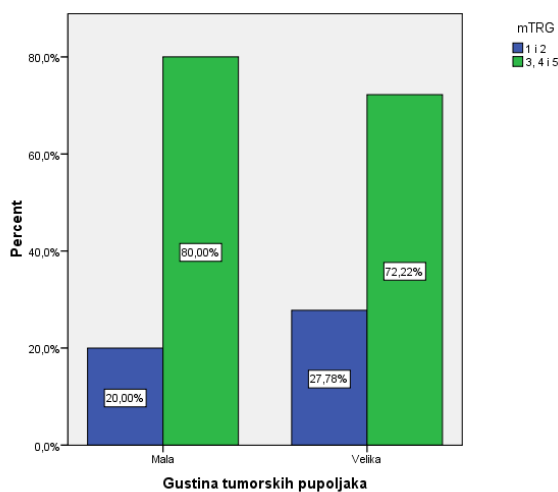
U grupi bolesnika sa sinhronim metastazama lečenih hemioterapijskim protokolom Folfox4/AV nema statistički značajne razlike u učestalosti CR/PR u odnosu na SD stepena radiološkog odgovora na terapiju kod onih sa malom i onih sa velikom gustinom tumorskih pupoljaka: 6 (66,7%) vs. 5 (55,6%);  $p = 0,629$ .

U grupi bolesnika sa metahronim metastazama nema statistički značajne razlike u učestalosti različitog stepena radiološkog odgovora na terapiju kod onih sa malom u odnosu na one sa velikom gustinu tumorskih pupoljaka ( $p = 0,713$ ) (Grafikon 10).



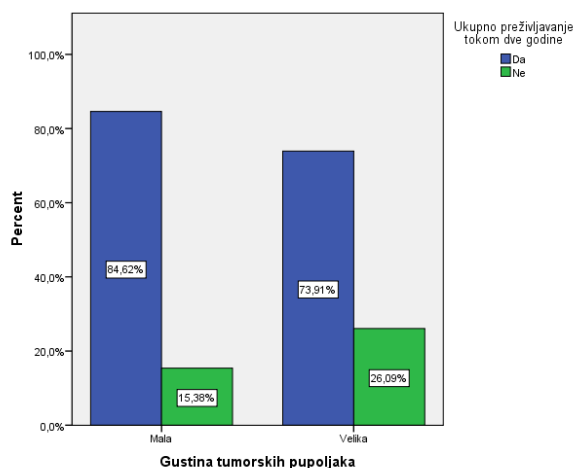
Grafikon 10. Učestalost različitog stepena radiološkog odgovora na terapiju kod bolesnika sa metahronim metastazama, prema gustini tumorskih pupoljaka

U grupi bolesnika sa metahronim metastazama nema statistički značajne razlike u učestalosti lošijeg histološkog odgovora na terapiju (mTRG 3 – 5), kod onih sa malom u odnosu na one sa velikom gustinom tumorskih pupoljaka: 8 (80%) vs. 13 (72,2%);  $p = 0,649$  (Grafikon 11).



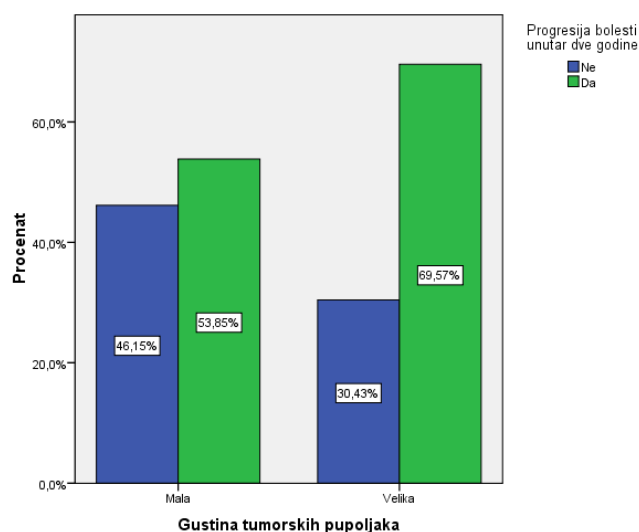
Grafikon 11. Učestalost različitog stepena histološkog odgovora na terapiju kod bolesnika sa metahronim metastazama, prema gustini tumorskih pupoljaka

Nema statistički značajne razlike u učestalosti preživljavanja do dve godine kod bolesnika sa metahronim metastazama sa malom u odnosu na one sa velikom gustinom tumorskih pupoljaka: 11 (84,6%) vs. 17 (73,9%);  $p = 0,458$  (Grafikon 12).



Grafikon 12. Učestalost preživljavanja tokom dve godine kod bolesnika sa metahronom metastatskom bolešću u odnosu na gustinu tumorskih pupoljaka

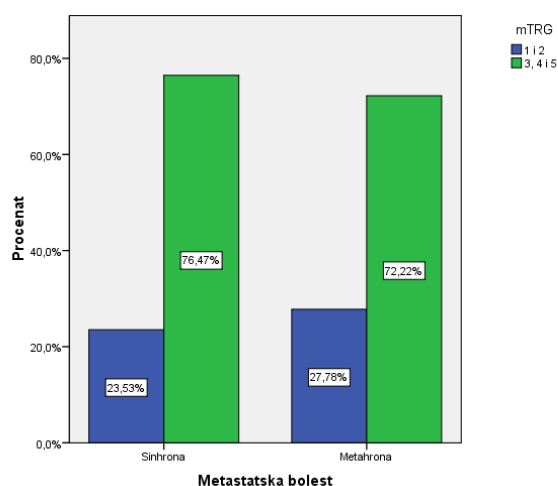
U grupi bolesnika sa metahronim metastazama nema statistički značajne razlike u učestalosti progresije bolesti kod onih sa malom u odnosu na one sa velikom gustinom tumorskih pupoljaka: 7 (53,8%) vs. 16 (69,6%);  $p = 0,346$  (Grafikon 13).



Grafikon 13. Bolesnici sa metahronom metastatskom bolešću koji su imali progresiju bolesti i oni koji nisu, u odnosu na gustinu tumorskih pupoljaka

U grupi bolesnika sa metahronim metastazama i malom u odnosu na one sa velikom gustinom tumorskih pupoljaka, nema statistički značajne razlike u vremenu preživljavanja do progresije bolesti:  $19,42 \pm 11,60$  vs.  $15,55 \pm 15,06$  meseci;  $p = 0,452$ .

Nema statistički značajne patohistološke razlike u učestalosti lošijeg (mTRG 3 – 5) u odnosu na bolji (mTRG 1, 2) terapijski odgovor između bolesnika sa sinhronom i metahronom metastatskom bolešću koji su lečeni hemioterapijskim protokolom Folfox4: 13 (76,5%) vs. 13 (72,2%);  $p = 0,774$  (Grafikon 14).



Grafikon 14. Patohistološki terapijski odgovor na primenjenu polihemioterapiju Folfox4 u odnosu na vrstu metastatske bolesti

Kod operativno lečenih bolesnika sa metahronim metastazama nema statistički značajne razlike u učestalosti progresije bolesti u odnosu na malu i veliku gustinu tumorskih pupoljaka: 1 (33,3%) vs. 3 (42,9%);  $p = 0,778$ .

Kod bolesnika sa metahronim metastazama lečenih hemioterapijskim protokolom Folfox4 nema statistički značajne razlike u učestalosti progresije bolesti u odnosu na malu i veliku gustinu tumorskih pupoljaka: 4 (50%) vs. 7 (70%);  $p = 0,387$ .

U grupi bolesnika sa metahronim metastazama lečenih hemioterapijskim protokolom Folfox4 nema statistički značajne razlike u učestalosti preživljavanja tokom dve godine kod onih sa malom u odnosu na one sa velikom gustinom tumorskih pupoljaka: 7 (87,5%) vs. 6 (60%);  $p = 0,196$ .

U grupi bolesnika sa metahronim metastazama lečenih hemioterapijskim protokolom Folfox4 nema statistički značajne razlike u učestalosti lošijeg histološkog odgovora na terapiju (mTRG 3 - 5) kod onih sa malom u odnosu na one sa velikom gustinom tumorskih pupoljaka: 6 (75%) vs. 7 (70%);  $p = 0,814$ .

U grupi bolesnika sa metahronim metastazama lečenih hemioterapijskim protokolom Folfox4 nema statistički značajne razlike u učestalosti CR/PR u odnosu na SD stepena radiološkog odgovora na terapiju, kod onih sa malom u odnosu na one sa velikom gustinom tumorskih pupoljaka: 4 (50%) vs. 6 (60%);  $p = 0,671$ .

U grupi bolesnika sa metahronim metastazama lečenih hemioterapijskim protokolom Folfox4/AV nema statistički značajne razlike u učestalosti progresije bolesti kod onih sa malom u odnosu na one sa velikom gustinom tumorskih pupoljaka: 2 (100%) vs. 5 (83,3%);  $p = 0,537$ .

U grupi bolesnika sa metahronim metastazama lečenih hemioterapijskim protokolom Folfox4/AV nema statistički značajne razlike u učestalosti preživljavanja tokom dve godine kod onih sa malom u odnosu na one sa velikom gustinom tumorskih pupoljaka: 1 (50%) vs. 4 (66,7%);  $p = 0,673$ .

U grupi bolesnika sa metahronim metastazama lečenih hemioterapijskim protokolom Folfox4/AV nema statistički značajne razlike u učestalosti lošijeg histološkog odgovora na terapiju (mTRG 3 – 5) kod onih sa malom u odnosu na one sa velikom gustinom tumorskih pupoljaka: 2 (100%) vs. 4 (66,7%);  $p = 0,346$ .

U grupi bolesnika sa metahronim metastazama lečenih hemioterapijskim protokolom Folfox4/AV nema statistički značajne razlike u učestalosti CR/PR u odnosu na SD stepena radiološkog odgovora na terapiju kod onih sa malom i onih sa velikom gustinom tumorskih pupoljaka: 1 (50%) vs. 2 (33,3%);  $p = 0,673$ .

U grupi bolesnika sa velikom gustom tumorskih pupoljaka nema statistički značajne razlike u učestalosti progresije bolesti kod onih sa sinhronom u odnosu na one sa metahronom metastatskom bolešću: 15 (75%) vs. 15 (65,2%);  $p = 0,486$ .

U grupi bolesnika sa malom gustom tumorskih pupoljaka nema statistički značajne razlike u učestalosti progresije bolesti kod onih sa sinhronom u odnosu na one sa metahronom metastatskom bolešću: 11 (52,4%) vs. 7 (53,8%);  $p = 0,934$ .

U grupi bolesnika sa velikom gustom tumorskih pupoljaka i lošim patohistološkim odgovorom nema statistički značajne razlike u učestalosti progresije bolesti kod onih sa sinhronom u odnosu na one sa metahronom metastatskom bolešću: 11 (73,3%) vs. 10 (76,9%);  $p = 0,827$ .

U grupi bolesnika sa malom gustom tumorskih pupoljaka i lošim patohistološkim odgovorom nema statistički značajne razlike u učestalosti progresije bolesti kod onih sa sinhronom u odnosu na one sa metahronom metastatskom bolešću: 5 (62,5%) vs. 5 (62,5%);  $p = 1$ .

Nema statistički značajne razlike kod bolesnika sa sinhronom i metahronom metastatskom bolešću u odnosu na progresiju bolesti: 26 (63,4%) vs. 22 (61,1%);  $p = 0,835$ .

U grupi bolesnika sa sinhronom metastatskom bolešću nema statistički značajne razlike u učestalosti progresije bolesti, u odnosu na primenjene terapijske protokole Folfox4 i Folfox4/AV: 12 (60%) vs. 13 (72,2%);  $p = 0,428$ .

U grupi bolesnika sa metahronom metastatskom bolešću nema statistički značajne razlike u učestalosti progresije bolesti, u odnosu na primenjene terapijske protokole Folfox4 i Folfox4/AV: 11 (61,1%) vs. 7 (87,5%);  $p = 0,178$ .

U grupi bolesnika sa sinhronom metastatskom bolešću nema statistički značajne razlike u učestalosti ukupnog preživljavanja do dve godine, u odnosu na primenjene terapijske protokole Folfox4 i Folfox4/AV: 15 (75%) vs. 15 (83,3%);  $p = 0,529$ .

U grupi bolesnika sa sinhronom metastatskom bolešću nema statistički značajne razlike u dužini vremena preživljavanja do progresije bolesti između onih kod kojih je primenjen terapijski protokol Folfox4 i onih koji su lečeni protokolom Folfox4/AV:  $15,67 \pm 15,45$  vs.  $13,73 \pm 20,51$  meseci;  $p = 0,773$ .

U grupi bolesnika sa metahronom metastatskom bolešću nema statistički značajne razlike u učestalosti ukupnog preživljavanja do dve godine u odnosu na to da li je primenjen terapijski protokol Folfox4 ili su startno operisane metastaze: 13 (72,2%) vs. 10 (100%);  $p = 0,529$ .

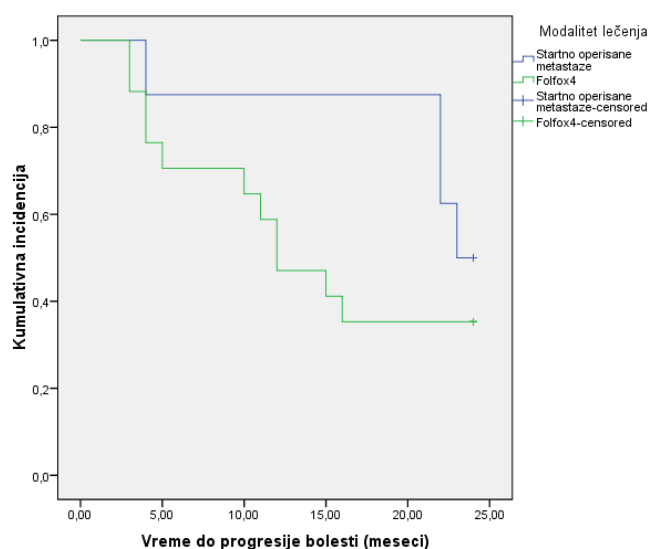
U grupi bolesnika sa metahronom metastatskom bolešću nema statistički značajne razlike u dužini vremena preživljavanja do progresije bolesti između onih kod kojih je primenjen

terapijski protokol Folfox4 u odnosu na one kod kojih su startno operisane metastaze:  $14,06 \pm 8,52$  vs.  $20,88 \pm 6,88$  meseci;  $p = 0,061$ .

Nakon pet godina praćenja ukupno je preživelo 13 (16,9%) pacijenata. Nije bilo statistički značajne razlike u petogodišnjem preživljavanju u odnosu na vrstu metastatske bolesti: sinhrona 6 (14,6%) vs. metahrona 7 (19,4%);  $p = 0,574$ .

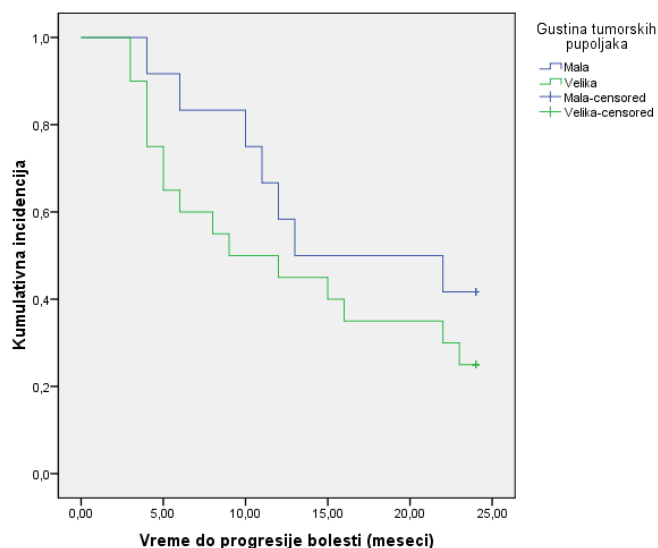
### Kaplan–Meierove krive

Nema statistički značajne razlike u incidenciji progresije bolesti kod bolesnika sa metahronim metastazama koje su primarno operisane, u odnosu na bolesnike kod kojih je preoperativno primenjen hemioterapijski protokol Folfox 4 (Log Rank  $p = 0,552$ ) (Grafikon 15).



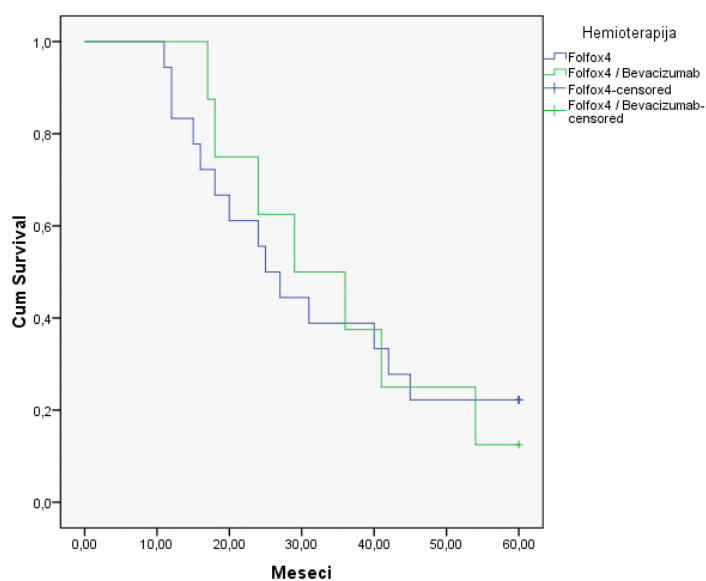
Grafikon 15. Kaplan–Meierova kriva kumulativne incidencije progresije bolesti kod bolesnika sa metahronom metastatskom bolešću, u odnosu na modalitet lečenja

Nema statistički značajne razlike u incidenciji progresije bolesti kod bolesnika sa metahronim metastazama u odnosu na gustinu tumorskih pupoljaka (Log Rank  $p = 0,253$ ) (Grafikon 16).



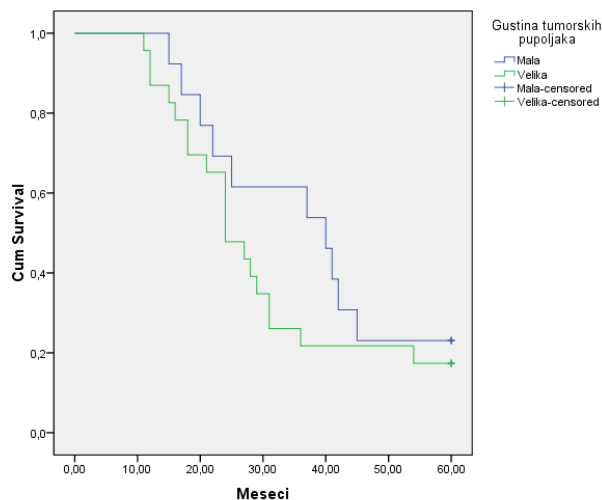
Grafikon 16. Kaplan–Meierova kriva kumulativne incidencije progresije bolesti kod bolesnika sa metahronom metastatskom bolešću, u odnosu na gustinu tumorskih pupoljaka

Nema statistički značajne razlike u petogodišnjem preživljavanju bolesnika sa metahronim metastazama lečenih protokolom Folfox4 i onih lečenih protokolom Folfox4/AV u odnosu na gustinu tumorskih pupoljaka, verovatno zbog malog uzorka (Log Rank  $p = 0,980$ ) (Grafikon 15).



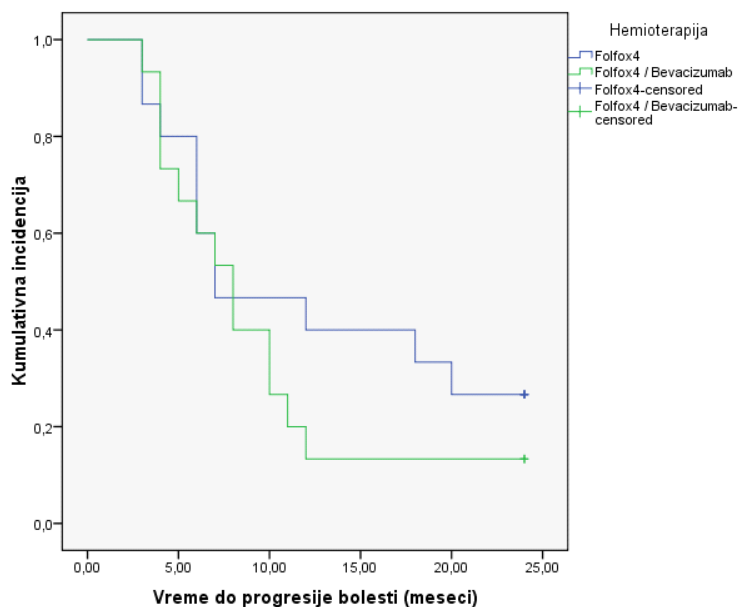
Grafikon 17. Kaplan–Meierova kriva petogodišnjeg preživljavanja bolesnika sa metahronom metastatskom bolešću u odnosu na vrstu hemioterapijskog protokola

Nema statistički značajne razlike u petogodišnjem preživljavanju bolesnika sa metahronim metastazama u odnosu na gustinu tumorskih pupoljaka (Log Rank  $p = 0,327$ ) (Grafikon 18).



Grafikon 18. Kaplan–Meierova kriva petogodišnjeg preživljavanja bolesnika sa metahronom metastatskom bolešću u odnosu na gustinu tumorskih pupoljaka

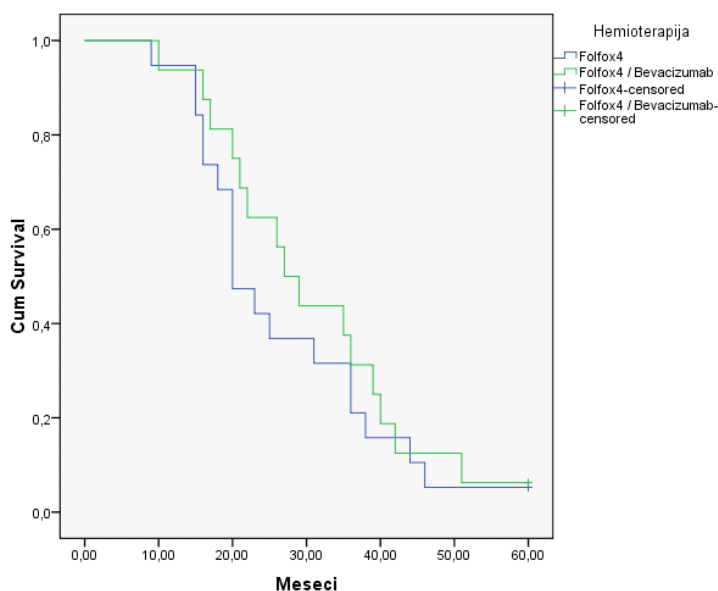
Nema statistički značajne razlike u incidenciji progresije bolesti kod bolesnika sa sinhronim metastazama koji su lečeni protokolom Folfox4, u odnosu na bolesnike lečene protokolom Folfox4/AV (Log Rank  $p = 0,440$ ) (Grafikon 19).



Grafikon 19. Kaplan–Meierova kriva kumulativne incidencije progresije bolesti kod bolesnika sa sinhronom metastatskom bolešću u odnosu na vrstu hemioterapijskog protokola

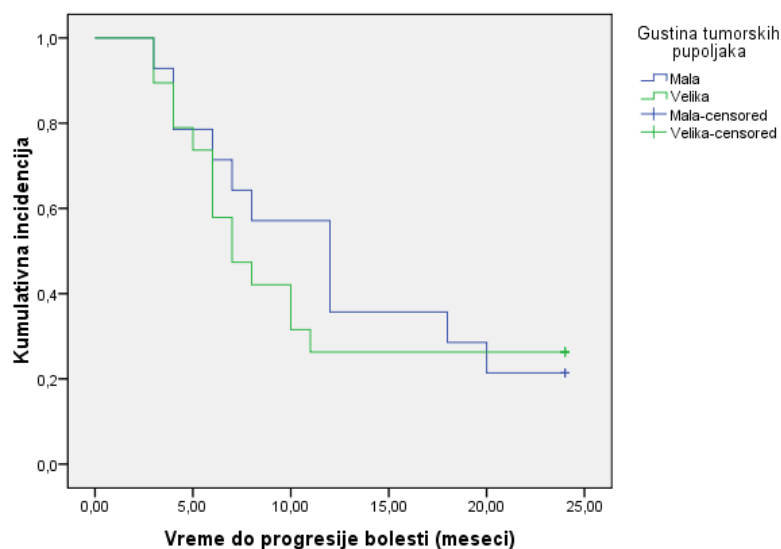
Nema statistički značajne razlike u petogodišnjem preživljavanju bolesnika sa sinhronim metastazama koji su lečeni protokolom Folfox4 u odnosu na bolesnike lečene protokolom Folfox4/AV (Log Rank  $p = 0,469$ ) (Grafikon 20).





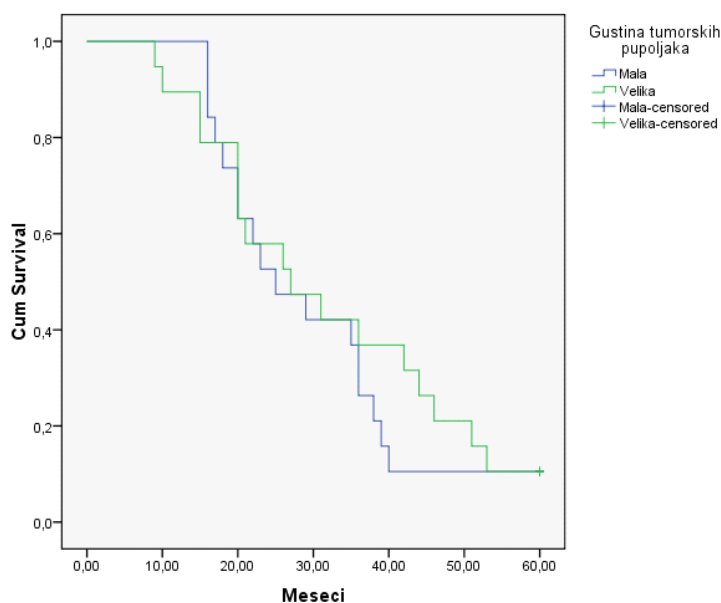
Grafikon 20. Kaplan–Meierova kriva petogodišnjeg preživljavanja bolesnika sa sinhronom metastatskom bolešću u odnosu na vrstu hemioterapijskog protokola

Nema statistički značajne razlike u incidenciji progresije bolesti kod bolesnika sa sinhronim metastazama u odnosu na gustinu tumorskih pupoljaka (Log Rank  $p = 0,575$ ) (Grafikon 21).



Grafikon 21. Kaplan–Meierova kriva kumulativne incidencije progresije bolesti kod bolesnika sa sinhronom metastatskom bolešću, u odnosu na gustinu tumorskih pupoljaka

Nema statistički značajne razlike u incidenciji petogodišnjeg preživljavanja bolesnika sa sinhronim metastazama u odnosu na gustinu tumorskih pupoljaka (Log Rank  $p = 0,602$ ) (Grafikon 22).



Grafikon 22. Kaplan–Meierova kriva petogodišnjeg preživljavanja bolesnika sa sinhronom metastatskom bolešću u odnosu na gustinu tumorskih pupoljaka

### Coxova proporcionalna hazardna regresiona analiza

Prema rezultatima univarijantne Cox regresione analize, kod bolesnika sa sinhronom metastatskom bolešću lečenih terapijskim protokolom Folfox4 nema statistički značajnih prediktora progresije bolesti (Tabela 5).

	Hazard količnik	95% Interval poverenja	p
Starost pri postavljanju dijagnoze (godine)	0,989	0,936–1,046	0,703
Pol (ženski)	1,552	0,482–4,996	0,461
Lokalizacija tumora (desni kolon)	1,140	0,307–4,233	0,845
Tumorsko pupljenje (veliko)	1,098	0,342–3,525	0, 875
mTGR 3, 4, 5	2,017	0,254–15,995	0,506
CR/PR	1,007	0,317–3,199	0,990

Tabela 5. Rezultati univarijantne Cox regresione analize ispitivanih varijabli u odnosu na progresiju bolesti kod bolesnika sa sinhronom metastatskom bolešću lečenih terapijskim protokolom Folfox4

Prema rezultatima univarijantne Cox regresione analize, kod bolesnika sa sinhronom metastatskom bolešću lečenih terapijskim protokolom Folfox4/AV nema statistički značajnih prediktora progresije bolesti (Tabela 6).

	Hazard količnik	95% Interval poverenja	p
Starost pri postavljanju dijagnoze (godine)	0,992	0,935–1,052	0,788
Pol (ženski)	0,459	0,144–1,467	0,189
Lokalizacija tumora (desni kolon)	0,522	0,066–4,152	0,539
Tumorsko pupljenje (veliko)	2,119	0,627–7,155	0,227
mTGR 3, 4, 5	3,055	0,860–10,847	0,084
PR/CR	0,685	0,222–2,117	0,511

Tabela 6. Rezultati univarijantne Cox regresione analize ispitivanih varijabli u odnosu na progresiju bolesti kod bolesnika sa sinhronom metastatskom bolešću lečenih terapijskim protokolom Folfox4/AV

Prema rezultatima univarijantne Cox regresione analize, kod bolesnika sa metahronom metastatskom bolešću lečenih terapijskim protokolom Folfox4 nema statistički značajnih prediktora progresije bolesti (Tabela 7).

	Hazard količnik	95% Interval poverenja	p
Starost pri postavljanju dijagnoze (godine)	1,032	0,949–1,123	0,460
Pol (ženski)	1,613	0,488–5,333	0,433
Lokalizacija tumora (desni kolon)	2,037	0,437–9,506	0,365
Tumorsko pupljenje (veliko)	1,921	0,561–6,580	0,299
mTGR 3, 4, 5	1,187	0,314–4,491	0,800
CR/PR	0,348	0,100–1,213	0,098

Tabela 7. Rezultati univarijantne Cox regresione analize ispitivanih varijabli u odnosu na progresiju bolesti kod bolesnika sa sinhronom metastatskom bolešću lečenih terapijskim protokolom Folfox4

Prema rezultatima univarijantne Cox regresione analize, kod bolesnika sa metahronom metastatskom bolešću lečenih terapijskim protokolom Folfox/AV nema statistički značajnih prediktora progresije bolesti (Tabela 8).

	Hazard količnik	95% Interval poverenja	p
Starost pri postavljanju dijagnoze (godine)	1,033	0,919–1,161	0,589
Pol (ženski)	2,097	0,402–10,943	0,380
Lokalizacija tumora (desni kolon)	5,477	0,342–87,820	0,230
Tumorsko pupljenje (veliko)	3,062	0,353–26,575	0,310
mTGR 3, 4, 5	0,334	0,046–2,426	0,279
CR/PR	0,017	0,001–30,201	0,285

Tabela 8. Rezultati univarijantne Cox regresione analize ispitivanih varijabli u odnosu na progresiju bolesti kod bolesnika sa metahronom metastatskom bolešću lečenih terapijskim protokolom Folfox4/AV

### Logistička regresiona analiza

Prema rezultatima univarijantne logističke regresione analize, kod bolesnika sa sinhronom metastatskom bolešću lečenih terapijskim protokolom Folfox4 nema statistički značajnih prediktora ukupnog preživljavanja preko dve godine (Tabela 9).

	Odnos šansi	95% Interval poverenja	p
Starost pri postavljanju dijagnoze (godine)	0,995	0,899–1,101	0,918
Pol (ženski)	3,000	0,372–24,171	0,302
Lokalizacija tumora (desni kolon)	2,667	0,298–23,858	0,380
Tumorsko pupljenje (veliko)	8,000	0,697–91,797	0,095
mTGR 3, 4, 5	1,333	0,104–17,098	0,825
CR/PR	0,167	0,015–1,879	0,147

Tabela 9. Rezultati univarijantne logističke regresione analize ispitivanih varijabli u odnosu na ukupno preživljavanje preko dve godine kod bolesnika sa sinhronom metastatskom bolešću lečenih terapijskim protokolom Folfox

Prema rezultatima univarijantne logističke regresione analize, kod bolesnika sa sinhronom metastatskom bolešću lečenih terapijskim protokolom Folfox4/AV dobar radiološki odgovor CR/PR je statistički značajan protektivni faktor ukupnog preživljavanja preko dve godine (Tabela 10).

	Odnos šansi	95% Interval poverenja	p
Starost pri postavljanju dijagnoze (godine)	1,059	0,919–1,220	0,428
Pol (ženski)	0,250	0,021–3,041	0,277
Lokalizacija tumora (desni kolon)	4,333	0,207–90,847	0,345
Tumorsko pupljenje (veliko)	4,00	0,329–48,656	0,277
mTGR 3, 4, 5	2,000	0,146–27,447	0,604

CR/PR	0,046	0,075	0,006–0,954
-------	-------	-------	-------------

Tabela 10. Rezultati univarijantne logističke regresione analize ispitivanih varijabli u odnosu na ukupno preživljavanje preko dve godine kod bolesnika sa sinhronom metastatskom bolešću lečenih terapijskim protokolom Folfox4/AV

Prema rezultatima univarijantne logističke regresione analize, kod bolesnika sa metahronom metastatskom bolešću lečenih terapijskim protokolom Folfox nema statistički značajnih prediktora ukupnog preživljavanja preko dve godine (Tabela 11).

	Odnos šansi	95% Interval poverenja	p
Starost pri postavljanju dijagnoze (godine)	1,052	0,904–1,225	0,510
Pol (ženski)	1,067	0,129–8,793	0,952
Lokalizacija tumora (desni kolon)	1,375	0,096–19,643	0,814
Tumorsko pupljenje (veliko)	4,667	0,404–53,950	0,217
mTGR 3, 4, 5	1,778	1,148–21,395	0,650
CR/PR	0,417	0,051–3,435	0,416

Tabela 11. Rezultati univarijantne logističke regresione analize ispitivanih varijabli u odnosu na ukupno preživljavanje preko dve godine kod bolesnika sa metahronom metastatskom bolešću lečenih terapijskim protokolom Folfox

Prema rezultatima univarijantne logističke regresione analize, kod bolesnika sa metahronom metastatskom bolešću lečenih terapijskim protokolom Folfox4/AV nema statistički značajnih prediktora ukupnog preživljavanja preko dve godine (Tabela 12).

	Odnos šansi	95% Interval poverenja	p
Starost pri postavljanju dijagnoze (godine)	0,952	0,807–1,122	0,556
Pol (ženski)	0,333	0,017–6,654	0,472
Lokalizacija tumora (desni kolon)	2	0,078–51,593	0,676
Tumorsko pupljenje (veliko)	0,500	0,019–12,898	0,676

mTGR 3, 4, 5	0,500	0,019–12,898	0,676
CR/PR	0,750	0,038–14,972	0,851

Tabela 12. Rezultati univarijantne logističke regresione analize ispitivanih varijabli u odnosu na ukupno preživljavanje preko dve godine kod bolesnika sa metahronom metastatskom bolešću lečenih terapijskim protokolom Folfox4/AV

Tumorsko pupljenje nije statistički značajan prediktor petogodišnjeg preživljavanja kod bolesnika sa sinhronom metastatskom bolešću lečenih terapijskim protokolom Folfox4 (OS: 0,646; 95%IP: 0,231–1,806;  $p = 0,405$ ), kao ni kod bolesnika sa sinhronom metastatskom bolešću lečenih terapijskim protokolom Folfox4/AV (OS: 1,218; 95%IP: 0,438–3,386;  $p = 0,706$ ).

Tumorsko pupljenje nije statistički značajan prediktor petogodišnjeg preživljavanja kod bolesnika sa metahronom metastatskom bolešću lečenih terapijskim protokolom Folfox4 (OS: 1,722; 95%IP: 0,590–5,026;  $p = 0,320$ ), kao ni kod bolesnika sa sinhronom metastatskom bolešću lečenih terapijskim protokolom Folfox4/AV (OS: 0,568; 95%IP: 0,102–3,181;  $p = 0,520$ ).

## 5. REZULTATI

Ovim istraživanjem je obuhvaćeno 77 bolesnika sa metastatskim KRK u jetri, koji su operisani.

Bolesnici su podeljeni u dve grupe: na one sa sinhronom i one sa metahronom metastatskom bolešću. Sinhrona metastatska bolest predstavlja pojavu jetrenih metastaza do šest meseci od dijagnoze ili pre dijagnoze primarnog tumora, a metahrona metastatska bolest predstavlja pojavu jetrenih metastaza šest meseci nakon dijagnoze ili operacije primarnog tumora. Vremenska granica ove podele bi odgovarala međunarodnom konsenzusu, iako je ona u nekim publikacijama i dvanaest meseci.

Radiološki stejdžing (MR ili CT abdomena, grudnog koša i male karlice) određen je kod svih bolesnika jer je neophodan za određivanje stadijuma bolesti po TNM klasifikaciji. Na osnovu toga smo imali jasno ograničenu proširenu bolest na jetru po TNM klasifikaciji – M1a.

Nakon toga, većinom na osnovu mišljenja MDT, donošena je odluka o tome da li se radi o potencijalno resektabilnim ili resektabilnim metastazama u jetri. Inicijalno nismo imali molekularni profil primarnog kolorektalnog karcinoma: RAS i BRAF status. Donedavno, u Srbiji nije bilo dostupno određivanje RAS statusa pre započinjanje lečenja metastatskog KRK. Od 2019. godine dostupno je određivanje RAS statusa i to samo u slučaju kada je bolest ograničena na jedan organ (jetra). Po ranijim preporukama Republičkog fonda za zdravstveno osiguranje (RFZO) RAS status se nije određivao inicijalno pre započinjanja lečenja metastatskog KRK, već nakon progresije na prvu liniju lečenja, tj. u toku druge linije, radi eventualnog uvođenja anti-EGFR terapije tek u trećoj liniji, i to u slučaju da se radi o RAS nemutiranom tumoru.

Saznanje o tome da li je reč o potencijalno resektabilnoj ili resektabilnoj metastatskoj bolesti jetre kod KRK uticalo je na donošenje odluke da se standardnom HT režimu po protokolu Folfox4 pridoda VEGF inhibitor (bevacizumab) ili ne. Bolesnici sa resektabilnim metastazama u



jetri dobijali su HT režim po protokolu Folfox4, dok su bolesnici sa potencijalno resektabilnim metastazama u jetri dobijali navedeni HT režim i VEGF inhibitor – bevacizumab. Međutim, trebalo bi napomenuti da je mala grupa bolesnika – njih deset sa metahronim i njih troje sa sinhronim metastazama u jetri – inicijalno operisana, jer do tada nisu bili jasno definisani stavovi a ni kriterijumi lečenja metastatskog KRK. Nakon primenjene HT po protokolu Folfox4 sa i bez VEGF inhibitora – bevacizumaba, rađena je radiološka revizija stanja osnovne bolesti istom metodom kao i pre započinjanja lečenja. Na osnovu RECIST vršena je procena terapijskog odgovora, a samo oni bolesnici sa dobrim radiološkim odgovorom (SD, PR, CR) su i operisani na Institutu za onkologiju Vojvodine u Sremskoj Kamenici.

Do kompletnog patohistološkog odgovora na primenjenu terapiju došlo je kod četiri bolesnika, od kojih je njih troje dobijalo HT po protokolu Folfox4, a jedan je uz navedenu HT dobijao i VEGF inhibitor – bevacizumab. Kompletan radiološki odgovor je postojao kod troje bolesnika; od njih, dvoje je preoperativno dobijalo navedenu HT i VEGF inhibitor – bevacizumab, a jedan bolesnik je dobijao samo navedenu HT. Kod radiološkog kompletnog odgovora bolesnici nisu odmah operisani već su operisani u toku daljeg praćenja i ponovne radiološke verifikacije.

Prosečna starost bolesnika u vreme postavljanja dijagnoze bila je 61 godinu, a od njih je 45 (58,4%) bilo muškog pola. Sinhronu metastatsku bolest imao je 41 (53,2%) bolesnik, a metahronu 36 (46,8%) bolesnika. U vreme postavljanja dijagnoze, bolesnici sa metahronom metastatskom bolešću su bili stariji od bolesnika sa sinhronom metastatskom bolešću, što je bilo statistički visoko značajno:  $65,19 \pm 8,17$  vs.  $59,05 \pm 10,6$  godina;  $p = 0,006$ .

Kod 63 (81,8%) bolesnika tumor je bio lokalizovan u levoj polovini debelog creva. Između bolesnika sa sinhronom i metahronom metastatskom bolešću nije bilo statistički značajne razlike u učestalosti lokalizacije tumora u desnoj u odnosu na levu polovinu debelog creva: desna polovina – 7 (17,1%), leva – 7 (19,4%);  $p = 0,788$ .

Bolesnici sa sinhronim metastazama s malom gustom tumorskih pupoljaka statistički značajno češće preživljavaju tokom dve godine u odnosu na bolesnike kod kojih je gustina tumorskih pupoljaka velika: 20 (95,2%) vs. 13 (65%);  $p = 0,015$ .

Statistički je potvrđeno da je patohistološki odgovor lošiji ukoliko je vreme od završetka HT do operacije duže od dva meseca.

Statistički je potvrđeno da se metastatske promene veće od 3 cm, kao i više od jedne metapromene, prema patohistološkom izveštaju nalaze na preparatima bolesnika sa većom gustom TP. Takođe, statistički je dokazano da su de novo metapromene u jetri, u periodu od godinu dana nakon operacije, učestalije kod bolesnika sa većom gustom TP. Za razliku od

bolesnika sa manjom gustinom TP, ovi bolesnici imaju i statistički lošiji patohistološki odgovor na primenjenu HT sa i/ili bez VEGF inhibitora.

Zabeležena je statistički značajno veća učestalost velike gustine tumorskih pupoljaka kod pacijenata sa pojavom metastaza u toku prve godine nakon operacije, u odnosu na one bez pojave metastaza: 21 (70%) vs. 22 (46,8%);  $p = 0,046$ .

Nema statistički značajne razlike u učestalosti velike gustine tumorskih pupoljaka u odnosu na broj nodusa: jedan nodus 19 (57,6%) vs. dva-tri nodusa 18 (62,1%) vs.  $\geq$  četiri nodusa 6 (40%);  $p = 0,364$ .

Nema statistički značajne razlike u učestalosti velike gustine tumorskih pupoljaka u odnosu na veličinu tumorske promene, manju i veću od 3 cm: 22 (51,2%) vs. 21 (61,8%);  $p = 0,352$ .

Nema statistički značajne razlike u učestalosti velike gustine tumorskih pupoljaka u odnosu na pojavu metastaza u jetri i van jetre u toku prve godine: 11 (61,1%) vs. 10 (83,3%);  $p = 0,193$ .

Zabeležena je statistički značajno veća učestalost lošeg patohistološkog odgovora kod pacijenata kod kojih je vreme od završetka hemioterapije do operacije bilo duže od dva meseca u odnosu na pacijente kod kojih je ovo vreme bilo kraće od dva meseca: 26 (78,8%) vs. 15 (57,7%);  $p = 0,048$ .

Analiza dobijenih rezultata i postavljenih radnih hipoteza ukazuje nam sledeće:

- Nema statistički značajne patohistološke razlike u učestalosti lošijeg terapijskog odgovora (mTRG 3 – 5) u odnosu na bolji terapijski odgovor (mTRG 1, 2) između bolesnika sa sinhronom i metahronom metastatskom bolešću KRK, koji su lečeni hemioterapijskim protokolom Folfox4: 13 (76,5%) vs. 13 (72,2%);  $p = 0,774$  (Grafikon 14).
- U grupi bolesnika sa sinhronim metastazama KRK lečenih hemioterapijskim protokolom Folfox4 postoji statistički značajna razlika u učestalosti preživljavanja tokom dve godine, i to kod bolesnika sa malom u odnosu na one sa velikom gustinom tumorskih pupoljaka: 10 (90,9%) vs. 5 (55,6%);  $p = 0,049$ . Takođe, u grupi bolesnika sa sinhronim metastazama KRK lečenih hemioterapijskim protokolom Folfox4/AV postoji statistički značajna razlika u učestalosti preživljavanja tokom dve godine, i to kod bolesnika sa malom u odnosu na one sa velikom gustinom tumorskih pupoljaka: 9 (100%) vs. 6 (33,3%);  $p = 0,048$ .
- U grupi bolesnika sa metahronim metastazama KRK lečenih hemioterapijskim protokolom Folfox4 nema statistički značajne razlike u učestalosti preživljavanja tokom dve godine kod onih sa malom u odnosu na one sa velikom gustinom

tumorskih pupoljaka: 7 (87,5%) vs. 6 (60%);  $p = 0,196$ . Takođe, u grupi bolesnika sa metahronim metastazama KRK lečenih hemioterapijskim protokolom Folfox4/AV nema statistički značajne razlike u učestalosti preživljavanja tokom dve godine kod onih sa malom u odnosu na one sa velikom gustinom tumorskih pupoljaka: 1 (50%) vs. 4 (66,7%);  $p = 0,673$ .

- U grupi bolesnika sa sinhronim metastazama KRK nema statistički značajne razlike u učestalosti lošijeg histološkog odgovora na terapiju (mTRG 3 – 5) kod onih sa malom u odnosu na one sa velikom gustinom tumorskih pupoljaka: 8 (50%) vs. 15 (78,9%);  $p = 0,072$  (Grafikon 7). U grupi bolesnika sa metahronim metastazama KRK nema statistički značajne razlike u učestalosti lošijeg histološkog odgovora na terapiju (mTRG 3 – 5), u odnosu na malu ili veliku gustinu tumorskih pupoljaka: 8 (80%) vs. 13 (72,2%);  $p = 0,649$  (Grafikon 11).
- U grupi sa sinhronim metastazama KRK velika gustina TP predstavlja nezavisan negativan faktor prognoze u odnosu na date terapijske režime – polihemioterapije po protokolu Folfox4, sa i bez VEGF inhibitora – bevacizumaba, što se vidi u preživljavanju tokom dve godine kod bolesnika sa malom gustinom TP u odnosu na one sa velikom gustinom TP. Kod bolesnika sa metahronim metastazama KRK nije dobijena statistička značajnost.

Rezultati na Kaplan–Meierovim krivama za petogodišnje preživljavanje i progresiju bolesti kod bolesnika sa sinhronom i metahronom metastatskom bolešću KRK nemaju statističku značajnost s obzirom na mali uzorak, činjenicu da je veći broj bolesnika i dalje na praćenju, kao i na to da nisu vremenski obuhvatili period od pet godina nakon operacije jetrenih metastaza. Nakon pet godina praćenja, ukupno je preživelo 13 (16,9%) pacijenata, a u podacima iz literature oko 40% (OS). Nije bilo statistički značajne razlike u petogodišnjem preživljavanju u odnosu na vrstu metastatske bolesti: sinhrona 6 (14,6%) vs. metahrona 7 (19,4%);  $p = 0,574$ .

S obzirom na mali uzorak bolesnika, ni kod metahrone ni kod sinhronne metastatske bolesti nije uočena statistička značajnost TP u odnosu na progresiju bolesti, patohistološki i radioterapijski odgovor. Prema rezultatima univarijantne logističke regresione analize, kod bolesnika sa sinhronom metastatskom bolešću lečenih terapijskim protokolom Folfox4/AV, dobar radiološki odgovor CR/PR statistički je značajan protektivni faktor ukupnog preživljavanja preko dve godine (Tabela 10).

Mali broj radova koji se bave ovom temom, tj. značajem TP u metastatskoj bolesti KRK, ukazuje nam da smo još uvek na samom početku i da su potrebna dalja istraživanja subpopulacije bolesnika s ograničenom metastatskom bolešću jetre kod KRK. Svakako su neophodna i ispitivanja u pravcu molekularnih karakteristika i patohistoloških faktora u

---

metastatskoj bolesti (TP, dediferentovane klaster ćelije, peritumorska i tumorska inflamacija, prisustvo i odsustvo pseudokapsule, limfovaskularna invazija, portna invazija, itd), kao i proučavanje povezanosti efekta i uticaja različitih terapijskih režima.

Za razliku od KRK u II stadijumu kada je jasno vidljiv značaj TP za dalji tok bolesti, u smislu pojave recidiva i metastaza u limfne čvorove, a samim tim i za prognozu i preživljavanje bolesnika, u slučaju metastatskog KRK definitivno ne možemo odrediti pravi doprinos TP. Određivanje TP je standard u svakom patohistološkom izveštaju nakon operacije primarnog tumora kolorektuma.

Znamo da su recidiv i de novo promene u jetri najučestaliji u prvoj godini nakon metastazektomije jetre kod KRK, što svakako utiče na dalje preživljavanje bolesnika. Korišćenje različitih laboratorijskih markera (počev od CEA), kao i utvrđivanje veličine i broja metapromena ne daju odgovor na pitanje zašto kod bolesnika sa metastazektomijom dolazi do ranog recidiva i daljeg ekstrahepatičnog širenja bolesti.

Zbog svega toga, neophodna su dalja istraživanja bioloških i molekularnih karakteristika metastatske bolesti KRK, jer postoje subgrupacije bolesnika sa oligometastatskom bolešću, kao i sa ograničenim širenjem bolesti na jedan organ (jetra).

Takođe, nemamo jasnih saznanja o tome da li i koliko ijedna od primenjivih terapija utiče na gustinu TP. Sadašnji vodiči za lečenje metastatske bolesti KRK i dalje su usmereni na biološke i molekularne karakteristike primarnog tumora.

## 6. Zaključci

1. U grupi bolesnika sa sinhronim metastazama KRK lečenih hemioterapijskim protokolom Folfox4, sa i bez bevacizumaba, postoji statistički značajna razlika u učestalosti preživljavanja tokom dve godine, i to kod onih sa malom u odnosu na one sa velikom gustinom tumorskih pupoljaka.
2. U grupi bolesnika sa metahronim metastazama KRK lečenih hemioterapijskim protokolom Folfox4, sa i bez bevacizumaba, nema statistički značajne razlike u učestalosti preživljavanja tokom dve godine: i to kod onih sa malom u odnosu na one sa velikom gustinom tumorskih pupoljaka.
3. U grupi bolesnika sa sinhronim i metahronim metastazama KRK nema statistički značajne razlike u učestalosti lošijeg histološkog odgovora na terapiju (mTRG 3 – 5), u odnosu na malu i veliku gustinu tumorskih pupoljaka.
4. U grupi bolesnika sa sinhronim metastazama KRK velika gustina TP je nezavisan negativan faktor prognoze u odnosu na date terapijske režime – polihemioterapije po protokolu Folfox4 sa i bez bevacizumaba, što se vidi u preživljavanju tokom dve godine kod onih sa malom gustinom TP u odnosu na one sa velikom gustinom TP. Međutim, kod bolesnika sa metahronim metastazama KRK nije dobijena statistička značajnost.
5. Kod bolesnika sa pojavom metastaza u vidu de novo promena u jetri u toku prve godine nakon operacije zabeležena je statistički značajno veća učestalost velike gustine tumorskih pupoljaka u odnosu na bolesnike bez pojave metastaza.

## 7. Literatura

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, et al. eds. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC Cancer Base No. 11 [online]. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2013.
2. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Mathers C, Parkin DM, Piñeros M, et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *Int J Cancer*. 2019 Apr 15;144(8):1941-53. doi: 10.1002/ijc.31937.
3. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, 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.
4. Dugandžija T, Kukić B. Etiologija, distribucija i prevencija raka debelog creva. Novi Sad: Zdravlje životu; 2014.
5. Incidencija i mortalitet u centralnoj Srbiji, 2010. Beograd: Institut za zaštitu zdravlja Srbije "Dr Milan Jovanović – Batut"; 2015.
6. Registar za maligne neoplazme Vojvodine. Sremska Kamenica: Zavod za epidemiologiju. Institut za onkologiju Vojvodine (nepublikovani podaci); 2013.
7. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*. 2011;61(2):69-90.
8. Kolligs FT, Crispin A, Munte A, Wagner A, Mansmann U, Göke B. Risk of advanced colorectal neoplasia according to age and gender. *PLoS One*. 2011;6(5):e20076.
9. Qaseem A, Denberg D, Hopkins RH, Humphrey LL, Levine J, Sweet DE, et al. Screening for colorectal cancer: a guidance statement from American College of Physicians. *Ann Int Med*. 2012;156:378-87.

10. Walsh SV, Carey FA. Malignant epithelial neoplasmas of the large bowel. In: Shepherd NA, Warren BF, Williams GT, Greenson JK, Lauwers GY, Novelli MR, eds. *Morson and Dawson' gastrointestinal pathology*, 5th ed. Oxford: Wiley-Blackwell; 2013. p. 685-732.
11. Giovannucci E. Modifiable risk factors for colon cancer. *Gastroenterol Clin North Am.* 2002;31:925-43.
12. Johnson CM, Wei C, Ensor JE, Smolenski DJ, Amos CI, Levin B, et al. Meta analyses of Colorectal Cancer Risik Factors. *Cancer Causes Control.* 2013;24(6):1207-22.
13. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research. *Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Colorectal Cancer, Continuous Update Project, Colorectal Cancer Report.* Washington DC; 2011.
14. *Colorectal cancer: facts & figuers 2008.* Atlanta: American Cancer Society; 2008.
15. Pierre FH, Santarelli RL, Allam O, Tache S, Naud N, Gueraud F, et al. Freeze-dried ham promotes azoxymethane-induced mucin-depleted foci and aberrant crypt foci in rat colon. *Nutr Cancer.* 2010;62(5):567-73.
16. 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.
17. Durko L, Malecka-Panas E. Lifestyle modifications and colorectal cancer. *Curr Colorectal Cancer Rep.* 2014;10(1):45-54.
18. Riondino S, Roselli M, Palmirotta R, Della-Morte D, Ferroni P, Guadagni F. Obesity and colorectal cancer: Role of adipokines in tumor initiation and progression. *World J Gastroenterol.* 2014;20(18):5177-90.
19. 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.
20. Tsoi KK, Pau YY, Wu WK, Chan FK, Griffiths SM, Sung JJ. Cigarette smoking and the risk of colorectal cancer: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2009;7(6):682-8.
21. Mizoue T, Tanaka K, Tsuji I, Wakai K, Nagata C, Otani T, et al; Research Group for the Development and Evaluation of Cancer Prevention Strategies in Japan. Alcohol Drinking and Colorectal Cancer Risk: an Evaluation Based on a Systematic Review of Epidemiologic Evidence among the Japanese Population. *Jpn J Clin Oncol.* 2006 Sep;36(9):582-97.
22. Magalheas B, Bastos J, Lunet N. Dietary patterns and colorectal cancer: a case-control study from Portugal. *Eur J Cancer Prev.* 2011;20(5):389-95.
23. Tarraga Lopez PJ, Albero JS, Rodriguez-Montes JA. Primary and secondary prevention of colorectal cancer. *Clin Med Insights Gastroenterol.* 2014;7:33-46.

24. Chan AT, Arber N, Burn J, Chia WK, Elwood P, Hull MA, et al. Aspirin in the chemoprevention of colorectal neoplasia: An overview. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2012;5(2):164-78.
25. Kim SE. The benefit-risk consideration in long-term use of alternate-day, low dose aspirin: focus on colorectal cancer prevention. *Ann Gastroenterol*. 2014;27(1):87-8.
26. Lipton L, Tomlinson I. The genetics of FAP and FAP-like syndromes. *Fam Cancer*. 2006;5(3):221-6.
27. Win AK, Ouakrim DA, Jenkins MA. Risk profiling: Familial colorectal cancer. *Cancer Forum*. 2014;38(1):15-25.
28. Kastrinos F, Syngal S. Inherited colorectal cancer syndromes. *Cancer J*. 2011;17(6):405-15.
29. Knudson AG. Hereditary cancer: two hits revisited. *J Cancer Res Clin Oncol*. 1996;122(3):135-40.
30. Compton CC, Greene FL. The Staging of Colorectal Cancer: 2004 and Beyond. *CA Cancer J Clin*. 2004;54:295-308.
31. Edge SB, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, Trotti A, eds. *AJCC Cancer Staging Handbook*. 7th ed. New York: Springer; 2010. p. 173-206.
32. Weisenberg E. TNM staging of colorectal carcinoma (AJCC 8th edition). *PathologyOutlines.com* website. <http://www.pathologyoutlines.com/topic/colontumorstaging8ed.html>. Accessed May 11th, 2018.
33. Weiser MR. AJCC 8th ed: Colorectal Cancer. *Ann Surg Oncol*. 2018;25(6):1454-5. doi: 10.1245/s10434-018-6462-1.
34. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargente D, Ford R, et al. New Response Evaluation Criteria in Solid Tumours: Revised RECIST Guideline (version 1.1). *Eur J Cancer*. 2009;45(2):228-47.
35. 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. doi: 10.1093/annonc/mdw235.
36. 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. doi: 10.1093/annonc/mdx738.
37. Republička stručna komisija za izradu i implementaciju vodiča dobre kliničke prakse. Vodič za dijagnostikovanje i lečenje raka kolona i rektuma 2013. Available from:



<http://www.zdravlje.gov.rs/downloads/2013/Novembar/VodicZaDijagnostikovanjeiLecenjeRakaKolonaiRektuma.pdf>

38. 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.
39. McGrath JP, Capon DJ, Smith DH, Chen EY, Seeburg PH, Goeddel DV, et al. Structure and organization of the human Ki-ras proto-oncogene and a related processed pseudogene. *Nature.* 1983;304(5926):501-6.
40. Jančík S, Drábek J, Radzioch D, Hajdúch M. Clinical Relevance of KRAS in Human Cancers. *J Biomed Biotechnol.* 2010;2010:150960.
41. Schubbert S, Shannon K, Bollag G. Hyperactive Ras in developmental disorders and cancer. *Nat Rev Cancer.* 2007;7(4):295-308.
42. Forbes SA, Bhamra G, Bamford S, Dawson E, Kok C, Clements J, et al. The Catalogue of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC). *Curr Protoc Hum Genet.* 2008;Chapter 10:Unit 10.11. doi: 10.1002/0471142905.hg1011s57.
43. Herreros-Villanueva M, Rodrigo M, Claver M, Muñoz P, Lastra E, García-Girón C, et al. KRAS, BRAF, EGFR and HER2 gene status in a Spanish population of colorectal cancer. *Mol Biol Rep.* 2011;38(2):1315-20.
44. Edkins S, O'Meara S, Parker A, Stevens C, Reis M, Jones S, et al. Recurrent KRAS codon 146 mutations in human colorectal cancer. *Cancer Biol Ther.* 2006;5(8):928-32.
45. Van Krieken JH, Jung A, Kirchner T, Carneiro F, Seruca R, Bosman FT, et al. KRAS mutation testing for predicting response to anti-EGFR therapy for colorectal carcinoma: proposal for an European quality assurance program. *Virchows Arch.* 2008;453:417-31.
46. Vandersteen JG, Bayrak-Toydemir P, Palais RA, Wittwer CT. Identifying common genetic variants by high-resolution melting. *Clin Chem.* 2007;53(7):1191-8.
47. Knežević-Ušaj S. Prognostički značaj prisustva mutacije K-Ras onkogena i p53 tumor supresornog gena u kolorektalnom karcinomu [disertacija]. Beograd: Vojnomedicinska Akademija; 2001.
48. Porebska I, Harlozińska A, Bojarowski T. Expression of the tyrosine kinase activity growth factor receptors (EGFR, ERB B2, ERBB3) in colorectal adenocarcinomas and adenomas. *Tumour Biol.* 2000;21(2):105-15.
49. 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.
50. Giusti RM, Shastri K, Pilaro AM, Fuchs C, Cordoba-Rodriguez R, Koti K, et al. U.S. food and drug administration approval: panitumumab for epidermal growth factor receptor-expressing metastatic colorectal carcinoma with progression following fluoropyrimidine-, oxaliplatin-, and irinotecan-containing chemotherapy regimens. *Clin Cancer Res.* 2008;14(5):1296-302.
  51. Maughan TS, Adams R, Smith CG, Seymour MT, Wilson RH, Meade AM, et al. MRC COIN Trial Investigators. Identification of potentially responsive subsets when cetuximab is added to oxaliplatin–fluoropyrimidine chemotherapy (CT) in first-line advanced colorectal cancer (aCRC): mature results of the MRC COIN trial [abstract]. *J Clin Oncol.* 2010;28(15 Suppl):3502.
  52. Gray-Schopfer V, Wellbrock C, Marias R. Melanoma biology and new targeted therapy. *Nature.* 2007;445(7130):851-7.
  53. Vakiani E, Solit DB. KRAS and BRAF: drug targets and predictive biomarkers. *J Pathol.* 2011;223(2):219-29.
  54. 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.
  55. Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature.* 2002;417:949-54.
  56. Pratilas CA, Xing F, Solit DB. Targeting oncogenic BRAF in human cancer. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2012;355:83-98. doi: 10.1007/82\_2011\_162
  57. 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 Suppl):abstract 8502.
  58. 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.
  59. 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.

60. 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.
61. 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;41(3):300-8. doi: 10.1016/j.ejso.2014.11.001.
62. Li FY, Lai MD. Colorectal cancer, one entity or three. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2009;10(3):219-29. doi: 10.1631/jzus.B0820273.
63. Iacopetta B. Are there two sides to colorectal cancer? *Int J Cancer.* 2002;101(5):403-8.
64. Stintzing S, Tejpar S, Gibbs P, Thiebach L, Lenz HJ. Understanding the role of primary tumour localisation in colorectal cancer treatment and outcomes. *Eur J Cancer.* 2017;84:69-80. doi: 10.1016/j.ejca.2017.07.016.
65. Missiaglia E, Jacobs B, D'Ario G, Di Narzo AF, Soneson C, Budinska E, et al. Distal and proximal colon cancers differ in terms of molecular, pathological, and clinical features. *Ann Oncol.* 2014;25(10):1995-2001. doi: 10.1093/annonc/mdu275.
66. Brenner H, Bouvier AM, Foschi R, Hackl M, Larsen IK, Lemmens V, et al; EUROCORE Working Group. Progress in colorectal cancer survival in Europe from the late 1980s to the early 21st century: the EUROCORE study. *Int J Cancer.* 2012;131(7):1649-58. doi: 10.1002/ijc.26192.
67. Riihimäki M, Hemminki A, Sundquist J, Hemminki K. Patterns of metastasis in colon and rectal cancer. *Sci Rep.* 2016;6:29765. doi: 10.1038/srep29765.
68. Benedix F, Kube R, Meyer F, Schmidt U, Gastinger I, Lippert H; Colon/Rectum Carcinomas (Primary Tumor) Study Group. 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(1):57-64. doi:10.1007/DCR.0b013e3181c703a4.
69. Sinicrope FA, Mahoney MR, Yoon HH, Smyrk TC, Thibodeau SN, Goldberg RM, et al; Alliance for Clinical Trials in Oncology. Analysis of Molecular Markers by Anatomic Tumor Site in Stage III Colon Carcinomas from Adjuvant Chemotherapy Trial NCCTG N0147 (Alliance). *Clin Cancer Res.* 2015;21(23):5294-304. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-0527.
70. Yamauchi M, Morikawa T, Kuchiba A, Imamura Y, Qian ZR, Nishihara R, et al. Assessment of colorectal cancer molecular features along bowel subsites challenges the conception of distinct dichotomy of proximal versus distal colorectum. *Gut.* 2012;61(6):847-54. doi: 10.1136/gutjnl-2011-300865.

71. 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(11):1350-6. doi: 10.1038/nm.3967.
72. 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(3):648-55. doi: 10.1007/s11605-015-3026-6.
73. Abrams TA, Meyer G, Schrag D, Meyerhardt JA, Moloney J, Fuchs CS. Chemotherapy usage patterns in a US-wide cohort of patients with metastatic colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2014;106(2):djt371. doi: 10.1093/jnci/djt371.
74. Schmoll HJ, Van Cutsem E, Stein A, Valentini V, Glimelius B, Haustermans K, et al. ESMO consensus guidelines for management of patients with colon and rectal cancer. A personalized approach to clinical decision making. *Ann Oncol*. 2012;23(10):2479-516.
75. Van Cutsem E, Cervantes A, Nordlinger B, Arnold D; ESMO Guidelines Working Group. Metastatic colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2014;25(Suppl 3):iii1–iii9.
76. National Cancer Comprehensive Network. Colon cancer. (Internet). (Online) Version 4; Oct 19, 2018. Available from <http://www.nccn.org/professionals/physician>
77. National Cancer Comprehensive Network. Rectal cancer. (Internet). (Online) Version 3; Aug 7, 2018. Available from <http://www.nccn.org/professionals/physician>
78. Sobrero AF, Aschele C, Bertino JR. Fluorouracil in colorectal cancer - a tale of two drugs: implications for biochemical modulation. *J Clin Oncol*. 1997;15(1):368-81.
79. Mini E, Trave F, Rustum YM, Bertino JR. Enhancement of the antitumor effects of 5-fluorouracil by folinic acid. *Pharmacol Ther*. 1990;47(1):1-19.
80. Meta-analysis Group In Cancer, Piedbois P, Rougier P, Buyse M, Pignon J, Ryan L, Hansen R, et al. Efficacy of intravenous continuous infusion of fluorouracil compared with bolus administration in advanced colorectal cancer. Meta-analysis Group In Cancer. *J Clin Oncol*. 1998;16(1):301-8.
81. Meta-Analysis Group In Cancer, Lévy E, Piedbois P, Buyse M, Pignon JP, Rougier P, Ryan L, Hansen R, et al. Toxicity of fluorouracil in patients with advanced colorectal cancer: effect of administration schedule and prognostic factors. *J Clin Oncol*. 1998;16(11):3537-41.
82. DeBraud F, Munzone E, Nolè F, De Pas T, Biffi R, Brienza S, et al. Synergistic activity of oxaliplatin and 5-fluorouracil in patients with metastatic colorectal cancer with progressive disease while on or after 5-fluorouracil. *Am J Clin Oncol*. 1998;21(3):279-83.

83. Armand JP, Boige V, Raymond E, Fizazi K, Faivre S, Ducreux M. Oxaliplatin in colorectal cancer: an overview. *Semin Oncol.* 2000;27(5 Suppl 10):96-104.
84. Bécouarn Y, Ychou M, Ducreux M, Borel C, Bertheault-Cvitkovic F, Seitz JF, et al. Phase II trial of oxaliplatin as first-line chemotherapy in metastatic colorectal cancer patients. Digestive Group of French Federation of Cancer Centers. *J Clin Oncol.* 1998;16(8):2739-44.
85. Rougier P, Van Cutsem E, Bajetta E, Niederle N, Possinger K, Labianca R, et al. Randomised trial of irinotecan versus fluorouracil by continuous infusion after fluorouracil failure in patients with metastatic colorectal cancer. *Lancet.* 1998;352(9138):1407-12.
86. Cunningham D, Pyrhönen S, James RD, Punt CJ, Hickish TF, Heikkila R, et al. Randomised trial of irinotecan plus supportive care versus supportive care alone after fluorouracil failure for patients with metastatic colorectal cancer. *Lancet.* 1998;352(9138):1413-8.
87. De Gramont A, Figuer A, Seymour M, Homerin M, Hmissi A, Cassidy J, et al. Leucovorin and fluorouracil with or without oxaliplatin as first-line treatment in advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2000;18(16):2938-47.
88. Douillard JY; V-303 Study Group. Irinotecan and high-dose fluorouracil/leucovorin for metastatic colorectal cancer. *Oncology (Williston Park).* 2000;14(12 Suppl 14):51-5.
89. 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(23):2335-42.
90. Ince WL, Jubb AM, Holden SN, Holmgren EB, Tobin P, Sridhar M, et al. Association of k-ras, b-raf, and p53 status with treatment effect of bevacizumab. *J Natl Cancer Inst.* 2005;97(13):981-9.
91. Goldberg RM, Sargent DJ, Morton RF, Fuchs CS, Ramanathan RK, Williamson SK, et al. A randomized controlled trial of fluorouracil plus leucovorin, irinotecan, and oxaliplatin combinations in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2004;22(1):23-30.
92. Colucci G, Gebbia V, Paoletti G, Giuliani F, Caruso M, Gebbia N, et al. Gruppo Oncologico Dell'Italia Meridionale. Phase III randomized trial of FOLFIRI versus FOLFOX4 in the treatment of advanced colorectal cancer: a multicenter study of the Gruppo Oncologico Dell'Italia Meridionale. *J Clin Oncol.* 2005;23(22):4866-75.
93. Cassidy J, Clarke S, Díaz-Rubio E, Scheithauer W, Figuer A, Wong R, et al. Randomized phase III study of capecitabine plus oxaliplatin compared with fluorouracil/folinic acid plus

- oxaliplatin as first-line therapy for metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2008;26(12):2006-12. doi: 10.1200/JCO.2007.14.9898.
94. Cassidy J, Clarke S, Díaz-Rubio E, Scheithauer W, Figer 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. doi: 10.1038/bjc.2011.201.
95. 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.
96. Grothey A, Van Cutsem E, Sobrero A, Siena S, Falcone A, Ychou M, et al. Regorafenib monotherapy for previously treated metastatic colorectal cancer (CORRECT): an international, multicentre, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet.* 2013;381(9863):303-12.
97. Li J, Qin S, Xu R, Yau TC, Ma B, Pan 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;16(6):619-29. doi: 10.1016/S1470-2045(15)70156-7.
98. 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.* 2016;16:412. doi: 10.1186/s12885-016-2440-9.
99. 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.
100. Hayat MJ, Howlader N, Reichman ME, Edwards BK. Cancer statistics, trends, and multiple primary cancer analyses from the Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program. *Oncologist.* 2007;12(1):20-37.
101. Leonard GD, Brenner B, Kemeny NE. Neoadjuvant chemotherapy before liver resection for patients with unresectable liver metastases from colorectal carcinoma. *J Clin Oncol.* 2005;23(9):2038-48.
102. Scheele J, Stangl R, Altendorf-Hofmann A, Gall FP. Indicators of prognosis after hepatic resection for colorectal secondaries. *Surgery.* 1991;110(1):13-29.

103. Hayashi M, Inoue Y, 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;10:27.
104. Poultides GA, Servais EL, Saltz LB, Patil S, Kemeny NE, Guillem JG, et al. Outcome of Primary Tumor in Patients With Synchronous Stage IV Colorectal Cancer Receiving Combination Chemotherapy Without Surgery As Initial Treatment. *J Clin Oncol.* 2009;27(20):3379-84.
105. Tsai MS, Su YH, Ho MC, Liang JT, Chen TP, Lai HS, et al. Clinicopathological features and prognosis in resectable synchronous and metachronous colorectal liver metastasis. *Ann Surg Oncol.* 2007;14(2):786-94.
106. Adam R, De Gramont A, Figueras J, Guthrie A, Kokudo N, Kunstlinger F, et al. The Oncosurgery Approach to Managing Liver Metastases from Colorectal Cancer: A Multidisciplinary International Consensus. *Oncologist.* 2012;17(10):1225-39.
107. Pawlik TM, Scoggins CR, Zorzi D, Abdalla EK, Andres A, Eng C, et al. Effect of surgical margin status on survival and site of recurrence after hepatic resection for colorectal metastases. *Ann Surg.* 2005;241(5):715-22.
108. Kanas GP, Taylor A, Primrose JN, Langeberg WJ, Kelsh MA, Mowat FS, et al. Survival after liver resection in metastatic colorectal cancer: review and meta-analysis of prognostic factors. *Clin Epidemiol.* 2012;4:283-301.
109. Aloia TA, Vauthey JN, Loyer EM, Ribero D, Pawlik TM, Wei SH, et al. Solitary colorectal liver metastasis: resection determines outcome. *Arch Surg.* 2006;141(5):460-6; discussion 466-7.
110. Hur H, Ko YT, Min BS, Kim KS, Choi JS, Sohn SK, et al. Comparative study of resection and radiofrequency ablation in the treatment of solitary colorectal liver metastases. *Am J Surg.* 2009;197(6):728-36.
111. Tomlinson JS, Jarnagin WR, DeMatteo RP, Fong Y, Kornprat P, Gonen M, et al. Actual 10-year survival after resection of colorectal liver metastases defines cure. *J Clin Oncol.* 2007;25(29):4575-80.
112. Wei AC, Greig PD, Grant D, Taylor B, Langer B, Gallinger S. Survival after hepatic resection for colorectal metastases: a 10-year experience. *Ann Surg Oncol.* 2006;13(5):668-76.
113. Tsai MS, Su YH, Ho MC, Liang JT, Chen TP, Lai HS, et al. Clinicopathological features and prognosis in resectable synchronous and metachronous colorectal liver metastasis. *Ann Surg Oncol.* 2007;14(2):786-94.

114. Kemeny N. Management of liver metastases from colorectal cancer. *Oncology* (Williston Park). 2006;20(10):1161-76, 1179; discussion 1179-80, 1185-6.
115. Line PD, Hagness M, Dueland S. The Potential Role of Liver Transplantation as a Treatment Option in Colorectal Liver Metastases. *Can J Gastroenterol Hepatol*. 2018;2018:8547940. doi: 10.1155/2018/8547940.
116. Takahashi S, Konishi M, Kinoshita T, Gotohda N, Kato Y, Saito N, et al. Predictors for early recurrence after hepatectomy for initially unresectable colorectal liver metastasis. *J Gastrointest Surg*. 2013;17(5): 939-48 doi: 10.1007/s11605-013-2162-0.
117. Maeda Y, Shinohara T, Nagatsu A, Futakawa N, Hamada T. Long-Term Outcomes of Conversion Hepatectomy for Initially Unresectable Colorectal Liver Metastases. *Ann Surg Oncol*. 2016;23(Suppl 2):S242-S248. doi: 10.1245/s10434-015-4460-0.
118. Nozawa H, Ishihara S, Kawai K, Hata K, Kiyomatsu T, Tanaka T, et al. Conversion to Resection in Patients Receiving Systemic Chemotherapy for Unresectable and/or Metastatic Colorectal Cancer-Predictive Factors and Prognosis. *Clin Colorectal Cancer*. 2018;(1)17:e91-e97. doi: 10.1016/j.clcc.2017.10.002.
119. Pozzo C, Basso M, Cassano A, Quirino M, Schinzari G, Trigila N, et al. Neoadjuvant treatment of unresectable liver disease with irinotecan and 5-fluorouracil plus folinic acid in colorectal cancer patients. *Ann Oncol*. 2004;15(6):933-9.
120. Adam R, Delvart V, Pascal G, Valeanu A, Castaing D, Azoulay D, et al. Rescue surgery for unresectable colorectal liver metastases downstaged by chemotherapy: a model to predict long-term survival. *Ann Surg*. 2004;240(4):644-57; discussion 657-8.
121. 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.
122. Souglakos J, Androulakis N, Syrigos K, Polyzos A, Ziras N, Athanasiadis A, et al. FOLFOXIRI (folinic acid, 5-fluorouracil, oxaliplatin and irinotecan) vs FOLFIRI (folinic acid, 5-fluorouracil and irinotecan) as first-line treatment in metastatic colorectal cancer (MCC): a multicentre randomised phase III trial from the Hellenic Oncology Research Group (HORG). *Br J Cancer*. 2006;94(6):798-805.
123. 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(23):2392-401.



124. Folprecht G, Gruenberger T, Bechstein WO, Raab HR, Lordick F, Hartmann JT, et al. Tumour response and secondary resectability of colorectal liver metastases following neoadjuvant chemotherapy with cetuximab: the CELIM randomised phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2010;11(1):38-47.
125. 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(3):4779-86.
126. Saltz LB, Clarke S, Diaz-Rubio E, Scheithauer W, Figuer A, Wong R, et al. Bevacizumab in combination with oxaliplatin-based chemotherapy as first-line therapy in metastatic colorectal cancer: a randomized phase III study. *J Clin Oncol.* 2008;26(12):2013-9.
127. Gruenberger T, Bridgewater J, Chau I, García Alfonso P, Rivoire M, Mudan S, et al. Bevacizumab plus mFOLFOX-6 or FOLFOXIRI in patients with initially unresectable liver metastases from colorectal cancer: the OLIVIA multinational randomised phase II trial. *Ann Oncol.* 2015;26(4):702-8.
128. Cremolini C, Loupakis F, Antoniotti C, Lupi C, Sensi E, Lonardi S, et al. FOLFOXIRI plus bevacizumab versus FOLFIRI plus bevacizumab as first-line treatment of patients with metastatic colorectal cancer: updated overall survival and molecular subgroup analyses of the open-label, phase 3 TRIBE study. *Lancet Oncol.* 2015;16(13):1306-15.
129. Ciliberto D, Prati U, Roveda L, Barbieri V, Staropoli N, Abbruzzese A, et al. Role of systemic chemotherapy in the management of resected or resectable colorectal liver metastases: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Oncol Rep.* 2012;27(6):1849-56.
130. Araujo R, Gonen M, Allen P, Blumgart L, DeMatteo R, Fong Y, et al. Comparison between perioperative and postoperative chemotherapy after potentially curative hepatic resection for metastatic colorectal cancer. *Ann Surg Oncol.* 2013;20(13):4312-21.
131. Bilchik AJ, Poston G, Adam R, Choti MA. Prognostic variables for resection of colorectal cancer hepatic metastases: an evolving paradigm. *J Clin Oncol.* 2008;26(33):5320-1.
132. Van Vledder MG, de Jong MC, Pawlik TM, Schulick RD, Diaz LA, Choti MA. Disappearing colorectal liver metastases after chemotherapy: should we be concerned? *J Gastrointest Surg.* 2010;14(11):1691-700.
133. Bilchik AJ, Poston G, Curley SA, Strasberg S, Saltz L, Adam R, et al. Neoadjuvant chemotherapy for metastatic colon cancer: a cautionary note. *J Clin Oncol.* 2005;23(36):9073-8.

134. Vauthey JN, Pawlik TM, Ribero D, Wu TT, Zorzi D, Hoff PM, et al. Chemotherapy regimen predicts steatohepatitis and an increase in 90-day mortality after surgery for hepatic colorectal metastases. *J Clin Oncol.* 2006;24(13):2065-72.
135. Kishi Y, Zorzi D, Contreras CM, Maru DM, Kopetz S, Ribero D, et al. Extended preoperative chemotherapy does not improve pathologic response and increases postoperative liver insufficiency after hepatic resection for colorectal liver metastases. *Ann Surg Oncol.* 2010;17(11):2870-6.
136. Nordlinger B, Guiguet M, Vaillant JC, Balladur P, Boudjema K, Bachellier P, et al. Surgical resection of colorectal carcinoma metastases to the liver: A prognostic scoring system to improve case selection based on 1568 patients - Association Francaise de Chirurgie. *Cancer.* 1996;77(7):1254-62.
137. Fong Y, Fortner J, Sun RL, Brennan MF, Blumgart LH. Clinical score for predicting recurrence after hepatic resection for metastatic colorectal: Analysis of 1001 consecutive cases. *Ann Surg.* 1999;230(3):309-18.
138. Schindl M, Wigmore SJ, Currie EJ, Laengle F, Garden OJ. Prognostic scoring in colorectal cancer liver metastases: development and validation. *Arch Surg.* 2005;140(2):183-9.
139. Zakaria S, Donohue JH, Que FG, Farnell MB, Schleck CD, Ilstrup DM, et al. Hepatic Resection for Colorectal Metastases. Value for Risk Scoring Systems? *Ann Surg.* 2007;246(2):183-91. doi: 10.1097/SLA.0b013e3180603039.
140. Blazer DG 3rd, Kishi Y, Maru DM, Kopetz S, Chun YS, Overman MJ, et al. Pathologic response to preoperative chemotherapy: A new outcome end point after resection of hepatic colorectal metastases. *J Clin Oncol.* 2008;26(33):5344-51. doi: 10.1200/JCO.2008.17.5299
141. Adam R, Wicherts DA, de Haas RJ, Aloia T, Lévi F, Paule B, et al. Complete pathologic response after preoperative chemotherapy for colorectal liver metastases: Myth or reality? *J Clin Oncol.* 2008;26(10):1635-41.
142. Rubbia-Brandt L, Giostra E, Brezault C, Roth AD, Andres A, Audard V, et al. Importance of histological tumor response assessment in predicting the outcome in patients with colorectal liver metastases treated with neoadjuvant chemotherapy followed by liver surgery. *Ann Oncol.* 2007;18(2):299-304.
143. Chun YS, Vauthey JN, Boonsirikamchai P, Maru DM, Kopetz S, Palavecino M, et al. Association of computed morphologic criteria with pathologic response and survival in patients treated with bevacizumab for colorectal liver metastases. *JAMA.* 2009;302(21):2338-44.
144. Fong Y, Cohen AM, Fortner JG, Enker WE, Turnbull AD, Coit DG, et al. Liver resection for colorectal metastases. *J Clin Oncol.* 1997;15(3):938-46.

145. Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Sivridis E, Gatter KC, Trarbach T, Folprecht G, et al. Prognostic and predictive role of lactate dehydrogenase 5 expression in colorectal cancer patients treated with PTK787/ZK 222584 (vatalanib) antiangiogenic therapy. *Clin Cancer Res.* 2011;17(14):4892-900.
146. Onozawa H, Fukuchi M, Suzuki O, Hatano S, Matsuzawa T, Kuwabara K, et al. Significance of the granulocyte-to-lymphocyte ratio as a prognostic predictor in patients with stage IV colorectal cancer undergoing chemotherapy. *Gan To Kagaku Ryoho.* 2014;41(10):1307-9.
147. Prall F. Tumour budding in colorectal carcinoma. *Histopathology.* 2007;50(1):151-62.
148. Ohtsuki K, Koyama F, Tamura T, Enomoto Y, Fujii H, Mukogawa T, et al. Prognostic value of immunohistochemical analysis of tumor budding in colorectal carcinoma. *Anticancer Res.* 2008;28(3B):1831-6.
149. Kanazawa H, Mitomi H, Nishiyama Y, Kishimoto I, Fukui N, Nakamura T, et al. Tumour budding at invasive margins and outcome in colorectal cancer. *Colorectal Dis.* 2008;10(1):41-7.
150. Ueno H, Murphy J, Jass JR, Mochizuki H, Talbot IC. Tumour 'budding' as an index to estimate the potential of aggressiveness in rectal cancer. *Histopathology.* 2002;40(2):127-32.
151. Park K-J, Choi H-J, Roh M-S, Kwon H-C, Kim C. Intensity of tumor budding and its prognostic implications in invasive colon carcinoma. *Dis Colon Rectum.* 2005;48(8):1597-602.
152. Washington MK. Colorectal carcinoma: selected issues in pathologic examination and staging and determination of prognostic factors. *Arch Pathol Lab Med.* 2008;132(10):1600-7.
153. Cianchi F, Messerini L, Comin CE, Boddi V, Perna F, Perigli G, et al. Pathologic determinants of survival after resection of T3N0 (stage IIA) colorectal cancer: proposal for a new prognostic model. *Dis Colon Rectum.* 2007;50(9):1332-41.
154. Wang LM, Kevans D, Mulcahy H, O'Sullivan J, Fennelly D, Hyland J, et al. Tumor budding is a strong and reproducible prognostic marker in T3N0 colorectal cancer. *Am J Surg Pathol.* 2009;33(1):134-41.
155. Masaki T, Matsuoka H, Sugiyama M, Abe N, Sakamoto A, Atomi Y. Actual number of tumour budding as a new tool for the individualization of treatment of T1 colorectal carcinomas. *J Gastroenterol Hepatol.* 2006;21(7):1115-21.

156. Qureshi MS, Goldsmith PJ, Maslekar S, Prasad KR, Botterill ID. Synchronous resection of colorectal cancer and liver metastases: comparative views of colorectal and liver surgeons. *Colorectal Dis.* 2012;14(8):e477-85.
157. Dawson H, Koelzer VH, Karamitopoulou E, Economou M, Hammer C, Muller DE, et al. The apoptotic and proliferation rate of tumour budding cells in colorectal cancer outlines a heterogeneous population of cells with various impacts on clinical outcome. *Histopathology.* 2014;64(4):577-84.
158. Alamagush A, Karhunen M, Hautaniemi S, Salo T, Leivo I. Prognostic value of tumour budding in oesophageal cancer: a meta-analysis. *Histopathology.* 2016;68(2):173-82.
159. Šolajić N. Prognostički značaj gustine tumorskih pupoljaka i citoplazmatskih pseudofragmenata u tumorskom tkivu karcinoma kolona kod bolesnika u stadijumu II [disertacija]. Novi Sad: Medicinski fakultet; 2016.
160. Fonseca GM, de Mello ES, Faraj SF, Kruger JAP, Coelho FF, Jeismann VB, et al. Prognostic significance of poorly differentiated clusters and tumor budding in colorectal liver metastases. *J Surg Oncol.* 2018;117(7):1364-75.
161. Ueno H, Kajiwara Y, Shimazaki H, Shinto E, Hashiguchi Y, Nakanishi K, et al. New criteria for histologic grading of colorectal cancer. *Am J Surg Pathol.* 2012;36(2):193-201.
162. Barresi V, Reggiani Bonetti L, Ieni A, Caruso RA, Tuccari G. Poorly differentiated clusters: clinical impact in colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer.* 2017;16(1):9-15.
163. Zlobec I, Molinari F, Martin V, Mazzucchelli L, Saletti P, Trezzi R, et al. Tumor budding predicts response to anti-EGFR therapies in metastatic colorectal cancer patients. *World J Gastroenterol.* 2010;16(38):4823-31.
164. Rubbia-Brandt L, Giostra E, Brezault C, Roth AD, Andres A, Audard V, et al. Importance of histological tumor response assessment in predicting the outcome in patients with colorectal liver metastases treated with neo-adjuvant chemotherapy followed by liver surgery. *Ann Oncol.* 2007;18(2):299-304.
165. Chang HH, Leeper WR, Chan G, Quan D, Driman DK. Infarct-like necrosis: A distinct form of necrosis seen in colorectal carcinoma liver metastases treated with perioperative chemotherapy. *Am J Surg Pathol.* 2012;36(4):570-6.
166. Aloia T, Sebah M, Plasse M, Karam V, Levi F, Giacchetti S, et al. Liver histology and surgical outcomes after preoperative chemotherapy with fluorouracil plus oxaliplatin in colorectal cancer liver metastases. *J Clin Oncol.* 2006;24(31):4983-90.
167. Wicherts DA, de Haas RJ, Sebah M, Saenz Corrales E, Gorden DL, Levi F, et al. Impact of bevacizumab on functional recovery and histology of the liver after resection of colorectal metastases. *Br J Surg.* 2011;98(3):399-407.