

**UNIVERZITET U BEOGRADU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Jelena Petrović Šunderić**

**Značaj određivanja *RAD51* genskog polimorfizma u cilju predikcije  
nastanka ili prognoze u lečenju kolorektalnog karcinoma kod  
populacije u Srbiji**

**doktorska disertacija**

**Beograd 2018.**

**UNIVERSITY OF BELGRADE  
SCHOOL OF MEDICINE**

**Jelena Petrović Šunderić**

**The Importance of Estimation of *RAD51* Genetic Polymorphism in  
Order to Predict the Occurrence and Prognosis of Colorectal Cancer in  
Population in Serbia**

**Doctoral Disertation**

**Belgrade 2018.**

**MENTOR:** Prof. dr Zoran Krivokapić, hirurg, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, dopisni član SANU

**KOMENTOR:** Prof. dr Momčilo Ristanović, vanredni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

**ČLANOVI KOMISIJE:**

1. **Prof. dr Ivana Novaković**, profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
2. **Prof. dr Velimir Marković**, hirurg, profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
3. **VNS Aleksandra Nikolić**, Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo, Beograd

Na početku, želim da od srca zahvalim:

- **Mentoru, Ac. Prof. dr Zoranu Krivokapiću**, na podršci i saradnji tokom izrade teze
- **Komentoru, Prof. dr Momčilu Ristanoviću**, na izuzetnom entuzijazmu i nesebičnoj stručnoj pomoći prilikom izbora i izrade teze
- **VNS Aleksandri Nikolić, Mini Krnjajić i Sandri Dragičević** na dragocenoj stručnoj pomoći prilikom obrade uzoraka, podataka i izrade teze
- **Prof. dr Velimiru Markoviću i stručnom kolegijumu**, na mogućnosti da obavljam istraživanje na Klinici za digestivnu hirurgiju KCS
- **Mojim kolegama doktorima, medicinskim sestrama i službi patologije na čelu sa Prof dr Marjanom Micevim na Klinici za digestivnu hirurgiju KCS**, koji su mi pomagali prilikom izrade teze
- **Poštovanim ispitanicima**, koji su uzeli učešće u istraživanju
- **Porodici i prijateljima**, koji su verovali u mene i nesebično mi pružali dragocenu podršku i pomoć u svakom trenutku izrade ove teze

## **Sažetak**

Uvod: Gen RAD 51 igra važnu ulogu u razmeni homologih lanaca u reparaciji DNK. Dva najčešća polimorfizma jednog nukleotida kod ovog gena, 135G>C i 172G>T, su povezana sa izmenjenom genskom transkripcijom. Dok je 135G>C već povezan sa karcinomima dojke i kolorektuma, 172G>T je daleko manje ispitan, iako sporadične studije pokazuju da bi mogao biti prognostički faktor kod nekih malignih lezija.

Cilj ove studije je da se istraži RAD51 172G>T polimorfizam kod populacije u Srbiji, njegova povezanost sa kolorektalnim karcinomom, kao i korelacija karakteristika bolesti i odgovor na neoadjuvantnu hemioradioterapiju.

Metode: Polimorfizam 172G>T je evaluiran PCR-RFLP metodom iz uzoraka krvi 209 pacijenata sa kolorektalnim karcinomom i 43 zdrava ispitanika koji su služili kao kontrolna grupa. Distribucija genotipova je takođe analizirana u odnosu na određene karakteristike tumora u slučajevima u kojim su histopatološki podaci bili dostupni, kao i u odnosu na dvogodišnje preživljavanje i period do progresije bolesti.

Rezultati: Pokazala se značajna povezanost RAD51 172G>T polimorfizma i dezmoplastične reakcije kolorektalnog karcinoma. Alel 172G je značajno učestaliji kod pacijenata sa intenzivnijim dezmoplastičnim odgovorom na tumorsko tkivo. Nije viđena značajna razlika u preživljavanju niti u periodu do progresije bolesti u grupama sa različitim alelima.

Zaključak: rezultati ove studije sugerišu da bi 172T alel gena RAD51 može biti povoljan faktor kod pacijenata sa kolorektalnim karcinomom kod populacije u Srbiji, mada su neophodne veće prospektivne studije da bi se ovaj nalaz potvrdio.

Ključne reči: kolorektalni karcinom, dezmoplastična reakcija, polimorfizam, RAD51

Naučna oblast: Medicina

## **Abstract**

**Introduction:** The RAD51 gene plays an important role in homologous strand exchange in DNA repair. Two common single nucleotide polymorphisms in this gene, 135G>C and 172G>T, were associated with altered gene transcription. While 135G>C was already linked to breast and colorectal cancers in certain populations, 172G>T is far less investigated, although sporadic studies showed it could be a prognostic factor for some cancerous lesions.

The aim of this study was to investigate RAD51 172G>T polymorphism in Serbian population, its association with colorectal carcinoma, as well as correlation with disease characteristics and response to neoadjuvant chemoradiotherapy therapy.

**Methods:** The 172G>T polymorphism was evaluated by PCR-RFLP method in blood samples of 209 colorectal cancer subjects and 43 healthy subjects who served as controls. The distribution of genotypes was also analyzed in respect to several tumor characteristics in cases where histopathological data were available, as well as to overall survival and the disease free interval.

**Results:** A significant association between the RAD51 172G>T polymorphism and desmoplastic reaction of colorectal cancer was demonstrated. The 172G allele was found to be significantly more frequent in patients with more intensive desmoplastic response of the tumor tissue. No significant difference was found regarding overall survival and the disease free interval.

**Conclusions:** The results of our study suggest that the 172T allele of RAD51 may be a favoring prognostic factor in patients with colorectal cancer in Serbian population, although larger prospective studies are required to confirm this finding.

**Key words:** colorectal cancer, desmoplastic reaction, polymorphism, RAD51

**Scientific field:** Medicine

# **SADRŽAJ**

Sažetak rada.....	5
Abstract.....	6
1. UVOD.....	10
1.1 Anatomija kolona i rektuma.....	12
1.1.1 Delovi kolona i rektuma.....	12
1.1.2 Arterijska vaskularizacija kolona i rektuma.....	13
1.1.3 Venska drenaža kolona i rektuma.....	14
1.1.4 Limfna drenaža kolona i rektuma.....	15
1.1.5 Inervacija kolona i rektuma.....	15
1.2 Epidemiologija kolorektalnog karcinoma.....	16
1.3 Etiologija kolorektalnog karcinoma.....	18
1.3.1 Faktori spoljašnje sredine.....	18
1.3.2 Nasledne bolesti koje vode do KRK.....	20
1.3.3 Drugi faktori u nastanku KRK.....	23
1.4 Kolorektalna karcinogeneza.....	24
1.4.1 Genetička osnova KRK.....	24
1.4.2 Molekularna patogeneza sporadičnog KRK.....	25
1.4.3 Molekularni putevi geneze KRK.....	27
1.4.4 Evolucija maligne transformacije u KRK.....	28
1.4.5 Oštećenje DNK i putevi reparacije.....	30
1.4.6 RAD51.....	33
1.5 Dijagnostika kolorektalnog karcinoma.....	38
1.5.1 Klinički pregled.....	38
1.5.2 Endoskopska dijagnostika.....	39
1.5.3 Radiološka dijagnostika.....	42
1.6 Patohistologija.....	44
1.6.1 Dukes i Astler-Coler klasifikacija.....	47
1.6.2 TNM klasifikacija KRK.....	48

1.7 Lečenje KRK.....	52
1.7.1 Hirurško lečenje.....	52
1.7.2 Radioterapija.....	57
1.7.2.1 Fizička osnova radioterapije.....	58
1.7.2.2 Biološka osnova radioterapije.....	58
1.7.2.3 Osetljivost tkiva i ćelija na zračenje.....	59
1.7.2.4 Neoadjuvantna i adjuvantna radioterapija karcinoma rektuma.....	60
1.7.2.5 Hemioradioterapija.....	62
1.7.3 Hemioterapija.....	63
1.7.4 Problemi u lečenju kolorektalnog karcinoma.....	64
1.7.4.1 Lokalni recidiv.....	64
1.7.4.2 Udaljane metastaze.....	66
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	70
3. METOD ISTRAŽIVANJA.....	72
3.1 Ispitanici.....	73
3.2 Sekvenciranje DNK.....	74
3.3 Statistička analiza.....	75
4. REZULTATI.....	76
4.1 Karakteristike ispitane grupe.....	77
4.1.1 Detekcija polimorfizma 172G>T u genu RAD51.....	78
4.1.2 Distribucije polimorfizma u odnosu na karakteristike pacijenata i tumora.....	79
4.1.2.1 Nivo tumor markera i mucinska produkcija.....	80
4.1.2.2 Patohistološke klasifikacije stadijuma tumora.....	80
4.1.2.2.1 TNM klasifikacija tumora.....	80
4.1.2.2.2 Dukes klasifikacija tumora.....	82
4.1.2.2.3 Astler Coller klasifikacija tumora.....	83
4.1.2.2.4 Diferencijacija tumora.....	84
4.1.2.2.5 Metastaze.....	85
4.2 Odgovor na terapiju.....	86



4.3 Rezidualni status tumora.....	87
4.4 Dezmoplastična reakcija.....	89
4.5 Preživljavanje i vreme do progresije.....	91
4.5.1 Ukupno preživljavanje (OS).....	92
4.5.2 Vreme do progresije bolesti (DFI).....	94
5. DISKUSIJA.....	96
6. ZAKLJUČCI.....	102
7. LITERATURA.....	104

4.3 Rezidualni status tumora .....	87
4.4 Dezoplastična reakcija .....	89
4.5 Preživljavanje i vreme do progresije .....	92
4.5.1 Ukupno preživljavanje (OS) .....	92
4.5.2 Vreme do progresije bolesti (DFI) .....	94
5. DISKUSIJA .....	96
6. ZAKLJUČCI .....	102
7. LITERATURA .....	104

## **1. UVOD**

Kolorektalni karcinom je veoma značajan globalni zdravstveni problem. Smatra se da je ova bolest izlečiva uglavnom hirurškim putem kada se otkrije u ranom stadijumu. Međutim, nespecifični simptomi i znaci ove bolesti vrlo često sprečavaju ranu dijagnozu. Iz tog razloga se veliki broj pacijenata leči u uznapredovalom stadijumu bolesti, kada su šanse za izlečenje smanjene ili nepostojeće.

Razumevanje geneze kolorektalnog karcinoma dovelo je do razvitka pratećih tretmana, kao što su radio i hemioterapija. Još uvek nije sa sigurnošću utvrđeno da li će tumori odgovoriti na neki vid terapije, ali je primećeno da postoje određene razlike u agresivnosti tumora i njegovoj osetljivosti na dodatne vidove lečenja. Iz tog razloga je neophodno sprovesti detaljna istraživanja do najosnovnijih mehanizama stvaranja kolorektalnog karcinoma, u cilju potpunog razumevanja načina na koji se stvara i reaguje na spoljašnje i genetske uticaje.

Ova studija je posvećena istraživanju značaja jednog takvog faktora, alela 172 G>T gena *RAD51*, za koji se zna da ima ulogu u reparaciji DNK, ali je njegova uloga u genezi i daljem razvitku kolorektalnog karcinoma nerazjašnjena.

## 1.1 Anatomija kolona i rektuma

Debelo crevo je dugačko oko 150 cm i podeljeno na 5 segmenata. Rektum ili pravo crevo, je završni segment pre anusa, a uzlazni i nishodni kolon su pričvršćeni za laterane trbušne zidove paritonealnim listom.

Desni deo creva se sastoji od cekuma, uzlaznog creva, hepatične fleksure i desne polovine poprečnog creva. Levo crevo se sastoji od leve polovine poprečnog creva, lijenalne fleksure, nishodnog kolona i sigme.

### 1.1.1 Delovi kolona i rektuma:

- *Cekum ili slepo crevo* (proksimalni desni kolon) je vrećasto proširenje početnog dela kolona koje je prekriveno peritoneumom
- *Apendiks ili crvuljak* je divertikulum koji je lociran u donjem delu cekuma iza peritoneuma
- *Ascendentni kolon* je takođe lociran retroperitonealno i prostire se u dužini od oko 20-25 cm, a iznad ileocekalne valvule do hepatične fleksure
- *Hepatična fleksura* je krivina smeštena ispod donje površine jetre
- *Transverzalno ili poprečno crevo* je postavljeno anteriorno i porečno u abdomenu i pričvršćeno je za gastrokolični ligament
- *Lijenalna fleksura* je krivina uz slezinu i rep pankreasa
- *Nishodni kolon* je dug oko 10-15 cm i smešten je iza peritoneuma
- *Sigmoidni kolon* je izvijajući deo kolona koji se prostire distalno od granice levog m. psoasa, varira u dužini i obično nije fiksiran u truhu
- *Rektosigmoidni prelaz* se nalazi u visini sakralnog promontorijuma, na oko 17 cm od anokutane linije
- *Rektum* je dugačak oko 15-17 cm; gornja trećina mu je pokrivena peritoneumom, dok je donja trećina smeštena u karlici ispod peritonealne refleksije, kod muškaraca iza bešike, prostate i semenih kesica, a kod žena iza materice i vagine.
- *Analni kanal* je završni deo digestivnog trakta i prostire se oko 4-5 cm od anokutanog prelaza, u zavisnosti od pola i građe pacijenta (1-4)

### 1.1.2 Arterijska vaskularizacija kolona i rektuma

Arterijsko snabdevanje krvi debelog creva dolazi iz superiornih i inferiornih mesenteričnih arterija. Deo rektuma se snabdeva od strane unutrašnjeg ilijačnog sistema i anastomozira sa donjim granama inferiornog mesenteričkog sistema.

Gornja mesenterična arterija daje srednju, desnu i ileokoličnu arteriju. Postoji i marginalna arterija, Drumondova arkada, blizu mezentrične strane debelog creva, koja ih povezuje i preko koje komuniciraju. Ova arkada je promenljive kompletnosti, te može biti i uzrok slabih tačaka crevne vaskularizacije i neophodno je njihovo poznavanje u hirurgiji kolona i rektuma.

Arterija ileokolika je terminalna grana superiorne mesenterične arterije. Ona vaskularizuje terminalni ileum, cekum i deo ascendensa. Njegove marginalne grane se pridružuju onima iz desne količne arterije. Desna količna arterija snabdeva uzlazno crevo. Njegove uzlazne marginalne granice vaskularizuju i hepatičnu fleksuru i proksimalni transverzum, dok se distalne marginalne grane udružuju sa marginalnim granama desne grane srednje količne arterije. Srednja kolicna arterija se pojavljuje blizu korena superiorne mesenterične arterije i mezokolnu transverzuma. Brzo se deli u desnu i levu granu i desna grana se udružuje sa marginalnim granama desne količne arterije u predelu hepatične fleksure, a leva sa marginalnim granama leve količne arterije u predelu lijenalne fleksure.

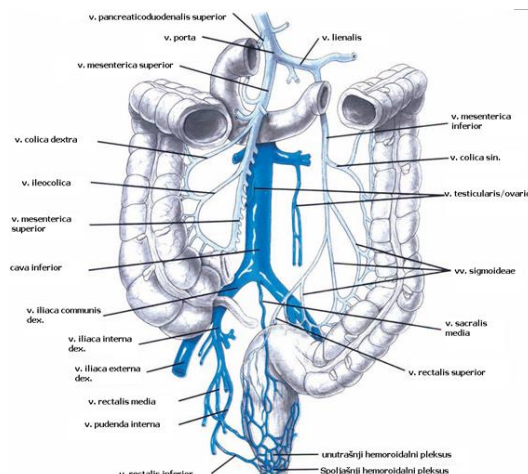
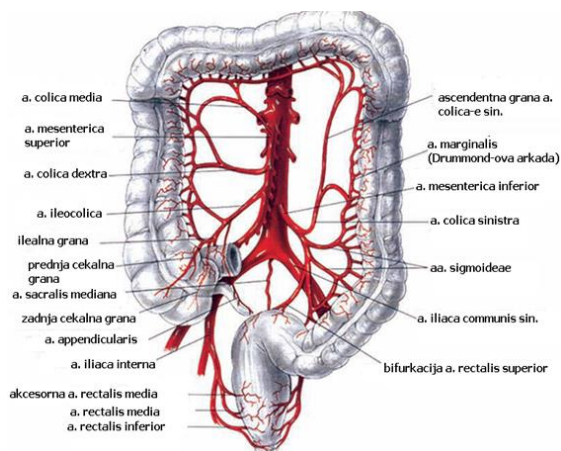
Donja mezentrična arterija (a. mesenterica inferior - AMI) vaskularizuje nishodni, sigmoidni kolon i rekto-sigmoidni spoj. Prva glavna grana je leva količna arterija koja snabdeva nishodni kolon i deli se u gornju i donju granu. Gornja grana se podiže kao marginalna arterija i anastomozira sa levom granom srednje količne arterije. Donja grana se spušta kao marginalna arterija grana na sigmoidne arterija sa kojima anastomozira u marginalnom delu mezoa sigmoidnog kolona, sve do rektosigmoidalnog prelaza. Najdistalnije grane vaskularizuju gornji rektum. AMI prelazi preko zajedničke ilijačne arterije i spušta se u malu karlicu sa sigmoidnim mezokolonom, koji prelazi u mezorektum. Iza gornje granice rektuma, u visini S3, ova arterija se račva na dve grane koje se spuštaju sa obe strane rektuma. Leva strana je solitarna, dok se desna deli na prednju i zadnju. Srednji deo rektuma je u 25% vaskularizovan srednjom rektalnom arterijom (a. rectalis media), koja je grana unutrašnje ilijačne arterije, a prati mišiće poda male karlice i ulazi u retinaculum

recti (pravi lateralni ligament rektuma), a potom u rektum. Donja rektalna arterija (a. rectalis inferior) grana je pudendalne arterije (a. pudenda), završne grane unutrašnje ilijačne arterije. Donja rektalna arterija prolazi kroz išiorektalnu fosu i u anorektum, koji vaskularizuje zajedno sa donjom trećinom rektuma. Rektum prima i manje grane sa posteriorne strane od srednje sakralne arterije (a. sacralis media), koja se odvaja sa zadnje strane aorte, iznad račve, i spušta preko donjih lumbalnih pršljenova, sakruma i kokiksa do nivoa anokokcigealnog ligamenta. (1-12)

### **1.1.3 Venska drenaža kolona i rektuma**

Venska drenaža kolona prati arterijsku vaskularizaciju, te se desni deo kolona sa desnim delom transverzuma drenira kroz gornju mezenteričnu venu, dok se leva strana, zajedno sa proksimalnim rektumom, preko donje mezenterične vene drenira u portni sistem. Venska drenaža rektuma obavlja se dvojako, preko portne vene i donje šuplje vene. Submukozni rektalni venski pleksus komunicira sa vezikalnim venskim pleksusom kod muškaraca i sa uterovezikalnim kod žena. Sastoji se iz unutrašnjeg, koji je odmah ispod epitela, i spoljašnjeg rektalnog venskog pleksusa, smeštenog izvan muskularisa zida rektuma i komuniciraju mnogobrojnim anastomozama. Unutrašnji i gornji deo spoljašnjeg pleksusa se dreniraju u gornju rektalnu venu (v. rectalis superior), od koje počinje donja mezenterična vena (v. mesenterica inferior) koja se dalje uliva u portni sistem.

Donji deo spoljašnjeg pleksusa drenira se u pudendalnu venu (v. pundenda), a srednji deo u srednju rektalnu venu i time dalje u unutrašnji ilijačnu venu (v. iliaca interna) i donju šuplju venu (v. cava inferior). Ovakvom venskom drenažom obezbeđena je komunikacija između sistema vene porte i donje šuplje vene. (13-24)



a) arterijska vaskularizacija kolona i rektuma

b) venska drenaža kolona i rektuma

**Slika 1:** Vaskularizacija kolona i rektuma (95)

### 1.1.4 Limfna drenaža kolona i rektuma

Limfna drenaža kolona i rektuma prati arterijsku vaskularizaciju i u ovom sistemu postoji oko 150 limfnih nodusa i podeljene su posegmentima koje pokrivaju. Iz gornje dve trećine rektuma limfa se evakuše sudovima koji prate gornju rektalnu arteriju u donje mezenterijalne žlezde. Donja trećina se delom drenira u donje mezenterijalne žlezde, a delom u unutrašnje ilijačne žlezde. Limfna drenaža analnog kanala iznad zupčaste linije se odvija preko pararektalnih u donje mezenterijalne žlezde, a preko srednjih rektalnih limfatika u unutrašnje ilijačne limfne žlezde. Ispod zupčaste linije primarna drenaža je u ingvinalne limfne žlezde, a u slučaju opstrukcije, odvija se preko proksimalnih limfatika. (1-12)

### 1.1.5 Inervacija kolona i rektuma

Kolon i rektum imaju simpatičku i parasimpatičku inervaciju, koja prati arterije. Peristaltika kolona je inhibisana simpatičkim, a stimulisana parasimpatičkim nervima. Pored toga postoji i enterički nervni sistem koji može funkcionisati gotovo nezavisno od CNS-a i zadužen je za reflekse i funkcionisanje digestivnog sistema.



Simpatička inervacija kolona potiče iz donjeg torakalnog i gornjeg lumbalnog segmenta kičmene moždine i ovi nervi inervišu desni deo kolona i apendiks. Inervacija leveg dela kolona i proksimalnog rektuma potiče iz donjeg mezenteričnog plexusa.

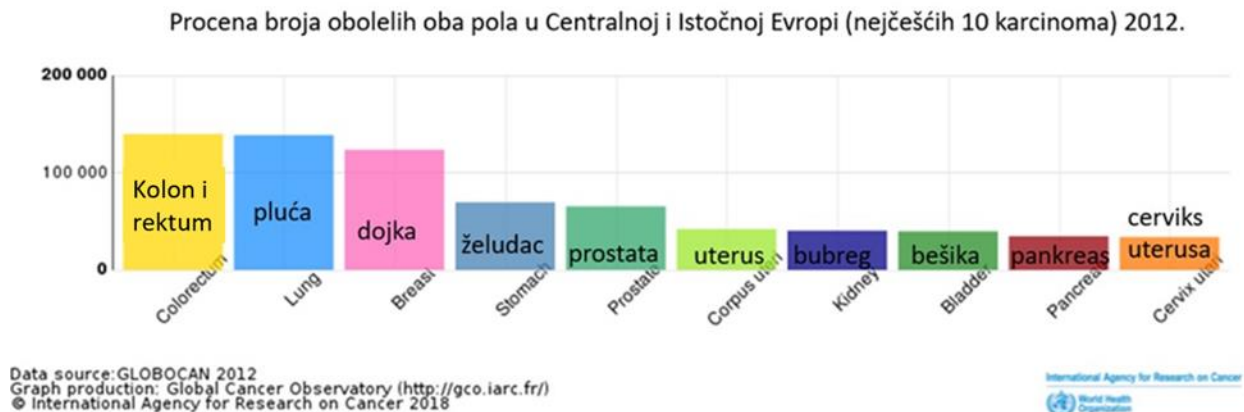
Parasimpatička inervacija potiče sa dva nivoa CNS-a i to vagusa i sakralne račve. Vagus prelazi u preaortalni plexus, širi se duž račve AMS i inerviše desni i veći deo transversalnog kolona. Ovi nervi su sekretomotorni za žlezde, motorni za gletke mišiće creva, ali inhibitorni za ileocekalni sfinkter. Vlakna iz sakralne račve niču u anteriornim rogovima odgovarajućih sakralnih nerava, i kao prvo nervi erigentes se spajaju sa hipogastričnim plexusom, a najviši završeci se veruje da dosežu do splenične fleksure.

Simpatička inervacija donjeg dela rektuma, mokraćne bešike i polnih organa potiče iz gornjeg hipogastričnog plexusa koji se nastavlja na intermezenterični plexus, leži preko donjeg dela aorte, njene bifurkacije i spušta se preko oba pelvična zida. Prima grane lumbalnih splanhičnih nerava i deli ih na levi i desni hipogastrični nerv, koji se spuštaju do donjeg hipogastričnog plexusa. U bliskom je kontaktu sa gornjom rektalnom arterijom i prekriven je presakralnom fascijom. Ureterični, testikularni i plexusi na obe zajedničke ilijačne arterije inervisani su na ovaj način.

Parasimpatička inervacija rektuma potiče iz donjeg hipogastričnog plexusa, koji polazi iz korena S2, S3 i S4 nerava i čini erigentne nerve koji idu lateralno, napred i nagore, spajaju se sa presakralnim nervnim plexusom i daju visceralne grane za mokraćnu bešiku, prostatu, semene kesice, uterus, rektum, membranozni deo uretre i kavernožno telo. (1-12)

## **1.2 Epidemiologija kolorektalnog karcinoma**

Kolorektalni karcinom (KRK) je jedan od vodećih uzroka smrtnosti od raka u svetu. Procenjeno je da se u celom svetu nalazi na drugom mestu po učestalosti kod žena i na trećem mestu kod muškaraca. (25) GLOBOCAN je procenio da je 2012. godine u regionu Centralne i Istočne Evrope čak bio na prvom mestu po učestalosti. (26)



**Slika 2:** Učestalost KRK u regionu centralne i istočne Evrope 2012. (2)

U 2017. u SAD je bilo 135 430 novih slučajeva kolorektalnog karcinoma, sa 50 260 smrtnih slučajeva od ove bolesti. (27) Iako se većina ovih slučajeva (oko 58%) javlja kod ljudi starijih od 65 godina, 45% muškaraca i 39% žena je mlađe od 65 godina. Kod žena se u 27% novih i 40% smrtnih slučajeva javlja u uzrastu starijem od 80 godina, u poređenju sa 18% i 27% respektabilno, kod muškaraca. (27).

Gotovo 55% svih slučajeva KRK se javlja u razvijenim regionima. Postoje velike razlike u incidenci u celom svetu, i geografske varijacije su slične i kod muškaraca i kod žena: incidence se mogu i čak do deset puta razlikovati kod oba pola u svetu. Najviša incidenca je zabeležena u Novom Zelandu i Australiji (44,8 kod muškaraca i 32.2 na 100 000 stanovnika kod žena), a najniža u Zapadnoj Africi (4.5 kod muškaraca i 3.8 na 100 000 kod žena). (28)

KRK je četvrti najčešći uzrok smrti od karcinoma u svetu, sa oko 694 000 slučajeva u 2012. godini, što iznosi oko 8% od ukupnog broja smrtnih slučajeva od malignih bolesti. Najveća je smrtnost u Centralnoj i Istočnoj Evropi, a najniža u Zapadnoj Africi, mada ove informacije treba uzet sa rezervom, obzirom da postoje varijacije u kvalitetu prikupljenih podataka. (29)

Ovaj karcinom je i drugi najčešći uzrok smrti u Evropi, sa oko 215 000 smrtnih slučajeva u 2012-oj godini (12%). Iste godine je najvišu incidencu standardizovanu uzrastom imala Mađarska, a najnižu Albanija za oba pola. U Velikoj Britaniji je ocenjeno da je smrtnost od kolorektalnog karcinoma na 10-om najnižem mestu za muškarce, a na 14-om za žene. (5) Ovi podaci su u skladu sa drugim dostupnim informacijama specifičnim za Evropu. (30)

Incidenca KRK je opala kod ljudi starijih od 50 godina za 32% od 2000. godine. Ovaj napredak se pripisuje screening programima kojima se prevenira nastanak karcinoma pronalaženjem i uklanjanjem prekanceroznih polipa. Incidenca brže opada kod ljudi starijih od 65 godina za tumore lokalizovane u distalnom kolonu, a najsporije kod osoba između 50 i 64 godine starosti i kod karcinoma rektuma. (31)

Primećeno je i da se kod ljudi mlađih od 50 godina incidenca povećala se za 22% od 2000-2013. godine. Iako uzroci za ovo nisu tačno utvrđeni, smatra se da ključnu ulogu u ovome imaju povećana učestalost gojaznosti, kao i promene u životnim navikama koje tome idu u prilog, kao što su nezdrava ishrana i pasivan način života. A smrtnost je, kod ljudi starijih od 50 godina, opala za 34%, dok se kod mlađih povećala za 13%. (31)

U Srbiji standardizovana incidenca KRK iznosi oko 43.3 kod muškaraca i 23.3 kod žena, kao drugi najčešći malignitet kod oba pola, a mortalitet od 28.8 kod muškaraca i 11.5 kod žena je na trećem mestu po smrtnosti od karcinoma. (32)

### **1.3 Etiologija kolorektalnog karcinoma**

Mnoge epidemiološke studije su dovele do zaključka da je nastanak kolorektalnog karcinoma posledica kompleksne i nedovoljno razjašnjene interakcije činilaca spoljašnje sredine i genetičkih faktora.

#### **1.3.1 Faktori spoljašnje sredine**

- Brojna epidemiološka istraživanja su pokazala da imigranti iz zemalja sa niskom incidencom karcinoma već u prvoj generaciji, a po negde i za samo 10 godina, se izjednačuju sa stopom incidence nastanjujuće zemlje, kao i da brz ekonomski razvoj i prihvatanje modernog načina života dovode do povećanja incidence KRK. Ovim se dolazi do zaključka da neravnomernost u geografskoj distribuciji incidence KRK ukazuje na uticaj lokalnog načina ishrane i faktora spoljašnje sredine. (25, 26, 29, 30)
- Epidemiološke studije ukazuju na faktore rizika za nastanak brojnih malignih oboljenja, obzirom da često nije moguće identifikovati specifičan uzročnik. Identifikacija ovih faktora

omogućava prevenciju i daljom propagandom se može dovesti do smanjenja stope incidence i mortaliteta.

- Ishrana bogata mastima životinjskog porekla i rafinisanim ugljenim hidratima povećava rizik od nastanka kolorektalnog karcinoma, jer dovodi do povećanog lučenja žučnih kiselina, koje deluju na metabolizam crevnih bakterija (Bacteroides). Tada one proizvode sekundarne žučne soli i dovode do hiperproliferacije crevnog epitela i kancerogeneze. (33-6)
- Osim metabolita holesterola, kao mogući kancerogeni navode se i benzopireni, produkti pirolize nastali pri pripemanju mesa, kao i nitriti i nitrozamini iz inflamiranih ćelija kod kolitisa. Ph stolice ima značaj u kancerogenezi-alkalna sredina povećava rastvorljivost žučnih kiselina, a time i njihovu kancerogenost. (37-8)
- misionarski hirurg David Burkit je 1970. godine primetio da stanovništvo Afrike retko oboleva od kolorektalnog karcinoma, što objasnio velikim sadržajem prirodnih vlakana u njihovoj ishrani. Vlakna imaju sklonosti da vezuju sekundarne žučne soli i vodu, povećavajući volumen stolice čime deluju na ubrzanje peristaltike i evakuaciju stolice. Dalja istraživanja su pokazala da protektivnu ulogu imaju samo vlakna iz voća (jabuka, kruška, šljiva) i neleguminoznog povrća (kupus, brokoli), a da takvu ulogu nemaju biljna vlakna iz žitarica (mekinja). U cilju prevencije KRK se preporučuje uzimanje bar 5 porcija svežeg voća i povrća dnevno i neleguminoznog povrća bar jednom nedeljno. Takođe se savetuje smanjenje unosa crvenog mesa i iznutrica, dok bi u ishrani trebali da preovlađuju proteini ribljeg i pilećeg mesa. Za unos vitamina (C, D, E i  $\beta$ -karoten) i antioksidansa u obliku vitaminskih koktela je dokazano da nema protektivnu ulogu u nastajanju KRK. (39-44)
- Jedan od nepovoljnih faktora u nastanku KRK je i prekomerna telesna težina. Gojazne osobe za 50% imaju veću šansu da obole nego normalno uhranjene osobe, a žene u premenopauzi su izložene dejstvu ovog faktora. Smatra se da gojazne osobe luče više potentnih faktora rasta (insulin i sl.) koji deluju kao onkogeni. (45-53)
- Dokazano je da redovno upražnjavanje fizičkih aktivnost smanjuje relativan rizik od nastanka KRK za najmanje 50%, iako mehanizam delovanja nije tačno utvrđen. Smatra se da je efekat vežbanja veći kod muškaraca i da se odnosi na sve delove kolona osim na rektum. (54-5)

- Rizik od KRK raste sa godinama starosti i najveća incidenca je kod populacije starosne dobi od 60-69 god. Samo se 3% svih karcinoma razvija kod osoba mlađih od 40 god, ali postoji nagli porast između 40 i 50 godine, a broj obolelih je još veći kod ljudi starijih od 50 god. Svako stariji od 50 god. ima srednji rizik od obolevanja od KRK. (56-7)
- Klinički faktori rizika uključuju iradijaciju karlice zbog drugih karcinoma (ginekoloških, uroloških, dermatoloških) i druge operacije zbog nemalignih oboljenja. Postoje dokazi da je povećana incidenca od KRK kod pacijenata kod kojih je učinjena holecistektomija, apendektomija i ureterosigmoidostomija. (58-63)

### 1.3.2 Nasledne bolesti koje vode do KRK

-Familijalna adenomatozna polipoza

Familijarna adenomatozna polipoza (FAP) - javlja se kao autozomno dominantna nasledna bolest ili kao posledica novonastale mutacije oko 25 god. života i u 100% slučajeva se u toku narednih 10-15 god. razvija karcinom ukoliko se ne učini kolektomija. Odlikuje se brojnim adenomima duž kolona i rektuma (500-2500) i najmanje 100 je potrebno za dijagnozu FAP-a. Polipi se ne javljaju prilikom rođenja, nego se razvijaju u toku adolescencije. Supresorni gen APC (Adenomatous Polyposis Coli) lociran je na 5q21 hromozomu i mutacijom dovodi do razvoja familijarne adenomatozne polipoze. Većina pacijenata ima porodičnu istoriju bolesti, ali se kod oko 25% slučajeva javile "de novo" mutacija APC gena. (64-5)

Više od 1000 različitih mutacija APC gena je opisano kao uzročnik FAPa, a razne delecije, insercije, nonsense mutacije i sl, su rezultovale skraćenim lancem APC proteina, koji kod normalnih individua služi kao tumor supresorni protein. On ima ključnu ulogu u regulaciji degradacije  $\beta$ -katenina, koji je transkripcioni faktor, a čija se akumulacije sprečava produktima APC gena, čime se kontroliše proliferacija kripti epitelijalnih ćelija. Mutacija APC gena vodi gubitku njegove funkcije i rezultuje akumulacijom  $\beta$ -katenina, a da bi se razvio karcinom i moraju postojati i druge mutacije. (66-7)

Gardnerov sindrom je varijacija FAP-a. Nasleđuje se autozomno dominantno i pored multiple polipoze kolona postoji i polipoza tankog creva i celog digestivnog trakta. Pored polipoze

karakterišu ga i osteomi kostiju lica i dugih kostiju, abnormalna dentacija, lipomi, fibromi, ateromi, dezmoidni karcinomi, kao i karcinomi tiroideje, nadbubrežnih žlezda, bilijarnih puteva, jetre. (68-70) Kod oko 90% pacijenata sa FAP-om se polipi razvijaju u gornjim partijama digestivnog trakta, najčešće u fundusu želuca i u duodenumu, a oko 5% ovih polipa progredira u karcinom u roku od 10 godina, što ih čini drugim uzrokom smrtnosti od FAP-a. (71-2)

Atenuirani FAP (AFAP) je blaži oblik ove bolesti i karakteristiše ga manji broj polipa (10-100) koji se javljaju kasnije u životu, a ima i manju incidencu karcinoma. Uglavnom se polipi nalaze u proksimalnom kolonu i retko u rektumu. (73)

Kod ovih pacijenta je cilj da se prevenira stvaranje karcinoma i održi dobar kvalitet života. Oko 16-e godine se preporučuje godišnji kolonoskopski pregled i svi značajno veliki adenoma se moraju preventivno ukloniti. Obzirom da se broj adenoma uvećava, savetuje se onkološki preventivna kolorektalna operacija, a posle nje su neophodne redovne kontrolne gornjeg dela digestivnog trakta i rana identifikacija dezmoidnih tumora.

-MUTYH-asocirana polipoza (MAP)

Ovo je podgrupa pacijenata sa kliničkim manifestacijama sličnim FAP i AFAP sindromima, ali bez detektabilne APC genske mutacije. U ovom autozomno recesivnom poremećaju se vidi mutacija na oba alela kod MUTYH gena koji je zaduženog za reparaciju ekscizijom baze (base-excision repair - BER). Oko 30% pacijenata će takođe razviti polipe u gornjem digestivnom traktu, ali u ovim slučajevima nisu opisane ekstraintestinalne manifestacije i javljaju se kasnije, između 40 i 60 godina života, a rizik od KRK iznosi oko 80%. (67, 74-5)

-Peutz-Jeghers sindrom

Peutz-Jeghers-ov sindrom je veoma retko autozomno dominantno oboljenje i odlikuje se mukokutanim pigmentacijama i gastrointestinalnim hamartoznim polipima. Polipi su obično promera od 0.1-5 cm u prečniku i njihov broj varira između 1 i 20 po segmentu gastrointestinalnog trakta. Iako hamartozni polipi imaju nizak maligni potencijal, ovi bolesnici imaju umereno povišenu opasnost od razvoja karcinoma tankog i debelog creva, želuca,

pankreas, dojke, pluća, jajnika, materice. Pacijenti sa ovim sindromom imaju mutaciju supresornog gena serin treonin kinaze 11 (STK-11). (73-9)

-Juvenilna polipoza

U juvenilnoj polipozi više od 10 polipa u gastrointestinalnom sistemu se javi u prvoj i drugoj dekadi života. (80-1)

-Sindrom seratnih polipa (SPS)

Ovaj sindrom je takođe poznat i kao sindrom hiperplastičnih polipa i relativno je redak. Karakterizuju ga multipli seratni polipi kolona, a dijagnoza se postavlja ako se nađe bar jedan od sledećih kriterijuma:

- 1) Najmanje 5 seratnih polipa proksimalno od sigme, od kojih su 2 veća od 10mm
- 2) Seratni polipi proksimalno od sigme kod osoba koje imaju prvo koleno srodnika sa SPS
- 3) Više od 20 seratnih polipa bilo koje veličine, duž kolona (82)

U početku se smatralo da hiperplastični polipi nisu prekancerozne lezije, ali je pronađena razlika između SPS i sporadičnih hiperplastičnih polipa. SPS su b ili povezani sa povećanom incidencom KRK. Tada su hiperplastični polipi nazvani seratni polipi i prepoznate su 3 kategorije ovih lezija: hiperplastični polipi, sesilni seratni polipi i tradicionalni seratni adenoma. Genetička osnova nije u potpunosti razjašnjena, a razmatrane su recesivna i dominantna transmisija, mada je najverovatnije da se radi o više od jednog genetičkog uzročnika. (83-5)

-Hereditarni nepolipozni kolorektalni karcinom (HNPCC)

Kod hereditarnih nepolipoznih kolorektalnih karcinoma (HNPCC) evidentan je rani nastanak KRK-a i presudno je porodično opterećenje. Nasleđuje se autozomno dominantno i za njegov nastanak je odgovorno više mutacija mismatch repair (MMR) gena, i može se podeliti u dve podgrupe: Lynch I, kod koga je oboljenje kolona češće nego rektuma i karakteriše ga razvoj multiplih karcinoma kolona, a javlja se kod mlađih osoba, i Lynch II, kod koga je karcinom kolona udružen sa pojavom adenokarcinoma dojke, jajnika, pankreasa, bilijarnih i urinarnih puteva, želuca i endometrija. (150-2) Oko 2-5% svih KRK se pripisuje HNPCC. Kombinacija mutacije u MMR

genu sa inaktivacijom ostatka normalnog alela rezultuje gubitkom funkcije MMR i akumulacijom mutiranih mikrosatelita. HNPCC defekti u DNK MMR genima vode mikrosatelitnoj nestabilnosti (MSI), tipičnoj za HNPCC. (85-6)

-Turcot sindrom

Turcot-ov sindrom je retko autozomno recesivno oboljenje kod koga je polipoza kolona udružena sa tumorima CNS-a, meduloblastomom i glioblastomom multiforme. (88-9)

-Olfild sindrom

Kod Oldfild-ovog sindroma multiple sebacealne ciste su udružene sa polipozom kolona i kolorektalnim adenokarcinomom. (90-1)

### **1.3.3 Drugi faktori u nastanku KRK**

Osobe sa pozitivnom ličnom anamnezom imaju povećan rizik od razvoja KRK. Uočeno je da pacijenti koji boluju ili su bolovali od ovih karcinoma imaju povećan rizik od razvoja sekundarnog karcinoma kolona i drugih karcinoma. Žene koje su lečene od karcinoma dojke, endometrijuma ili jajnika imaju povećan rizik od nastanka KRK. (92-5)

Pacijenti u grupi veoma visokog rizika od razvijanja KRK su I oni koji pate od zapaljenskih oboljenja, pre svega ulceroznog kolitisa (UC) i Crohn-ove bolesti. Kod UC se rizik povećava sa dužinom trajanja aktivne faze bolesti (više od 30% oboli u trećoj dekadi trajanja bolesti), zahvaćenosti creva, trajanjem simptoma i stepenom displazije mukoze. Dokazano je da kod UC 15% više slučajeva oboli od KRK nego kod Mb Crohn. (96-101)

KRK se razvija češće kod pacijenata sa prisutnim adenomatoznim polipima kolona. Postoji verovatnoća od oko 5% da će se iz polipa razviti karcinom, u zavisnosti od njegove veličine I histološkog tipa. Vilozni i tubulovilozni adenomi imaju veći maligni potencijal nego tubularni adenomi, a polipi manji od 1 cm imaju oko 1% šansu da brzo maligno alterišu, dok se kod onih većih od 2 cm ta šansa povećava na 40%. (102-8)



## 1.4 Kolorektalna karcinogeneza

Karcinogeneza je složen proces koji se postepeno odvija kao rezultat serije genetičkih mutacija i trenutno je poznato nekoliko koje imaju ulogu u genezi KRK. Mutacija tumor-supresorskog gena APC lociranog na 5q21 hromozomu obično je prvi i korak u genezi sindroma koji rezultuju kolorektalnim karcinomom i prisutna je već u benignim adenomatoznim polipima. Smatra se da njeno prisustvo povećava brzinu ćelijske diferencijacije, a ne utiču na histološku organizaciju ćelije. Aktivaciona mutacija ras onkogena se javlja kod intermedijarnih polipa i dovodi do poremećaja u diferencijaciji i histološkoj organizaciji ćelija. Amplifikacija ili alteracija drugih onkogena, uključujući myc, myb, trk i hst je takođe otkrivena kod KRK. Inaktivacija tumor-supresorskih gena DCC (deleted in colorectal cancer) na dugom kraku hromozoma 18, i p53 lociranog na kratkom kraku hromozoma 17 oslobađa mutirane ćelije od ostatka inhibicija je retka kod polipa, ali česta kod karcinoma koji se iz njih razvijaju. Novijim istraživanjima nađeno je da kod pacijenata sa genetičkom predispozicijom za tumore kolona u genomu postoji nestabilnost mikrosatelita DNK na drugom hromozomu. (109-14)

### 1.4.1 Genetička osnova KRK

Poznato je da na nastanak KRK utiču faktori sredine i nasleđa, a u pogledu njihove međusobne interakcije postoje tri forme KRK:

1. Sporadična forma, u kojoj nije nađeno porodično opterćenje, a čini oko 70% svih KRK i javlja se najčešće posle 50-e godine života i povezuje se sa ishranom i načinom života. Smatra se da se oko 15% razvija preko mikrosatelitske nestabilnosti (MSI) i, oko 70%, preko hromozomske nestabilnosti (CIN). (115-9)
2. Hereditarna forma, kod koje je glavni etiološki faktor genetička predispozicija. Ovi KRK čine 5-7% svih KRK, a unutar ove forme se dalje mogu razlikovati grupe sa i bez polipoze. Za većinu ovih oblika su mutacije poznate i mogu se testirati po potrebi. (120)
3. Familijarna forma, koja čini oko četvrtinu svih KRK i članovi porodice pacijenta imaju povećan rizik za nastanak KRK, ali manji nego kod onih koji poseduju naslednu formu. Smatra se da je za nastanak ovih karcinoma odgovorno više gena i faktora. Zaključeno je

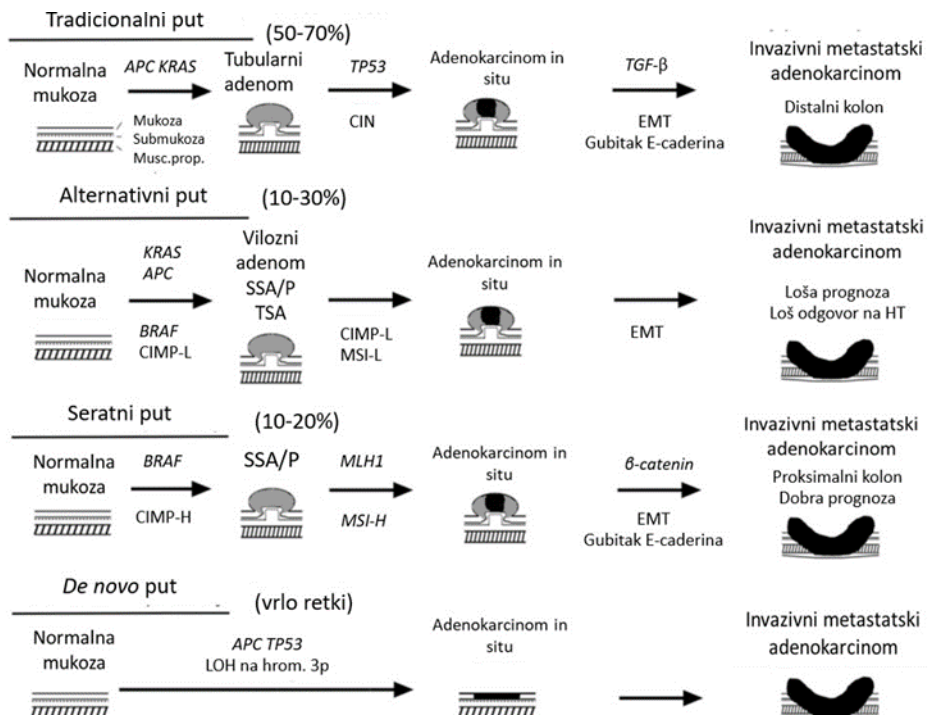
da se rizik povećava 1.7 puta ako je oboleo jedan rođak u prvom kolenu, a još više ako su obolela dva rođaka prvog kolena. (120-2)

#### 1.4.2 Molekularna patogeneza sporadičnog KRK

Još su 90-e godine prošlog veka Fearonom i Vogelstein zaključili da se inaktivacija tumor supresornog gena (TSG) i mutacije u određenim genima dovode do nastanka KRK, i time udarili temelje u monoklonske teorije kolorektalne karcinogeneze, modela koji je i danas, uz manje modifikacije, onova razumevanja ovog procesa, ne samo kod KRK, već i ostalih solidnih tumora. Ovom teorijom progresivna akumulacija kritičnog broja mutacija dovodi do ćelijske dezorganizacije, povećane sposobnosti rasta i metastaziranja, a tumorsko tkivo je monoklonalna kompozicija, za razliku od normalnog tkiva kolona.

Iz ovoga se zaključuje da je tumorogeneza proces koji se postepeno razvija kako na molekularnom, tako i na morfološkom nivou. (119-20) Postoje najmanje tri različita kliničko-patološka evolucionarna puta u razvoju sporadičnog KRK, mada je prepoznat i četvrti:

1. *tradicionalni put* počinje od normalne mukoze, koja progredira kroz tubularne adenome (sa APC mutacijom) do tipičnog KRK distalnog kolona (sa TP53 mutacijom i CIN). Procenjuje se da oko 50-70% svih KRK nastaje ovim putem.
2. *put seratnog polipa* počinje normalnom mukozom kroz seratni adenom (sa BRAF mutacijom i CpG island methylator phenotype - CIMP), rezultujući karcinomom proksimalnog kolona sa dobrom prognozom kod oko 10-20% slučajeva.
3. *alternativni put* takođe započinje od normalne sluznice, preko viloznog, delom seratnog adenoma (sa KRAS, BRAF i APC mutacijama i CIMP) i daje KRK sa lošom prognozom, koji se javlja u oko 10-30% slučajeva.
4. identifikovani su i *de novo* karcinomi bez prekursorne lezije i kolorektalni tumori superficijalnog tipa. Kod superficijalnih tipova je KRAS mutacija retka, a nema je kod de novo tipa, dok su kod TP53 i APC česte mutacije i značano su udružene sa LOH na hromozomu 3p. [Slika 14] (119-24)



**Slika 3:** Evolutivni put kolorektalne morfogeneze.

Oslanjanjem na saznanja o navedenim putevima istraženo je i poreklo KRK u koloničnim kriptama da bi se bolje razumeli njihovi mehanizmi i razlikovale vrste ćelija od kojih potiču. (120) Zaključeno je da je razvoj tumora tradicionalnim putem dug proces koji traje 5-20 godina i da potiče od potpuno diferentovanih ćelija koloničnih kripti. *APC* mutacije su detektovane u površnim ćelijama kripti, a prekursorne lezije imaju tendenciju da rastu u vis. Za razliku od ovog puta, seratni polipi rastu iz ćelija dubljeg dela kripti, na dole, imaju brzu progresiju i sklone su CIMP. (120, 125)

Postojalo je mišljenje da hiperplastični polipi nisu neoplastične lezije, a sada se smatra da su neki od njih prekursori KRK, te su preimenovani u seratne polipe i WHO ih je klasifikovala u tri kategorije:

- hiperplastični polipi (tipično licirani u distalnom kolonu, najčešće kao multiple promene prečnika 1-5mm, sa razvjem u donjoj trećini kripti koja je prava i seracijom više u luminalnom aspektu) (125)
- sesilni seratni adenomi/polipi (SSA/Ps) (15-20% svih seratnih polipa, češći u proksimalnom kolonu i veći od hiperplastičnih polipa, a smatraju se za prekursori KRK u

seratnom i alternativnom putu. Ovi polipi krive kripte i ne potiču iz njene baze, ali kripte obično dosežu muscularis mucosae)

- tradicionalni seratni polipi (TASs) (uključuju manje od 1% seratnih polipa mogu biti prekursori KRK kroz alternativni put a obično su locirani u distalnom kolonu i imaju vilozan rast ćelija koje pokazuju citološku displaziju i za njih je karakteristično formiranje ektopičnih kripte) (125)

### 1.4.3 Molekularni putevi geneze KRK

Danas se zna za najmanje tri molekularna puta za razvoj KRK:

- 1.) Supresorni, ili put hromozomske nestabilnosti (CIN). Na ovaj način se razvija 60-85% KRK preko adenomatoznih polipa kao prekursora i traje oko 7-10 godina i ovde postoje specifične genetičke promene praćene odgovarajućim morfološkim promenama. Tumorsko tkivo se karakteriše velikim brojem hromozomalnih abnormalnosti (CIN), koje podrazumevaju delecije, insercije i gubitak heterozigotnosti. Mogu biti nasledni, kao što je familijarna polipoza, ili sporadični, kada imamo akumulaciju somatskih mutacija. (126) Najčešće su mutacije onkogeni, koje dovode do nekontrolisane ćelijske proliferacije, a u njih spadaju K/N-RAS, BRAF, C-MYC, CDK8, C-erb-2 i PIK3CA čija je funkcija povezana sa tumor supresornim genom PTEN. Mutacija KRAS se javlja u oko 50% slučajeva sporadičnih KRK i oko 50% adenoma većih od 1cm. (128-9)
- 2.) Put mutacije ili mikrosatelitska nestabilnost (MSI). Ovo je put za razvoj KRK iz adenomatoznog i verovatno seratnog polipa. Predstavlja molekularnu osnovu za razvoj naslednog nepolipoznog KRK (HNPCC), poznatog kao Lynch sindrom, koji je povezan sa mutacijom germinativne linije u jednom od MMR gena. Oko 15% KRK se razvija sporadično, a ključni momenat u ovom procesu je oštećenje funkcije enzima koji vrše popravku uparene DNK. (128-30)
- 3.) Epigenetički hipermetilirajući put (CpG island methylator phenotype – CIMP). Ovim putem se razvija oko 30% KRK i proces geneze se bazira na epigenetičkim promenama (hipermetilacija DNK) koje dovode do poremećaja ekspresije određenih gena. Ovi tumori u 90% slučajeva imaju prisustvo BRAF ili K-RAS mutacije. (127)

#### 1.4.4 Evolucija maligne transformacije u KRK

Razni faktori utiču na nastanak KRK, ali su primećene mutacije određenih gena koji su prisutni u većini slučajeva. Obično se radi o genima koji kontrolišu ćelijske mehanizme bez kojih može doći do nekontrolisane deobe i drugih promena karakterističnih za maligne, a njihova inaktivacija ili preterana aktivacija dovode do kaskade događaja koje u najvećem broju slučajeva rezultiraju stvaranjem maligne lezije.

##### APC

Adenomatous polyposis coli (APC) je klasični tumor-supresorski gen na dugom kraku hromozoma 5. APC protein učestvuje u kontroli učestlosti deoba ćelija, njihovog vezivanja za druge ćelije u tkivu, polarizacije ćelija i njenog oblika, kao i kretanju ka i od tkiva. Takođe učestvuje i u regulaciji broja hromozoma u jedru tokom deobe ćelija. Kontrolise i aktivnost proteina  $\beta$ -katenina, koji sprečava stimulaciju prečeste deobe ćelija, a time i preteran rast broja ćelija.

Inaktivacija APC je česta u KRK, a kada nema nje često postoji aktivaciona mutacija  $\beta$ -katenina. Mutacije APC mogu biti nasledne ili somatske. Mutacije APC i  $\beta$ -katenina moraju biti praćene drugim mutacijama da bi dovele do karcinoma. Ipak, kod nosilaca APC inaktivacione mutacije rizik od KRK do 40-e godine života je 100%. (131-2)

##### K-RAS

K-RAS je protoonkogen lociran na hromozomu 12 (12p) i sastoji se od 3 homologa K, H i N-ras, koji predstavljaju grupu najčešće aktiviranih onkogenih u humanim malignitetima. Normalan K-RAS protein ima veoma važnu funkciju u prenosu signala proliferacije kod normalnih tkiva, a njegova mutacija je esencijalni korak u razvitku mnogih karcinoma. (133) Gen KRAS koji kodira jedan od proteina u EGF putu signalizacije ima centralnu ulogu u razvoju tumora, regulacijom stvaranja proteina koji su uključeni u proliferaciju, preživljavanje, metastaziranje i angiogenezu. Normalan protein je aktivan kratak period nakon stimulacije EGFR, dok mutirani KRAS dovodi do stalne aktivacije proteina. Utvrđeno je da pacijenti sa KRAS mutacijom imaju povezanost sa dubinom invazije tumora i lošom prognozom. Ova mutacije je češća kod karcinoma kolona nego

rektuma. Mutacija p53 udružena sa KRAS mutacijom predstavlja snažan negativan prognostički faktor kod rektalnog karcinoma. (134-6)

Danas se u onkološkom lečenju primenjuju monoklona antitela (cetuximab), sa ciljem blokade EGFR, procesa koji uzrokuje razvoj i progresiju tumora preko KRAS proteina i efikasnija je kod tumora koji nemaju KRAS mutaciju, te se pre započinjanja terapije sprovodi testiranje na prisustvo mutacije ovog gena.

#### DCC

Izbrisan u KRK (Deleted in Colorectal Carcinoma) je protein koji je kod ljudi kodiran genom DCC. Pošto nije okarakterisan kao nezavisni receptor, po mnogim hipotezama je svrstavan u tumor-supresorske gene. Kod uznapredovalog KRK najčešće dolazi do gubitka heterozigotnosti u regionu 18q21. DCC je receptor za netrin- i trenutno se veruje da je uslovni tumor supresorski gen, to jest da sprečava rast ćelije u nedostatku netrin-a. Veruje se i da eliminacija DCC nije ključna genetička promena u formaciji tumora, ali da jeste jedna od mnogih alteracija koje promovišu rast tumora. (137-8)

#### TP53

Ovaj gen je kod ljudi lociran na kratkom kraku hromozoma 17, spada u tumor-supresorske gene i jedan je od najčešće mutiranih u humanim solidnim tumorima (preko 50% svih tumora). Ima značajnu ulogu u kontroli proliferacije i diferencijacije ćelija, mehanizmu popravke i sinteze DNK i modifikuje ekspresiju drugih gena tj. deluje kao transkripcioni faktor. Reguliše homeostazu epitela bilo indukovanjem apoptoze ili zaustavljanjem ćelijskog ciklusa u slučaju defekta DNK molekula. Inaktivacija TP53 nastaje gubitkom alela, genskom mutacijom ili proteinskom sekvestracijom. Dokazano je da njegova uloga nije neophodna za razviće i adultni život, ali imaju predispoziciju za razvoj tumora. Ljudi koji naslede germinativnu mutaciju TP53 gena (Li-Fraumenov sindrom) imaju veliku sklonost ka formiranju tumora. TP53 nije neophodan za sam rast ćelije, ali jeste u sprečavanju nekontrolisanog rasta ćelija koje nose oštećenu DNK aktivacijom ekspresije inhibitora ćelijskog ciklusa. (139-41)

#### 1.4.5 Oštećenje DNK i putevi reparacije

Mnogi endogeni i egzogeni faktori mogu dovesti do oštećenja DNK. Bez obzira na izvor, odgovor na ovo oštećenje je ključno u preživljavanju i ćelije i organizma. Po nekada je ćelija žrtvovana zarad preživljavanja organizma, a nekada transformacija u malignu ćeliju daje određene prednosti samoj ćeliji na uštrb organizma, ali i rezultuje ranjivošću koja se može iskoristiti za dalji tretman uz osvrt na biološke karakteristike tkiva iz koga potiče. (115)

Svaka ćelija u našem telu svakodnevno doživi nekoliko desetina hiljada lezija DNK usled unutrašnjih i okolnih faktora. Ove lezije, ako se ne repariraju adekvatno, mogu dovesti do mutacija i više genetičkih aberacija koje, pak mogu dovesti do smrti ćelije ili rezultovati malignitetom. Da bi se predupredio ovaj proces razvili su se sistemi odgovora na oštećenje DNK, koji ga otkrivaju, ukazuju signalima na njega i posreduju u reparaciji. Reparacija DNK je ključna u mnogim biološkim procesima, kao što je razvoj imunog sistema, mejotička rekombinacija i prevencija raznih bolesti. Stoga urođeni poremećaj reparacije oštećene DNK može uzrokovati razne abnormalnosti, sklonost ka malignitetima, imunodeficijenciju, SNP

Kako postoje razni putevi oštećenja, tako postoje i razni putevi reparacije DNK. Mehanizam počinje detekcijom lezija DNK. Potom remodelatori hromatina učestvuju u obezbeđivanju sredine za reparaciju, dok ključni faktori, kao što su, na primer, RPA i RAD51, direktno učestvuju u reparaciji lezija DNK.

Reparacija DNK je ključan proces u očuvanju integriteta genoma i njegove funkcije.

Postoje različiti putevi reparacije DNK i najznačajniji su:

1. *Direktno popravljavanje oštećenja:*

- Mismatch repair (MMR), sistem za prepoznavanje pogrešnih insercija, delecija i pogrešnih inkorporacija koje se mogu desiti u toku DNK replikacije, rekombinacije, kao i u nekim formama reparacije. Ovakva vrsta reparacije je specifična za lanac DNK, i prilikom sinteze ćerke lanca uobičajno je da se dese greške. U popravci ovih grešaka sistem MMR razlikuje lanac majku od novo sintetisanog i prepoznaje greške. Pretpostavlja se da kod eukariota, pre zaptivanja DNK ligazom, novosintetisani lanac DNK ima određene lokuse, koji predstavljaju greške u sintetisanim bazama i daju signal MMR sistemu da se greška desila, i započinje proces reparacije digestijom

dela nemetilisanog lanca koji sadrži grešku, a potom sintetiše ispravan deo lanca. Deficit u funkciji MMR je pre svega povezan sa pojavom KRK (nehereditarni kolorektalni karcinom-HNPCC), endometrijuma i jajnika, ali je nađena i veza sa hematološkim malignitetima i neurofibromatozom. Kao posledica mutacija koje inaktiviraju ovaj gen bitan za reparaciju DNK, javljaju se mutacije na drugim lokusima i ovaj efekat se najčešće uočava kroz promenu broja ponavljanih sekvenci u okviru kratkih ponovljenih nizova-mikrosatelita, što je poznato kao nestabilnost mikrosatelita. (128, 130)

- Reparacija ekscizijom (enzimskim isecanjem) baza (base excision repair - BER) je proces kojim se uklanjaju pogrešne – strane baze (uracil u DNK) ili alkilovane baze i ovaj sistem je specifičan za svaki tip pogrešne baze, a odvija se u tri koraka: uklanjanje pogrešne baze, formiranje jednolančanog prekida i sinteza novog lanca. (129)
- Reparacija ekscizijom-isecanjem nukleotida (Nucleotide excision repair – NER), slično MMR sistemu, ima veliku ulogu u reparaciji oštećenja jednog lanca, kada BER sistemi ne mogu da zamene pogrešnu bazu, te se vrši uklanjanje celog nukleotida. Ovaj proces ima više koraka: prepoznavanje oštećenja, vezivanje nukleoproteinskog kompleksa za oštećeno mesto, isecanje obe strane oko oštećenog mesta (dvostruka incizija), uklanjanje nukleotida između prekida, popunjavanje praznine DNK polimerazom i ligacija. (142)

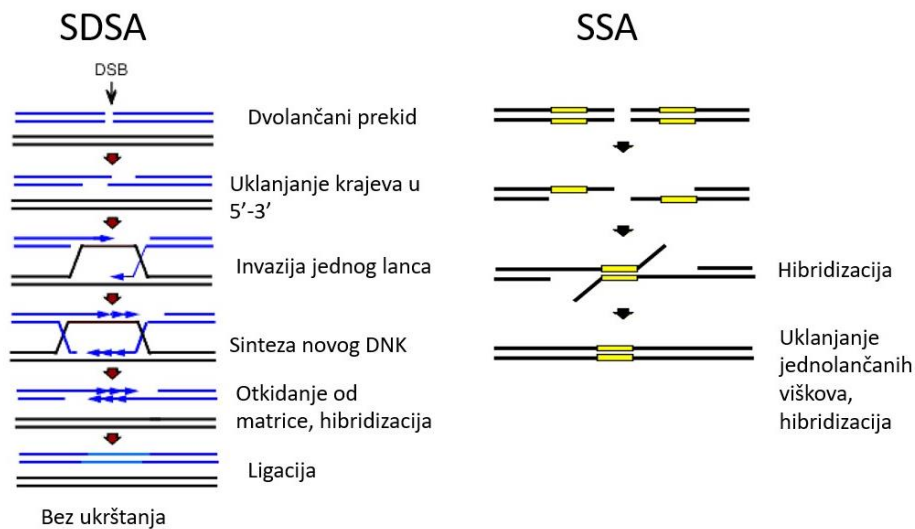
## 2. *Reparacija dvolančanih prekida DNK:*

- Homologa rekombinacija (HR), kod koje dolazi do razmene sekvenci nukleotida između dva slična ili identična molekula DNK i najčešće se koristi u reparaciji lezija na oba lanca DNK. Homologom rekombinacijom se takođe stvaraju nove kombinacije DNK u toku mejoze i predstavljaju genetičke varijacije kod potomstva i mogućnost adaptacije u toku evolucije. Ključni protein ovog sistema je RAD51, a pored njega uloge imaju i RAD52, RAD54, RAD55, RAD57 i RAD59. Molekularni mehanizam u osnovi ovog sistema reparacije nije u potpunosti razjašnjen, ali se smatra da RAD51 sa homologom dvolančanom sekvencom omogućuje razmenu materijala lanaca molekula DNK tako što se jednolančani deo zavojnice za koji je vezan RAD51 može po principu komplementarnosti upariti sa dvolančanim molekulom i izmestiti odgovarajući deo lanca iz dvolančane zavojnice, uz pomoć proteina iz navedena grupe. Pored njih, geni za koje je



dokazano da imaju ulogu u formiranju određenih karcinoma, kao što su *BRCA1* i *BRCA2* (Breast Cancer 1 i 2, geni koji su direktno povezani sa karcinomom dojke), mogu da imaju interakciju sa RAD51 proteinom i da utiču na reparaciju dvolančanih prekida DNK.

Najdetaljnije su opisana dva glavna mehanizma reparacije dvolančanih prekida: hibridizacija lanca zavisna od sinteze (synthesis dependent strand annealing – SDSA) i hibridizacija jednolančanih segmenata (single strand annealing SSA). Kod oba ova mehanizma se RAD51 protein vezuje za oštećene segmente i omogućava lociranje komplementarnih regiona u homologim ili sestričkim hromozomima, a u sledećem koraku prekinuti krajevi služe kao prajmeri za sintezu lanca DNK uz korišćenje homologog ili sestričkog hromozoma kao matrice. Mehanizmi su detaljno prikazani na slici 12. (143-5)



**Slika 4:** Mehanizmi reparacije prekida DNK

- **Popravka ukrštanjem lanaca DNK (DNA strand cross-link repair)** Razni egzogeni i endogeni agensi reaguju sa dva nukleotida DNK i međusobno formiraju kovalentnu vezu. Ovakva veza se može kreirati u okviru jednog lanca ili između dvostrukih lanaca DNK. Ove nepravilnosti ometaju metabolizam ćelije, replikaciju i transkripciju i time izazivaju smrt ćelije. Ovakva ukrštanja se mogu popraviti putem ekscizije ili rekombinacije. Ovaj mehanizam je iskorišćen u hemioterapiji i

njime se ciljaju maligne ćelije kako bi se u njima indukovala apoptoza (Cisplatin, Mitomicin C). (146-8)

- Reparacija dvolančanih prekida spajanjem nehomologih krajeva molekula DNK je označena kao nehomologa jer se krajevi pokidanog lanca direktno ligiraju bez potrebe za homologim šablonom, za razliku od homologe popravke kod koje je neophodna homologa sekvenca kao vođica reparacije, mada u ovom slučaju koriste kratke homologe sekvence DNK, nazvane mikrohomologije, kao vodiče reparacije. Ovim procesom se uglavnom izvodi tačna reparacija, a neadekvatna može dovesti do translokacija i fuzija telomera koje su karakteristične za tumorske ćelije. (149-54)

#### **1.4.6 RAD51**

*RAD51* je eukariotski gen homolog RecA proteinu kod prokariota. Enzim kodiran ovim genom je član *RAD51* proteinske grupe koja asistira reparaciju pokidanog dvostrukog lanca DNK. Proteini ove grupe se nalaze kod većine eukariota, od kvasca do ljudi. Nalazi se na dugoj ruci hromozoma 15 na poziciji 15q15.1. (155-7)

Humani *RAD51* se sastoji iz 339 aminokiselina, i do danas nije kompletno određena njegova struktura (158-62)

Kako je ranije objašnjeno, mutacije gena za reparaciju oštećenja oba lanca DNK su uključena u patogenezu tumora, što se u ovom slučaju izvodi putem homologe rekombinacije ili nehomologog spajanja krajeva DNK. (162-3)

Jednu od glavnih uloga u homologoj rekombinaciji nosi *RAD51* kod eukariotskih ćelija i ima funkciju u sve tri faze homologe rekombinacije: presinaptičkoj, sinaptičkoj i postsinaptičkoj. U prvoj fazi *RAD51* vezuje za jednolančanu DNK koja je postala dostupna ili prekidom dvostrukog lanca DNK ili kao posledica replikacione protuberacije. Ovakva veza *RAD51* sa jednolančanom DNK se naziva presinaptički filament. U ovom filamentu se jednolančana DNK rasteže da bi dostigla polovinu dužine dvolančane DNK u cilju brze i efektne potrage za parom. U toku sinapse *RAD51* olakšava formiranje fizičke veze između lanca za koji je vezan i traženog homologog drugog lanca i dovodi do stvaranja heterodupleksa DNK. Tada se formira novi filament između

*RAD51* i duplog lanca DNK spajanjem ova dva pojedinačna lanca DNK. Na kraju, u toku faze postsinapse DNK koristi 3' kraj kao prajmer, a *RAD51* se odvaja od duplog lanca DNK i oslobađa 3'-OH grupu koja je neophodna za sintezu DNK. (165-7)

Prekidi DNK se mogu desiti usled hromozomske razmene genetičkog materijala u pripremi za deobu ćelija, ali i raznih hazardnih spoljašnjih uticaja, kao što su radijacija i druga štetna izlaganja. Ovaj protein se vezuje za DNK na mestu prekida, što je prvi korak u procesu reparacije.

U jedru mnogih vrsta normalnih ćelija ovaj protein reaguje sa raznim drugim proteinima, uključujući BRCA1 i BRCA2, da bi popravio oštećenje. BRCA2 protein reguliše aktivaciju proteina *RAD51* transportujući ga do mesta oštećenja DNK u jedru. Interakcija proteina BRCA1 i *RAD51* nije u potpunosti razjašnjena, iako istraživanja ukazuju na to da BRCA1 takođe može da aktivira *RAD51* kao odgovor na oštećenje DNK. Na ovaj način ova tri proteina utiču na stabilnost genetičke informacije.

*RAD51* se poslednjih godina sve više istražuje. Dva najčešće istražena polimorfizma su G135C i G172T. Oba su locirana na poziciji 59 netranslantovane regije i očigledno imaju funkcionalnu važnost. Pokazalo se da imaju uticaj na stabilnost mRNK ili translacionu efikasnost koja vodi do promene nivoa produkcije polipeptida uz promenu funkcije kojom se kodira *RAD51* protein, čime se utiče na mogućnost reparacije DNK do određenog nivoa. U toku poslednje decenije sprovedenasu molekularno-epidemiološka istraživanja u cilju evaluacije odnosa *RAD51* polimorfizama (G135C i G172T) i rizika od maligniteta u raznim populacijama, a dobijeni rezultati su kontroverzni.

Do sada je uloga polimorfizma 135GC u KRK opširno ispitana, dok podaci o ulozi polimorfizma 172GT gotovo i da ne postoje i on je retko povezivan sa KRK. (16-22)

Podaci u literaturi navode da polimorfizam 135GC ima uticaja na povećan rizik kod planocelularnog karcinoma glave i vrata, kao i kod karcinoma dojke. Studije sprovedene kod grupe žena sa BRCA1 mutacijom su pokazale da nosioci C alela ovog polimorfizma imaju dva puta manji rizik od karcinoma dojke i jajnika nego nosioci G alela. (16-22)

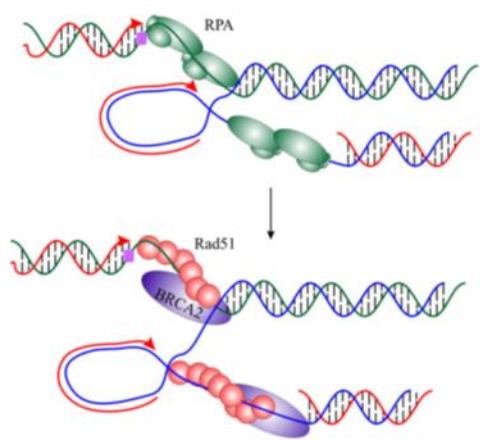
RAD51 172GT homozigotna varijanta genotipa je povezana sa značajno manjim rizikom od planocelularnog karcinoma glave i vrata, dok je druga studija pokazala da genotip TT ima uticaj na povećanje rizika od ovog istog karcinoma kod pakistanske populacije. T varijanta je povezana sa neznatno manjim rizikom od sporadičnog karcinoma dojke, a obe varijante, 135G>C i 172G>T su povezane sa povećanim rizikom od karcinoma endometrijuma kod populacije žena u Poljskoj. (22-3, 169-171)

Uloga oba polimorfizma (135GC i 172GT) u karcinogenezi je analizirana u različitim malignitetima. Studija na populaciji u Pakstanu je pokazala 16 puta veći rizik od razvitka planocelularnog karcinoma glave i vrata kod 172TT varijante alela. Neke studije su pokazale slične rezultate kod karcinoma jajnika i dojke. Varijanta 172GT ima važnu ulogu u stabilnosti proteina i njegovoj ekspresiji i može imati uticaja na stabilnost i moć translacije mRNK, a time i na promene nivoa *RAD51* i njegovu funkciju. Nađeno je i da je homozigotnost T alela značajno veća kod pušača što navodi na zaključak da postoji kombinovani efekat neuspešne DNK reparacije i izlaganja štetnim materijama u karcinogenezi. Meta-analiza objavljena 2015., sa osvrtom na etničku pripadnost, pušenje i konzumiranje alkohola kao faktore rizika, pokazala je da 172GT polimorfizam može imati zaštitnu ulogu kod karcinoma glave i vrata kod belaca.

Samo je nekoliko studija ispitalo *RAD51* polimorfizme u KRK, a studija sprovedena u Poljskoj je pokazala da je varijanta 135GC značajno udružena sa KRK, dok nije nađena značajna povezanost alela 172GT. Neka novija istraživanja su pokazala da je ekspresija *RAD51* značajno veća kod loše diferenciranih KRK i kod metastaza u limfnim nodusima, čime ga povezuju sa zloćudnim histofenotipom, agresivnošću karcinoma i lošom prognozom. (173) Korelacija povećane ekspresije ovog gena je povezana i sa lošom prognozom kod pacijenata sa karcinomom pluća i dojke. (174-5)

Povećana ekspresija *RAD51* je takođe ispitana u odnosu na efekte hemio i radioterapije kod uznapredovalog karcinoma rektuma, pokazujući značajnu obrnutu korelaciju između ekspresije *RAD51* i patološkog odgovora na neoadjuvantnu hemioradioterapiju, što navodi na zaključak da bi ekspresija ovog gena mogla da se koristi kao prediktivni marker u tretmanu karcinoma rektuma. (176)

Nova istraživanja u cilju razvoja konzervativne onkološke terapije se fokusiraju na detaljnije poznavanje genetike i ćelijskih zbivanja [Slika 13].



**Slika 5:** Uloga *RAD51* u reparaciji dvolačanog prekida DNK (RPA – Replication Protein A se u toku reparacije vezuje za lanac DNK i sprečava njegovo uvijanje koje bi moglo da rezultuje stvaranjem veza sa samim sobom, a time i formiranjem sekundarne strukture)

Najmanje dva puta povećana ekspresija *RAD51* mRNA je opisana kod invazivnog dukalnog karcinoma dojke, karcinoma pluća nemalih ćelija, karcinoma bešike, glioblastoma multiforme, sarkoma, karcinoma prostate i pankreasa. (177) Pored toga, brojne ćelije karcinoma pokazuju povećane fokuse *RAD51*, bez obzira na oštećenje egzogene DNK i time dodatno pokazuju postojanje uloge abnormalnosti *RAD51* regulacije kod karcinoma. (178) Ovo povećanje fokusa ekspresije može biti rezultat povećanog replikacionog stresa DNK uzrokovanog rapidnom deobom ćelija, te je ekspresija ovog gena povezana sa lošijom prognozom kod multiplih maligniteta. (179) Pacijenti sa KRK imaju prosečno vreme preživljavanja od 11 meseci, u poređenju sa 76 kod onih koji imaju slabu ekspresiju gena. (180) Povećana ekspresija *RAD51* kod karcinoma nije rezultat pojačavanja gena, već povećane transkripcije *RAD51*. Ova negativna korelacija između ekspresije i malignog potencijala je na prvi pogled paradoksalna, jer bi se pretpostavilo da bi njegova veća ekspresija korelirala sa povećanom reparacijom i održavanjem genske stabilnosti. Međutim, dosadašnja saznanja ne podržavaju ovu pretpostavku i sugerišu da je stroga regulacija nivoa ekspresije proteina za reparaciju neophodna da bi se održala uloge

homologe direktne reparacije u očuvanju genomske integriteta, a premalo i previše regulatornih proteina i njihove aktivnosti je štetno. (181) Ispitivanja na ovom polju su pokazala povišenu homologu rekombinaciju kod multiplog mijeloma i ezofagielnog adenokarcinoma, dok je obaranje nivoa *RAD51* sprečilo nastajanje promena genoma. (181-3) Inhibicija *RAD51* je pokazala i smanjenje migracija ćelija karcinoma dojke, što ukazuje da ima uticaj i na metastatski potencijal. (184) Iz ovoga se može zaključiti da ovaj protein bitan u reparaciji DNK ima i genotoksično dejstvo i može učestvovati i u oštećenju normalne DNK i genomske alteracije. Pokazalo se da ima ulogu i u rezistenciji na terapiju karcinoma, naročito kod agenasa koji indukuju oštećenje DNK. (185) Manje fokusa *RAD51* kod karcinoma dojke je povezano sa boljim odgovorom na terapiju na bazi atraciklina. (114) Veća senzitivnost karcinoma na cisplatin, doksirubicin i radioterapiju je pokazana kod slabije ekspresije ili inhibicije *RAD51*. (187-8)

Uloga *RAD51* u reparaciji i toleranciji hemioterapije i oštećenja DNK indukovanog radijacijom pruža dobru osnovu za postavljanje *RAD51* kao terapijskog cilja u tretmanu karcinoma. Ovo podržavaju i dokazi povećane ekspresije kod mnogih karcinoma, kao i neophodnost veće aktivnosti *RAD51* prilikom borbe protiv replikacionog stresa kod karcinoma. Njegova inhibicija u ovom kontekstu bi pružila novi terapijski okvir čime bi se postigao manji uticaj, a time i smanjena toksičnost na nekancerozne ćelije. Navedena saznanja su navela na nova istraživanja na polju tretmana karcinoma koja se zasnivaju na inhibiciji *RAD51*. Većina je trenutno u eksperimentalnoj fazi, a za neke već ispitivane citostatike je primećeno da utiču na inhibiciju ekspresije *RAD51*. Tačan mehanizam nije poznat, a kao problem se javlja visoka toksičnost jer ovi agensi nisu specifični za *RAD51* i njihova ispitivanja su prekinuta u drugoj fazi. (189-91) Smanjena efikasnost ovih agenasa je više odraz nerazjašnjenog mehanizma nego dokaz za zanemarivanje značaja *RAD51*.

## 1.5 Dijagnostika kolorektalnog karcinoma

### 1.5.1 Klinički pregled

Neophodno je pažljivo i detaljno ispitivanje pacijenata kod koga se sumnja na KRK.

Kao i svaki drugi, ovaj pregled se sastoji iz anamneze, kliničkog i laboratorijskog pregleda i definitivne patohistološke verifikacije karcinoma.

Promena ritma pražnjenja (habitusa) je najčešća tegoba pacijenata sa kolorektalnim karcinomom, međutim, oboleli joj ne pridaju dovoljno značaja. Bolesnici često naizmenično imaju periode opstipacije i dijareje uz nadimanje i flatulenciju. (190-2)

Krvarenje je na drugom mestu na listi simptoma, ali je najčešća tegoba zbog koje se pacijenti javljaju lekaru. Može biti očigledno i okultno. (192)

Sluz, sama kao ekskrecija (kod distalne lokalizacije) ili pomešana sa stolicom je još jedan bitan simptom i često je u prisustvu krvarenja. (192)

Bol u rektumu nije pravi simptom karcinoma rektuma. Obično ga uzrokuju trombozirani hemoroidi, analna fisura i proctalgia fugax. Kada karcinom rektuma prouzrokuje bol znači ili da je jako distalno smešten ili da je veoma velik. Bol može biti rezultat infiltracije osetljivog analnog kanala ili sfinktera. Takva invazija može uzrokovati tenezme-bolne lažne nagone na pražnjenje, koji su povremeno i jedina tegoba. (192-4)

Pošto su simptomi često oskudni, ali vrlo specifični za oboljenje, detaljno uzeta anamneza je od krucijalnog značaja u daljem ispitivanju i orijentaciji u cilju postavljanja tačne dijagnoze.

Pored simptoma specifičnih za oboljenje kolona potrebno je notirati povećanje telesne temperature, opštu slabost, mučninu, gađenje i povraćanje, kao i ličnu i porodičnu anamnezu, tražeći i u tome povezanost sa tegobama i diferencijalnom dijagnozom.

Po uzimanju anamnestičkih podataka potrebno je klinički detaljno pregledati pacijenta.

Digitorektalni pregled je prvi korak u postavljanju dijagnoze postojanja lezije u rektumu. Njime se može otkriti bar polovina tumora rektuma. Prilikom izvođenja manuelnog pregleda rektuma potrebno je prvo izvršiti inspekciju perianalne regije i videti da li tumor prolabira kroz anus, kao i verifikovati postojanje drugih mogućih lezija, kao što su analne fisure, fistule, prolabirani hemoroidi i sl. Palpacijom analnog kanala i ampule rektuma mogu se otkriti aberacije u njihovoj strukturi. Ampula recti je normalno prazna i rastegljiva, kod muškaraca se na prednjem zidu

palpira prostata veličine kestena, sa sulkusom koji prolazi uspravno kroz sredinu, a kod žena se na prednjem zidu plapira grlić materice kao čvrsta, elastična, bezbolna formacija na oko 5 cm od analnog otvora. Ako se palpura tumefakt u ampuli vrlo je važno odrediti njgovu tačnu poziciju, oblik, konzistenciju, fiksiranost za okolinu i prohodnost lumena. Korektno izvedenim digitorektalnim pregledom može se otkriti više od polovine karcinoma rektuma. (192, 195-6)

Palpacijom i perkusijom abdomena može se dijagnostikovati uvećanje jetre i prisustvo ascitesa, kao i distenzija kolona kao znak subokluzije, ili se pak napipati tumefakt.

Auskultacijom abdomena se može čuti peristaltika creva, njeno odsustvo ili fenomeni bućkanja ili pretakanja u slučaju voluminoznijih, opstruišućih tumora.

Od laboratorijskih analiza potrebno je uraditi SE, KKS, hepatogram, alkalnu fosfatazu, gama GT, ureu, kreatinin, urin i tumorske markere (Karcinoembrionalni antigen-CEA, tkivno-palzmogeni aktivator-TPA i karcinomatozni antigen-CA 19-9). (197-8)

Pre započinjanja bilo kakvog terapijskog postupka mandatorna je endoskopska i radiološka koloproktološka, kao i patohistološka obrada.

### **1.5.2 Endoskopska dijagnostika**

Pre primene ove metode potrebna je priprema debelog creva, koja se sastoji od tečne ishrane dan pre pregleda i korišćenja preparata za čišćenje creva. Najbolji rezultati pripreme dobijeni su su polietil-glikolom i natrijum-pikosulfatom. Dobro mehanički pripremljen kolon je od ključne važnosti za dobijanje što preciznijih rezultata. (199)

Endoskopija ima kako dijagnostički, tako terapijski značaj time što pored toga što otkriva promene na mukozi, polipe, polipoidne lezije, karcinom, inflamatorne promene, strikture, vaskularne malformacije, anatomske aberacije i ekstraluminalne mase, može biti korišćena za bioptiranje promena i uklanjanje manjih polipoidnih lezija. (200-1)

Rigidna proktosigmoidoskopija je jedna od najvrednijih dijagnostičkih metoda. Pregled ovim rigidnim instrumentom, pored promena mukoze rektuma i sigme, može da prikaže i oboljenje anusa, kao što su hemoroidi, fistule, fisure i abscesi. Ovim instrumentom se može pregledati oko 30cm rektuma i završnog kolona, što je, na žalost, moguće samo kod 50% pacijenata, i mogu se otkriti gotovo dve trećine kolorektalnog karcinoma. Srednja dužina eksploracije creva rigidnim



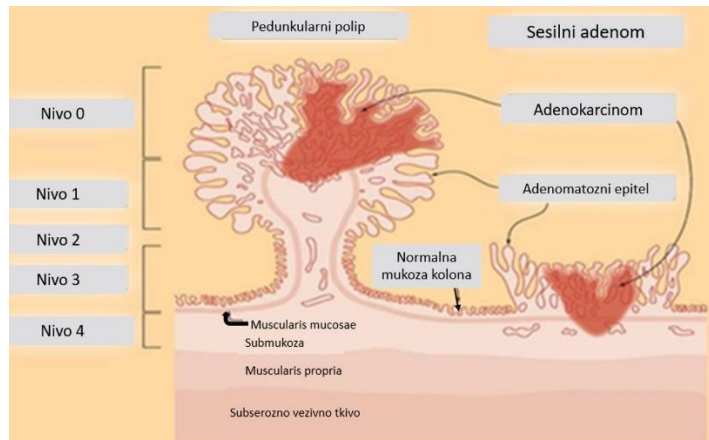
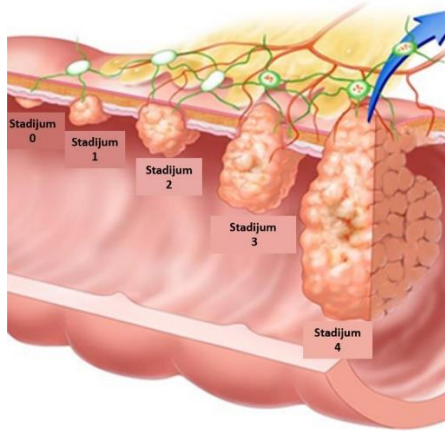
rektosigmoidoskopom je 20 cm. Ova metoda se pokazala kao vrlo korisna, obzirom da se u ovoj regiji nalazi više od dve trećine karcinoma celog kolona. Njena prednost je u tome što se udaljenost lezije od anusa može odrediti sa većom preciznošću negi fleksibilnim instrumentom time što se mekani rektum izdužuje i zateže, a time dobija prava informacija o poziciji tumora. (200-1)

Fleksibilnom fiberoptičkom kolonoskopijom dobija se mogućnost pregleda mukoze celog kolona. Ovo je naročito značajno kod postojanja sinhronih tumora (2-6% slučajeva KRK) višestrukih polipa i zapaljenskih bolesti. U centrima u kojima se stalno rade kolonoskopije uspešnost izvođenja pregleda celog kolona je 98%, mada ona dosta zavisi od pripreme pacijent, prohodnosti kolona i iskustva lekara koji je izvodi. Uspešnost ove metode je ospravana od strane radiologa zbog postojanja slepih tačaka u kolonu, koje se javljaju prilikom nabiranja kolona oko endoskopa u predelu fleksura i cekuma. (202-3)

KRK može imati multiplu lokalizaciju, pa oni koji se jave u isto vreme ili unutar intervala od 6 meseci nazivamo sinhronim, a one koji se javljaju posle više od 6 meseci metahronim. Učestalos karcinoma sa multiplom lokalizacijom češći je kod osoba koje pate od polipoidnih i zapaljenskih bolesti, a kod pacijenata starijih od 50 god. sa lokalizacijom tumora u distalnom kolonu, u oko 50% slučajeva se može naći displazija III stepena ili karcinom u proksimalnom delu kolona. (181-3)

Karcinom se prezentuje u različitim morfološkim oblicima kao što su vegetantna, polipoidna ili zaravnjena izraslina i ulceracija u ravni ili ispod ravni mukoze.

Vegetantni i polipoidni oblici adenoma ili karcinoma (70% svih KRK) rastu sporo i transformacija u karcinom iz adenoma traje od 10-15 godina. [slika 3] Iz „flat“ lezija (u ravni ili ispod nivoa mukoze-ulcerozne lezije) razvija se ostalih 30% KRK, koji su izuzetno agresivne prirode, brzo infiltrišu submukozu i rano mogu dati udaljene metastaze. Karcinomi kod kojih nije postojala prekursora benigna lezija se nazivaju „de novo“ karcinomi. (204-7)

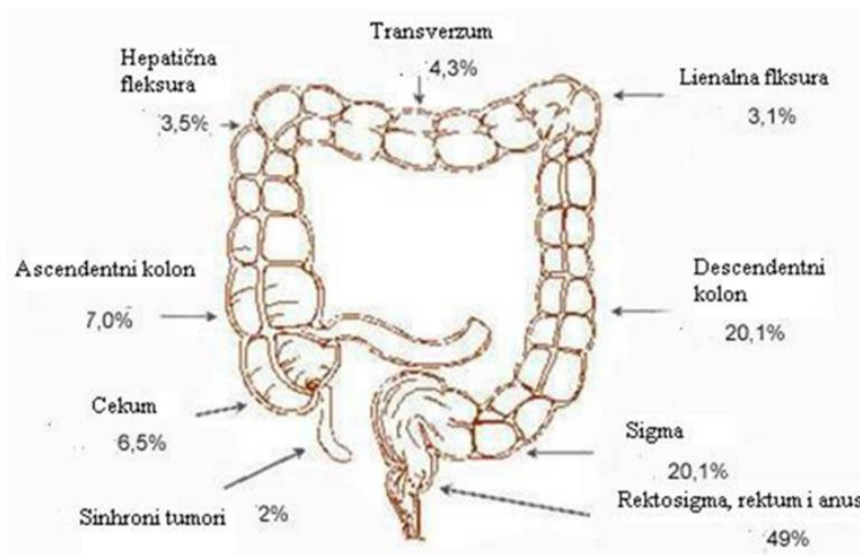


a) Sekvenca polip-karcinom

b) Haggittova klasifikacija malignih polipa-korelira sa

prognozom.

**Slika 6:** Transformacija adenoma u karcinom



**Slika 7:** Učestalost pojave karcinoma po lokalizaciji u kolonu

U poslednje vreme u mnogim zemljama sve veći zanačaj se pridaje ranom otkrivanju i prevenciji. U tu svrhu se koristi test za otkrivanje okultnog krvarenja u stolici (FOBT, „Hemoccult“) i često je nezaobilazni deo godišnjeg sistematskog pregleda kod osoba koje spadaju u rizičnu grupu od

obolevanja od CRC (pacijenti sa pozitivnom porodičnom anamnezom i stariji od 50 godina), tako da je kod velikog broja pacijenata kolonoskopija urađena na osnovu pozitivnih rezultata ovog testa i otkriven značajan broj tumora kolona u asimptomatskom stadijumu. (207-11)

### **1.5.3 Radiološka dijagnostika**

#### **- Irigografija**

Ova metoda je od velike važnosti u dijagnostici kako CRC tako i akutnih stanja, okluzija, ileusa i perforacija (kod sumnje na perforaciju se ne koristi barijumski, već vodeni kontrast). Trebala bi da se radi posle, a ne pre kolonoskopije, jer se barijum zadržava neko vreme po unutrašnjosti zidova kolona. Superiorna je u odnosu na kolonoskopiju kod stenozantnih lezija neprolaznih za instrument i kod pacijenata koji nisu mogli da podnesu kolonoskopiju. Pre irigografije neophodna je priprema kolona kao i pre endoskopije. (176)

Može se sprovesti sa jednim (barijum) ili dva kontrasta (barijum i vazduh), a smatra se da je prva metoda bolja u otkrivanju akutnih i hroničnih inflamatornih bolesti, a druga u otkrivanju manjih polipoidnih lezija. (211-12)

Irigografija sa dvojnim kontrastom pokazuje konture kolona i time sve promene u širini i obliku lumena, divertikulume i postojanje drugih lezija i defekata. Samo 10-13% adenomatoznih polipa se može otkriti ovom metodom, a samo 7% jednokontrastnom tehnikom. Anatomska pozicija i stanje rektuma u odnosu na okolne strukture mogu biti prikazani na ovaj način, kao i razna druga stanja rektuma, kao što su rektovaginalna, rektovezikalna fistula i dr. (211-12)

Zbog postojanja multiplih polipa i sinhronih tumora mora se insistirati na pregledu celog kolona i distanog ileuma. U nekim slučajevima CRC se teško može irigografski razlikovati od divertikulitisa i linitis plastike, karakteristične za ulcerozni kolitis.

U postoperativnom toku ima značaj u prikazivanju prohodnosti ili defekata anastomoze. Takva vrsta praćenja bazira se na upoređivanju izgleda anastomoze 3 meseca nakon operacije sa kasnijim kontrolnim snimcima i svaka promena u obliku anastomoze može ukazivati na pojavu lokalnog recidiva. (213-14)

#### **- CT/MRI kolonografija ili virtuelna kolonoskopija**

Poslednjih godina se kao alternativa kolonoskopskom pregledu često koristi i CT ili MRI kolonografija takođe poznata i kao virtuelna kolonoskopija ili pneumokolon. Ova procedura zahteva jednaku pripremu kolona, jer može doći do zamene postojanja polipa ili tumora naslagama stolice, a teže se detektuju promene veličine 2-10 mm. Druga mana joj je što se ne mogu uzeti biopsije sa promena sluznice kolona, niti uraditi polipektomije prilikom detekcije, a prednost što se jasno ocrtavaju konture e određuje pozicija kolona. Pored toga, kao i kod standardne CT dijagnostike, postoji i izloženost jonizujućem zračenju, mada se pojavljuju studije koje pokazuju da se isti pregled može izvesti u uslovima pregleda pod ultra niskim dozama zračenja iako se kao alternative može koristiti i MRI kolonografija, koja ima mogućnost da otkrije polipe veće od 6mm. (215-16)

Imidžing tehnike u dijagnostici i određivanju stadijuma karcinoma rektuma

Imidžing tehnike se u savremenoj kliničkoj praksi smatraju nezaobilaznim u proceduri procene lokalnog stadijuma uznapređovalosti karcinoma kolona i rektuma i zahvaćenosti okolnih organa tumorskim procesom. Kompjuterizovana tomografija (CT) i magnetana rezonanca (NMR) su metode kojima se vizuelizuju promene na organima i omogućavaju bolji pristup lečenju i kasnije kvalitetnije praćanje pacijenata. Ovim metodama se može identifikovati primarni tumor rektuma i invazija u okolna tkiva i limfne žlezde i prisustvo udaljenih metastaza u trbuhu (jetra). (217-8)

U preoperativnom određivanju stadijuma tumora veću prednost ima magnetana rezonanca, pošto jasno pokazuje stanje mekih tkiva i ima mogućnost prikazivanja sagitalnog, koronalnog i aksijalnog preseka i time preciznije definicije raširenosti malignih tumora. Tačno određivanje ekstarluminalnog širenja tumora i zahvaćenosti sfinktera ima velik značaj u izboru metode lečnja. Najvažnija uloga magnetne rezonance je u vizuelizaciji endorektalne fascije i njenog odnosa prema tumoru i razlikovanju fibroze od infiltracije. Isti je slučaj i sa lokalnim recidivom, koji se najpreciznije može odrediti magnetnom rezonancom, pošto se postoperativna fibroza može izdiferencirati od tumorskog tkiva, što u ranom postoperativnom periodu nije lak zadatak za radiologa. (219-21)

- Kompjuterizovana tomografija

Kod uznapredovalog karcinoma rektuma sa prisutnom invazijom kostiju CT je dominantna metoda pregleda. Za dijagnostikovanje metastaza u jetri, nadbubrežnim žlezdama i uvećanje limfnih žlezda CT se rutinski koristi. Ima veliku ulogu i u određivanju metastaza u plućima, mada se klasična radiografija pluća češće koristi zbog dostupnosti. (220-22)

- MRI

Magnetna rezonancija je radiološka metoda koja se zasniva na primeni jakog magnetnog polja i savremene računarske tehnike za obradu slike u cilju sagledavanja unutrašnjih struktura i funkcionisanja tela. Magnetna rezonancija (MR) je jedan od poslednjih revolucionarnih pronalazaka u radiološkim dijagnostičkim metodama. MRT se zasniva na principima nuklearne magnetne rezonancije (NMR) tehnike spektroskopije koju koriste naučnici za dobijanje podataka o hemijskim i fizičkim svojstvima molekula. Poslednjih godina je postala zlatni standard u dijagnostici stadijuma karcinoma rektuma, praćenju odgovora na neoadjuvantnu i adjuvantnu radio, hemio i radiohemioterapiju, kao i dijagnostiku promena u jetri. (223-36)

- Endorektalni ultrazvuk (ERUS)

Ultrazvučna endorektalna sonografija predstavlja noviju tehniku kojom se sa velikom preciznošću vrši vizuelizacija zida rektuma, perirektalnog tkiva, dubina penetracije zida rektuma tumorom i potencijalno prisustvo metastaza u perirektalnim nodusima. Preciznost ERUS se kreće od 75-94%. Kod preoperativno zračenih pacijenata može dati dobru procenu stadijuma bolesti, resektabilnosti i prognoze, mada obzirom da se fibrozno tkivo ne prikazuje značajno drugačije od tumorskog tkiva, ova metoda nije pouzdana u toj situaciji. Preciznija je od CT-a u određivanju dubine infiltracije zida primarnim karcinomom i ove dve metode se sa uspehom mogu uzajamno dopunjavati. Ograničenje joj je u pogledu nepouzdanog razlikovanja neoplazme od zapaljenja i fibroze. Preoperativno je vrlo korisna metoda za određivanje hirurškog plana i selekciju pacijenata za lokalnu eksciziju karcinoma ranog stadijuma, tj. za razlikovanje T1, T2 i T3 tumora. (237-9)

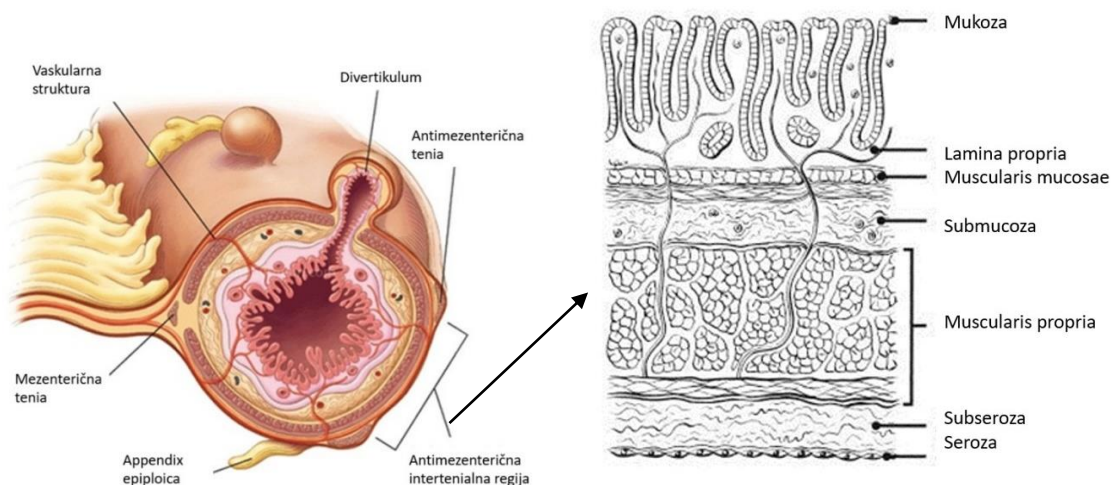
-Ostale dijagnostičke procedure

Pored ovih dijagnostičkih pregleda koriste se i pregledi za određivanje proširenosti bolesti, kao što su radiografija pluća i kostiju, ultra zvuk abdomena i male karlice, urografija, cistoskopija, imunoscintigrafija, PET/CT i analna manometrija.

## 1.6 Patohistologija

Histopatološki pregled bioptata ili hirurški odstranjene promene je glavni izvor podataka za određivanje prirode lezije, odnosno za relativno određivanje stadijuma bolesti, postoperativne terapije i način praćenje pacijenta.

Zid kolona se sastoji od mukoze, submukoze, muskularisa i seroze. [Slika 5] U rektumu ispod peritonealne refleksije nema seroze, ali je obilan sloj masnog tkiva priljubljen uz mišićni sloj. Celom debljinom mukoze protežu se Liberkhunove kripte, pri čijoj bazi su smeštene nediferentovane ćelije sa multiplim mitozama, koje se brzo dele i predstavljaju stalni rezervoar ćelijama na površini creva. To čini rektum posebno osetljivim i podložnim spoljnim uticajima u stvaranju ćelijskih aberacija.



**Slika 8:** Sastav zida kolona

Morfološki karcinomi kolona mogu biti vegetantni (egzofitni), ulcerativni, ulcerovegetantni i stenožantni ili skirusni.

Mikroskopski razlikujemo nekoliko tipova KRK:

## 1) epitelijalni

- adnokarcinomi, čine oko 90-95% svih malignih neoplazmi kolona. Čelije su kuboidalnog izgleda, različitog stepena diferencijacije, sa različitom količinom mucina i manje ili više uočljivim acinusima.
- mucinozni-koloidni adenokarcinomi su histološka varijanta za koju je karakteristična veća produkcija mucina ekstracelularno. Njihov maligni potencijal je veći, jer zbog veće količine mucina dolazi do razmicanja ćelija, povećanja međućelijskog prostora i veće mogućnosti diseminacije. Ova vrsta CRC zastupljena je u 17% slučajeva svih adenokarcinoma.
- signet-ring cell carcinoma (karcinom ćelija u obliku pečatnog prstena) ima povećanu produkciju mucina intracelularno, te dolazi do potiskivanja jedra u stranu, pa ćelije imaju oblik pečatnog prstena. Ovakvi karcinomi imaju lošu prognozu.
- planocelularni (skvamozni) karcinom
- adenoskvamozni karcinom
- nediferentovani karcinom malih ćelija nastaje iz neuroendokrinih ćelija i ima mogućnost stvaranja paraneoplastičnih sindroma produkujući hormone i druge bioaktivne supstance.
- neklasifikovani karcinomi

## 2) karcinoidni tumori

## 3) neepitelijalni tumori (sarkomi)

## 4) hematopoetski tumori (limfom)

## 5) neklasifikovani tumori (240)

Napretkom nauke javila se potreba da za standarnizacijom i klasifikacijom tumorske bolesti u odnosu na prognozu i ishod lečenja.

Gradiranje se histološki bazira na arhitekturnim kriterijumima, a citiološki na veličini i izgledu ćelije i nukleusu na nukleocitoplazmatskom odnosu, izgledu, veličini jedra, njegovim konturama, jedarcima i broju. Prema tome se karcinomi mogu svrstati na:

- Gx-diferentovanost se ne može odrediti
- G1-dobro diferencirani
- G2-srednje diferencirani
- G3-loše diferencirani

- G4-nediferencirani,

gde nediferencirani i loše diferencirani imaju najlošilu prognozu. (240)

### 1.6.1 Dukes i Astler-Coler klasifikacija

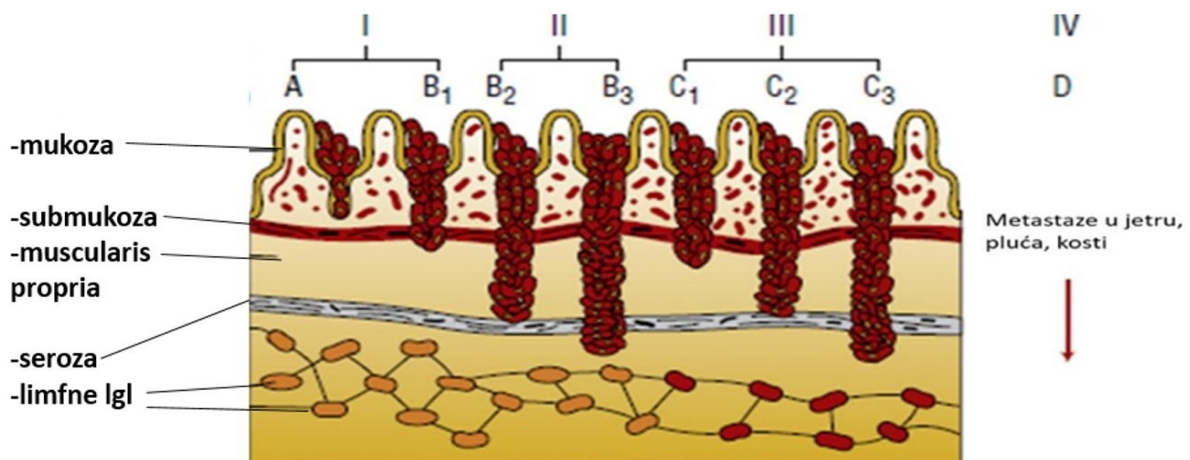
Engleski patolog William Dukes je 1932. kreirao prvu značajnu klasifikaciju karcinoma rektuma [slika6, tabela 1], koja se, uz manje izmene koristi i danas (241):

Stadijum	Dukes klasifikacija
A	tumorom zahvaćena mukoza zida creva do tunike muskularis proprije
B	tumor zahvata mukozu, submukozu i muskularis propriju, ali ne daje metastaze u regionalnim limfnim žlezdama
C	tumorska infiltracija celog zida sa metastazama u regionalnim limfnim čvorovima

**Tabela 1:** Dukes klasifikacija KRK

1935. Gabriel i saradnici, a 1938. i sam Dukes, modifikuju ovu klasifikaciju, shvativši značaj apikalnih limfnih žlezda, pa se tako stadijum C podelio na:

- C1-tumor sa metastazama u perikoličnim limfaticima
- C2-tumor sa metastazama u apikalnim limfnim žlezdama (na nivou ishoda mezenteričnih sudova)





**Slika 9:** Dukes klasifikacija KRK sa Astler-Coler modifikacijom

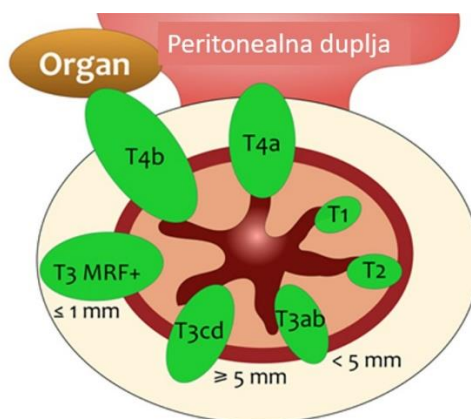
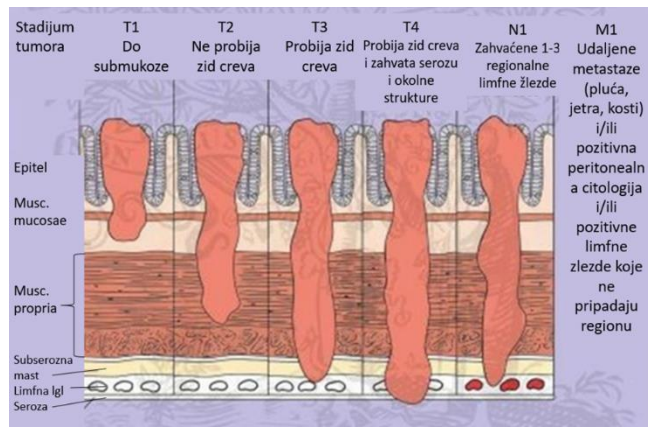
Astler i Coler 1949. modifikuju ovu klasifikaciju i tako dolazi do sledeće podele [Tabela 2] (242):

Stadijum	Astler-Coler modifikovana klasifikacija
A	tumor zahvata mukozu
B1	tumor zahvata muskularis propriju, ali ne penetrira kroz nju, limfne žlezde nisu zahvaćene
B2	tumor probija muskularis propriju, limfne žlezde nisu zahvaćene
C1	tumor ne probija serozu, ali zahvata limfne žlezde
C2	tumor infiltriše serozu i zahvata limfne žlezde
D	postojanje udaljenih metastaza

**Tabela 2:** Astler-Coler klasifikacija KRK

**1.6.2 TNM klasifikacija KRK**

TNM klasifikaciju prvi put je predložio Denoux 1954. i ona se zasniva na lokalnom širenju tumora i postojanju regionalnih i udaljenih metastaza [slika 7, tabela 3]. (241) 1983. Beahrs i Myers prilagođavaju TNM kolorektalnom karcinomu, a dopunjuje je Hermanek 1986-94. godine, uvođenjem kategorije rezidualnog tumora (R0, R1, R2), odnosno radikalnosti reskecije. (242)



**Slika 10:** Stadijumi KRK po TNM klasifikaciji

	TNM klasifikacija
T0	nema znakova primarnog karcinoma
Tis	tumor „in situ“- nalazi se na mukozi i ne probija muskularis mukoze. Po preporuci WHO smatra se displazijom III stepena
T1	tumor zahvata submukozu
T2	tumor invadira muskularis propriju
T3	tumor probija muskularis propriju i subserozu ili nepritonealno perikolično ili perirektalno tkivo
T3a-	-do 1 mm
T3b-	-do 5mm
T3c-	-do 15 mm
T3d-	-preko 15 mm
T4	tumor probija serozu ili direktno zahvata okolne organe i strukture (ovde se podrazumeva i slobodna perforacija tumora)
Nx	nema dokaza o zahvaćenosti lgl
N0	regionalne lgl bez metastaza
N1	metastazama zahvaćeme do 3 lgl
N2	metastazama zahvaćene više od 4 lgl
Mx	prisustvo udaljenih metastaza ne može biti definisano
M0	nema udaljenih metastaza
M1	prisustvo udaljenih metastaza

**Tabela 3:** TNM klasifikacija KRK

Opšte je prihvaćeno da treba pregledati sve limfne žlezde (lgl) koje se nađu u operativnom preparatu, a njihov broj je limitiran anatomskim varijacijama i zavisi od hirurške tehnike i upornosti patologa da ih identifikuje. Većina autora smatra da je dovoljno pregledati 12 lgl, a Goldstein i saradnici smatraju da treba pregledati minimum 18 žlezda. Svaki patološki izvaštaj sadrži broj pregledanih i broj pozitivnih lgl. (240-44)

Pored ovoga, vaskularna i limfatička invazija predstavljaju nepovoljni prognostički faktor, jer je primećano da se kod tih pacijenata češće javljaju metastaze u jetri. Verovatnoća petogodišnjeg preživljavanja kada nema invazije jetre iznosi 72%, a kada je ima 35%. (243-5)

Perineuralna invazija i pupljenje tumora („budding“) su takođe nepovoljni faktori. Ako postoji pupljenje, infiltracija prema zdravom tkivu, postoje veće šanse za nastanak metastaza u jetri. Pacijenti koji imaju limfatičnu i perineuralnu infiltraciju, a nalaze se u trećam stadijumu po TNM-u imaju šansu petogodišnjeg preživljavanja od 7%. (243-5)

Tumorski nodusi u peritonealnom ili perikoličnom masnom tkivu veći od 3 mm, bez histološki jasne građe limfne žlezde, se registruju kao regionalne metastaze, a ako su manji kao diskontinuirano tumorsko širenje i spadaju u T3 stadijum. Ekstramuralni nodusi pravilnog oblika, nezavisno od veličine se vode kao N+ status. U slučaju da se ekstranodalni tumorski depoziti nađu van linija resekcije registruju se kao R1 stadijum. (243-5)

Veliki značaj u patohistološkom izveštaju odnosi se na nalaz o proksimalnim i distalnim resekcionim rubovima, a kod rektuma je bitan nalaz o cirkumferencijalnoj resekcionoj margini (CRM). Distalna linija resekcije kod dobro diferentovanih tumora može biti 1 cm, a kod slabo diferentovanih mora biti bar 2 cm ispod tumora, obzirom da se tumor retko širi distalno. Dokazano je da je zahvaćenost CRM najbolji prediktor pojave lokalnih recidiva i smatra se da bilo koji tumorski depozit, uključujući intranodalni i intravaskularni, udaljen 2mm ili manje od linije resekcije predstavlja njenu pozitivnost i tada se u 30% slučajeva javi lokalni recidiv. (243, 246-7)

Biloški maligni potencijal zavisi od diferencijacije tumora, infiltracije, proliferativne aktivnosti, lokalnog i sistemskog delovanja produkata tumora na organizam i njegovog metastatskog potencijala. Odbrambena sposobnost organizma i lokalni tkivni odgovor mogu direktno uticati na maligni potencijal tumora. (193)

Limfocitni odgovor na prisustvo tumora predstavlja povoljan prognostički faktor. Stromalna reakcija na tumor sa jače izraženom dezmozoplazijom pokazuje veću tumorsku agresivnost. Dokazano je da stromalne ćelije luče neke enzime koji omogućuju infiltraciju i metastaziranje tumora. (243, 245-9)

Dezmoplastična reakcija se takođe procenjuje i predstavlja odgovor samog organizma na postojanje tumora kreiranjem ožiljnog tkiva oko tumora. Dezmoplazija, kao lokalna reakcija na

invaziju tkiva, bilo kao povreda ili infiltracija tumorom, predstavlja proliferaciju vezivnog tkiva, fibroblasta, sa posledičnom sekrecijom kolagena. Sinteza kolagena pruža pogodnu sredinu za lokalnu proliferaciju ćelija, uključujući i ćelije karcinoma. Novoformirana stroma sadrži u sebi komponente za ekstraćelijski matriks, kao što su glukozaminoglukani, za koje se vezuju faktori rasta i citokini. Ćelije kancera luče enzim za degradaciju matriksa, kao što su metaloproteinaze i time oslobađaju faktore rasta koji daju signal za rast malignih ćelija. Ovo razlaganje matriksa pruža proctor za razvitak krvnih sudova tumora, migraciju i tumorsku proliferaciju. I dok kod povreda, kreiranje ožiljnog tkiva pomaže zarastanje, u onkološkim slučajevima omogućava proliferaciju tumorskog tkiva i predstavlja negativan prognostički marker. (250-9)

U toku su ispitivanja bazirana na pretpostavci da će u bliskoj budućnosti biti moguće, na osnovu analize molekularnih markera, odrediti efikasnu individualnu hemioterapiju za svakog bolesnika. (245, 260-2)

## **1.7 Lečenje KRK**

Hirurgija predstavlja dominantan vid tretmana KRK. Međutim, ne treba zaboraviti i ostale modalitete lečenja, a to su polihemioterapija i radioterapija koje se mogu primeniti samostalno ili u kombinaciji.

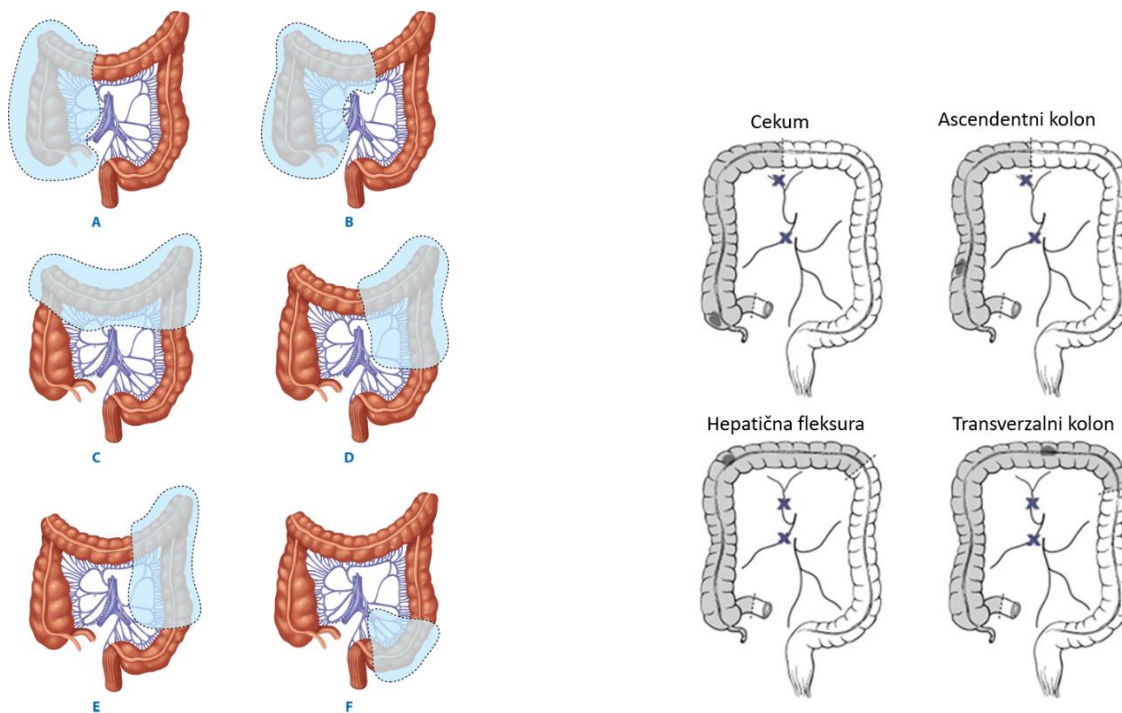
### **1.7.1 Hirurško lečenje**

U odnosu na lokalizaciju karcinoma i njegovu uznapređovalost, razvijeni su adekvatni hirurški pristupi. Operacije karcinoma se mogu podeliti na kurabilne-radikalne i palijativne.

#### Radikalne operacije

Radikalne operacije karcinoma kolona se svode na resekciju obolelog segmenta sa pripadajućim limfovaskularnim slivom. U zavisnosti od lokalizacije tumora se izvodi i resekcija adekvatnog segmenta.

Kod lokalizacije tumora u proksimalnom delu kolona (od cekuma do proksimalnog transverzuma) izvodi se desna hemikolektomija, kojom se pored resekcije desnog kolona sa terminalnim ileumom, vrši i resekcija pripadajućeg mezoa kolona i ileuma, uz podvezivanje arterija i vena desnog koloničnog sliva, visoko, pru ishodištu. Ovime se postiže i adekvatna lokalna limfadenektomija. U slučaju da se tumor nalazi u regiji transverzuma, ovaj pristup se proširuje podvezivanjem srednjih kolonih sudova sa pripadajućim mezoom, čime se vrši proširena desna hemikolektomija. (263-5)



a) resekcije kolona po onkološkim principima

b) modifikacije desne hemikolektomije

**Slika 11:** Resekcije kolona po onkološkim principima: a) resekcije segmenata kolona u zavisnosti od lokalizacije tumora [A- desna, B-proširena desna hemikolektomija, C-resekcija transverzuma, D-proširena leva, E-leva hemikolektomija, F-resekcija sigme] b) desna hemikolektomija sa modifikacijama

Postoji više pristupa kod tumora distalnog transverzuma i on uključuje proširenu desnu hemikolektomiju, resekciju obolelog transverzuma i levu hemikolektomiju. [slika 8b] (263-5)

Kod tumora lokalizovanih u levoj polovini kolona, tačnije u descendensu, izvodi se leva hemikolektomija, kod koje se pri ishodištu ligira donja mezenterična arteija, kao i vena ispod donje ivice pankreasa, čime se postiže i adekvatna limfadenektomija. [ Slika 8a] (265, 267-9)

Principi resekcije kod tumora sigmoidnog kolona se slično izvode, uz prezervaciju leve grane donjih mezenteričnih krvnih sudova, a u cilju adekvatne vaskularizacije ostatka kolona. Distalno se kolon resekcira u visini proksimalnog rektuma, na adekvatnoj udaljenosti od barem 5 cm distalno od tumora, te se ova vrsta operacije naziva i prednja visoka resekcija rektuma i

primenjuje se i kod tumora proksimalnog rektuma, a karakteristična je po tome što se linija resekcije nalazi iznad peritonealne refleksija. (268-9)

Ove operacije se, u zavisnosti od tehničkih mogućnosti i lokalnog nalaza (uznapredovalosti tumora, diskrepance u lumenu creva usled subokluzija i okluzija, prisustvu sekundarnih depozita u lokalnom peritoneumu, kao i adekvatnoj vaskularizaciji) mogu završiti kreiranjem anastomoze ili derivacione stome.

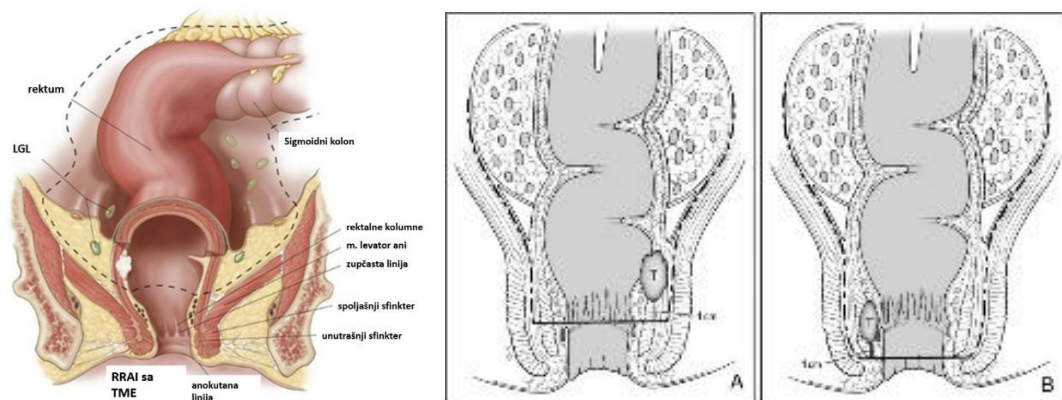
Kod hirurgije karcinoma rektuma postoji više pristupa u zavisnosti od lokalizacije tumora i njegovog stadijuma. Ovakve operacije počinju navedenim načinom podvezivanja donjih mezenteričnih krvnih sudova i hirurškim preparisanjem rektuma do nivoa ispod tumora delikatnom hirurškom tehnikom, koja ima za cilj očuvanje okolnih struktura i funkcije pelvičnih organa uz adekvatnu onkološku opsežnost. Ovako se postiže raslojavanjem kroz embrionalne ravni rektuma, naravno, u zavisnosti od udaljenosti tumora od anusa.

Kada se tumor nalazi u gornjoj trećini rektuma, vrši se mobilizacija organa do oko 5 cm od donje ivice tumora, što se postiže adekvatnim raslojavanjem zadnjeg zida rektuma kroz mezorektum. Kod ovakvih pristupa se anastomoza uglavnom kreira intraperitonealno.

Kod lokalizacije tumora u srednjoj trećini rektuma je vrlo moguće da će biti neophodno da se rektum u potpunosti isprepariše, što podrazumeva totalnu mezirektalnu eksciziju, koja je zlatni standard u onkološkoj hirurgiji rektuma i kojom se postiže onkološka radikalnost uz prezervaciju pelvičnih nerava. Kod ovakvih operacija je moguće i onkološki prihvatljivo učiniti i transekciju mezorektuma, kojom se prezervira distalni deo rektuma i pripadajući mezo, naravno, kada se postigne adekvatna udaljenost od donje linije tumora uz poštovanje onkoloških principa. (270)

Tumori lokalizovani u distalnoj trećini rektuma zahtevaju totalnu mezorektalnu eksciziju, to jest disekciju kroz avaskularne embrionalne slojeve mezorektuma, sa prednje strane Denonvilijerovu fasciju, sa zadnje presakralnu fasciju, kao i presecanje retinaculuma recti poznatijih kao lateralni ligament rektuma, a završava se presecanjem Valdeyerove fascije sa zadnje strane, čime se dostiže nivo analnog kanala. Adekvatnom anatomskom disekcijom se vrši prezervacija karličnih nerava, vaskularnih struktura i okolnih organa, a uz standardnu onkološku radikalnost i limfadenektomiju. Temelje ovakvog pristupa, nazvanog totalna mezorektalna ekscizija (TME), koji danas predstavlja zlatni standard hirurgije karcinoma rektuma, etablirao je Heald početkom

80-ih godina prošlog veka. Kod sfinkterprezervirajućih operacija se resekcija završava u visini gornje granice analnog kanala, dok se u nekim slučajevima može učiniti i intersfinkterična resekcija, kojom se žrtvuje deo ili ceo unutrašnji sfinkter. (271-3)



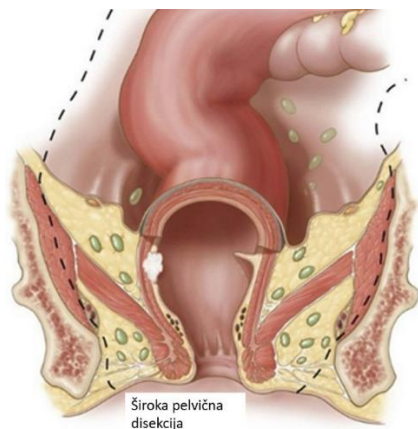
a) Niska resekcija rektuma

b) Razlika između niske i intersfinkterične resekcije rektuma

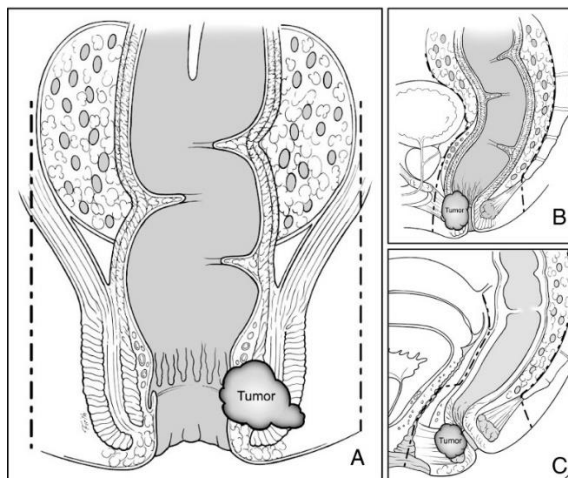
**Slika 12:** Principi prednje niske resekcije rektuma: a) niska resekcija rektuma, b) intersfinkterična resekcija rektuma

U slučaju tumora veoma niske lokalizacije, ovakve operacije se mogu završiti i abdominoperinealnom amputacijom rektuma, prilikom koj se vrši i uklanjanje mišića levatora anusa i kompletnog analnog kanal. Ovakve operacije se završavaju terminalnom kolostomom i poznate su pod nazivom operacija po Miles-u. U slučaju infiltracije vagine tumorom, kod ženskih pacijenata, neophodna je resekcija i zadnjeg zida vagine, a ova operacije je poznata kao Miles-Thompson procedura. [Slika 10a]





a) APR



b) Šema adekvatne APR

**Slika 13:** Adekvatna abdominoperinealna amputacija rektuma (APR)

U slučaju uznapredovalog tumora u karlici, loše vaskularizacije, funkcije analnih sfinktera ili iz bilo kog razloga nemogućnosti formiranja anastomose, operacije se završavaju terminalnom kolostomom koja se kreira levo ilijačno. Ova operacija se naziva Hartmann-ova procedura.

Kod kreiranja anastomoza u karlici, ispod peritonealne refleksije, a u cilju sprečavanja povećanja pritiska u regiji anastomose i omogućavanja zarastanja tog hirurški kreiranog spoja, izvode se protektivne derivacione stome i najčešće se izvode kao bipolarne ileostome desno ilijačno, a povremeno i kao bipolarne kolostome. One sledećih osam nedelja pružaju zaštitu anastomose od povećanog pritiska i kompromitacije vaskularizacije, a nakon tog perioda se vrši provera kompetentnosti anastomose kontrastnim snimanjima i anoskopskim pregledom. (274)

Anastomoze prilikom resekcija kolona i rektuma, u zavisnosti od lokalizacije i razlike u obimu lumena, se mogu kreirati kao spojevi terminalnih ili lateralnih krajeva reseciranog kolona. Kod desne hemikolektomije se spoj tankog i debelog creva najčešće vrši kao termino-lateralna anastomoza, dok se kolon sa drugim delom kolona najčešće spaja terminalnim krajevima. Kod niskih resekcija rektuma, a zbog bolje funkcije i imitacije ampule rektuma, osmišljene su različite modifikacije spojeva, koje uključuju i formiranje pouch-eva kao novokreiranog rezervoara za feces. Najčešće je izvođen kolonični J pouch, rezervoar napravljen od završnog dela kolona, ali se poslednjih godina ipak rađe kreira samo latero terminalna kolo-analna anastomoza, za koju je

dokazani da nakon godinu dana od operacije pruža jednak kvalitet kao i kolonični J pouch, a manje je rizična u smislu dehiscencije i tehnički lakše izvodljiva. (275)

Kod pacijenata koji imaju oboljenje celog kolona, kao što je ulcerozni colitis i FAP, izvodi se najčešće totalna kolektomija, sa ili bez prokterektomije-uklanjanja rektuma, koja se može izvesti u kasnijem aktu i zavisi od stanja obolelosti rektuma, a pruža bolji kvalitet života pacijentu, barem na određeno vreme, dok je tretman rektuma lokalno moguć. Kada se izvede prokterektomija, moguće je operaciju završiti terminalnom ileostomom ili kreiranjem ilealnog pouch-a, naročito kreiranog rezervoara od tanko creva, koji se anastomozira sa anusom.

Kod uznapredovalih tumora koji se ne mogu adekvatno i bezbedno resecurirati, multiplih metastaza i peritonealne diseminacije, ili kada su pacijenti u teškom stanju, izvode se palijativne procedure. U njih spadaju parcijalne resekcije, kojim se omogućuje pasaza creva, by-pass procedure kojima se zaobilaze voluminozni inoperativni tumori, i derivacione stome.

U slučaju zahvatanja okolnih organa moguće je učiniti en block ili parcijalnu resekciju zahvaćenog organa. Kod tumora u karlici se povremeno izvode pelvične egzantereze, kojima se pored rektuma uklanjaju zahvaćeni organi (kod muškaraca prostate, semene kesice i bešika, a kod žena vagina, materica i jajnici-zadnja egzantereza, ili kompletno sa bešikom-totalna pelvična egzantereza) uz karličnu limfadenektomiju. Ovakve procedure se završavaju terminalnom kolostomom, a derivacija urina se može obezbediti ilealnim konduktom, koji je rezervoar kreiran od tankog creva u koji se usade ureteri i izvodi se desno ilijačno, ili wet kolostomom, koja predstavlja rezervoar od dela kolostome u koji se direktno usade ureteri i pruža prednost samo jedne stome, mada i veliku mogućnost rekurentnih infekcija bubrega. (276)

## **1.7.2 Radioterapija**

U lečenju karcinoma rektuma preoperativna radioterapija ima veoma značajno mesto time što utiče na smanjenje volumena i agresivnosti tumora, čime se povećava resektabilnost tumora i u nekim slučajevima se omogućava izvođenje sfinkterprezervirajuće operacije. Novijim istraživanjima se nije utvrdilo da radioterapija značajno utiče na ukupno preživljavanje.

### **1.7.2.1 Fizička osnova radioterapije**

Fizička osnova radioterapije je jonizujuće zračenje kojim se uništavaju tumorske ćelije, a kod zdravog tkiva se izazivaju reverzibilne promene. Njime se prolaskom kroz tkiva izaziva jonizacija koja dovodi do izletanja elektrona iz strukture atoma i stvaranja jonizujućih parova. Ono može biti direktno, ako dođe do sudara sa orbitalnim elektronima ili, češće, indirektno, kada prvo dolazi do sudara sa jezgrom, a potom nuklearne čestice izbiju elektron.

U radioterapiji karcinoma rektuma koriste se dve vrste jonizujućeg zračenja:

- elektromagnetni talasi (X i gama zraci)

- korpuskularno zračenje (elektroni, neutroni, protoni, pi-mezoni i teški joni), koje se absorbuje putem direktne kolizije sa orbitalnim elektronima.

Radioterapija se kod karcinoma rektuma primenjuje kao:

- teleradioterapija, kod koje je rastojanje između izvora zračenja i ulaznog polja od 5 do 100 cm.

- brahiterapija, kod koje je rastojanje između izvora zračenja i ciljne lezije manje od 5 cm. Kod ove vrste zračenja se aplikuje tumorski letalna doza neposrednim kontaktom izvora zračenja sa malignom lezijom, uz poštedu okolnog zdravog tkiva zbog znatnog pada doze zračenja sa porastom rastojanja.

U lečenju karcinoma rektuma koristi se intersticijalna i intraluminalna radioterapija, a od radionukleida najčešći su gama emiteri, Co-60, Cs-137, Ir-192, Au-198, a od beta emitera Sr-90. (277-9)

### **1.7.2.2 Biološka osnova radioterapije**

Glavni mehanizam oštećenja ćelije radijacijom je povreda DNK molekula i može biti:

- letalno, kada je došlo do ruptur oba lanca DNK

- subletalno, kada je došlo do kidanja samo jednog lanca i može doći do oporavka ćelije

- potencijalno letalno, kada su prekinuta oba lanca DNK, ali na udaljenim mestima, a tada može, a ne mora doći do smrti ćelije, u zavisnosti od spoljašnjih faktora koji pojačavaju ili smanjuju dejstvo jonizujućeg zračenja na ćeliju.

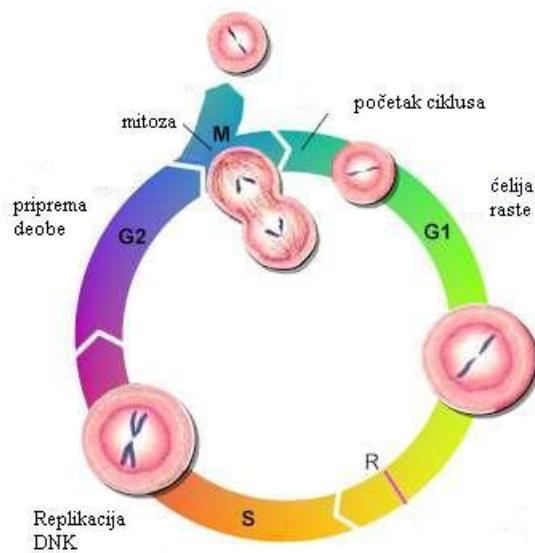
Oštećenja ćelija mogu biti

- direktna, nastala dejstvom rasutih elektrona

-indirektna, koja su češća i nastaju preko slobodnih radikalanastalih jonizacijom vode. Smrt ćelije nastaje posle nekoliko deoba, a promene se najviše uočavaju u jedru u vidu vakuolizacije, piknoze, kariorekse, kariolize i tipičnih hromozomskih aberacija. (280-2)

### 1.7.2.3 Osetljivost tkiva i ćelija na zračenje

Radiosenzitivnost predstavlja stepen ili brzinu regresije tumora na primenjenu radioterapiju i direktno je proporcionalan reproduktivnoj sposobnosti, a obrnuto proporcionalan stepenu ćelijske diferencijacije i zavisi od bioloških osobina ćelije i faze ćelijskog ciklusa. Ćelije su najosetljivije u mitozu (M), koja traje 1h, ranoj fazi sinteze DNK (S), u trajanju od oko 16h i predmitotskoj fazi (G2), koja traje 2-4h. Ćelija u G1 fazi, koja traje 1-8h, je rezistentna na jonizujuće zračenje [Slika 11].



**Slika 11:** Ćelijski ciklus

Frakcionisanjem (deljenjem ukupne doze zračenja na pojedinačne doze date u određenom broju seansi u određenom vremenskom intervalu) se povećava ukupna doza zračenja. U frakcionisanoj radioterapiji svaka frakcija doze uništi približno isti postotak vitalnih ćelija, pa je važno izabrati

takav režim kojim se više oštećuje tumorsko a manje zdravo tkivo. Merenja su pokazala da doza od 2 Gy uništi svaki put oko 50 % živih ćelija. Kako se ostale tumorske ćelije i dalje dele dolazi do repopulacije, tumor se uvećeva, a to zahteva produženje tretmana i veću dozu zračenja. U isto vreme oštećuju i normalne ćelije, koje takođe deluju repopulacijom. (282-3)

Radiokurabilnost predstavlja sterilizaciju tumora i regionalnih limfnih žlezda kao direktnu posledicu radioterapije. Ona zavisi od radiosenzitivnosti tumora, volumena tumora, lokalnog ili metastatskog širenja tumora u trenutku tretmana, tolerancije normalnog tkiva u zračenom volumenu i opšteg stanja pacijenta.

U lečenju karcinoma rektuma koristi se i tele i brahiterapija i može biti aplikovana u odnosu na hirurgiju kao preoperativna, intraoperativna i postoperativna u kombinaciji sa hemioterapijom.. Pored toga može biti radikalna, palijativna (kod tehnički inoperabilnih tumora) i u terapiji lokalnih recidiva.

#### **1.7.2.4 Neoadjuvantna i adjuvantna radioterapija karcinoma rektuma**

Preoperativna radioterapija ima za cilj:

- prevođenje inoperabilnih tumora u operabilne smanjivanjem stadijuma bolesti iz višeg u niži (downstaging), a time povećanje broja kurativnih operacija
- smanjenje volumena tumora sa ciljem lakšeg izvođenja kurativnih sfinkterprezervirajućih operacija
- uništavanje mikrometastaza u maloj karlici i upredelu ležišta tumora, kao i sterilizaciji preostalih limfnih žlezda
- smanjenje broja lezija pelvičnog plexusa koji je odgovoran za seksualne funkcije, naročito kod muškaraca, jer dovodi do odvajanja tumorskog procesa od hipogastričnih nerava zapaljenskom i fibroznom reakcijom

Radiobiloški je opravdanija od postoperativne radioterapije zbog toga što:

- su smanjene komplikacije od strane tankog creva zbog njegove mobilnosti i time ne delovanjem zračenja na samo ujedan, priraslicama fiksiran deo tankog creva
- je preoperativno bolja vaskularizacija i oksigenacija tkiva, a samim tim i terapija efikasnija

Radioterapija je preoperativno indikovana kod karcinoma T3 i T4 stadijuma, kao i kod jako niskih tumora nižeg stadijuma kada se želi smanjiti zapremina tumora radi povećanja broja sfinkter prezervirajućih operacija i smanjenja pojave lokalnog recidiva.

Danas se preoperativna radioterapija kod lokalno uznapredovalog karcinoma rektuma sprovodi konvencionalnim režimom terapije 2 Gy u 25 seansi i ima za cilj da prevede inoperabilni u operabilni karcinom, koji se potom operiše 6-10 nedelja od završetka zračne terapije. (283-6)

Postoperativna zračna terapija se primenjuje nakon kurativnih operacija karcinoma rektuma T3 stadijuma (Dukes B2 i C) i kada je prisutna mikrozidualna bolest u cilju smanjenja lokalnog recidiva i poboljšanja preživljavanja. Ova terapija je standard u USA.

Prednost postoperativne radioterapije je u tome što je omogućena bolja selekcija pacijenata za zračnu terapiju time što postoji definitivni patohistološki nalaz, a hirurrg je u mogućnosti da obeleži potencijalna mesta rezidualne bolesti.

Nedostaci ove terapije su mogućnost ozračivanja velikih volumena tankih creva zbog postoperativnih priraslica, smanjena oksigenacija tkiva zbog hirurške redukcije vaskularne mreže i ozračivanje perinealnog ožiljka kod amputacije rektuma i time usporavanje zaceljenja.

Poznata EORTC studija sprovedena od strane Arnaud-a i saradnika koji su postoperativno zračili pacijente stadijuma B2-3 i C1-3 dozom od 46 Gy u 23 frakcije nije pokazala statistički značajnu bolju lokalnu kontrolu, kao ni petogodišnje preživljavanje. (286-8)

Intaroperativna zračna terapija se koristi kod lokalno uznapredovalih i recidivantnih tumora. Prednost ove terapije je aplikacija doze direktno na ležište tumora ili na mesta sa najvećim rizikom za pojavu lokalnih recidiva uz minimalno oštećenje okolnog tkiva. Vrš se aplikacijom elektrona ili brahiterapijom, a sprovodi se samo u malom broju specijalizovanih centara. (289)

Radikalna radioterapija se sprovodi kod inoperabilnih, kod pacijenata sa medicinskom kontraindikacijom za operativno lečenje ili kod onih koji odbijaju operativni tretman. Tada se koristi transkutana radioterapija u dozi od 50-60 Gy, brahiterapijski ili kombinacijom ovih tehnika. U zavisnosti od veličine tumora postiže se adekvatan odgovor na zračnu terapiju.

Taylor je objavio da radioterapija tumora do 5 cm u prečniku postiže kompletan odgovor u 50-60% slučajeva, a ko je tumor veći od 5 cm u samo 20 % se postiže kompletan odgovor. (radikalne doze kod inoperabilnih karcinoma dovode do boljih simptomatskih efekata nego palijativna

radioterapija) . Utvrđeno je da oko 40 % inoperabilnih pacijenat može preći u operabilne nakon visoke radioterapijske doze, dok Habrgama navodi da se adekvatnom strategijom kod 43% pacijenata može postići kurabilnost i izbeći operacija. (199) Regresija rektalnog karcinoma je često vrlo spora i može trajati nekoliko, pa čak i do 7 meseci nakon primene radikalne doze zračne terapije. (291-3)

Radioterapija lokalnih recidiva se koristi sa ciljem regresije i stabilizacije osnovne bolesti, ali se uglavnom postiže uklanjanje simptoma ograničenog vremena. Nakon elektivnih hirurških zahvata pojava lokalnih recidivi se javljaju, u zavisnosti od autora i stadijuma bolesti, u 2,6 do 70% slučajeva. Poslednjih godina se ističe da je ovako ekstremna razlika rezultat dobre ili loše hirurgije. Zapaženo je da hirurški timovi koji se bave kolorektalnim karcinomom imaju značajno manju pojavu lokalnih recidiva od opštih hirurga koji retko izvode ove procedure. Najbolja provera kvaliteta operacije je patohistološka analiza koja mora da utvrdi postojanje rezidualne bolesti nakon elektivne operacije. Ukupno petogodišnje preživljavanje pacijenta sa recidivom iznosi 10%. U slučaju da se recidivi javljaju na mestu anastomoza njihovo preživljavanje je mnogo bolje i nakon operacije iznosi 30%. Radioterapija lokalnih recidiva se koristi samostalno ili nakon hirurške intervencije, a može biti u kombinaciji sa hemioterapijom i u zavisnosti od lokalizacije može se aplikovati transkutano, brahiterapijski ili kombinacijom ove dve tehnike. Radioterapijom recidiva se postiže palijativni efekat, a dugotrajnije oslobađanje tegoba se postiže jedino u kombinaciji sa hirurgijom. (294-5)

Palijativna radioterapija indikuje se kod pacijenata kod kojih veličina tumora u maloj karlici isključuje bilo kakav radikalni tretman, kada su prisutne udaljenje metastaze ili kada je pacijent u lošem opštem stanju. Ima za cilj smanjenje simptoma, krvarenja, bolova i proliva. Sprovodi se kao petodnevna terapija u ukupnoj dozi od 20 Gy ili u dozi od 30-35 Gy u 10 frakcija. (296-8)

#### **1.7.2.5 Hemioradioterapija**

Kombinacija radio i hemioterapije ima za cilj da poboljša rezultate lečenja delujući i lokalno i sistemski na mikrometastaze. Može biti u formi neoadjuvantne ili adjuvantne terapije.

EORTIC studija je pokazala negativan uticaj preoperativne radioterapije, hemioterapija 5-FU-om i operacije na ukupno preživljavanje, koje je iznosilo 46%, prema kombinaciji samo radio terapije i operacije, gde je preživljavanje iznosilo 59%. Obe grupe su imale oko 15% recidiva.

GITSG studijom su ispitivane postoperativna radioterapija, hemioterapija i njihova kombinacija. Najniža stopa lokalnih recidiva je dobijena kombinacijom radio i hemioterapije, dok je nakon samo radioterapije bilo 33% lokalnih recidiva, nakon hemioterapije 46%, a posle same hirurgije 55%. Preživljavanje je takođe bilo bolje kombinovanom terapijom i iznosilo je 56%, radio ili hemioterapijom bilo je 46%, a posle operacije same iznosilo je 36%. (261-67)

Angelita Habr-Gama iz Brazila objavila je rezultate svog rada od 1991-2005 god. Njeni pacijenti su bili na preoperativnoj hemioradioterapiji (50,4 cGy/6 nedelja i 5-FU/Lvu toku prvog i poslednja tri dana tretmana). Osam nedelja po završetku terapije ponovo su pregledani. Pacijenti koji su pokazali kompletan odgovor na terapiju bili su striktno praćeni u toku prve godine, dok su oni bez promene ili sa nekompletnim odgovorom operisani. Petogodišnje preživljavanje posmatrane grupe iznosilo je 95%, dok je operisane grupe iznosilo 90%. (287, 292, 298-300)

### **1.7.3 Hemioterapija**

Citostatici su lekovi koji uništavaju tumorske ćelije, ali pored toga deluju i na zdrave ćelije u organizmu.

Maksimalno delovanje citostatika je u proliferativnoj fazi kada je masa tumora mala. U početku veliki broj ćelija ulazi u G1 fazu, a postepeno dolazi do smanjenja tih ćelija i proliferativne faze zbog povećanja mase tumora i tada je dejstvo citostatika manje.

Kolorektalni karcinom sa svojim svojstvima spada u hemiorezistentne tumore i na njega deluje mali broj citostatika. Sa raspoloživim citostaticima se može postići samo palijativni efekat ograničenog trajanja koji minimalno utiče na ukupno preživljavanje.

Citostatici kod pacijenata obolelih od kolorektalnog karcinoma se daju u dva slučaja i to kod radikalno operisanih, koji su u vreme intervencije imali lokalno uznapredovalu bolest uz zahvatanje limfnih čvorova, kao nastavak hirurškog lečenja ili kod inoperabilnih pacijenata ili onih sa udaljenim metastazama. (301-2)



Cilj adjuvantne hemioterapije je uništenje mikrometastaza koje već postoje u trenutku hirurške intervencije. 1990. je adjuvantna hemioterapija uvedena u rutinsku praksu nakon konsenzus konferencije Nacionalnog Instituta za Zdravlje SAD, a od 1996. je etablirano njeno korišćenje za treći stadijum bolesti po TNM klasifikaciji odnosno po Dukes C stadijumu. Za tumore niske lokalizacije se pored hemioterapije preporučuje i adjuvantna ili neoadjuvantna radioterapija. Citostatici predloženi za lečenje CRC su 5-Fluorouracil u dozi od 425 mg/m<sup>2</sup> uz Leukovorin u dozi od 20 mg/m<sup>2</sup> tokom pet uzastopnih dana i ponavljanjem ciklusa na 28 dana u ukupno šest kura. Ova kombinacija se aplikuje intravenski, a postoji i oralna alternativa 5FU, Capecitabin, dosta skuplji lek, koji pokazuje bolji kvalitet života uz manje nuspojave u toku terapije i neznatno bolje rezultate. Smatra se da terapija nema smisla ako prođe sedam nedelja od operacije. (300-2)

Neki autori smatraju da hemioterapiju pacijenata sa metastatskom bolešću treba započeti odmah po dijagnostikovanju, dok drugi kažu da je treba početi sa pojavom simptoma, sa namerom da se postigne produženje bez bitnijeg narušavanja kvaliteta života. Nordijska studija je pokazala da su pacijenti koji su hemioterapiju počeli po dijagnostikovanju u proseku pet meseci duže živeli od onih koji su lečeni po pojavi simptoma, bez značajnog narušavanja kvaliteta života. Sa hemioterapijom treba nastaviti i ako dođe do stabilizacija bolesti, a prekinuti je sa pojavom progresije.

U toku su mnoge randomizirane studije koje isprobavaju efekat novih citostatika (Irinotekan, Oxaliplatin, Bevacizumab, Tomudex) od kojih se očekuje značajan napredak u lečenju kolorektalnog karcinoma.

Trenutno se, kod nas, kao druga i treća linija postoperativne hemioterapije koriste lekovi na bazi Oksaliplatina po FOLFOX i CAPOX protokolima, ali uz adekvatne provere senzitivnosti (k-ras gen), ali i kao neoadjuvantni citostatici kod pacijenata sa inicijalnom prezentacijom metastatski uznapredovale bolesti. (287-9)

Adjuvantna hemioterapija predstavlja standard u lečenju trećeg stadijuma bolesti kolorektalnog karcinoma nakon kurativnih resekcija i povećava procenat izlečenja pacijenata, a kod metastatskog i inoperabilnog karcinoma produžva život za 6 meseci i odlaže pojavu simptoma bolesti bez značajnog uticaja na kvalitet života. (303-10)

## 1.7.4 Problemi u lečenju kolorektalnog karcinoma

### 1.7.4.1 Lokalni recidiv

Obzirom da kolorektalni karcinom ima relativno spor lokalno infiltrativni rast i da kasno daje udaljene metastaze, rezultati njegovog hirurškog lečenja su uspešniji od operativnih tretmana drugih tumora digestivnog trakta sa petogodišnjim preživljavanjem od 50-60% kod radikalno operisanih pacijenata.

Recidivi i udaljene metastaze se javljaju u oko 5-45% radikalno operisanih pacijenata nekoliko godina nakon operacije, od čega se 85% lokalnih recidiva javi u prve tri, a u 5 % slučajeva se javi pet godina od operacije.

Pojava lokalnih recidiva nakon kurativne operacije nam ukazuje na činjenicu da je u organizmu zaostalo indetektabilno tumorsko tkivo, kao posledica lokalne uznapreovalosti tumora, tehnički loše hirurgije ili zaostatka mikrometastaza i sposobnosti tumora da metastazira.

Možda najbitniji faktor u lečenju jeste hirurška tehnika i obučenosć hirurga za izvođenje operativnih zahvata na rektumu, pošto sam položaj rektuma otežava izvođenje operacija sa pratećom limfadenektomijom. Zlatni standard dobre hirurgije su totalna mezorektalna ekscizija (TME), Turnbull-ovi principi „no touch“ tehnike, obavezno ispiranje rektuma i karlice citocidnim rastvorima, kao i poštovanje distalnih i lateralnih granica resekcije (koje su različite po britanskim i japanskim autorima). Lateralna disekcija masnog tkiva i limfnih žlezda je, po japanskim autorima, praćena i većim morbiditetom pacijenata i definitivni zaključak o radikalnosti operacije daje patolog. U slučaju pozitivnosti ivica resekcije lokalni recidiv se javlja u 33% slučajeva.

Kod resekcija sa koloanalnim i intersfinkteričnim anastomozama lokalni recidivi su učestaliji i nastaju kao posledica de novo stvorenih karcinoma, nedovoljno uklonjenih limfnih žlezda, nepoštovanja donjeg ruba resekcije, neispiranjem citocidnim rastvorima (živin hlorid i povidon jod) i grube manipulacije rektuma sa tumorom u toku operacije (veliki broj autora smatra da grubim rukovanjem dolazi do rasipanja i reimplantacije tumorskih ćelija i time stvaranja lokalnog recidiva).

Incidenca lokalnih recidiva se kreće od 3.5-25% i po nekima je veća kod sfinkterprezervirajućih operacija nego kod amputacija rektuma, ali je kod njih lakši dijagnostički pristup recidivu (rektalni tuše, kolonoskopija, ERUS), dok se kod amputacije recidiv može verifikovati CT-om, NMR-om ili

ponekad biopsijom. Inače trogodišnje preživljavanje pacijenata sa lokalnim recidivom nakon resekcije iznosi 30 %, a nakon amputacije svega 10%. (311-12)

U zavisnosti od dijagnostike i procene operabilnosti terapija lokalnih recidiva se uglavnom svodi na operativno uklanjanje uz propratnu hemio i radioterapiju. Međutim, u većini slučajeva se radi o inkurabilnim slučajevima, pa se radi palijativna terapija sa ciljem poboljšanja kvaliteta života. (311-15)

Lokalni recidiv nakon operacije karcinoma rektuma predstavlja jedan od glavnih pokazatelja lečenja ne samo hirurškog, već i celog onkološkog tima, obzirom da jednaku važnost imaju i rano otkrivanje tumora, kvalitet i brzina preoperativne dijagnostike i određivanje stadijuma obolenja, primena neoadjuvantne terapije, kvalitet patohistološke obrade i adekvatna primena adjuvantne terapije.

#### **1.7.4.2 Udaljene metastaze**

Metastaze nastaju hematogenom i limfogenom diseminacijom primarne bolesti i to najčešće putem v. portae. Smatra se da četvrtina pacijenata sa karcinomom kolona već na prvoj operaciji ima metastaze, koje kao takve nazivamo sinhronim, dok narednih 30% pacijenata dobija metastaze nakon operacije i one se nazivaju metahronim (smatra se da se 89% svih metahronih metastaza javlja u prve tri godine nakon operacije). Fortner je mišljenja da je samo 5% pacijenata kolorektalnog karcinoma operabilno i da se operacijom u samo 30% slučajeva postiže petogodišnje preživljavanje. (302, 307-9)

Najčešće mesto udaljenih metastaza karcinoma rektuma predstavlja jetra (koja je, inače, predilekciono mesto metastaza karcinoma pankreasa, dojke i želuca). Prosečno preživljavanje pacijenata sa metastazama kolorektalnog karcinoma kod kojih nije urađena resekcija jetre zavisi od procenta zahvaćenosti jetre tumorskim tkivom i od opšteg stanja organizma. U slučaju multiplih difuznih meta promena dužina života retko prelazi 3 meseca. Ali kada postoje multiple promene u jednom režnju preživljavanje iznosi 17 meseci. Prisustvo ekstrahepatičnih metastaza drastično loše utiče na preživljavanje. (303-4, 306)

Metastaze na jetri se mogu dijagnostikovati prilikom pripreme za operaciju, na samoj operaciji i u toku postoperativnog kliničkog praćenja.

Laboratorijski nalazi poremećaja hepatograma sa povišenim vrednostima alkalne fosfataze, LDH, kao povišenim tumorskim markerima CEA mogu pobuditi sumnju na postojanje udaljenih metastaza, pa je neophodno primeniti neku od vizuelizacionih dijagnostičkih metoda (CT, NMR, UZ).

UZ je dijagnostička procedura prvog reda a njena senzitivnost je 94% za promene veće od 2 cm, a za manje subkapsularne lezije iznosi 54%. Primena intraoperativnog UZ je od presudnog značaja za vizuelizaciju sinhronih metastaza. (316-321)

CT je veoma precizna dijagnostička metoda, ali zavisi i od opreme kojom se radi, tako da se CT portografijom (CT-AP) detektuju promene manje od 5mm i njena preciznost iznosi 83-92%. (297-8)

NMR daje dobre rezultate bez zračenja uz mogućnost trodimenzionalne vizuelizacije, ali nije često dostupan. (317-20)

U slučaju resektabilnosti jetre, postoji šest osnovnih hirurških procedura za uklanjanje meta promena CRC: leva i desna trisegmentektomija (proširena leva i desna hepatektomija), desna ileva lobektomija (hepatektomija), leva lateralne segmentektomija i neanatomske resekcije i ekscizije. Postoje različita mišljenja o preživljavanju i izlečenju pacijenata operisanih od metastaza u jetri. Neki autori smatraju da oko 32% preživi 5 godina, ali ovaj podatak važi samo za one koji nisu imali pozitivne celijačne limfne žlezde, jer u suprotnom preživljavanje pada na 4-12%. Ako postoje meta promene i na drugim organima resekcija jetre ima smisla jedino ako se sve mikroskopski vidljive promene odstrane, a tada petogodišnje preživljavanje iznosi 20%. Po nekima značaja za resekciju nema broj metastaza već procena zahvaćenosti jetre malignim tkivom, jer 15-20% zdravog tkiva jetre omogućuje njenu normalnu funkciju. Drugi se pridržavaju ranijih principa da nema više od četiri promene u jetri, bez vidljivih ekstrahepatičnih metastaza, sa resekcijom do u zdravo i zaštitnim rubom od 1 cm, od strane iskusnog i obučenog hirurga.

Jedno od glavnih pitanja je vreme metastazektomija. Da li sinhrono metastaze raditi u isto vreme kada i operaciju rektuma? 1998. u Madridu Blumgart je izneo stav, danas prihvaćen, da se sinhrono operacije izvode u specijalizovanim, opremljenim institucijama, na pacijentu u dobrom opštem stanju i po elektivnoj hirurgiji rektuma koja nije praćena komplikacijama i krvarenjem. U slučaju da je primarna operacija atipična ili praćena neplaniranim komplikacijama ne treba raditi

resekciju jetre. Od ovih preporuka se može odustati ako postoji samo jedna izolovana metastaza ili kada se radi o levoj segmentektomiji. (321-25)

Poslednjih godina mnogi autori zagovaraju operaciju u dva akta: prvo rešavanje tumora rektuma, a po obavljanju hemioterapije i resekciju jetre. Mnogo zavisi od broja metastaza, njihove pristupačnosti prilikom operacije kolona i rektuma, kao i od opšteg stanja pacijenta. (322-24, 326-330)

Pored jetre u malom broju slučajeva metastaze se javljaju u drugim organima, najčešće u plućima, kostima i mozgu. (331-36)

Solitarne metastaze kolorektalnog karcinoma u plućima češće su resecirane nego metastaze na ostalim mestima zajedno. (332) Smatra se da su solitarne lezije pluća kod pacijenata obolelih od CRC u pola slučajeva metastaze. (334)

Ne treba zaboraviti da je primarni karcinom pluća najčešći visceralni malignitet i da izolovana metastaza u plućima nije kontraindikacija za radikalno hirurško uklanjanje karcinoma kolona, a da resekcija meta promene u plućima ima bolju prognozu nego primarni bronhogeni karcinom. Postoperativno preživljavanje iznosi 14-22%, a Phil i saradnici su primetili da su metastaze u plućima značajno učestalije posle potencijalno kurativnih operacija karcinoma rektuma, nego kolona. (316-18) Dijagnostičke procedure za potvrđivanje metastaza pored AP radiografije pluća uključuju CT, NMR, bronhoskopiju i citologiju. Operativne procedure se rade u drugom aktu, po hemioterapiji i uključuju resekciju uz maksimalnu poštedu zdravog tkiva pluća, mada je ponekad neophodno učiniti lobektomiju da bi se postigla radikalnost. (327, 331, 333-4)

U oko 9% slučajeva kolorektalnog karcinoma mogu se videti metastaze u kostima i to najviše u oblastima aktivne hematopoeze, ali u manjem broju slučajeva i u falangama. (320) Ove vrste metastaza su uglavnom udružene sa difuznim metastazama u organizmu i u slučaju zahvaćenosti kostiju preživljavanje iznosi oko sedam meseci. Scinitgrafija kostiju je senzitivnija dijagnostička procedura od radiografije, a lečenje je palijativno, obično radioterapijom u cilju smanjivanja bolova. (335)

Metastaze u mozgu su retko usamljene, uglavnom su udružene sa difuznim meta promenama, naročito u plućima. Izolovana metastaza u mozgu mora se otkloniti agresivnim hirurškim

pristupom i kraniotomijom, kada se može očekivati zadovoljavajuća palijacija neuroloških ispada.  
(336)

Metastaze u jajnicima se javljaju u oko 3-5% slučajeva, a kod žena u premenopauzi obolelih od kolorektalnih karcinoma neki autori preporučuju obostranu ovariektomiju kao profilaksu od stvaranja metastatskih fokusa. U slučaju postojanja tumora u adneksama, potpuno izlječenje je gotovo nemoguće. (337-8)

## **2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA**

1. Utvrđivanje genotipa RAD 51 172 G>T kod pacijenata sa kolorektalnim kancerom i kontrola.
2. Korelacija RAD 51 172 G>T genotipa i kliničkih i patohistoloških karakteristika tumora kod pacijenata sa kolorektalnim karcinomom.
3. Određivanje metastatskog potencijala mutacije RAD 51 smislu rane pojave udaljenih metastaza i/ili lokalnog recidiva.
4. Korelacija RAD 51 172 G>T genotipa sa lokalnim odgovorom (regresija/progresija) na neoadjuvantnu (preoperativnu) radiohemioterapiju kod pacijenata sa karcinomom rektuma u odnosu na postoperativnu procenu patologa.
5. Postoperativno praćenje pacijenata sa različitim genotipima RAD 51 172 kroz standardne kontrole u cilju ocene preživljavanja i progresije bolesti. (40)



### **3. METOD ISTRAŽIVANJA**

Istraživanje je sprovedeno kao kohortna klinička prospektivna i delom retrospektivna studija.

### 3.1 Ispitanici

Ispitivani su uzorci periferne krvi 182 pacijenta koji su prethodno bili podvrgnuti operaciji resekcije kolorektalnog karcinoma na Prvoj hirurškoj klinici Kliničkog centra Srbije u periodu od 2014. god. do 2016. god. Ispitivanje je uključilo 112 pacijenata muškog i 70 pacijenta ženskog pola starosti između 28 i 86 godina. Svim uključenim ispitanicima je dijagnoza kolorektalnog adenokarcinoma potvrđena standardnim histopatološkim analizama pre započinjanja bilo kakve terapije i prikupljeni su klinički i demografski podaci. Kontrolna grupa obuhvata 43 zdrava ispitanika. Izvođenje studije je odobreno od strane lokalnog etičkog komiteta i svi pacijenti su potpisali pismenu informisanu saglasnost za učestvovanje u studiji.

Određivanje genskog polimorfizma 172G>T gena RAD51

Pacijentima je uzeta krv venepunkcijom, a genomska DNK je izolovana metodom isoljavanja na Institutu za humanu genetiku Medicinskog fakulteta Beogradu. (339)

Reakcija lančanog umnožavanja polimerazom (Polymerase Chain Reaction – PCR)

Ovaj metod je korišćen za umnožavanje segmenta DNK dugog 131 bp koji sadrži RAD51 genski polimorfizam 172G>T. Za umnožavanje su korišćeni prajmeri (F) 5'-TGG GAA CTG CAA CTC ATC TGG-3' i (R) 5'-GCT CCG ACT TCA CCC CGC CGG-3' i polimeraza KAPA Taq (KAPA Biosystems). Standardizovana reakciona smeša zapremine 50 µl je bila sastava: pufer A za KAPA polimerazu (KAPA Biosystems), 0.3mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2mM dNTP (smeša nukleotida), po 10pmol svakog prajmera, 2U polimeraze i približno 300 ng DNK matrice. Standardizovan PCR program sastoji se od početne denaturacije na 95 °C/5min, nakon čega je sledilo 30 ciklusa: denaturacija 95°C/30s, hibridizacija 65°C /45s, elongacija 72°C/50s. Program je završen elongacijom na 72°C u trajanju od 10 minuta. Uspešnost reakcije umnožavanja je proveravana horizontalnom gel- elektroforezom na 2% agaroznom gelu.

Digestija DNK restrikcionim enzimima

Dobijeni PCR fragmenti dugi 131 bp su digestirani restrikcijom enzimom PdiI (ThermoFisher Scientific) na 37°C u trajanju od 4 sata. Analiza fragmenata je vršena gel-elektroforezom na 3% agaroznom gelu i vizualizacijom na CCD kameri (charged couple device – kamera koja konvertuje signale u digitalnu sliku). TT genotip ostaje neisečen i nakon inkubacije sa restrikcijom enzimom se prikazuje kao jedinstvena traka dužine 131 bp, GG genotip se iseca te ga odlikuju dve trake dužine 110bp i 21bp, dok GT genotip pokazuje prisustvo sve tri trake (131bp, 110bp and 21bp).

### 3.2 Sekvenciranje DNK

Metodom sekvenciranja DNK određuje se redosled nukleotida u molekulu DNK. Ovom metodom proverena je tačnost rezultata PCR-RFLP analize (obrađeno 6 uzoraka). Metoda se zasniva na upotrebi 2',3' dideoksiribonukleotidtrifosfata (ddNTP) koji ne poseduju 3'-OH grupu na molekulu dezoksiriboze. Nakon njihove ugradnje, reakcija sinteze komplementarnog lanca se zaustavlja i kao produkt reakcije sekvenciranja dobijaju se fragmenti DNK čije se dužine razlikuju za po jedan nukleotid, i završavaju se jednim od 4 različito fluorescentno obeležena ddNTP-a. Za sekvenciranje je korišćen kit BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing (Applied Biosystems). Sastav reakcione smeše za sekvenciranje u ukupnoj zapremini od 8 µl i temperaturni uslovi reakcije su prikazani u Tabeli 1.

Sastav smeše za sekvenciranje	Temperaturni profil programa
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2 µl BigDye Terminator v3.1 Ready Reaction Mix (kit)</li> <li>• 0.5 µl prajmera F, odnosno R (2 smeše pravljene za 1 uzorak)</li> <li>• 0.5 µl PCR produkta RAD51 fragmenta</li> <li>• 5 µl sterilne destiovane vode</li> </ul>	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 10px;"> <p>96 °C / 1 min</p> <p>96 °C / 10s</p> <p>50 °C / 5s</p> <p>60 °C / 4min</p> </div> <div style="font-size: 3em; margin-right: 10px;">}</div> <p>25 ciklusa</p> </div>

**Tabela 1:** Uslovi reakcije sekvenciranja fragmenta gena RAD51

Produkti reakcije sekvenciranja su prečišćavani taloženjem tako što je u 8 µl smeše u kojoj je vršena reakcija sekvenciranja dodavano 40 µl rastvora A (0.1 M Na-acetat pH 5,2 rastvoren u etanolu). Smeša je centrifugirana 10 minuta na 13 000 obr/min i dobijeni talog je ispran sa 200 µl hladnog 70% etanola, a nakon toga osušen i rastvoren u 20 µl Hi-Di Formamide (Applied Biosystems). Produkti reakcije sekvenciranja su analizirani kapilarnom elektroforezom na aparatu

3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) u komercijalnom polimeru POP-7 (Applied Biosystems). Dobijene sekvence su analizirane programom Sequencing Analysis Software v5.3.1 with KB Basecaller v1.4 (Applied Biosystems). (171)

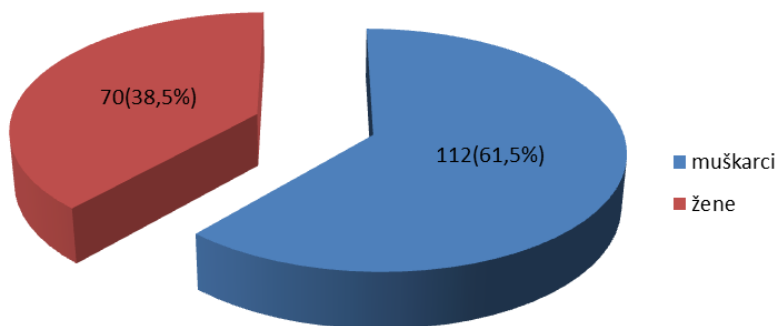
### **3.3 Statistička analiza**

Statistička obrada podataka je izvršena korišćenjem statističkog paketa za društvene nauke 20.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). Rezultati su izraženi u procentima i srednjoj vredosti±standardna devijacija (SD) za kontinualne varijable i procentima za kategoričke varijable. Za testiranje normalnosti parametara korišćen je Kolmogorov-Smirnov test. Razlike između grupa su ispitivane  $\chi^2$  testom za kategoričke podatke, dok su za kontinualne vrednosti upotrebljeni sledeći testovi: T test za nezavisni uzorak, Mann Whitney U test za nezavisne uzorke, Kruskal Wallis test i Wilcoxon test za međusobno zavisne promenljive. P vrednost manja od 0.05 je smatrana statistički značajnom. Krive verovatnoća ukupnog preživljavanja, slobodnog intervala (DFI), i vremena do progresije (PFI), rađene su po Kaplan-Meier product-limit metodi, a za testiranje razlika između krivih koristiće se Log-rank test i Cox-ov hazardni model.

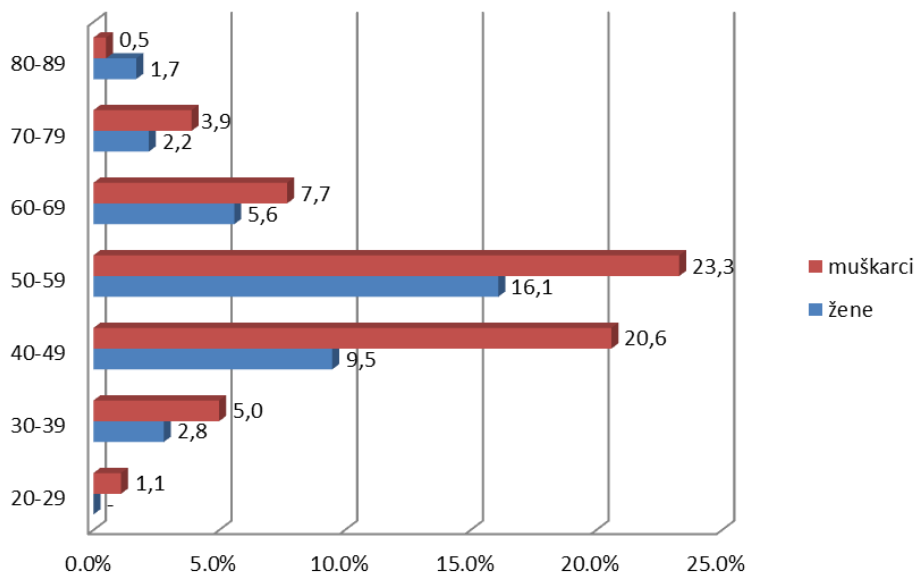
## **4. REZULTATI**

#### 4.1 Karakteristike ispitane grupe

U studiju su bila uključena 182 pacijenta sa kolorektalnim adenokancerom prosečne starosti  $62,0 \pm 11,7$  godina (opseg godina 28-86). Zastupljenost muškog pola je bila veća u odnosu na ženski pol (112 muškaraca i 70 žena) (grafikoni 1 i 2). U studiju su, kao kontrola, bili uključeni i zdravi ispitanici ( $n=43$ ) koji se po polu i starosti nisu razlikovali od grupe pacijenata.

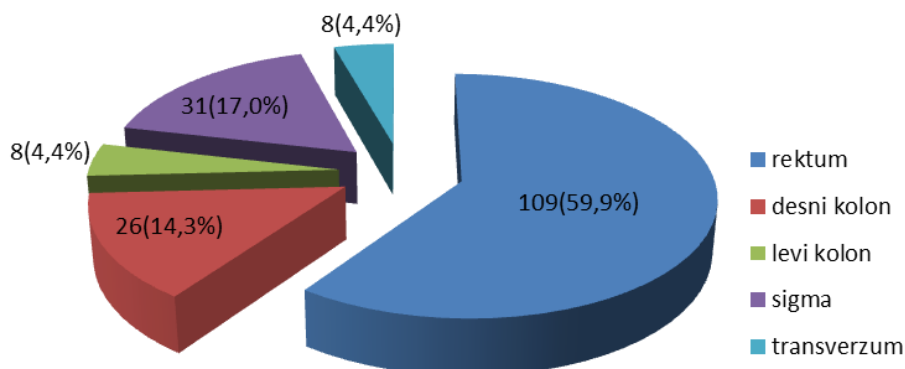


**Grafikon 1:** Distribucija pacijenata po polu



**Grafikon 2:** Distribucija pacijenata po polu i starosti

Distribucija lokalizacije tumora pacijenata uključenih u studiju je prikazana na grafikonu 3.

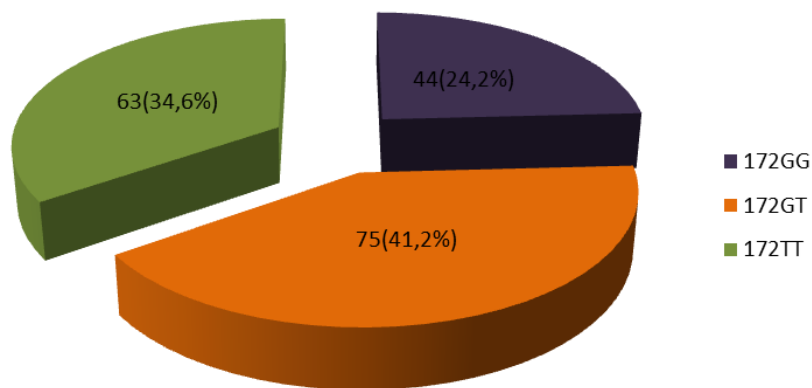


**Grafikon 3:** Lokalizacija tumora

#### 4.1.1 Detekcija polimorfizma 172G>T u genu RAD51

Prisustvo polimorfizma 172G>T u genu RAD51 je kod svih ispitanika analizirano metodom PCR-RFLP. Učestalost alela dobijena za grupu pacijenata (44,8% za alel 172G i 55,2% za alel 172T) se nije razlikovala od učestalosti alela dobijenih za kontrolnu grupu (43,1% za alel G i 56,9% za alel 172T) ( $p=0,881$ ).

Nije uočena statistički značajna razlika u distribuciji genotipova između grupe pacijenata i grupe zdravih ispitanika ( $p=0,307$ ). Distribucija genotipova dobijenih za pacijente je data na grafikonu 4. Učestalost genotipa 172GG u grupi zdravih ispitanika je iznosila 16,3%, učestalost genotipa 172GT je iznosila 53,5%, a učestalost genotipa TT je bila 30,2%.



**Grafikon 4:** Učestalost genotipova za polimorfizam 172G>T gena RAD51 u grupi pacijenata

#### 4.1.2 Distribucije polimorfizma u odnosu na karakteristike pacijenata i tumora

##### Kliničke karakteristike pacijenata u odnosu na prisustvo polimorfizma 172G>T gena RAD51:

##### 4.1.2.1 Nivo tumor markera i mucinska produkcija

Prosečan nivo CEA u serumu pacijenata je iznosio  $6,1 \pm 19,1$  ng/mL, dok je prosečna produkcija mucina bila  $11,9 \pm 22,3$  %. Poređenjem nivoa CEA i mucinske produkcije između pacijenata sa različitim genotipom nije uočena statistički značajna razlika (tabela 2).

	Genotipovi			P vrednost
	GG	GT	TT	
CEA, ng/mL	14,1±32,6	10,4±20,6	14,2±26,4	0,089
Mucinska produkcija, %	15,1±24,2	10,1±21,2	14,3±23,9	0,176

CEA - karcinoembrionalni antigen

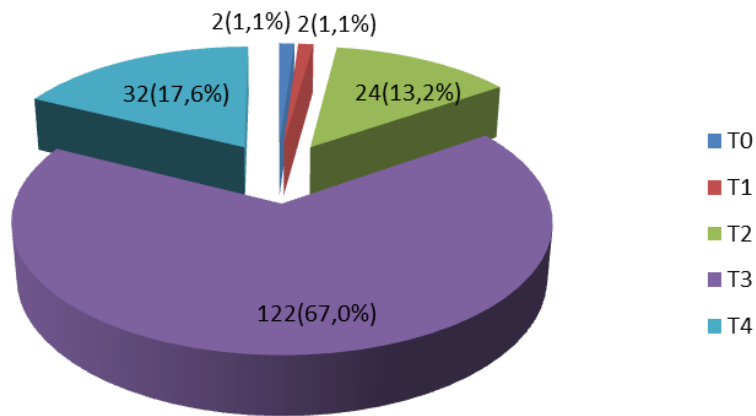
**Tabela 2:** Poređenje nivoa CEA i mucinske produkcije između pacijenata sa različitim genotipom za polimorfizam 172G>T gena RAD51



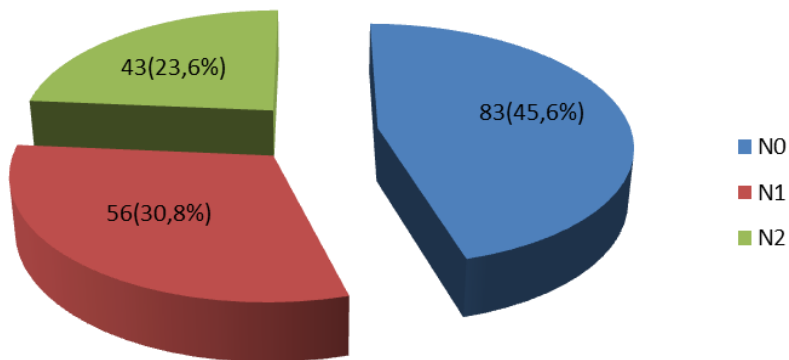
#### 4.1.2.2 Patohistološke klasifikacije stadijuma tumora

##### 4.1.2.2.1 TNM klasifikacija tumora

Distribucije T i N stadijuma tumora pacijenata su predstavljene na grafikonima 5 i 6.

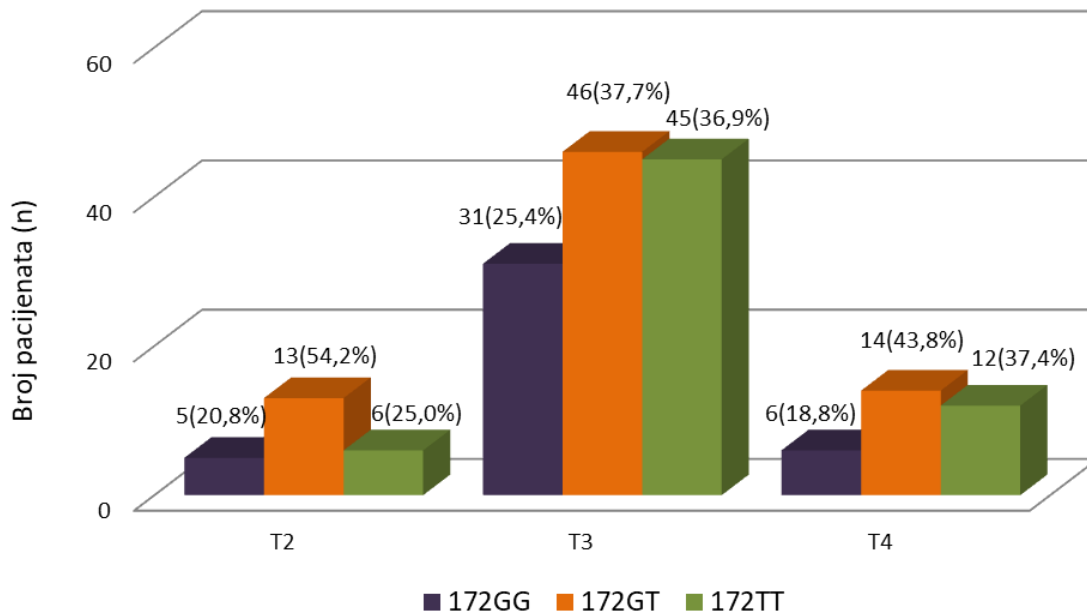


**Grafikon 5:** Distribucija stadijuma T



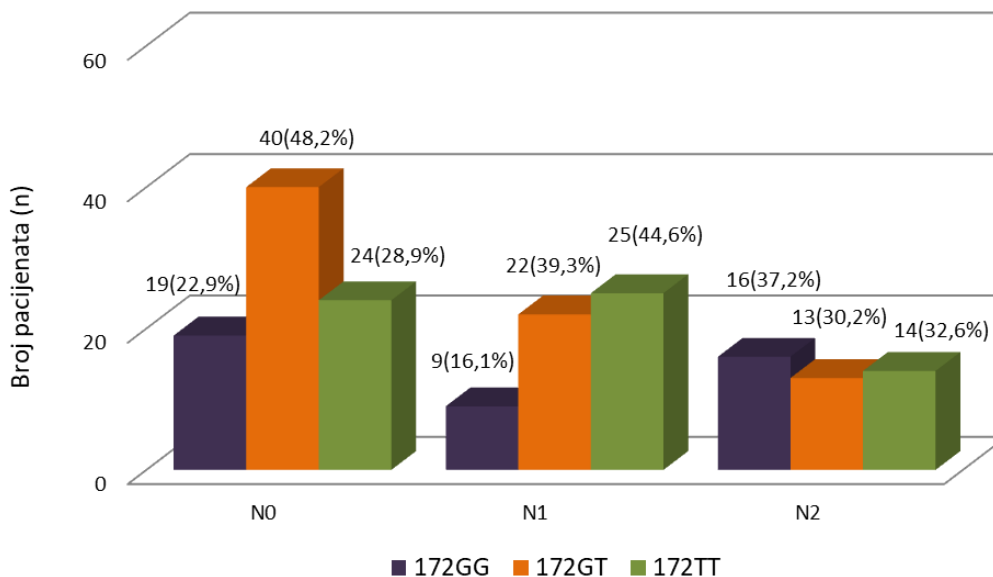
**Grafikon 6:** Distribucija stadijuma N

Ispitivanjem uticaja polimorfizma 172G>T gena RAD51 na stadijum tumora T nije uočena statistički značajna razlika u distribuciji stadijuma između pacijenata sa različitim genotipom ( $p=0,590$ ) (grafikon 7). S obzirom da su stadijume tumora T0 i T1 imala po dva pacijenta i da je u oba slučaja jedan pacijent nosio genotip 172GG, a drugi genotip 172GT, ovi pacijenti nisu bili uključeni u uporednu analizu.



**Grafikon 7:** T stadijum tumora kod pacijenata sa različitim genotipom za polimorfizam 172G>T gena RAD51

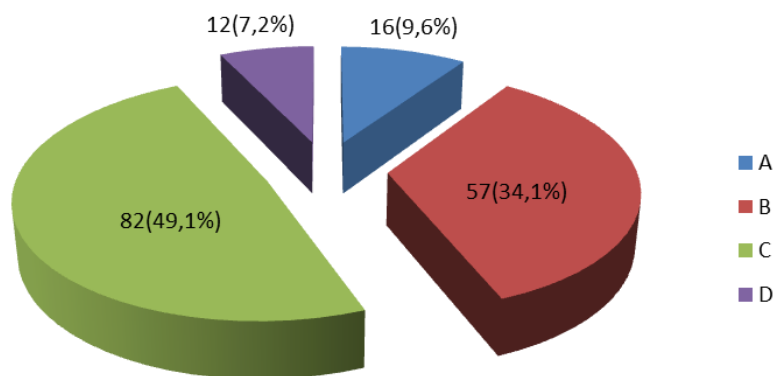
Iako je u podgrupama pacijenata sa stadijumima tumora N0 i N1 bilo više pacijenata sa genotipovima 172GT i 172TT u odnosu na pacijente sa genotipom 172GG, statistički značajna razlika nije postignuta ( $p=0,061$ ) (grafikon 8).



**Grafikon 8:** N stadijum tumora kod pacijenata sa različitim genotipom za polimorfizam 172G>T gena RAD51

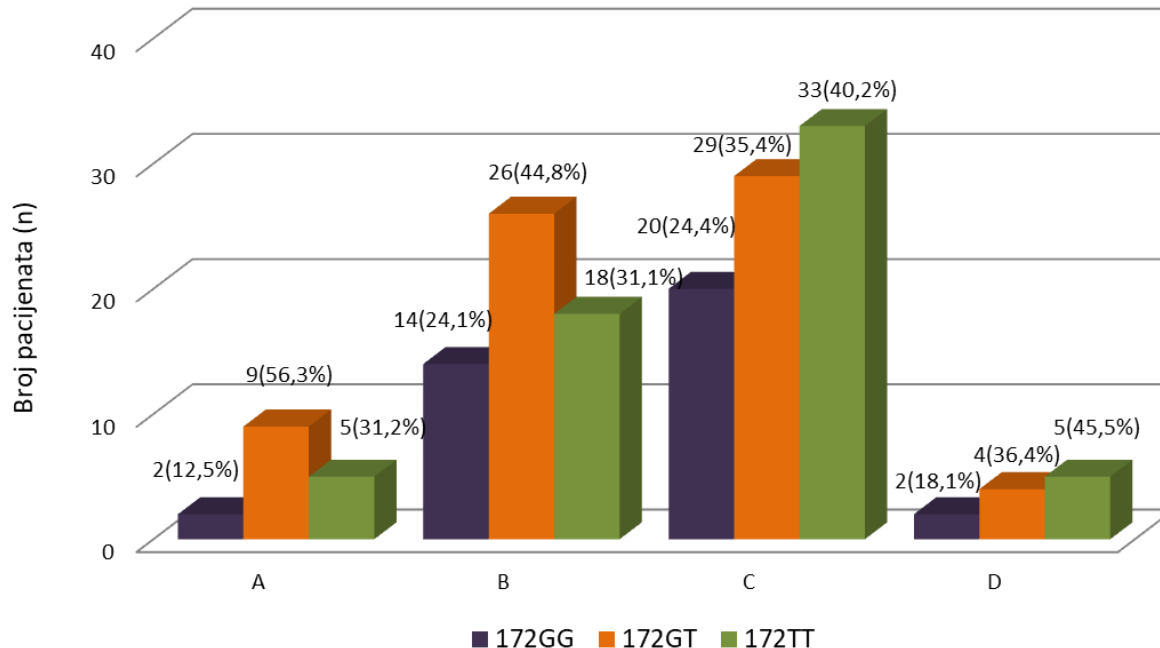
#### 4.1.2.2.2 Dukes klasifikacija tumora

Za 167 pacijenata uključenih u studiju je izvršena klasifikacija tumora po Dukes-u (grafikon 9).



**Grafikon 9:** Dukes klasifikacija tumora

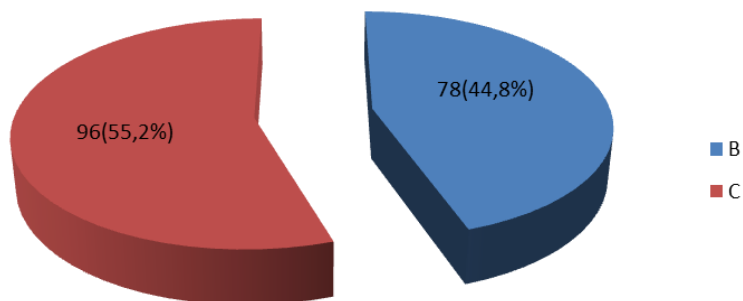
Poređenjem stadijuma tumora prema ovoj klasifikaciji je uočeno da su stadijumi tumora C i D zastupljeniji kod pacijenata sa genotipom 172GT i 172TT u odnosu na pacijente sa genotipom 172GG, ali razlika nije bila statistički značajna ( $p=0,683$ ) (grafikon 10).



**Grafikon 10:** Distribucija genotipova za polimorfizam 172G>T gena RAD51 kod pacijenata sa različitim stadijumom tumora po Dukes klasifikaciji

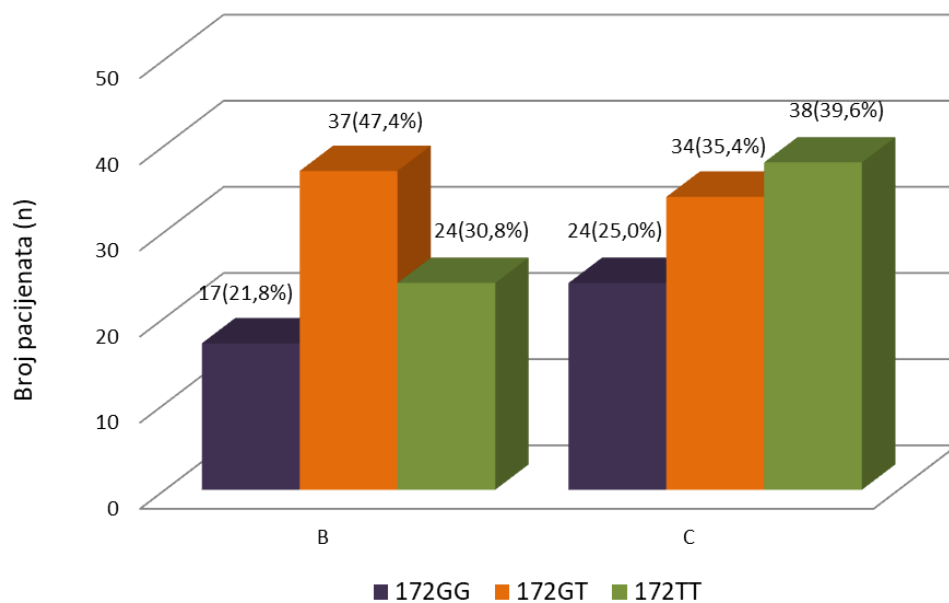
#### 4.1.2.2.3 Astler Coller klasifikacija tumora

Za 174 pacijenta je izvršena Astler Coller klasifikacija tumora i utvrđeno je prisustvo stadijuma B i C. Distribucija stadijuma tumora je data na grafikonu 11.



**Grafikon 11:** Astler Coller klasifikacija tumora

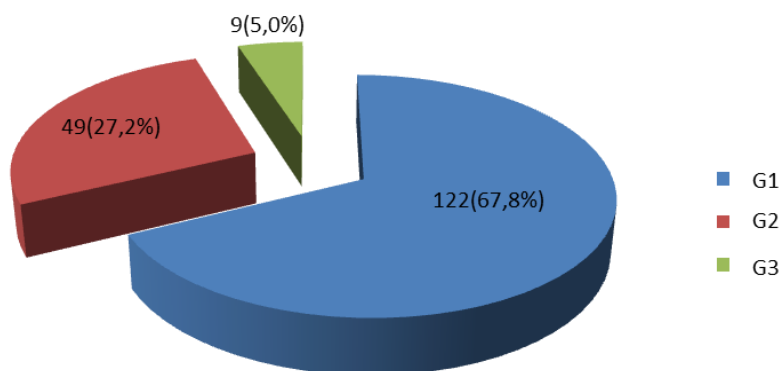
Poređenjem stadijuma tumora prema Astler Coller klasifikaciji nije uočena statistički značajna razlika između pacijenata sa različitim genotipom za polimorfizam 172G>T gena RAD51 ( $p=0,266$ ) (grafikon 12).



**Grafikon 12:** Distribucija genotipova za polimorfizam 172G>T gena RAD51 kod pacijenata sa različitim stadijumom tumora po D po Astler Coller klasifikaciji

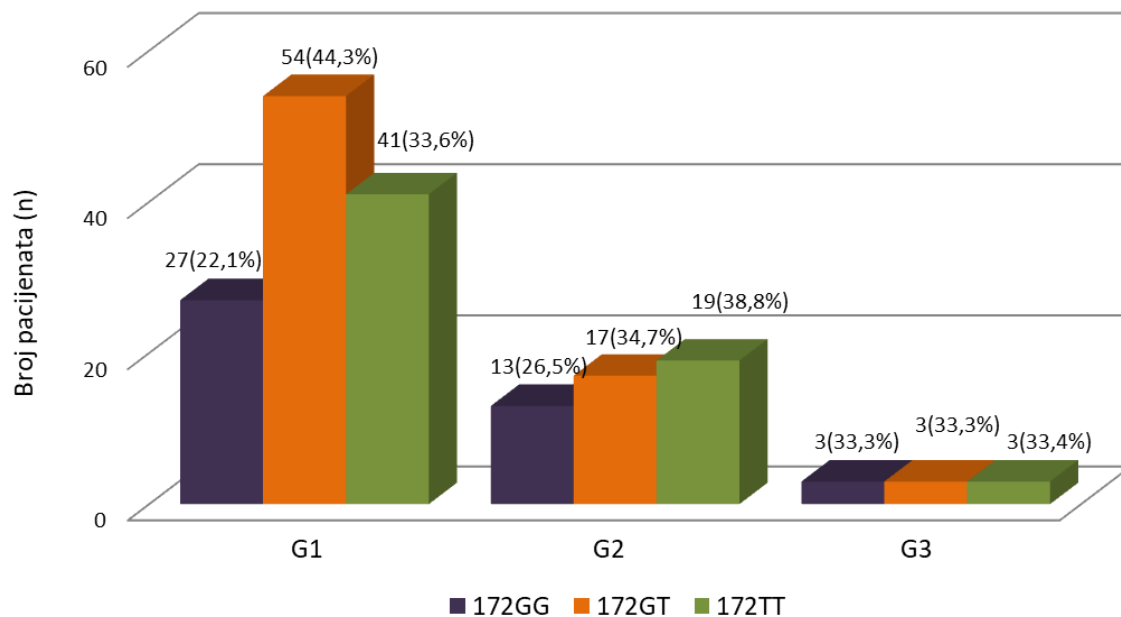
#### 4.1.2.2.4 Diferencijacija tumora

Za dva pacijenta uključena u studiju nije određen stepen diferencijacije tumora. Na grafikonu 13 je prikazana distribucija diferencijacije tumora ostalih pacijenata (n=180).



**Grafikon 13:** Diferencijacija tumora

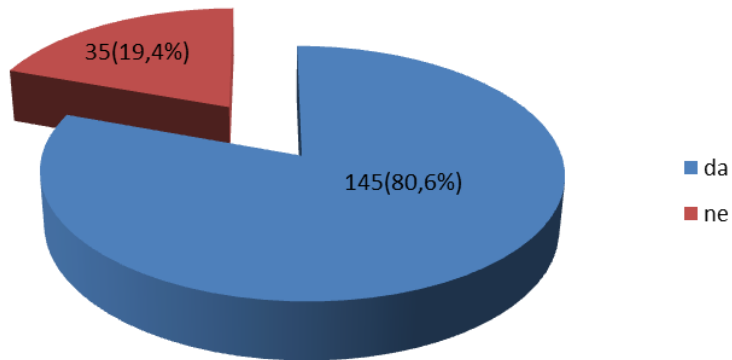
Poređenjem diferencijacije tumora pacijenata sa različitim genotipom za polimorfizam 172G>T gena RAD51 nije uočena statistički značajna razlika ( $p=0,767$ ) (grafikon 14).



**Grafikon 14:** Diferencijacija tumora kod pacijenata sa različitim genotipom za polimorfizam 172G>T gena RAD51

#### 4.1.2.2.5 Metastaze

Od ukupnog broja pacijenata za dva pacijenta nije definisan metastatski status tumora stoga ova dva pacijenta nisu bila uključena u uporednu analizu. Broj pacijenata kod kojih je tumor metastazirao je bio značajno manji od broja pacijenata bez metastaza (grafikon 15).

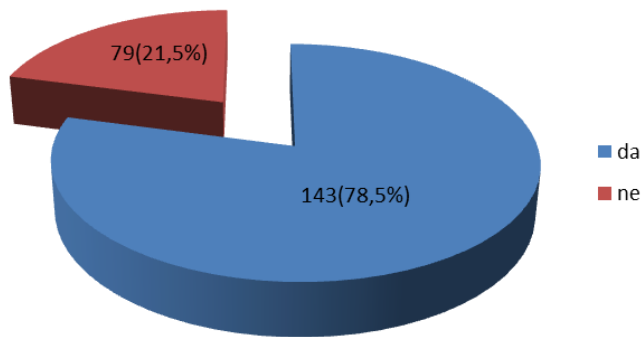


**Grafikon 15:** Metastatski status tumora

Pacijenti sa različitim genotipom za polimorfizam 172G>T gena RAD51 se nisu značajno razlikovali u metastatskom statusu tumora ( $p=0,391$ ). Od pacijenata koji su imali metastaze 12 pacijenata je bilo sa genotipom 172GG (34,3%), 10 pacijenata sa genotipom 172GT (28,6%) a 13 pacijenata sa genotipom 172TT (37,1%).

## 4.2 Odgovor na terapiju

Od ukupnog broja pacijenta 21,5% pacijenata (n=79) je bilo podvrgnuto neoadjuvantnoj hemioradioterapiji (grafikon 16).



**Grafikon 16:** Distribucija pacijenata podvrgnutih radioterapiji

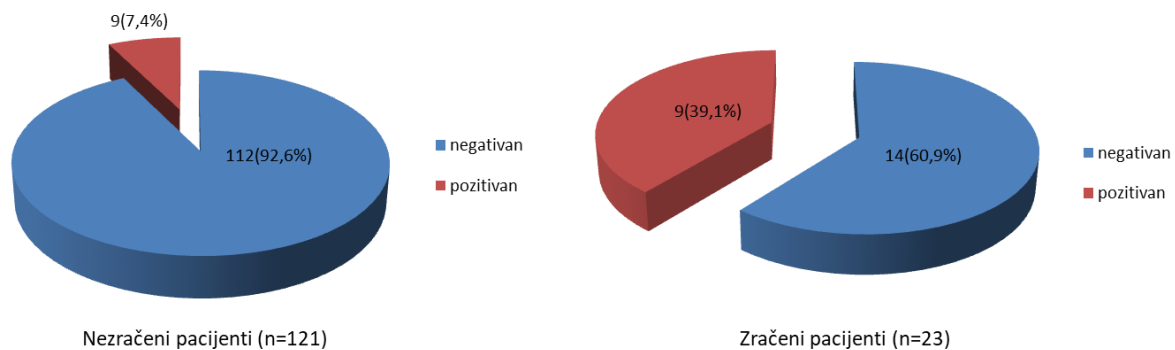
Pacijenti sa karcinomom rektuma su selektovani za ispitivanje uticaja polimorfizma 172G>T gena RAD51 na adekvatan odgovor na radioterapiju (n=36). Poređenjem odgovora na radioterapiju između pacijenata sa različitim genotipom nije uočena statistički značajna razlika ( $p=0,066$ ) (tabela 3).

	Genotipovi			P vrednost
	GG	GT	TT	
Odgovor na terapiju, n (%)				
slab	0(0)	0(0)	3(100,0)	0,066
srednji	1(9,1)	6(54,5)	4(36,3)	
dobar	7(31,8)	10(45,5)	5(22,7)	

**Tabela 3:** Uticaj polimorfizma 172G>T u genu RAD51 na odgovor na radioterapiju kod pacijenata sa rektalnim karcinomom

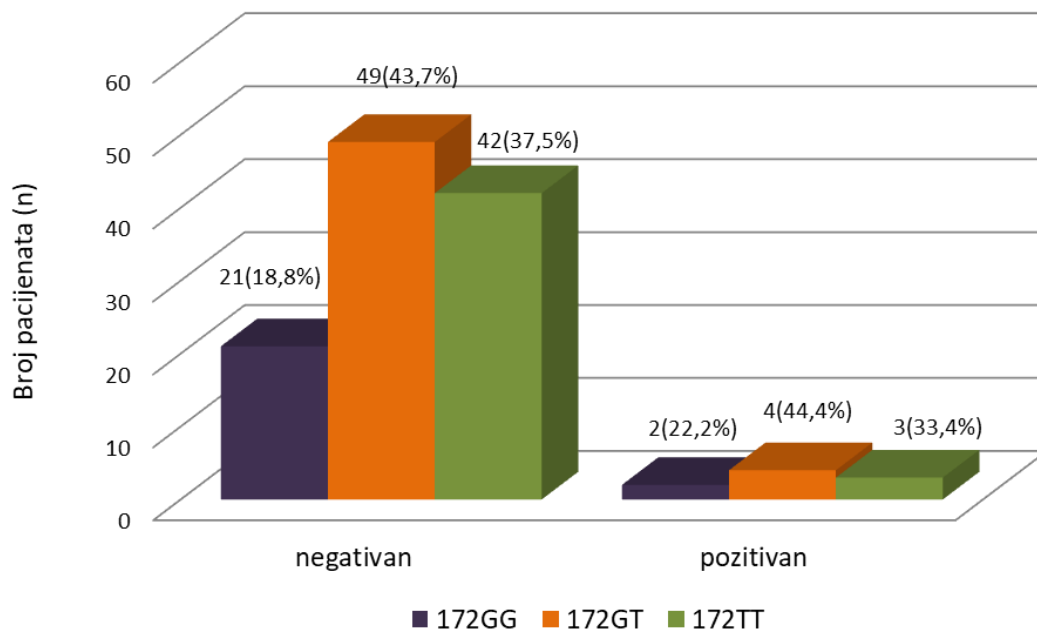
### 4.3 Rezidualni status tumora

Za analizu rezidualnog statusa tumora su selektovani pacijenti koji nisu imali metastaze. Podatak za jednog pacijenta koji je podvrgnut radioterapiji nije bio dostupan, a distribucija rezidualnog statusa ostalih pacijenata (n=144) je prikazana na grafikonu 17.



**Grafikon 17:** Rezidualni status tumora kod pacijenata koji nisu imali metastaze

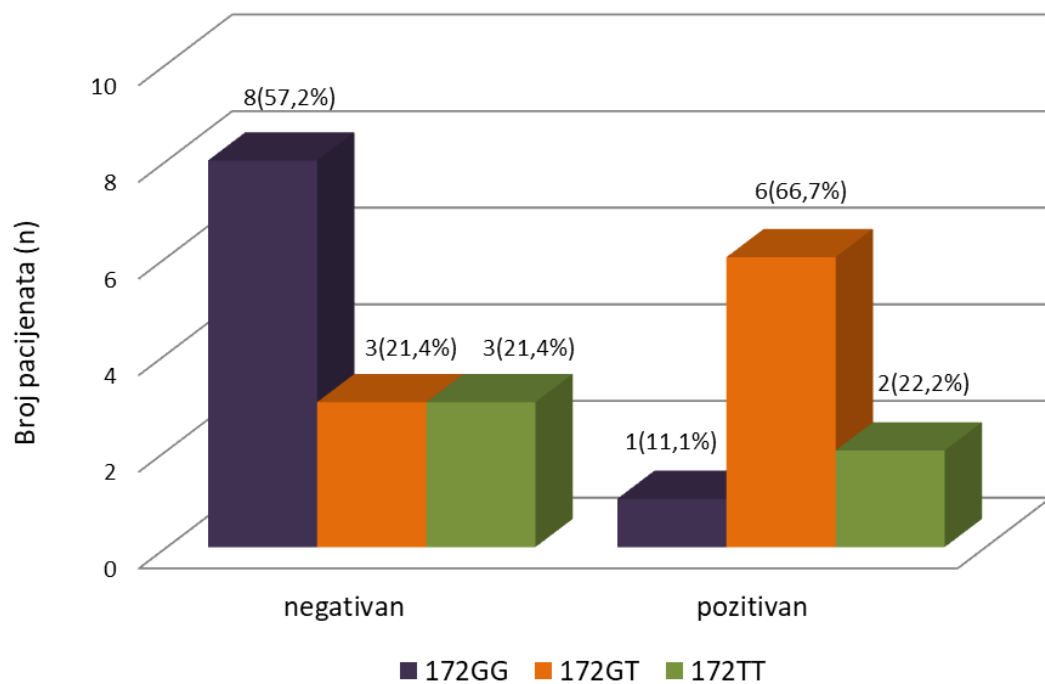
Kod nezračenih pacijenata nije uočena statistički značajna razlika u rezidualnom statusu tumora u odnosu na genotip za polimorfizam 172G>T gena RAD51 ( $p=0,955$ ) (grafikon 18).



**Grafikon 18:** Rezidualni status tumora nezračenih pacijenata u odnosu na genotip



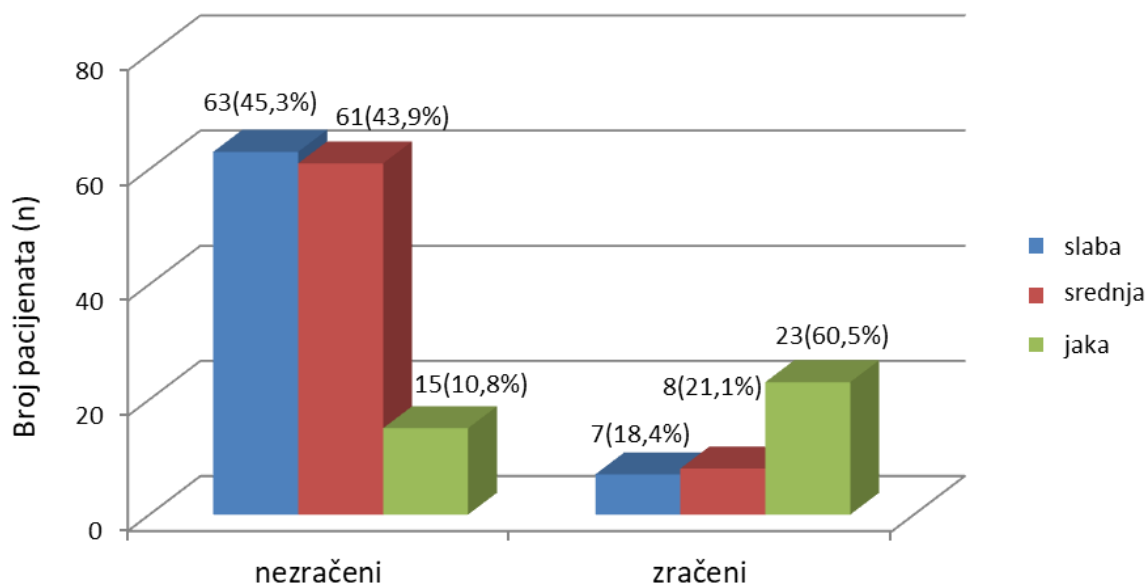
Kod pacijenata sa pozitivnim rezidualnim statusom, a koji su bili podvrgnuti neoadjuvantnoj radiohemioterapiji je uočeno više pacijenata sa genotipovima 172GT i 172TT (66,7% i 22,2%) u odnosu na pacijente sa genotipom 172GG (11,1%), ali statistički značajna razlika nije postignuta ( $p=0,054$ ).



**Grafikon 19:** Rezidualni status tumora zračenih pacijenata u odnosu na genotip

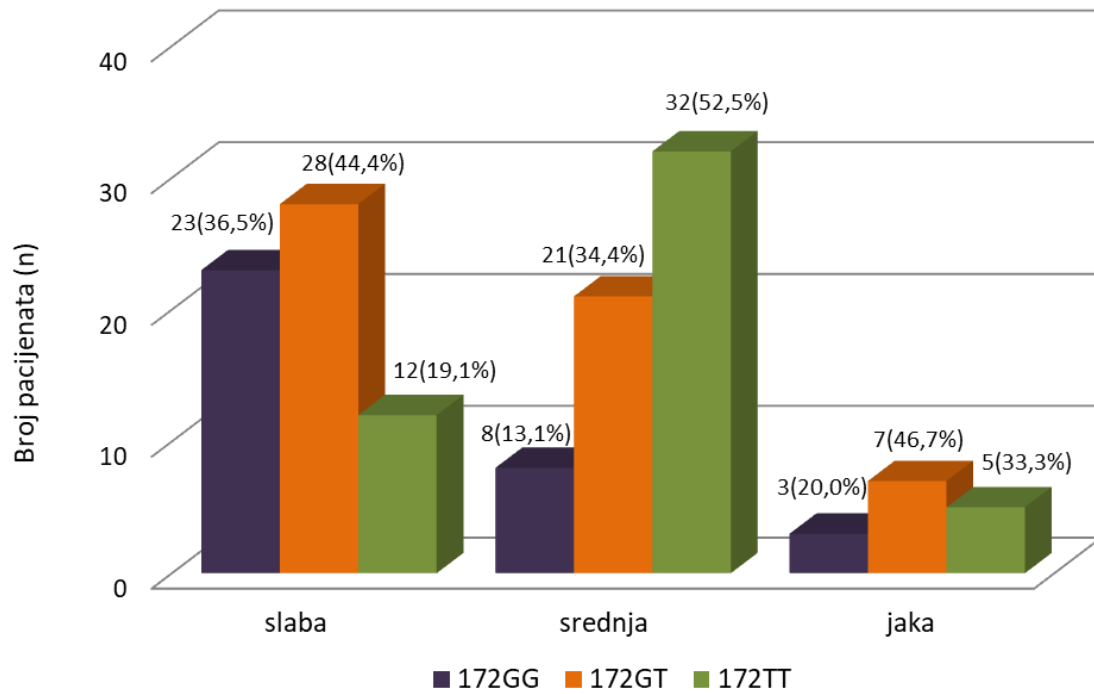
#### 4.4 Dezmoplastična reakcija

Podaci o dezmoplastičnoj reakciji su bili dostupni za 177 pacijenata uključenih u studiju (139 nezračenih i 38 zračenih) (grafikon 20).



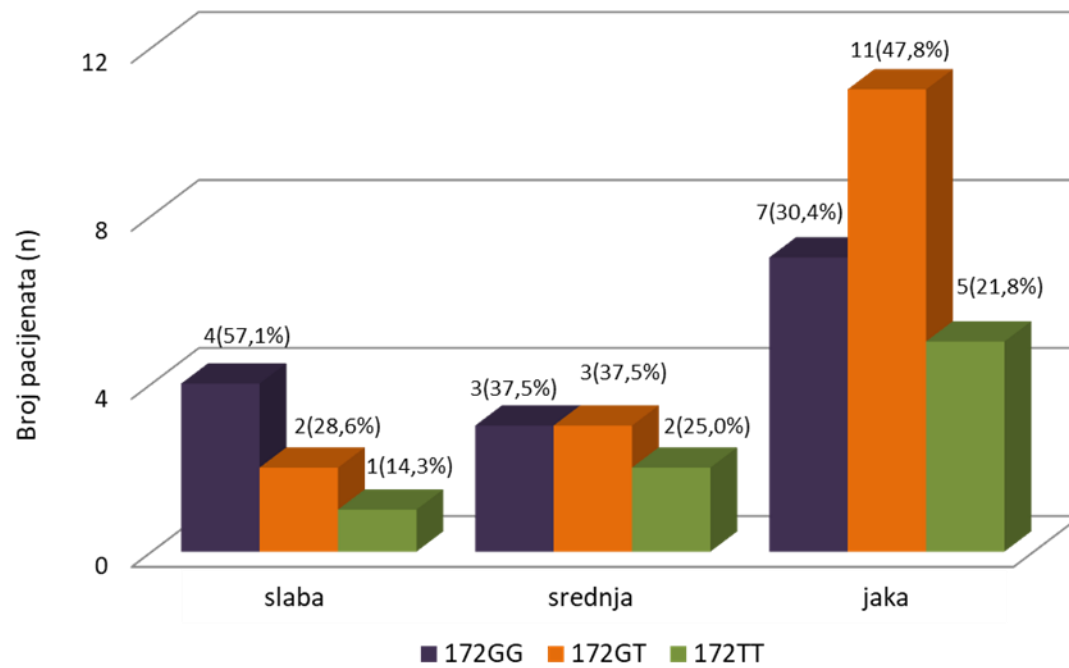
**Grafikon 20:** Dezmoplastična reakcija kod nezračenih i zračenih pacijenata

Ispitivanjem uticaja polimorfizma 172G>T gena RAD51 kod pacijenata koji nisu podvrgnuti radioterapiji je uočena statistički značajna razlika u dezmoplastičnoj reakciji ( $p=0,001$ ) (grafikon 21). U podgrupi pacijenata koji su imali slabu dezmoplastičnu reakciju je bilo više pacijenata sa genotipom 172GG u odnosu na podgrupe pacijenata sa srednjom i jakom dezmoplastičnom reakcijom (36,3%vs13,1% i 20,0%, respektivno).



**Grafikon 21:** Razlika u dezplastičnoj reakciji između različitih genotipova za polimorfizam 172G>T gena RAD51 kod nezračenih pacijenata

Kod pacijenata koji su bili podvrgnuti radioterapiji nije uočena značajna razlika u dezplastičnoj reakciji ( $p=0,776$ ) (grafikon 22).

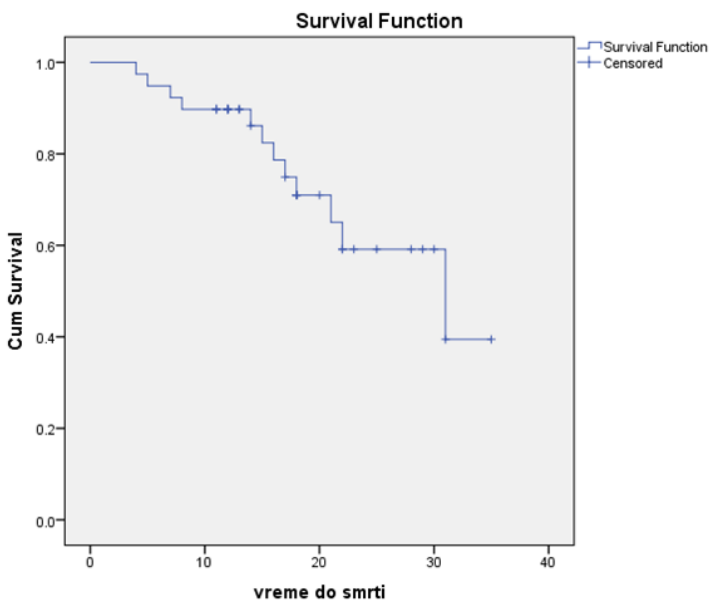


**Grafikon 22.** Razlika u dezoplastičnoj reakciji između različitih genotipa za polimorfizam 172G>T gena RAD51 kod zračenih pacijenata

## 4.5 Preživljanje i vreme do progresije

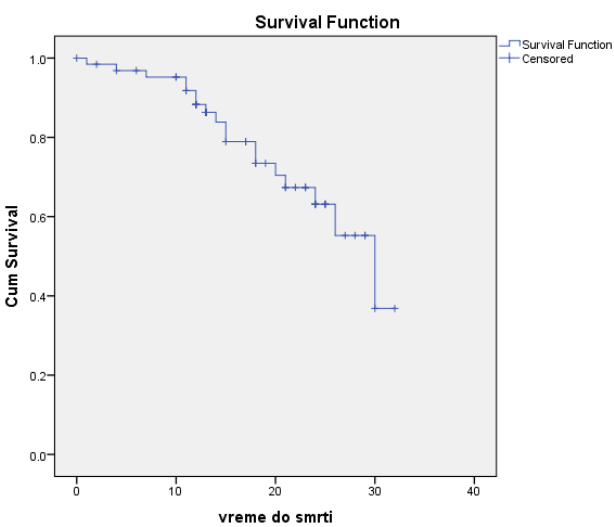
### 4.5.1 Ukupno preživljanje (OS)

U grupi GG je praćeno 39 pacijenata, 12 je umrlo. Srednje vreme praćenja je iznosilo 26 meseci.



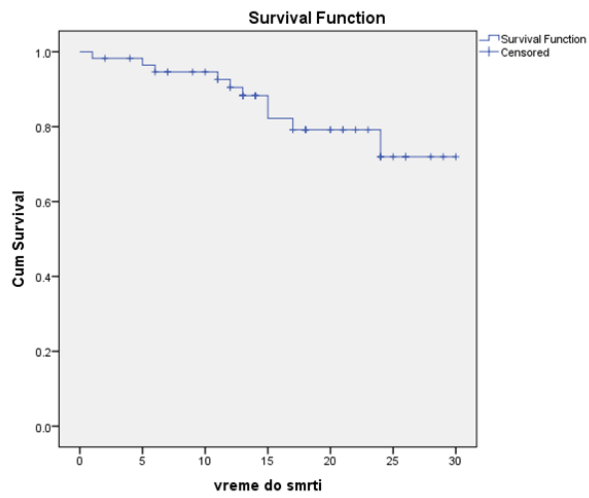
**Grafikon 23** : Preživljanje u grupi 172GG.

U grupi 172GT praćeno je 65 pacijenata, sa 18 smrtnih slučajeva. Prosečno vreme praćenja je iznosilo 30 meseci.



**Grafikon 24**: Preživljanje u grupi GT

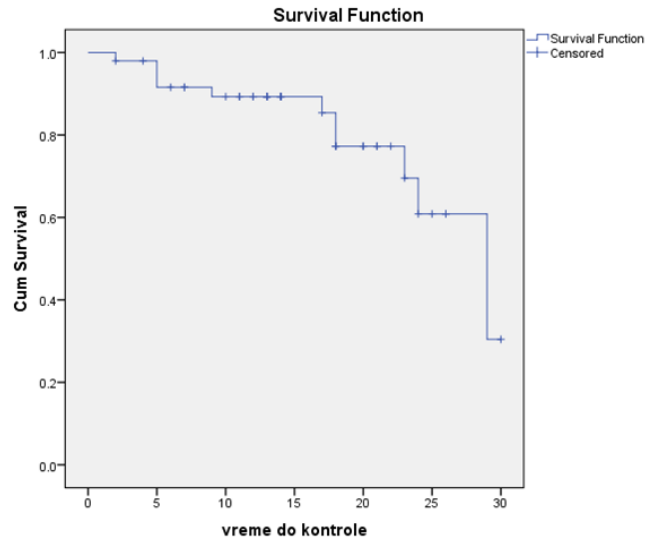
U grupi TT je bilo 57 pacijenata, sa 10 letalnih ishoda. Srednje vreme praćenja je iznosilo 25.7 meseci.



**Grafikon 25:** Preživljavanje u grupi TT.

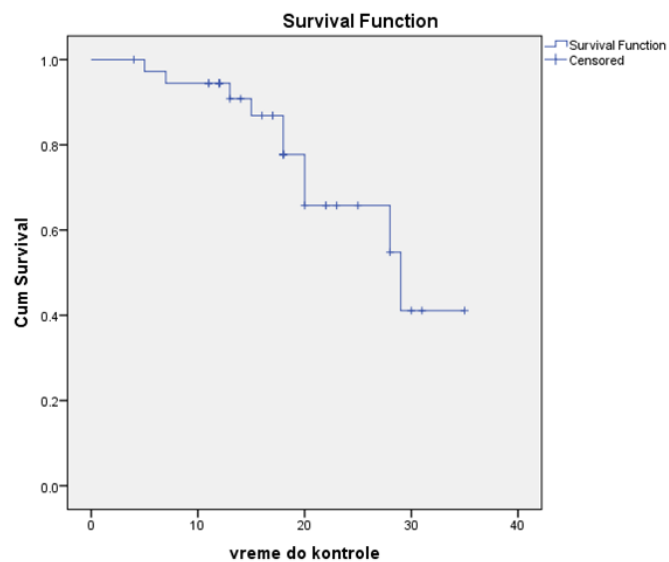
#### 4.5.2 Vreme do progresije bolesti (DFI)

U grupi 172TT je praćeno 49 pacijenata, a 11 je dobilo progresiju bolesti. Srednje vreme praćenja je iznosilo 24,5 meseci.



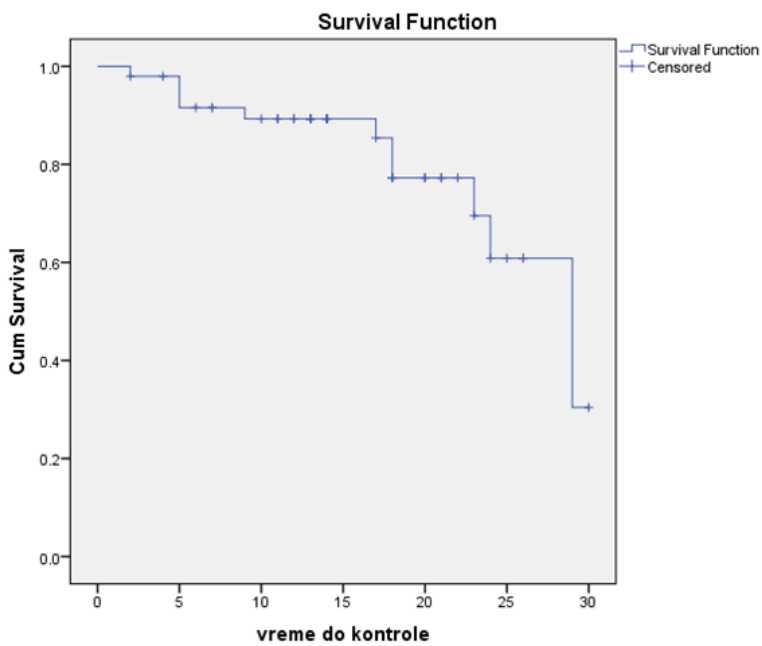
**Grafikon 26:** Vreme do progresije u grupi TT

U grupi GG je praćeno 37 pacijenata i 10 je imalo progresiju bolesti. Srednje vreme praćenja je iznosilo 26,8 meseci.



**Grafikon 27:** Vreme do progresije u grupi GG

U grupi 172GT je praćeno 49 pacijenata, a 11 je dobilo progresiju bolesti. Srednje vreme praćenja je iznosilo 24,5 meseci.



**Grafikon 28:** Vreme do progresije u grupi GT



## **5. DISKUSIJA**

Pod uticajem raznih spoljašnjih faktora može doći do prekida oba lanca DNK i posledične štetne promene redosleda genoma, naročito u vreme ćelijske deobe. Integritet genoma je očuvana homologom rekombinacijom, a nemogućnost sprovođenja ovog procesa može dovesti do karcinogeneze. Protein RAD51 ima esencijanu ulogu u ovom procesu, a ćelije kod kojih je u deficit imaju gensku nestabilnost sa pogrešnom homologom rekombinacijom. Dva jednonukleotidna polimorfizma u regulatornoj regiji ovog gena, 135G>C and 172G>T, su povezana sa ekspresijom i stabilnošću mRNK. Uloga polimorfizma 135G>C, dok mnogo manje podataka imamo o 172G>T. Do sada se većina studija o RAD51 polimorfizmu kod KRK koncentrisala na 135G>C, dok je 172G>T retko povezan sa KRK. Mi smo ispitali povezanost polimorfizma 172G>Tsa KRK kod srpskih pacijenata, kao i njegov potencijal za ulogu prognostičkog i prediktivnog biomarkera.

Istraživanje je sprovedeno u vidu prospektivne i delom retrospektivne kohortne studije na III odeljenju I hirurške klinike KCS. Studija je sprovedena uz saglasnost etičke komisije Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu na pacijentima obolelim od kolorektalnog karcinoma koji su u periodu od 2014-2016. godine podvrgnuti resekciji tumora. Pacijente je činila srpska populacija u cilju što homogenijih grupa.

U studiju je uključeno 182 pacijenta sa KRK prosečne starosti  $62,0 \pm 11,7$  godina (opseg godina 28-86). Zastupljenost muškog pola je bila veća u odnosu na ženski pol (112 muškaraca i 70 žena). Kao kontrola su poslužili zdravi ispitanici, kod kojih su isključeni maligniteti, ( $n=43$ ) koji se po polu i starosti nisu razlikovali od grupe pacijenata.

Naši ispitanici su imali prosečnu starost od  $62,0 \pm 11,7$  godina, opsega od 28 do 86 godina. U drugim epidemiološkim studijama se srednja vrednost uzrasta populacije obolele od KRK je oko 65%, a najveći broj obolelih je stariji od 50 godina. (337)

U našoj studiji je bilo više muškaraca nego žena, što je u skladu sa svetskim epidemiološkim rezultatima. (338)

Kod svih pacijenata je pre uključivanja u studiju postavljena patohistološka dijagnoza adenokarcinoma. Adenokarcinom je najčešći maligni tumor kolona i stoga jedan od najčešćih onkoloških uzroka morbiditeta i mortaliteta i to kod oko 95% primarnih kolorektalnih tumora. (339)

U našoj grupi je kod 109 pacijenata (59,9%) dijagnostikovao tumor rektuma, kod 31(17,0%) karcinom sigmoidnog kolona, po 8 (4,4%) sa tumorima levog i transverzalnog kolona i 26-oro (14,3%) sa karcinom desnog kolona. Razne publikacije koje se bave karcinom kolorektuma navode da je preko 40% tumora

lokalizovano distalno od lijenalne feksure, dok neke studije prijavljuju i 69% tumora lokalizovanih u levoj strani kolona. (340-1) Naše iskustvo je slično, i pokazuje veću učestalost tumora u levoj strani kolona, koja iznosi 81.3%.

Prisustvo polimorfizma 172G>T u genu RAD51 je kod svih ispitanika analizirano metodom PCR-RFLP. Ova tehnika je pogodna za analizu prisustva nukleotidnih zamena u DNK u većim serijama uzoraka zbog jednostavnosti izvođenja, kao i relativno malih troškova. Kao kontrolni su korišćeni DNK uzorci nosilaca svakog od tri genotipa koji su prethodno analizirani direktnim sekvenciranjem DNK, kako bi se obezbedila pouzdanost dobijenih rezultata.

Učestalost alela dobijena za grupu pacijenata (44,8% za alel 172G i 55,2% za alel 172T) se nije značajno razlikovala od učestalosti alela dobijenih za kontrolnu grupu (43,1% za alel G i 56,9% za alel 172T) ( $p=0,881$ ).

Nije uočena statistički značajna razlika u distribuciji genotipova između grupe pacijenata i grupe zdravih ispitanika ( $p=0,307$ ). Učestalost genotipa 172GG u grupi zdravih ispitanika je iznosila 16,3%, učestalost genotipa 172GT je iznosila 53,5%, a učestalost genotipa TT je bila 30,2%. Slični rezultati su dobijeni u studiji sprovedenoju Poljskoj, u kojoj (171) su zabeležene slične učestalosti genotipova i nisu uočene statističke razlike u distribuciji genotipova između grupe operisanih pacijenata i kontrolne grupe .

Prosečan nivo CEA u serumu pacijenata je iznosio  $6,1 \pm 19,1$  ng/mL, dok je prosečna produkcija mucina bila  $11,9 \pm 22,3$  %. Poređenjem nivoa CEA i mucinske produkcije između pacijenata sa različitim genotipom nije uočena statistički značajna razlika. Ni u drugim publikacijama nije potvrđena statistička relevantnost odnosa genotipa RAD51 i serumskog nivoa CEA, (342) mada studije koje povezuju mucinsku produkciju i RAD51 nisu nađene. U literaturi se mucinska produkcija povezuje sa agresivnošću tumora, dok se CEA povezuje sa uznapredovalošću. (343)

Ispitivanjem uticaja povezanosti polimorfizma 172G>T gena RAD51 sa stadijumom tumora nije uočena statistički značajna razlika u distribuciji stadijuma između pacijenta sa različitim genotipom ( $p=0,590$ ), što se poklapa sa drugim istraživanjima 172 RAD51 alela. (171)

U našoj grupi ispitanika najviše je bilo pacijenata sa tumorima stadijuma T3 (67%). Dva pacijenta koji su imali stajum T0 su bolovali od karcinoma rektuma i bili su podvrgnuti neoadjuvantnoj hemioradioterapiji, na koju su imali kompletan odgovor, a pre započinjenja terapije su imali patohistološku potvrdu adenokarcinoma. U našu studiju je bilo uključeno 109 pacijenata sa karcinomom rektuma, od čega je kod 36-oro sprovedena neoadjuvantna hemioradioterapija. Ranije pomenuta 2 pacijenta sa kompletnim

patološkim odgovorom na zračenje iznose 5.5% od ukupnog broja zračenih pacijenata, a velike studije sa pažljivo selektovanim pacijentima i personalno skrojenim tretmanima prijavljuju da se kompletan odgovor može javiti kod čak do 42% konzervativno tretiranih pacijenata. (290) S obzirom da su stadijume tumora T0 i T1 imala po dva pacijenta i da je u oba slučaja jedan pacijent nosio genotip 172GG, a drugi genotip 172GT, ovi pacijenti nisu bili uključeni u uporednu analizu stadijuma tumora i genotipa.

U podgrupama pacijenata sa stadijumima tumora N0 i N1 je bilo više pacijenata sa genotipovima 172GT i 172TT u odnosu na pacijente sa genotipom 172GG. I u drugim studijama, je uočeno odsustvo statističke značajnosti povezanosti distribucije genotipova i patohistološke klasifikacije tumora kolorektuma po Dukes-u i Astler-Coller-u. Veća učestalost Dukes B i C stadijuma, kao i nedostatak A stadijuma po Astler-Coller klasifikaciji se objašnjava činjenicom da je studija sprovedena u referentnom centru za lečenje uznapredovalih KRK. (171)

Daljom komparacijom patohistoloških karakteristika tumora među grupama pacijenata sa različitim genotipovima nije uočena razlika u distribuciji stepena diferencijacije tumora ( $p=0,767$ ).

Nije uočena statistički značajna razlika u distribuciji genotipova kod pacijenata sa različitim metastatskim statusom ( $p=0,391$ ). Broj pacijenata kod kojih je tumor metastazirao je bio značajno manji od broja pacijenata bez metastaza. Studija sprovedena u Kini i publikovana pre godinu dana je pokazala statističku značajnost preterane ekspresije RAD51 i metastatskog potencijala kolorektalnog karcinoma. Ova studija se bazirala na imunohistohemijskom istraživanju tumora kolona i rektuma kod pacijenta sa metastazama i pokazala je značajno višu ekspresiju RAD51 kod loše diferentovanih karcinoma, kao i kod pacijenata sa metastazama u regionalnim limfnim žlezdama, za koje se zna da imaju lošiju prognozu, te se povišena ekspresija ovog gena može povezati sa malignim histofenotipom i lošom prognozom kod kolorektalnog karcinoma. U navedenoj studiji nije rađena genetička analiza. (344 )

Petina od ukupnog broja pacijenta ( $n=79$ , 21.5%) je bila podvrgnuta radioterapiji. Podgrupa pacijenata sa karcinomom rektuma je selektovana za ispitivanje uticaja polimorfizma 172G>T gena RAD51 na odgovor na radioterapiju ( $n=36$ ). Poređenjem odgovora na radioterapiju između pacijenata sa različitim genotipom nije uočena statistički značajna razlika ( $p=0,066$ ). Nemačka studija objavljena 2013. godine navodi da se prekomerna ekspresija ovog gena može koristiti kao marker loše prognoze u smislu metastatskog potencijala i prediktivni marker za odgovor na radioterapiju, kao i za odgovor na hemioterapiju naročito kod pacijenata sa pozitivnim statusom regionalnih limfatika (345) i za pacijente sa pozitivnim rezidualnim

stusom (R1), tačnije kod onih kod kojih su na ivicama operativnog preparata nađene tumorske ćelije, ili su bile udaljene manje od 1mm od linija resekcije.

U našu studiju je bilo uključeno 109 pacijenata sa karcinomom rektuma. Od njih je 37 podvrgnuto neoadjuvantnoj hemioradioterapiji. Nakon operacije je patohistološki konstatovan R1 status kod 15 preoperativno zračenih pacijenata i 6 koji nisu zračeni. U grupi zračenih pacijenata 7 je imalo direktnu invaziju resekcione linije, a od njih je 5-oro u trenutku operacije imalo udaljene metastaze konstatovane operativnom eksploracijom ili drugim sofisticiranim radiološkim pretragama. Kod 8 pacijenata je nađen indirektan pozitivni rezidualni status, troje je imalo potvrđene udaljene metastaze u trenutku operacije.

Kod pacijenata koji nisu zračeni, već samo tretrani hirurgijom, i kojih ima 71, pozitivne resekcione margine su nađene kod 6-oro, od toga po troje sa direktnom i indirektnom pozitivnom marginom. Ovi pacijenti su, sem jednog T4, imali T3 c i d stadijum tumora, a kod jednog je bila prisutna i multipla lokalizacija (3 T3 tumora). kod 3 pacjenta se donje ivica tumora nalazila na 3, 4 i 5 cm od anokutane linije, a kod ostalih iznad peritonealne refleksije i jedan pacijent sa indirektnim R1 satusom je imao udaljene metastaze. Ovi pacijenti nisu podvrgnuti hemioradioterapiji zbog neadekvatnog preoperativnog određivanja stadjuma tumora (undesrtaging), visoke lokalizacije, multiple lokalizacije i lošeg opšteg stanja.

Pozitivan resekcioni status nije statistički značajno povezan ni sa jednim od ispitivanih genotipova.

Kao jedna od patohistoloških karakteristika maligniteta ocenjivana je i dezmpoplastična reakcija tumora. Dostupni su bili podaci za 177 pacijenata (139 nezračenih i 38 zračenih). Ispitivanjem uticaja polimorfizma 172G>T gena RAD51 kod pacijenata koji nisu podvrgnuti radioterapiji je uočena statistički značajna razlika u dezmpoplastičnoj reakciji ( $p=0,001$ ). U podgrupi pacijenata koji su imali slabu dezmpoplastičnu reakciju je bilo više pacijenata sa genotipom 172GG u odnosu na podgrupe pacijenata sa srednjom i jakom dezmpoplastičnom reakcijom. Nisu nađene druge studije u kojima je vršeno poređenje dezmpoplastične reakcije i polimorfizama RAD51.

Dezmoplazija, kao reakcija tkiva na leziju kao što je povreda ili tumor, je proliferacija vezivnog tkiva, fibroblasta, sa posledičnom sekrecijom kolagena. (346-8). Taj kolagen obezbeđuje sredinu za lokalni rast ćelija, uključujući maligne ćelije. Novoformirana stroma u sebi sadrži komponente ekstracelularnog matriksa, kao što su proteoglikani i glukozaminoglikani, koji vezuju citokine i faktore rasta. Ćelije karcinoma luče enzime koji razlažu matriks (matriks metaloproteinaze) i daju signale za rast malignim ćelijama. Ovo razlaganje matriksa daje i prostor za tumorsku angiogenezu, migraciju ćelija i proliferaciju. Prisustvo reaktivne strome u malignim ćelijama je dijagnostički znak loše prognoze.

Suprotno od toga, kod pacijenata podvrgnutih radioterapiji dolazi do oksidativnog stresa, oštećenja DNK i inflamacije kao ranog stimulansa koji posreduje u ometanju regulacije proliferativne faze ćelijskog ciklusa. Za razliku od zarastanja rana, radijacija uzrokuje promene vaskularnih struktura kroz poremećaj funkcije endotela koja vodi u progresivnu vaskulopatiju. Karakteristična za ovo stanje je loša razmena gasova uz razvoj hipoksije tkiva, koja, opet vodi do stadijuma koji zamenjuje normalnu proliferativnu fazu kod zarastanja rana, što može predstavljati loše organizovan hemostatski odgovor kojim se pokušava održati oksigenacija tkiva. Ova progresivna i ponavljajuća faza sprečava oporavak tkiva i vodi do daljeg razvoja konstantne inflamacije, nekroze, ali i progresije tumora. Poslednjih godina se sve više obraća pažnja na izučavanje mikrosredine tumora da bi se razjasnili mehanizmi i dobrog i lošeg odgovora na zračenje. (349)

U našoj studiji nije dokazana značajnost razlike u preživljavanju između ispitivanih grupa, niti u vremenu do progresije bolesti u odnosu na rezultate studija (345). Procene preživljavanja i perioda do progresije bolesti u redovnom praćenju se ne razlikuju značajno od publikacija u kojima su obrađivane grupe pacijenata sa KRK komparativnog stadijuma bolesti i sprovedene terapije. (345)

Rezultati naše studije sugerišu da je alel RAD51 172T pozitivan prognostički faktor kod pacijenata obolelih od KRK u populaciji u Srbiji, iako je neophodno sprovođenje velikih prospektivnih studija da bi se potvrdio ovaj zaključak. Postoje dokazi da ekspresija RAD51 igra važnu ulogu u karcinogenezi, utičući na razvoj tumora različitog porekla i njihovu osetljivost na terapijske režime. Naša studija ukazuje na mogućnost protektivne uloge RAD51 172T alela kod KRK, te bi se trebao uzeti pod razmatranje u većim prospektivnim studijama.

## **6. ZAKLJUČCI**

1. Naša studija nije pokazala značajnu razliku između različitih genotipa polimorfizma *RAD51 172* u nastanku kolorektalnog karcinoma.
2. Ovim istraživanjem nije nađena značajna korelacija prisustva *RAD51 172* polimorfizma u odnosu na lokalni odgovor tumora na neoadjuvantnu terapiju kod pacijenata obolelih od karcinoma rektuma i tretiranih preoperativnom radioterapijom.
3. Nije viđena značajnost u preživljavanju niti u vremenu do progresije kod pacijenata sa ovim polimorfizmom.
4. Naša studija je pokazala da ekspresija gena *RAD51 172G* može biti pozitivan prognostički faktor u određivanju agresivnosti tumora i daljeg toka bolesti.
5. Rezultati naše studije sugeriraju potrebu da sprovođenjem daljih istraživanja polimorfizma ovog gena u vidu prospektivnih studija i na većem uzorku.



## **7. LITERTURA**

1. Krivokapić ZV, Dimitrijević I, Barišić G. Anatomija i fiziologija rektuma i analnog kanala. Karcinom rektuma. Zavod za udžbenije, Beograd 2012. 23-29
2. Alasari S, Lim D, Kim NK. Magnetic resonance imaging based rectal cancer classification: landmarks and technical standardization. *World J Gastroenterol*. 2015 Jan 14;21(2):423-31. doi: 10.3748/wjg.v21.i2.423.
3. Wasserman MA, McGee MF, Helenowski IB, Halverson AL, Boller AM, Stryker SJ. The anthropometric definition of the rectum is highly variable. *Int J Colorectal Dis*. 2016 Feb;31(2):189-95. doi: 10.1007/s00384-015-2458-5. Epub 2015 Nov 25.
4. Dujovny N, Quiros RM, Saclarides TJ. Anorectal anatomy and embryology. *Surg Oncol Clin N Am*. 2004 Apr;13(2):277-93.
5. Brunicaudi FC AD, Billiar TR, Dunn DL, Hunter JG, Matthews JB, Pollock RE. *Schwartz's Principles of Surgery*. Ninth ed: McGraw-Hill; 2010. 1888 p.
6. Wang GJ, Gao CF, Wei D, , Wang C, Meng WJ. Anatomy of the lateral ligaments of the rectum: A controversial point of view. *World J Gastroenterol*. 2010 Nov 21; 16(43): 5411–5415.
7. Moore KL, The Rectum. In: *Clinically Oriented Anatomy* 3rd edition, Williams & Wilkins 1992, 289-293
8. Sobotta J (1972) *Atlante di Anatomia*. UTET – Sansoni Edizioni scientifiche, Firenze
9. Netter FH (1989): *Atlas of Human Anatomy*, 9th printing Ciba Pharmaceuticals Division, Ciba-Geigy Corporation.
10. Fozard J. B. J., & Pemberton J. H. *Applied Surgical Anatomy, Pelvic Contents in Rob - Smith's Operative Surgery*
11. Nivatvongs S, Gordon PH. Surgical anatomy In *Principles and Practice of Surgery for the Colon, Rectum and Anus*. Informa Healthcare USA 2007. 3rd Edition. 1-29.
12. Heald RJ, Moran BJ. Embryology and Anatomy of the Rectum. *Semin Surg Oncol* 1998; 15: 66-71
13. Krejci L, Altmannova V, Spirek M, Zhao X. Homologous recombination and its regulation. *Nucleic Acids Research*, 2012, Vol. 40, No. 13 5795–5818. doi:10.1093/nar/gks270
14. Hasselbach L, Haase S, Fischer D, Kolberg HC, Sturzbecher HW (2005) Characterisation of the promoter region of the human DNA-repair gene Rad51. *Eur J Gynaecol Oncol* 26: 589–598.
15. Thacker J (2005) The RAD51 gene family, genetic instability and cancer. *Cancer Lett* 219: 125–135.
16. Sliwinski T, Walczak A, Przybyłowska K, et al. Polymorphisms of the XRCC3 C722T and the RAD51 G135C genes and the risk of head and neck cancer in a Polish population. *ExpMol Pathol*. 2010; 89: 358-366.

17. Krupa R, Sobczuk A, Popławski T, et al. DNA damage and repair in endometrial cancer in correlation with the hOGG1 and RAD51 genes polymorphism. *Mol Biol Rep* 2011; 38: 1163-1170.
18. Costa S, Pinto D, Pereira D, et al. DNA repair polymorphisms might contribute differentially on familial and sporadic breast cancer susceptibility: a study on a Portuguese population. *Breast Cancer Res Treat* 2007; 103: 209-217.
19. Jara L, Acevedo ML, Blanco R, et al. RAD51 135G>C polymorphism and risk of familial breast cancer in a South American population. *Cancer Genet Cytogenet* 2007; 178: 65-69. 15. Antoniou AC, Sinilnikova OM, Simard J, et al. RAD51 135G→C modifies breast cancer risk among BRCA2 mutation carriers: results from a combined analysis of 19 studies. *Am J Hum Genet* 2007; 81: 1186-1200.
20. Romanowicz H, Smolarz B, Baszczyński J, et al. Genetics polymorphism in DNA repair genes by base excision repair pathway (XRCC1) and homologous recombination (XRCC2 and RAD51) and the risk of breast carcinoma in the Polish population. *Pol J Pathol* 2010; 61: 206-216.
21. Lee KM, Choi JY, Kang C, et al. Genetic polymorphisms of selected DNA repair genes, estrogen and progesterone receptor status, and breast cancer risk. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 4620-4626.
22. Jakubowska A, Gronwald J, Menkiszak J, et al. The RAD51 135 G>C polymorphism modifies breast cancer and ovarian cancer risk in Polish BRCA1 mutation carriers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007; 16: 270-275.
23. Lu J, Wang LE, Xiong P, et al. 172G>T variant in the 5' untranslated region of DNA repair gene RAD51 reduces risk of squamous cell carcinoma of the head and neck and interacts with a P53 codon 72 variant. *Carcinogenesis* 2007; 28: 988-994.
24. Kayani MA<sup>1</sup>, Khan S, Baig RM, Mahjabeen I. Association of RAD 51 135 G/C, 172 G/T and XRCC3 Thr241Met gene polymorphisms with increased risk of head and neck cancer. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(23):10457-62.
25. Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life-years for 32 Cancer Groups, 1990 to 2015A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study. *JAMA Oncol*. 2017;3(4):524–548. doi:10.1001/jamaoncol.2016.5688
26. [http://gco.iarc.fr/today/online-analysis-multi-bars?mode=cancer&mode\\_population=continents&population=923&sex=0&cancer=6&type=0&statistic=0&prevalence=0&color\\_palette=default](http://gco.iarc.fr/today/online-analysis-multi-bars?mode=cancer&mode_population=continents&population=923&sex=0&cancer=6&type=0&statistic=0&prevalence=0&color_palette=default)
27. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2017. *CA Cancer J Clin*. 2017;67:7- 30.

28. Arnold M, Sierra MS, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F, Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. *Gut* 2017;66:683-691.
29. Global Burden of Disease Cancer Collaboration, Fitzmaurice C, Allen C, et al. Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life-years for 32 Cancer Groups, 1990 to 2015: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study. *JAMA Oncol* 2017; 3:524.
30. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray, F. GLOBOCAN 2012 v1.1, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2014.
31. Ait Ouakrim Driss, Pizot Cécile, Boniol Magali, Malvezzi Matteo, Boniol Mathieu, Negri Eva et al. Trends in colorectal cancer mortality in Europe: retrospective analysis of the WHO mortality database *BMJ* 2015; 351 :h4970
32. Altobelli E, D'Aloisio F, Angeletti PM. Colorectal cancer screening in countries of European Council outside of the EU-28. *World J Gastroenterol*. 2016 May 28; 22(20): 4946–4957.
33. Diergaard B, Tiemersma EW, Braam H, van Muijen GN, Nagengast FM, Kok FJ, Kampman E *Int J Cancer*. Dietary factors and truncating APC mutations in sporadic colorectal adenomas 2005 Jan 1;113(1):126-32..
34. Norat T, Bingham S, Ferrari P, Slimani N, Jenab M, Mazuir M, Overvad K, Olsen A, Tjønneland A, Clavel F, Boutron-Ruault MC, Kesse E, Boeing H, Bergmann MM, Nieters A, Linseisen J, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Tountas Y, Berrino F, Palli D, Panico S, Tumino R, Vineis P, Bueno-de-Mesquita HB, Peeters PH, Engeset D, Lund E, Skeie G, Ardanaz E, González C, Navarro C, Quirós JR, Sanchez MJ, Berglund G, Mattisson I, Hallmans G, Palmqvist R, Day NE, Khaw KT, Key TJ, San Joaquin M, Hémon B, Saracci R, Kaaks R, Riboli E. Meat, fish, and colorectal cancer risk: the European Prospective Investigation into cancer and nutrition. *J Natl Cancer Inst*. 2005 Jun 15; 97(12):906-16.
35. Hang J, Cai B, Xue P, Wang L, Hu H, Zhou Y, Ren S, Wu J, Zhu M, Chen D, Yang H, Wang L. The Joint Effects of Lifestyle Factors and Comorbidities on the Risk of Colorectal Cancer: A Large Chinese Retrospective Case-Control Study. *PLoS One*. 2015 Dec 28;10(12):e0143696
36. Aleksandrova K, Pischon T, Jenab M, Bueno-de-Mesquita HB, Fedirko V, Norat T, Romaguera D, Knüppel S, Boutron-Ruault MC, Dossus L, et al. Combined impact of healthy lifestyle factors on colorectal cancer: a large European cohort study. *BMC Med*. 2014 Oct 10; 12:168. Epub 2014 Oct 10.

37. Doyle VC. Gastroenterol Nurs. Nutrition and colorectal cancer risk: a literature review. 2007 May-Jun;30(3):178-82; quiz 182-3
38. Fung T, Hu FB, Fuchs C, Giovannucci E, Hunter DJ, Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC. Major dietary patterns and the risk of colorectal cancer in women. Arch Intern Med. 2003 Feb 10; 163(3):309-14.
39. Schatzkin A, Lanza E, Corle D, Lance P, Iber F, Caan B, Shike M, Weissfeld J, Burt R, Cooper MR, Kikendall JW, Cahill J. Lack of effect of a low-fat, high-fiber diet on the recurrence of colorectal adenomas. Polyp Prevention Trial Study Group. N Engl J Med. 2000 Apr 20; 342(16):1149-55.
40. Alberts DS, Martínez ME, Roe DJ, Guillén-Rodríguez JM, Marshall JR, van Leeuwen JB, Reid ME, Ritenbaugh C, Vargas PA, Bhattacharyya AB, Earnest DL, Sampliner RE. Lack of effect of a high-fiber cereal supplement on the recurrence of colorectal adenomas. Phoenix Colon Cancer Prevention Physicians' Network. N Engl J Med. 2000 Apr 20; 342(16):1156-62.
41. Dronamraju SS, Coxhead JM, Kelly SB, Burn J, Mathers JC. Cell kinetics and gene expression changes in colorectal cancer patients given resistant starch: a randomised controlled trial. Gut. 2009 Mar; 58(3):413-20.
42. Weijenberg MP, Mullie PF, Brants HA, Heinen MM, Goldbohm RA, van den Brandt PA. Dietary glycemic load, glycemic index and colorectal cancer risk: results from the Netherlands Cohort Study. Int J Cancer. 2008 Feb 1; 122(3):620-9.
43. Dixon LB, Balder HF, Virtanen MJ, Rashidkhani B, Männistö S, Krogh V, van Den Brandt PA, Hartman AM, Pietinen P, Tan F, Virtamo J, Wolk A, Goldbohm RA. Dietary patterns associated with colon and rectal cancer: results from the Dietary Patterns and Cancer (DIETSCAN) Project. Am J Clin Nutr. 2004 Oct; 80(4):1003-11.
44. Bjelakovic G, Nikolova D, Simonetti RG, Gluud C. Antioxidant supplements for prevention of gastrointestinal cancers: a systematic review and meta-analysis. Lancet. 2004 Oct 2-8; 364(9441):1219-28.
45. Delage B, Rullier A, Capdepon M, Rullier E, Cassand P. The effect of body weight on altered expression of nuclear receptors and cyclooxygenase-2 in human colorectal cancers. Nutr J. 2007 Sep 3; 6():20.
46. Jenab M, Riboli E, Cleveland RJ, Norat T, Rinaldi S, Nieters A, Biessy C, Tjønneland A, Olsen A, Overvad K, Gronbaek H, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Linseisen J, Boeing H, Pischon T, Trichopoulos D, Oikonomou E, Trichopoulou A, Panico S, Vineis P, Berrino F, Tumino R, Masala G, Peters PH, van Gils CH, Bueno-de-Mesquita HB, Ocke MC, Lund E, Mendez MA, Tormo MJ,

- Barricarte A, Martinez-Garcia C, Dorronsoro M, Quiros JR, Hallmans G, Palmqvist R, Berglund G, Manjer J, Key T, Allen NE, Bingham S, Khaw KT, Cust A, Kaaks R. Serum C-peptide, IGFBP-1 and IGFBP-2 and risk of colon and rectal cancers in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Int J Cancer*. 2007;121:368–376. [PubMed]
47. Kaaks R, Toniolo P, Akhmedkhanov A, Lukanova A, Biessy C, Dechaud H, Rinaldi S, Zeleniuch-Jacquotte A, Shore RE, Riboli E. Serum C-peptide, insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF-binding proteins, and colorectal cancer risk in women. *J Natl Cancer Inst*. 2000;92:1592–1600. [PubMed]
48. Otani T, Iwasaki M, Sasazuki S, Inoue M, Tsugane S. Plasma C-peptide, insulin-like growth factor-I, insulin-like growth factor binding proteins and risk of colorectal cancer in a nested case-control study: the Japan public health center-based prospective study. *Int J Cancer*. 2007;120:2007–2012. [PubMed]
49. Stocks T, Lukanova A, Johansson M, Rinaldi S, Palmqvist R, Hallmans G, Kaaks R, Stattin P. Components of the metabolic syndrome and colorectal cancer risk; a prospective study. *Int J Obes (Lond)* 2007 [PubMed]
50. Wei EK, Ma J, Pollak MN, Rifai N, Fuchs CS, Hankinson SE, Giovannucci E. A prospective study of C-peptide, insulin-like growth factor-I, insulin-like growth factor binding protein-1, and the risk of colorectal cancer in women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005;14:850–855. [PubMed]
51. Hu FB, Manson JE, Liu S, Hunter D, Colditz GA, Michels KB, Speizer FE, Giovannucci E. Prospective study of adult onset diabetes mellitus (type 2) and risk of colorectal cancer in women. *J Natl Cancer Inst*. 1999;91:542–547. [PubMed]
52. Larsson SC, Giovannucci E, Wolk A. Diabetes and colorectal cancer incidence in the cohort of Swedish men. *Diabetes Care*. 2005;28:1805–1807. [PubMed]
53. La Vecchia C, Negri E, Decarli A, Franceschi S. Diabetes mellitus and colorectal cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1997;6:1007–1010. [PubMed]
54. Wolin KY, Yan Y, Colditz GA, Lee IM. Physical activity and colon cancer prevention: a meta-analysis. *Br J Cancer*. 2009 Feb 24; 100(4):611-6.
55. Andrew T. Chan, MD, MPH and Edward L. Giovannucci, MD, ScD. Primary Prevention of Colorectal Cancer. *Gastroenterology*. 2010 Jun; 138(6): 2029–2043.e10.
56. Johnson CM, Wei C, Ensor JE, Smolenski DJ, Amos CI, Levin B, Berry DA. Meta-analyses of Colorectal Cancer Risk Factors. *Cancer Causes Control*. 2013 Jun; 24(6): 1207–1222.
57. White MC, Holman DM, Boehm JE, Peipins LA, Grossman M, Henley J. Age and Cancer Risk, A Potentially Modifiable Relationship. *Am J Prev Med*. 2014 Mar; 46(3 0 1): S7–15.

58. Rapiti E1, Fioretta G, Verkooijen HM, Zanetti R, Schmidlin F, Shubert H, Merglen A, Miralbell R, Bouchardy C. Increased risk of colon cancer after external radiation therapy for prostate cancer. *Int J Cancer*. 2008 Sep 1;123(5):1141-5.
59. Fazeli MS, Keramati MR. Rectal cancer: a review. *Med J Islam Repub Iran*. 2015; 29: 171.
60. Vinikoor LC, Galanko JA, Sandler RS. *Dig Dis Sci*. 2008 Mar; 53(3):730-5. Epub 2007 Aug 21.
61. Zhang Y, Liu H, Li L, Ai M, Gong Z, Dong Y, Xu S, Wang J, Jin B, Liu J, Teng Z. Cholecystectomy can increase the risk of colorectal cancer: A meta-analysis of 10 cohort studies. *PLoS One*. 2017; 12(8): e0181852.
62. Wu SC, Chen WTL, Muo CH, Ke TW, Fang CW, Sung FC. Association between Appendectomy and Subsequent Colorectal Cancer Development: An Asian Population Study. *PLoS One*. 2015; 10(2): e0118411.
63. Mehta RS, Ennis P, Whitten J. Ureterosigmoidostomy associated signet ring colon cancer presenting as hip pain. *J Gastrointest Cancer*. 2012 Mar;43(1):122-7.
64. Shussman N, Wexner SD. Colorectal polyps and polyposis syndromes. *Gastroenterol Rep (Oxf)*. 2014 Feb; 2(1): 1–15.
65. Laurent S, Franchimont D, et al. Familial adenomatous polyposis: clinical presentation, detection and surveillance. *Acta Gastroenterol Belg*. 2011 Sep; 74(3):415-20.
66. Bogaert J, Prenen H. Molecular genetics of colorectal cancer. *Annals of Gastroenterology* (2014) 27, 9-14
67. Zeichner SB, Raj N, Cusnir M, Francavilla M, Hirzel A. A de novo germline APC mutation (3927del5) in a patient with familial adenomatous polyposis: case report and literature review. *Clin Med Insights Oncol* 2012;6:315-323.
68. Quintini C, Ward G, Shatnawei A, Xhaja X, Hashimoto K, Steiger E, Hammel J, Diago Uso T, Burke CA, Church JM. Mortality of intra-abdominal desmoid tumors in patients with familial adenomatous polyposis: a single center review of 154 patients. *Ann Surg*. 2012 Mar; 255(3):511-6.
69. Gu GL, Wang SL, Wei XM, Bai L. Diagnosis and treatment of Gardner syndrome with gastric polyposis: a case report and review of the literature. *World J Gastroenterol*. 2008 Apr 7; 14(13):2121-3.
70. Aletaha M, MD and Hamid Fateh-Moghadam H. Gardner Syndrome. *J Ophthalmic Vis Res*. 2012 Jul; 7(3): 257–260.

71. Bulow S, Bjork J, Christensen IJ, et al. Duodenal adenomatosis in familial adenomatous polyposis. *Gut* 2004;53:381-386.
72. Groves CJ, Saunders BP, Spigelman AD, Phillips RK. Duodenal cancer in patients with familial adenomatous polyposis (FAP): results of a 10 year prospective study. *Gut* 2002;50:636-641.
73. Knudsen AL, Bisgaard ML, Bulow S. Attenuated familial adenomatous polyposis (AFAP). A review of the literature. *Fam Cancer* 2003;2:43-55.
74. Half E, Bercovich D, Rozen P. Familial adenomatous polyposis. *Orphanet J Rare Dis* 2009;4:22.
75. Theodoratou E, Campbell H, Tenesa A, et al. A large-scale metaanalysis to refine colorectal cancer risk estimates associated with MUTYH variants. *Br J Cancer* 2010;103:1875-1884.
76. Campos FG, Figueiredo MN, Martinez CAR. Colorectal cancer risk in hamartomatous polyposis syndromes. *World J Gastrointest Surg.* 2015 Mar 27; 7(3): 25–32.
77. Cauchin E, Touchefeu Y, Matysiak-Budnik T. Hamartomatous Tumors in the Gastrointestinal Tract. *Gastrointestinal Tumors.* 2015 Aug 6; 2(2): 65-74
78. Shaco-Levy R, Jaspersen KW, Martin K, Samadder NJ, Burt RW, Ying J, Bronner MP. Morphologic characterization of hamartomatous gastrointestinal polyps in Cowden syndrome, Peutz-Jeghers syndrome, and juvenile polyposis syndrome. *Hum Pathol.* 2016 Mar;49:39-48. doi: 10.1016/j.humpath.2015.10.002. Epub 2015 Oct 31.
79. Giardiello FM, Trimbath JD. Peutz-Jeghers syndrome and management recommendations. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006;4:408-415.
80. Calva D, Howe J. Juvenile Polyposis. In: Riegert-Johnson DL, Boardman LA, Hefferon T, et al., editors. *Cancer Syndromes* [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2009-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK51310/>
81. PDQ Cancer Genetics Editorial Board. Genetics of Colorectal Cancer (PDQ®): Health Professional Version. 2018 Jan 11. In: *PDQ Cancer Information Summaries* [Internet]. Bethesda (MD): National Cancer Institute (US); 2002-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK126744/>
82. Rex DK, Ahnen DJ, Baron JA, et al. Serrated lesions of the colorectum: review and recommendations from an expert panel. *Am J Gastroenterol* 2012;107:1315-1329.
83. Torlakovic E, Snover DC. Serrated adenomatous polyposis in humans. *Gastroenterology* 1996;110:748-755.
84. Boparai KS, Mathus-Vliegen EM, Koornstra JJ, et al. Increased colorectal cancer risk during follow-up in patients with hyperplastic polyposis syndrome: a multicentre cohort study. *Gut* 2010;59:1094-1100.



85. Bettington M, Walker N, Clouston A, Brown I, Leggett B, Whitehall V. The serrated pathway to colorectal carcinoma: current concepts and challenges. *Histopathology* 2013;62:367-386.
86. Steinke, V; Engel, C; Büttner, R; Schackert, H K; Schmiegel, W H; Propping, P. Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer (HNPCC)/Lynch Syndrome. *Dtsch Arztebl Int* 2013; 110(3): 32-8;
87. Lynch HT, Riley BD, Weissman SM, Coronel SM, Kinarsky Y, Lynch JF, Shaw TG, Rubinstein WS. Hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma (HNPCC) and HNPCC-like families: Problems in diagnosis, surveillance, and management. *Cancer*. 2004 Jan 1; 100(1):53-64.
88. Obermair A, Youlden DR, Young JP, Lindor NM, Baron JA, Newcomb P, Parry S, Hopper JL, Haile R., Jenkins MA. Risk of endometrial cancer for women diagnosed with HNPCC-related colorectal carcinoma. *Int J Cancer*. 2010 Dec 1; 127(11): 2678–2684.
89. Mishra N, Hall J, Identification of Patients at Risk for Hereditary Colorectal Cancer, *Clin Colon Rectal Surg*. 2012 Jun; 25(2): 67–82.
90. Amersi F, Agustin M, Ko CY. Colorectal Cancer: Epidemiology, Risk Factors, and Health Services. *Clin Colon Rectal Surg*. 2005 Aug; 18(3): 133–140.
91. Scott RJ. Familial Adenomatous Polyposis (FAP) and Other Polyposis Syndromes. *Hered Cancer Clin Pract*. 2003; 1(1): 19–30.
92. Ingram JT, Oldfield MC. Hereditary Sebaceous Cysts. *Br Med J*. 1937 May 8;1(3983):960-982.3.
93. Jayasekara H, Reece JC, Buchanan DD, et al. Risk factors for metachronous colorectal cancer following a primary colorectal cancer: A prospective cohort study. *International journal of cancer*. 2016;139(5):1081-1090.
94. Lai, J.H., Park, G., Gerson, L.B. Association between breast cancer and the risk of colorectal cancer . *Gastrointest Endosc*. 2017 Sep;86(3):429-441.
95. Baldwin, L.-M., Trivers, K.F., Andrilla, C.H.A., (...), Lishner, D.M., Goff, B.A. Accuracy of ovarian and colon cancer risk assessments by U.S. physicians. *J Gen Intern Med*. 2014 May;29(5):741-9
96. Triantafyllidis JK, Nasioulas G, Kosmidis PA. Colorectal cancer and inflammatory bowel disease: epidemiology, risk factors, mechanisms of carcinogenesis and prevention strategies. *Anticancer Res*. 2009 Jul;29(7):2727-37.
97. Pulusu SSR, Lawrance IC. Dysplasia and colorectal cancer surveillance in inflammatory bowel disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017 Aug;11(8):711-722.
98. Chotivitayatarakorn P, Vilaichone RK. Colorectal Cancer and Precancerous Lesions Associated with Ulcerative Colitis in Thailand. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2017 Aug 27;18(8):2123-2126.

99. Yashiro M. Ulcerative colitis-associated colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 2014 Nov 28;20(44):16389-97.
100. Jewel Samadder N, Valentine JF, Guthery S, Singh H, Bernstein CN, Wan Y, Wong J, Boucher K, Pappas L, Rowe K, Bronner M, Ulrich CM, Burt RW, Curtin K, Smith KR. Colorectal Cancer in Inflammatory Bowel Diseases: A Population-Based Study in Utah. *Dig Dis Sci*. 2017 Aug;62(8):2126-2132
101. Freeman HJ. Colorectal cancer risk in Crohn's disease. *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2008;14(12):1810-1811. doi:10.3748/wjg.14.1810.
102. Øines M, Helsingen LM, Bretthauer M, Emilsson L. Epidemiology and risk factors of colorectal polyps. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2017 Aug;31(4):419-424.
103. Bailie L, Loughrey MB, Coleman HG. Lifestyle Risk Factors for Serrated Colorectal Polyps: A Systematic Review and Meta-analysis. *Gastroenterology*. 2017 Jan;152(1):92-104.
104. Liang T-J, Wang H-X, Zheng Y-Y, et al. APC hypermethylation for early diagnosis of colorectal cancer: a meta-analysis and literature review. *Oncotarget*. 2017;8(28):46468-46479. doi:10.18632/oncotarget.17576.
105. Chen J-J, Wang A-Q, Chen Q-Q. DNA methylation assay for colorectal carcinoma. *Cancer Biology & Medicine*. 2017;14(1):42-49. doi:10.20892/j.issn.2095-3941.2016.0082.
106. Peluso G, Incollingo P, Calogero A, et al. Current Tissue Molecular Markers in Colorectal Cancer: A Literature Review. *BioMed Research International*. 2017;2017:2605628. doi:10.1155/2017/2605628.
107. Lu H-Y, Lin R-T, Zhou G-X, Yu T-M, Liu Z-J. Critical Role of p53 and K-ras in the Diagnosis of Early Colorectal Cancer: a One-year, Single-center Analysis. *International Journal of Medical Sciences*. 2017;14(11):1154-1162. doi:10.7150/ijms.20538.
108. Toh J, Chapuis PH, Bokey L, Chan C, Spring KJ, Dent OF. Competing risks analysis of microsatellite instability as a prognostic factor in colorectal cancer. *Br J Surg*. 2017 Aug;104(9):1250-1259. doi:10.1002/bjs.10542. Epub 2017 Apr 12.
109. Liang T-J, Wang H-X, Zheng Y-Y, et al. APC hypermethylation for early diagnosis of colorectal cancer: a meta-analysis and literature review. *Oncotarget*. 2017;8(28):46468-46479. doi:10.18632/oncotarget.17576.
110. Chen J-J, Wang A-Q, Chen Q-Q. DNA methylation assay for colorectal carcinoma. *Cancer Biology & Medicine*. 2017;14(1):42-49. doi:10.20892/j.issn.2095-3941.2016.0082.

111. Peluso G, Incollingo P, Calogero A, et al. Current Tissue Molecular Markers in Colorectal Cancer: A Literature Review. *BioMed Research International*. 2017;2017:2605628. doi:10.1155/2017/2605628.
112. Lu H-Y, Lin R-T, Zhou G-X, Yu T-M, Liu Z-J. Critical Role of p53 and K-ras in the Diagnosis of Early Colorectal Cancer: a One-year, Single-center Analysis. *International Journal of Medical Sciences*. 2017;14(11):1154-1162. doi:10.7150/ijms.20538.
113. Toh J, Chapuis PH, Bokey L, Chan C, Spring KJ, Dent OF. Competing risks analysis of microsatellite instability as a prognostic factor in colorectal cancer. *Br J Surg*. 2017 Aug;104(9):1250-1259. doi: 10.1002/bjs.10542. Epub 2017 Apr 12.
114. Yamagishi H, Kuroda H, Imai Y and Hiraishi H Molecular pathogenesis of sporadic colorectal cancers. Yamagishi et al. *Chin J Cancer* (2016) 35:4. DOI 10.1186/s40880-015-0066-y
115. Ml'kva I. Genetics of Colorectal Tumorigenesis (Possibilities of Testing and Screening Prediction of Hereditary Form of Colorectal Cancer--Lynch Syndrome). *Klin Onkol*. 2016;29 Suppl 1:S55-61.
116. Knežević Ušaj S. Molekularni, prognosticki i prediktivni markeri u kolorektalnom karcinomu. In: Krivokapic Z, editor. *Karcinom rektuma*. Beograd: Zavod za udžbenike.; 2012, pp. 375-395.
117. Finlay AM. Colorectal cancer: Epidemiology, risk factors, and protective factors. *Up To Date* , Inc.2016 Nov.
118. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*. 1990 Jun 1;61(5):759-67.
119. Jass JR. Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical, morphological and molecular features. *Histopathology*. 2007;50:113–30.
120. Pancione M, Remo A, Colantuoni V. Genetic and epigenetic events generate multiple pathways in colorectal cancer progression. *Pathol Res Int*. 2012;2012:509348.
121. Minamoto T, Sawaguchi K, Mai M, Yamashita N, Sugimura T, Esumi H. Infrequent K-ras activation in superficial-type (flat) colorectal adenomas and adenocarcinomas. *Cancer Res*. 1994;54:2841–4.
122. Umetani N, Sasaki S, Masaki T, Watanabe T, Matsuda K, Muto T. Involvement of APC and K-ras mutation in non-polypoid colorectal tumorigenesis. *Br J Cancer*. 2000;82:9–15.
123. Aoki T, Takeda S, Yanagisawa A, Kato Y, Ajioka Y, Watanabe H, et al. APC and p53 mutations in de novo colorectal adenocarcinomas. *Hum Mutat*. 1994;3:342–6.
124. Yashiro M, Carethers JM, Laghi L, Saito K, Slezak P, Jaramillo E, et al. Genetic pathways in the evolution of morphologically distinct colorectal neoplasms. *Cancer Res*. 2001;61:2676–83.

125. Kalady MF, Jarrar AM, LaGuardia L, O'Malley M, Church JM. Hyperplastic polyposis syndrome: a call for broader diagnostic criteria. *Hereditary Cancer in Clinical Practice*. 2010;8(Suppl 1):P8. doi:10.1186/1897-4287-8-S1-P8.
126. Colussi D, Brandi G, Bazzoli F, Ricciardiello L. Molecular Pathways Involved in Colorectal Cancer: Implications for Disease Behavior and Prevention. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013;14(8):16365-16385. doi:10.3390/ijms140816365.
127. Yan H, He J, Guan Q, et al. Identifying CpG sites with different differential methylation frequencies in colorectal cancer tissues based on individualized differential methylation analysis. *Oncotarget*. 2017;8(29):47356-47364. doi:10.18632/oncotarget.17647.
128. Larrea AA, Lujan SA, Kunkel TA (). "DNA mismatch repair". *Cell*. 141 2010 (4): 730. doi:10.1016/j.cell.2010.05.002. PMID 20478261.
129. Liu Y, Prasad R, Beard WA, Kedar PS, Hou EW, Shock DD, Wilson SH. "Coordination of Steps in Single-nucleotide Base Excision Repair Mediated by Apurinic/Apyrimidinic Endonuclease 1 and DNA Polymerase  $\beta$ ". *Journal of Biological Chemistry*. 2007. 282 (18): 13532–13541. doi:10.1074/jbc.M611295200. PMC 2366199 Freely accessible. PMID 17355977.
130. Iyer R, Pluciennik A, Burdett V, Modrich P (2006). "DNA mismatch repair: functions and mechanisms". *Chem Rev*. 106(2): 302–23. doi:10.1021/cr0404794. PMID 16464007.
131. Nishisho I, Nakamura Y, Miyoshi Y, Miki Y, Ando H, Horii A, Koyama K, Utsunomiya J, Baba S, Hedge P. "Mutations of chromosome 5q21 genes in FAP and colorectal cancer patients". *Science*. August 1991. 253 (5020): 665–9. doi:10.1126/science.1651563. PMID 1651563.
132. Markowitz SD, Bertagnolli MM. "Molecular origins of cancer: Molecular basis of colorectal cancer". *The New England Journal of Medicine*. December 2009. 361 (25): 2449–60. doi:10.1056/NEJMra0804588. PMC 2843693 Freely accessible. PMID 20018966.
133. Kranenburg O. "The KRAS oncogene: past, present, and future". *Biochimica et Biophysica Acta*. November 2005. 1756 (2): 81–2. doi:10.1016/j.bbcan.2005.10.001. PMID 16269215.
134. Seicean R, Funariu G, Seicean A. Molecular prognostic factors in rectal cancer. *Rom J Gastroenterol*. 2004 Sep;13(3):223-31.
135. Andreyev HJN, Norman AR, Cunningham D, et al. Kirsten ras mutations in patients with colorectal cancer: the "RASCAL II" study. *British Journal of Cancer*. 2001;85(5):692-696. doi:10.1054/bjoc.2001.1964.
136. Gaedcke, Jochen et al. KRAS and BRAF mutations in patients with rectal cancer treated with preoperative chemoradiotherapy. *Radiotherapy and Oncology*, 2010; 94: 76 – 81

137. Nishisho I, Nakamura Y, Miyoshi Y, Miki Y, Ando H, Horii A, Koyama K, Utsunomiya J, Baba S, Hedge P. "Mutations of chromosome 5q21 genes in FAP and colorectal cancer patients". *Science*. August 1991. 253 (5020): 665–9. doi:10.1126/science.1651563. PMID 1651563.
138. Markowitz SD, Bertagnolli MM. "Molecular origins of cancer: Molecular basis of colorectal cancer". *The New England Journal of Medicine*. December 2009. 361 (25): 2449–60. doi:10.1056/NEJMra0804588. PMC 2843693 Freely accessible. PMID 20018966.
139. Popović R, Lulovic- Lj, Novaković I, Stanić M, Bunjevački V, Cvjetičanin S, Stijković O. *Humana genetika, Autorizivana skripta*. Med. fak. UB. CIBID. ISBN 978-7117-264-6. 183-4
140. Surget S, Khoury MP, Bourdon JC. "Uncovering the role of p53 splice variants in human malignancy: a clinical perspective". *OncoTargets and Therapy*. December 2013. 7: 57–68. doi:10.2147/OTT.S53876. PMC 3872270 Freely accessible. PMID 24379683.
141. Read, A. P.; Strachan, T.. *Human molecular genetics 2*. New York: Wiley;ISBN 0-471-33061-2. Chapter 18: Cancer Genetics. 1999
142. Carroll SB; Wessler SR; Griffiths AJF; Lewontin RC (). *Introduction to genetic analysis*. New York: W.H. Freeman and Co. p. 534. ISBN 2008. 0-7167-6887-9.
143. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P, et al. "Chapter 5: DNA Replication, Repair, and Recombination". *Molecular Biology of the Cell* (4th ed.). New York: Garland Science. 2002. p. 845. ISBN 0-8153-3218-1. OCLC 145080076.
144. Capecchi MR. "Altering the genome by homologous recombination". *Science*. June 1989. 244 (4910): 1288–92. doi:10.1126/science.2660260. PMID 2660260.
145. Lyndaker AM, Alani E. "A tale of tails: insights into the coordination of 3' end processing during homologous recombination". *BioEssays*. 31 (3): 315–21. doi:10.1002/bies.200800195. PMC 2958051 Freely accessible March 2009. PMID 19260026.
146. [https://en.wikipedia.org/wiki/Crosslinking\\_of\\_DNA](https://en.wikipedia.org/wiki/Crosslinking_of_DNA)
147. Guainazzi, Angelo; Schärer, Orlando D. "Using synthetic DNA interstrand crosslinks to elucidate repair pathways and identify new therapeutic targets for cancer chemotherapy". *Cellular and Molecular Life Sciences*. 67 (2010-11-01). (21): 3683–3697. doi:10.1007/s00018-010-0492-6. ISSN 1420-682X.
148. Cancer, Cleveland Clinic. "Nitrogen Mustard - Chemotherapy Drugs - Chemocare". chemocare.com. Retrieved 2017-10-09.
149. Moore JK, Haber JE. "Cell cycle and genetic requirements of two pathways of nonhomologous end-joining repair of double-strand breaks in *Saccharomyces cerevisiae*". *Molecular and Cellular*

- Biology. May 1996. 16 (5): 2164–73. doi:10.1128/mcb.16.5.2164. PMC 231204 Freely accessible. PMID 8628283.
150. Boulton SJ, Jackson SP (September 1996). "Saccharomyces cerevisiae Ku70 potentiates illegitimate DNA double-strand break repair and serves as a barrier to error-prone DNA repair pathways". EMBO J. 15 (18): 5093–103. PMC 452249 Freely accessible. PMID 8890183.
151. Wilson TE, Lieber MR. "Efficient processing of DNA ends during yeast nonhomologous end joining. Evidence for a DNA polymerase beta (Pol4)-dependent pathway". J. Biol. Chem. 1999. 274: 23599–23609. doi:10.1074/jbc.274.33.23599. PMID 10438542.
152. Budman J, Chu G. "Processing of DNA for nonhomologous end-joining by cell-free extract". EMBO J. 24. Feb 2005. (4): 849–60. doi:10.1038/sj.emboj.7600563. PMC 549622 Freely accessible. PMID 15692565.
153. Espejel S, Franco S, Rodríguez-Perales S, Bouffler SD, Cigudosa JC, Blasco MA. "Mammalian Ku86 mediates chromosomal fusions and apoptosis caused by critically short telomeres". The EMBO Journal. May 2002\ 21 (9): 2. 207–19. doi:10.1093/emboj/21.9.2207. PMC 125978 Freely accessible. PMID 11980718.
154. PDQ Cancer Genetics Editorial Board. Genetics of Colorectal Cancer (PDQ®). Health Professional Version. PDQ Cancer Information Summaries [Internet]. Published online: February 15, 2018. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmedhealth/PMH0032767/>
155. Shinohara A, Ogawa H, Ogawa T. "Rad51 protein involved in repair and recombination in *S. cerevisiae* is a RecA-like protein". Cell. May 1992; 69 (3): 457–70. doi:10.1016/0092-8674(92)90447-K. PMID 1581961.
156. Seitz, E. M.; Brockman, J. P.; Sandler, S. J.; Clark, A. J.; Kowalczykowski, S. C. "RadA protein is an archaeal RecA protein homolog that catalyzes DNA strand exchange". Genes & Development. 1998-05-01;12 (9): 1248–1253. doi:10.1101/gad.12.9.1248. ISSN 0890-9369. PMC 316774 Freely accessible. PMID 9573041.
157. Shinohara A, Ogawa H, Matsuda Y, Ushio N, Ikeo K, Ogawa T. "Cloning of human, mouse and fission yeast recombination genes homologous to RAD51 and recA". Nature Genetics Jul 1993. 4 (3): 239–43. doi:10.1038/ng0793-239. PMID 8358431.
158. Sharan, S K; Morimatsu M, Albrecht U, Lim D S, Regel E, Dinh C, Sands A, Eichele G, Hasty P, Bradley A (April 1997). "Embryonic lethality and radiation hypersensitivity mediated by Rad51 in mice lacking Brca2". Nature (ENGLAND) 386 (6627): 804–10. ISSN 0028-0836. PMID 9126738. doi:10.1038/386804a0.

159. in, Horng-Ru; Ting Nicholas S Y, Qin Jun, Lee Wen-Hwa (September 2003). "M phase-specific phosphorylation of BRCA2 by Polo-like kinase 1 correlates with the dissociation of the BRCA2-P/CAF complex". *J. Biol. Chem. (United States)* 278 (38): 35979–87. ISSN 0021-9258. PMID 12815053. doi:10.1074/jbc.M210659200.
160. Yu, David S; Sonoda Eiichiro, Takeda Shunichi, Huang Christopher L H, Pellegrini Luca, Blundell Tom L, Venkitaraman Ashok R (October 2003). "Dynamic control of Rad51 recombinase by self-association and interaction with BRCA2". *Mol. Cell (United States)* 12 (4): 1029–41. ISSN 1097-2765. PMID 14580352. doi:10.1016/S1097-2765(03)00394-0.
161. Aihara, H., Ito, Y., Kurumizaka, H., Yokoyama, S., and Shibata, T. *J Mol Biol.* 1999.290, 495-504
162. Renodon-Cornière A, Weigel P, Le Breton M, Fleury F. New Potential Therapeutic Approaches by Targeting Rad51- Dependent Homologous Recombination. *Biochemistry, Genetics and Molecular Biology* » "New Research Directions in DNA Repair", book edited by Clark Chen, ISBN 978-953-51-1114-6, Published: May 22, 2013 under CC BY 3.0 license. © The Author(s).Chapter 17 DOI: 10.5772/53973
163. Jackson SP. Sensing and repairing DNA double-strand breaks. *Carcinogenesis* 2002; 23: 687-696. 6.
164. Helleday T. Pathways for mitotic homologous recombination in mammalian cells. *Mutat Res* 2003; 532: 103-115.
165. Sung,P., Krejci,L., Van Komen,S. and Sehorn,M.G. Rad51 recombinase and recombination mediators. *J. Biol. Chem.* 2003, 278, 42729–42732.
166. Ogawa,T., Yu,X., Shinohara,A. and Egelman,E.H. Similarity of the yeast RAD51 filament to the bacterial RecA filament. *Science* 1993, 259, 1896–1899.
167. Chen,Z., Yang,H. and Pavletich,N.P. Mechanism of homologous recombination from the RecA-ssDNA/dsDNA structures. *Nature* 2008, 453, 489–484.
168. Sage, J.M., Gildemeister O.S. and Knight,K.L. Discovery of a novel function for human Rad51: maintenance of the mitochondrial genome. *J. Biol. Chem.*, 2010, 285, 18984–18990.
169. Kuschel B, Auranen A,McBride S, et al. Variants in DNA double-strand break repair genes and breast cancer susceptibility. *Hum Mol Genet* 2002; 11: 1399-1407.
170. Lee KM, Choi JY, Kang C, et al. Genetic polymorphisms of selected DNA repair genes, estrogen and progesterone receptor status, and breast cancer risk. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 4620-4626.

171. Romanowicz-Makowska H1, Samulak D, Michalska M, Sporny S, Langner E, Dziki A, Sychowski R, Smolarz B. RAD51 gene polymorphisms and sporadic colorectal cancer risk in Poland. *Pol J Pathol*. 2012 Nov;63(3):193-8.
172. Fanliang Kong, Jin Wu, Lixia Hu, Yingying Du, and Yueyin Pan. Association between RAD51 polymorphisms and susceptibility of head and neck cancer: a meta-analysis. *Int J Clin Exp*
173. Yan Li, Wei-ya Wang, Jiang-hong Xiao, Feng Xu, Dian-ying Liao, Li Xie, Jin Wang and Feng Luo. Overexpression of Rad51 Predicts Poor Prognosis in Colorectal Cancer: Our Experience with 54 Patients *PLoS One*. 2017; 12(1): e0167868. Published online 2017 Jan 18. doi: 10.1371/journal.pone.0167868 PMID: MC5242438
174. Qiao GB, Wu YL, Yang XN, Zhong WZ, Xie D, Guan XY, Fischer D, Kolberg HC, Kruger S, Stuerzbecher HW High-level expression of Rad51 is an independent prognostic marker of survival in non-small-cell lung cancer patients. *Br J Cancer*. 2005 Jul 11; 93(1):137-43.
175. Maacke H, Opitz S, Jost K, Hamdorf W, Henning W, Krüger S, Feller AC, Lopens A, Diedrich K, Schwinger E, Stürzbecher HW. Over-expression of wild-type Rad51 correlates with histological grading of invasive ductal breast cancer. *Int J Cancer*. 2000 Dec 15; 88(6):907-13. *Med*. 2015; 8(4): 6412–6419. Published online 2015 Apr 15. PMID: PMC4483860
176. Iwata T, Shimada M, Kurita N, Nishioka M, Morimoto S, Yoshikawa K, Higashijima J, Nakao T, Komatsu M. Evaluation of relation of RAD51 and the effect of chemo-radiation therapy for advanced rectal cancer. *Hepatogastroenterology*. 2012 Jun;59(116):990-3. doi: 10.5754/hge10068.
177. <https://www.oncomine.org/resource/login.html>
178. Raderschall, E., Stout, K., Freier, S., Suckow, V., Schweiger, S., & Haaf, T. (2002). Elevated levels of Rad51 recombination protein in tumor cells. *Cancer Res* 62, 219–225.
179. Mathews, L. A., Cabarcas, S. M., Hurt, E. M., Zhang, X., Jaffee, E. M., & Farrar, W. L. (2011). Increased expression of DNA repair genes in invasive human pancreatic cancer cells. *Pancreas* 40, 730–739.
180. Qiao, G. B., Wu, Y. L., Yang, X. N., Zhong, W. Z., Xie, D., Guan, X. Y., et al. (2005). High-level expression of Rad51 is an independent prognostic marker of survival in non-smallcell lung cancer patients. *Br J Cancer* 93, 137–143.
181. Mitra, A., Jameson, C., Barbachano, Y., Sanchez, L., Kote-Jarai, Z., Peock, S., et al. (2009). Overexpression of RAD51 occurs in aggressive prostatic cancer. *Histopathology* 55, 696–704.



182. Tennstedt, P., Fresow, R., Simon, R., Marx, A., Terracciano, L., Petersen, C., et al. (2013). RAD51 overexpression is a negative prognostic marker for colorectal adenocarcinoma. *Int J Cancer* 132, 2118–2126.
183. Wahba, L., Gore, S. K., & Koshland, D. (2013). The homologous recombination machinery modulates the formation of RNA–DNA hybrids and associated chromosome instability. *Elife* 2, e00505.
184. Shamma, M. A., Shmookler Reis, R. J., Koley, H., Batchu, R. B., Li, C., & Munshi, N. C. (2009). Dysfunctional homologous recombination mediates genomic instability and progression in myeloma. *Blood* 113, 2290–2297.
185. Pal, J., Bertheau, R., Buon, L., Qazi, A., Batchu, R. B., Bandyopadhyay, S., et al. (2011). Genomic evolution in Barrett's adenocarcinoma cells: critical roles of elevated hsRAD51, homologous recombination and Alu sequences in the genome. *Oncogene* 30, 3585–3598.
186. Wiegman, A. P., Al-Ejeh, F., Chee, N., Yap, P. Y., Gorski, J. J., Da, S. L., et al. (2014). Rad51 supports triple negative breast cancer metastasis. *Oncotarget* 5, 3261–3272.
187. Takenaka, T., Yoshino, I., Kouso, H., Ohba, T., Yohena, T., Osoegawa, A., et al. (2007). Combined evaluation of Rad51 and ERCC1 expressions for sensitivity to platinum agents in non-small cell lung cancer. *Int J Cancer* 121, 895–900.
188. Graeser, M., McCarthy, A., Lord, C. J., Savage, K., Hills, M., Salter, J., et al. (2010). A marker of homologous recombination predicts pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy in primary breast cancer. *Clin Cancer Res* 16, 6159–6168.
189. Hannay, J. A., Liu, J., Zhu, Q. S., Bolshakov, S. V., Li, L., Pisters, P. W., et al. (2007). Rad51 Overexpression contributes to chemoresistance in human soft tissue sarcoma cells: a role for p53/activator protein 2 transcriptional regulation. *Mol Cancer Ther* 6, 1650–1660.
190. Liu, Q., Jiang, H., Liu, Z., Wang, Y., Zhao, M., Hao, C., et al. (2011). Berberine radiosensitizes human esophageal cancer cells by downregulating homologous recombination repair protein RAD51. *PLoS One* 6, e23427.
191. Zhao, H., Luoto, K. R., Meng, A. X., & Bristow, R. G. (2011). The receptor tyrosine kinase inhibitor amuvatinib (MP470) sensitizes tumor cells to radio- and chemo-therapies in part by inhibiting homologous recombination. *Radiother Oncol* 101, 59–65.
192. Nivatvongs S. *Diagnosis In Principles and Practice of Surgery for the Colon, Rectum and Anus.* Informa Healthcare USA 2007. 3rd Edition. 65-99.

193. Vega P, Fátima F, Cubiella J. Colorectal cancer diagnosis: Pitfalls and opportunities. *World J Gastrointest Oncol*. 2015 Dec 15; 7(12): 422–433.
194. John SK, George S, Primrose JN, Fozard JB. Symptoms and signs in patients with colorectal cancer. *Colorectal Dis*. 2011 Jan;13(1):17-25.
195. Ashraf I, Paracha SR, Arif M, Choudhary A, Matteson ML, Clark RE, Godfrey JD, Hammad HT, Bechtold ML. Digital rectal examination versus spontaneous passage of stool for fecal occult blood testing. *South Med J*. 2012 Jul;105(7):357-61. doi: 10.1097/SMJ.0b013e31825bfdc5.
196. Brown G, Davies S, Williams GT, et al. Effectiveness of preoperative staging in rectal cancer: digital rectal examination, endoluminal ultrasound or magnetic resonance imaging? *British Journal of Cancer*. 2004;91(1):23-29. doi:10.1038/sj.bjc.6601871.
197. Lech G, Słotwiński R, Słodkowski M, Krasnodębski IW. Colorectal cancer tumour markers and biomarkers: Recent therapeutic advances. *World Journal of Gastroenterology*. 2016;22(5):1745-1755. doi:10.3748/wjg.v22.i5.1745.
198. Stiksma J, Grootendorst DC, van der Linden PW. CA 19-9 as a marker in addition to CEA to monitor colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer*. 2014 Dec;13(4):239-44. doi: 10.1016/j.clcc.2014.09.004. Epub 2014 Sep 18.
199. Bechtold ML, Mir F, Puli SR, Nguyenc DL. Optimizing bowel preparation for colonoscopy: a guide to enhance quality of visualization. *Ann Gastroenterol*. 2016 Apr-Jun; 29(2): 137–146.
200. Takahashi T, Zarate X, Velasco L, Mass W, Garcia-Osogobio S, Jimenez R, Tellez O, Ponce-de-Leon S. Rigid rectosigmoidoscopy: still a well-tolerated diagnostic tool. *Rev Invest Clin*. 2003 Nov-Dec;55(6):616-20.
201. Rao VS, Ahmad N, Al-Mukhtar A, Stojkovic S, Moore PJ, Ahmad SM. Comparison of rigid vs flexible sigmoidoscopy in detection of significant anorectal lesions. *Colorectal Dis*. 2005 Jan;7(1):61-4.
202. Issa IA, Nouredine M. Colorectal cancer screening: An updated review of the available options. *World J Gastroenterol*. 2017 Jul 28; 23(28): 5086–5096.
203. Nagorni A. Kolonoskopija u dijagnostici karcinoma rektuma i potencijalnom tretmanu lezija, u Karcinom rektuma. *Zavod za udžbenije, Beograd 2012*. 111-121
204. Yoon JW, Lee SH, Ahn BK, Baek SU. Clinical Characteristics of Multiple Primary Colorectal Cancers. *Cancer Research and Treatment : Official Journal of Korean Cancer Association*. 2008;40(2):71-74. doi:10.4143/crt.2008.40.2.71.

205. Lee BC, Yu CS, Kim J, et al. Clinicopathological features and surgical options for synchronous colorectal cancer. *Amoronyotin. S, ed. Medicine.* 2017;96(9):e6224. doi:10.1097/MD.0000000000006224.
206. Bujanda L, Cosme A, Gil I, Arenas-Mirave JI. Malignant colorectal polyps. *World Journal of Gastroenterology : WJG.* 2010;16(25):3103-3111. doi:10.3748/wjg.v16.i25.3103.
207. Shussman N, Wexner SD. Colorectal polyps and polyposis syndromes. *Gastroenterology Report.* 2014;2(1):1-15. doi:10.1093/gastro/got041.
208. Ahlquist DA. Review Multi-target stool DNA test: a new high bar for noninvasive screening. *Dig Dis Sci.* 2015 Mar; 60(3):623-33.
209. Geiger TM, Ricciardi R. Screening Options and Recommendations for Colorectal Cancer. *Clinics in Colon and Rectal Surgery.* 2009;22(4):209-217. doi:10.1055/s-0029-1242460.
210. Beck DE. The Importance of Colorectal Cancer Screening. *The Ochsner Journal.* 2015;15(1):11-12.
211. Ciatto S, Castiglione G. Role of double-contrast barium enema in colorectal cancer screening based on fecal occult blood. *Tumori.* 2002 Mar-Apr;88(2):95-8.
212. Ramos C, De Jesús-Caraballo J, Toro DH, Ojeda A, Martínez-Souss J, Dueño MI, Cruz-Correa M. Is barium enema an adequate diagnostic test for the evaluation of patients with positive fecal occult blood? *Bol Asoc Med P R.* 2009 Apr-Jun; 101(2):23-8.
213. Hong SY, Kim DY, Oh SY, Suh KW. Routine barium enema prior to closure of defunctioning ileostomy is not necessary. *Journal of the Korean Surgical Society.* 2012;83(2):88-91. doi:10.4174/jkss.2012.83.2.88.
214. Doeksen A, Tanis PJ, Wüst AFJ, Vrouwenraets BC, van Lanschot JJB, van Tets WF. Radiological evaluation of colorectal anastomoses. *International Journal of Colorectal Disease.* 2008;23(9):863-868. doi:10.1007/s00384-008-0487-z.
215. Levine MS, Yee J. History, evolution, and current status of radiologic imaging tests for colorectal cancer screening. *Radiology.* 2014 Nov;273(2 Suppl):S160-80. doi: 10.1148/radiol.14140531.
216. Pickhardt PJ, Hassan C, Halligan S, Marmo R. Colorectal Cancer: CT Colonography and Colonoscopy for Detection—Systematic Review and Meta-Analysis. *Radiology.* 2011;259(2):393-405. doi:10.1148/radiol.11101887.
217. Yee J, Weinstein S, Morgan T, Allore P, Aslam R. Advances in CT Colonography for Colorectal Cancer Screening and Diagnosis. *Journal of Cancer.* 2013;4(3):200-209. doi:10.7150/jca.5858.

218. Kim HY, Lee SJ, Lee G, Song L, Kim SA, Kim JY, Chang DK, Rhee PL, Kim JJ, Rhee JC, Chun HK, Kim YH. Should preoperative chest CT be recommended to all colon cancer patients? *Ann Surg*. 2014 Feb;259(2):323-8. doi: 10.1097/SLA.0b013e3182865080.
219. Schima W, Kulinna C, Langenberger H, Ba-Ssalamah A. Liver metastases of colorectal cancer: US, CT or MR?: Wednesday 5 October 2005, 14:00–16:00. *Cancer Imaging*. 2005;5 (Spec No A):S149-S156. doi:10.1102/1470-7330.2005.0035.
220. Petersen RK, Hess S, Alavi A, Høilund-Carlsen PF. Clinical impact of FDG-PET/CT on colorectal cancer staging and treatment strategy. *American Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. 2014;4(5):471-482.
221. Kekelidze M, D'Errico L, Pansini M, Tyndall A, Hohmann J. Colorectal cancer: Current imaging methods and future perspectives for the diagnosis, staging and therapeutic response evaluation. *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2013;19(46):8502-8514. doi:10.3748/wjg.v19.i46.8502.
222. Guend H, Patel S, Nash GM. Abdominal metastases from colorectal cancer: intraperitoneal therapy. *Journal of Gastrointestinal Oncology*. 2015;6(6):693-698. doi:10.3978/j.issn.2078-6891.2015.078.
223. Lauterbur, P.C.. «Image Formation by Induced Local Interactions: Examples of Employing Nuclear Magnetic Resonance». *Nature*, vol. 242, pàg. 190–1.
224. Idy-Peretti I, Bittuon J. Physical basis in Vanel D, McNamara MT. *MRI of the Body*. Springer Science & Business Media, 06.12.2012.1-28
225. Kaur H, Choi H, You N, Rauch G, Jensen C, Hou P, Chang GJ, Skibber JM, Ernst RD. MR Imaging for Preoperative Evaluation of Primary Rectal Cancer: Practical Considerations. *RadioGraphics* 2012; 32:389–409
226. Brown G, Richards CJ, Newcombe RG, et al. Rectal carcinoma: thin-section MR imaging for staging in 28 patients. *Radiology* 1999;211(1):215–222.
227. MERCURY Study Group. Extramural depth of tumor invasion at thin-section MR in patients with rectal cancer: results of the MERCURY study. *Radiology* 2007;243(1):132–139.
228. Brown G, Richards CJ, Bourne MW, et al. Morphologic predictors of lymph node status in rectal cancer with use of high-spatial-resolution MR imaging with histopathologic comparison. *Radiology* 2003; 227(2):371–377.
229. Heald RJ, Moran BJ, Ryall RD, Sexton R, MacFarlane JK. Rectal cancer: the Basingstoke experience of total mesorectal excision, 1978–1997. *Arch Surg* 1998;133(8):894–899.

230. MERCURY Study Group. Diagnostic accuracy of preoperative magnetic resonance imaging in predicting curative resection of rectal cancer: prospective observational study. *BMJ* 2006;333(7572):779.
231. Beets-Tan RG, Beets GL, Vliegen RF, et al. Accuracy of magnetic resonance imaging in prediction of tumour-free resection margin in rectal cancer surgery. *Lancet* 2001;357(9255):497–504.
232. Chun HK, Choi D, Kim MJ, et al. Preoperative staging of rectal cancer: comparison of 3-T highfield MRI and endorectal sonography. *AJR Am J Roentgenol* 2006;187(6):1557–1562.
233. Beets-Tan RG, Beets GL. Rectal cancer: review with emphasis on MR imaging. *Radiology* 2004;232(2): 335–346.
234. Merkel S, Mansmann U, Siassi M, Papadopoulos T, Hohenberger W, Hermanek P. The prognostic inhomogeneity in pT3 rectal carcinomas. *Int J Colorectal Dis* 2001;16(5):298–304.
235. Brown G, Radcliffe AG, Newcombe RG, Dallimore NS, Bourne MW, Williams GT. Preoperative assessment of prognostic factors in rectal cancer using high-resolution magnetic resonance imaging. *Br J Surg* 2003;90(3):355–364
236. Bipat S, Glas AS, Slors FJ, Zwinderman AH, Bossuyt PM, Stoker J. Rectal cancer: local staging and assessment of lymph node involvement with endoluminal US, CT, and MR imaging—a metaanalysis. *Radiology* 2004;232(3):773–783.
237. Kolev NY, Tonev AY, Ignatov VL, et al. The Role of 3-D Endorectal Ultrasound in Rectal Cancer: Our Experience. *International Surgery*. 2014;99(2):106-111. doi:10.9738/INTSURG-D-13-00227.1.
238. Cote A, graur f, Lebovici A, et al. The accuracy of endorectal ultrasonography in rectal cancer staging. *Clujul Medical*. 2015;88(3):348-356. doi:10.15386/cjmed-481.
239. Cârțână ET, Gheonea DI, Săftoiu A. Advances in endoscopic ultrasound imaging of colorectal diseases. *World Journal of Gastroenterology*. 2016;22(5):1756-1766. doi:10.3748/wjg.v22.i5.1756.
240. R. Glynne-Jones, L. Wyrwicz, E. Tiret, G. Brown, C. Rodel, A. Cervantes, D. Arnold on behalf of the ESMO Guidelines Committee. Rectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2013 Oct;24 Suppl 6:vi81-8. doi: 10.1093/annonc/mdt240.
241. Dukes CE. The classification of cancer of the rectum. *J Pathol Bact* 1932;35: 323-32
242. Makkai-Popa ST, Luncă S, Dimofte G, Vrânceanu A, Franciug D, Ivanov I, Zugun F, Târcoveanu E, Carasevici E. Correlation of lymphocytic infiltrates with the prognosis of recurrent colo-rectal cancer. *Chirurgia (Bucur)*. 2013 Nov-Dec;108(6):859-65.

243. Astler VB, Collier FA. The prognostic significance of direct extension of carcinoma of the colon and rectum. *Ann Surg* 1954; 139: 846-9
244. Wu JS. Rectal Cancer Staging. *Clinics in Colon and Rectal Surgery*. 2007;20(3):148-157. doi:10.1055/s-2007-984859.
245. Usaj S. Kolorektalni karcinom-postoperativni patohistoloski izveštaj-mikroskopska analiza, standard i preporuke. *Konkonzus konferencija-dijagnostika i lečenje carcinoma debelog creva*. Beograd 2003: 67-74
246. Micev M, Cosic M, Micev M, Todorovic V. Postoperativ pathological examination of colorectal cancer. *Acta Hirurgica Iugoslavica. Supplementum I*. 2000: 67-76
247. Micev M. Rana, preoperativna i intraoperativna histopatoloska dijagnostika kolorektalnog carcinoma. *Konkonzus konferencija – dijagnostika i lečenje carcinoma debelog creva*. Beograd 2003: 56-66
248. Richards CH, Roxburgh CS, Powell AG, Foulis AK, Horgan PG, McMillan DC. The clinical utility of the local inflammatory response in colorectal cancer. *Eur J Cancer*. 2014 Jan; 50(2):309-19. Epub 2013 Oct 5.
249. Roxburgh CS, McMillan DC. The role of the in situ local inflammatory response in predicting recurrence and survival in patients with primary operable colorectal cancer. *Cancer Treat Rev*. 2012 Aug; 38(5):451-66. Epub 2011 Sep 25.
250. Ueno H, Shinto E, Shimazaki H, Kajiwara Y, Sueyama T, Yamamoto J, Hase K. Histologic categorization of desmoplastic reaction: its relevance to the colorectal cancer microenvironment and prognosis. *Ann Surg Oncol*. 2015 May;22(5):1504-12.
251. Nitsche U, Zimmermann A, Späth C, Müller T, Maak M, Schuster T, Slotta-Huspenina J, Käser SA, Michalski CW, Janssen KP, Friess H, Rosenberg R, Bader FG. Mucinous and Signet-Ring Cell Colorectal Cancers Differ from Classical Adenocarcinomas in Tumor Biology and Prognosis *Ann Surg*. 2013 Nov; 258(5): 775–783. Published online 2013 Oct 23
252. Farhat MH, Barada KA, Tawil AN, Itani DM, Hatoum HA, Shamseddine AI. Effect of mucin production on survival in colorectal cancer: A case-control study. *World J Gastroenterol*. 2008 Dec 7; 14(45): 6981–6985. Published online 2008 Dec 7
253. Park JS, Huh JW, Park YA, Cho YB, Yun SH, Kim HC, Lee WY and Chun HK. Prognostic Comparison Between Mucinous and Nonmucinous Adenocarcinoma in Colorectal Cancer. *Medicine (Baltimore)*. 2015 Apr; 94(15): e658. Published online 2015 Apr 17.

254. Fleming M, Ravula S, Tatishchev SF, Wang HL. Colorectal carcinoma: Pathologic aspects. *J Gastrointest Oncol*. 2012 Sep; 3(3): 153–173.
255. Zippi M, De Toma G, Minervini G, et al. Desmoplasia Influenced Recurrence of Disease and Mortality in Stage III Colorectal Cancer within Five Years after Surgery and Adjuvant Therapy. *Saudi Journal of Gastroenterology : Official Journal of the Saudi Gastroenterology Association*. 2017;23(1):39-44. doi:10.4103/1319-3767.199114.
256. Conti J, Thomas G. The Role of Tumour Stroma in Colorectal Cancer Invasion and Metastasis. *Cancers*. 2011;3(2):2160-2168. doi:10.3390/cancers3022160
257. Han Liu, Qingyong Ma, Qinhong Xu, Jianjun Lei, Xuqi Li, Zheng Wang, and Erxi Wu. Therapeutic Potential of Perineural Invasion, Hypoxia and Desmoplasia in Pancreatic Cancer. *Curr Pharm Des*. Author manuscript; available in PMC 2012 Aug 9. Published in final edited form as: *Curr Pharm Des*. 2012; 18(17): 2395–2403.
258. Alberts, B; Johnson, A; Lewis, J. *Molecular Biology of the Cell* (5th ed.). Garland Science, Taylor & Francis Group. (2008). pp. 1164–1165, 1178–1195.
259. Foda, Hussein D; Zucker, Stanley. "Matrix metalloproteinases in cancer invasion, metastasis and angiogenesis". *Drug Discovery Today*. (2001) 6 (9): 478–482. doi:10.1016/S1359-6446(01)01752-4. PMID 11344033.
260. Arena EA, Bilchik AJ. What is the Optimal Means of Staging Colon Cancer? *Advances in surgery*. 2013;47:199-211.
261. Hari DM, Leung AM, Lee J-H, et al. AJCC-7TH Edition Staging Criteria for Colon Cancer: Do the Complex Modifications Improve Prognostic Assessment? *Journal of the American College of Surgeons*. 2013;217(2):181-190. doi:10.1016/j.jamcollsurg.2013.04.018.
262. National Collaborating Centre for Cancer (UK). *Colorectal Cancer: The Diagnosis and Management of Colorectal Cancer*. Cardiff: National Collaborating Centre for Cancer (UK); 2011 Nov. (NICE Clinical Guidelines, No. 131.) 2, Investigation, diagnosis and staging. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK116643/>
263. Nivatvongs S, Gordon PH. Malignant neoplasms of the colon In *Principles and Practice of Surgery for the Colon, Rectum and Anus*. Informa Healthcare USA 2007. 3rd Edition. 489-644
264. Lu J-Y, Xu L, Xue H-D, et al. The Radical Extent of lymphadenectomy — D2 dissection versus complete mesocolic excision of Laparoscopic Right Colectomy for right-sided colon cancer (RELARC) trial: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*. 2016;17:582. doi:10.1186/s13063-016-1710-9.

265. Xynos E, Gouvas N, Triantopoulou C, et al. Clinical practice guidelines for the surgical management of colon cancer: a consensus statement of the Hellenic and Cypriot Colorectal Cancer Study Group by the HeSMO. *Annals of Gastroenterology : Quarterly Publication of the Hellenic Society of Gastroenterology*. 2016;29(1):3-17.
266. Rodriguez-Bigas MA, Lin EH, Crane CH. Surgical Management of Colorectal Cancer. In: Kufe DW, Pollock RE, Weichselbaum RR, et al., editors. *Holland-Frei Cancer Medicine*. 6th edition. Hamilton (ON): BC Decker; 2003. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK13270/>
267. Dimitriou N, Griniatsos J. Complete mesocolic excision: Techniques and outcomes. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*. 2015;7(12):383-388. doi:10.4251/wjgo.v7.i12.383.
268. Di Cataldo A, La Greca G, Lanteri R, Rapisarda C, Li Destri G, Licata A. Cancer of the sigmoid colon: left hemicolectomy or sigmoidectomy? *Int Surg*. 2007 Jan-Feb;92(1):10-4.
269. Nakai N, Yamaguchi T, Kinugasa Y, et al. Laparoscopic Sigmoid Colectomy for a Patient With Sigmoid Colon Cancer and Crossed-Fused Renal Ectopia: A Case Report. *International Surgery*. 2015;100(3):423-427. doi:10.9738/INTSURG-D-13-00255.1.
270. Fazeli MS, Keramati MR. Rectal cancer: a review. *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran*. 2015;29:171.
271. Koedam TWA, van Ramshorst GH, Deijen CL, et al. Transanal total mesorectal excision (TaTME) for rectal cancer: effects on patient-reported quality of life and functional outcome. *Techniques in Coloproctology*. 2017;21(1):25-33. doi:10.1007/s10151-016-1570-z.
272. Krivokapić ZV. Totalna mezorktalna ekscizija, u Karcinom rektuma. *Zavod za udžbenije, Beograd 2012*. 175-96
273. Krivokapić ZV, Dimitrijević I, Očuvanje vegetativnih nerava tokom totalne mezorektalne ekscizije zbog karcinoma rektuma, u Karcinom rektuma. *Zavod za udžbenije, Beograd 2012*. 205-218
274. Marković V, Sekulić A. Protektivna stoma kod niskih resekcija rektuma, u Karcinom rektuma. *Zavod za udžbenije, Beograd 2012*. 281-96
275. Barišić G, Krivokapić ZV. Intersfinkterične resekcije rektuma, u Karcinom rektuma. *Zavod za udžbenije, Beograd 2012*. 219-28
276. Krivokapić ZV. Multivisceralne resekcije kod karcinoma u odmaklom stadijumu, u Karcinom rektuma. *Zavod za udžbenije, Beograd 2012*. 297-316275.
277. Šćepanović D. Izbor radioterapijskih metoda u lečenju bolesnika sa recidivnim i inoperabilnim karcinomom rektuma, *Magistarski rad, Beograd 1995*. 23 (Bekerus i sar. 1991.)



278. Stanković J. Aparati koji proizvode zracenje u radioterapiji. U: Osnovi radioloske fizike u radioterapiji. Fakultet za fizicku hemiju, Beograd. 1997;58-82.
279. Steel GG, Basic Clinical Radiobiology. London - Melbourne - Auckland: Edvard Arnold, 1993.
280. Baskar R, Lee KA, Yeo R, Yeoh KW. Cancer and Radiation Therapy: Current Advances and Future Directions. *Int J Med Sci* 2012; 9(3):193-199. doi:10.7150/ijms.3635
281. Deloch L, Derer A, Hartmann J, Frey B, Fietkau R, Gaipl US. Modern Radiotherapy Concepts and the Impact of Radiation on Immune Activation. *Front. Oncol.*, 20 June 2016 <https://doi.org/10.3389/fonc.2016.00141>
282. Golden B, Apetoh L. Radiotherapy and Immunogenic Cell Death. *Seminars in Radiation Oncology*. Volume 25, Issue 1, January 2015, Pages 11-17
283. Eriksson D, Stigbrand T. Radiation-induced cell death mechanisms. *Tumour Biol*. 2010 Aug;31(4):363-72. doi: 10.1007/s13277-010-0042-8. Epub 2010 May 20.
284. Kalyan A, Rozelle S, Benson A. Neoadjuvant treatment of rectal cancer: where are we now? *Gastroenterology Report*. 2016;4(3):206-209. doi:10.1093/gastro/gow017.
285. Boland PM, Fakhri M. The emerging role of neoadjuvant chemotherapy for rectal cancer. *Journal of Gastrointestinal Oncology*. 2014;5(5):362-373. doi:10.3978/j.issn.2078-6891.2014.060.
286. Glimelius B. Neo-adjuvant radiotherapy in rectal cancer. *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2013;19(46):8489-8501. doi:10.3748/wjg.v19.i46.8489.
287. Ganesh V, Agarwal A, Popovic M, Cella D, McDonald R, Vuong S, Lam H, Rowbottom L, Chan S, Barakat T, et al. Comparison of the FACT-C, EORTC QLQ-CR38, and QLQ-CR29 quality of life questionnaires for patients with colorectal cancer: a literature review. *Support Care Cancer*. 2016 Aug; 24(8):3661-8. Epub 2016 May 18.
288. Kye B-H, Cho H-M. Overview of Radiation Therapy for Treating Rectal Cancer. *Annals of Coloproctology*. 2014;30(4):165-174. doi:10.3393/ac.2014.30.4.165.
289. Krishnamurthi SS, Seo Y, Kinsella TJ. Adjuvant Therapy for Rectal Cancer. *Clin Colon Rectal Surg*. 2007 Aug; 20(3): 167–181.
290. Mirnezami R, Chang GJ, Das P, et al. Intraoperative radiotherapy in colorectal cancer: Systematic review and meta-analysis of techniques, long-term outcomes, and complications. *Surgical oncology*. 2013;22(1):22-35. doi:10.1016/j.suronc.2012.11.001.
291. Sprawka A, Pietrzak L, Garmol D, Tyc-Szczepaniak D, Kepka L, Bujko K. Definitive radical external beam radiotherapy for rectal cancer: evaluation of local effectiveness and risk of late small bowel

- damage. *Acta Oncol.* 2013 May;52(4):816-23. doi: 10.3109/0284186X.2012.707786. Epub 2012 Aug 6.
292. Habr-Gama A, et al. Nonoperative management of rectal cancer: identifying the ideal patients. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2015.
293. Kim M-J, Kim ES, Yeo S-G. Definitive high-dose radiotherapy with concurrent chemotherapy for locally advanced rectal cancer: A case report and literature review. *Kyrgias. G, ed. Medicine.* 2016;95(40):e5059. doi:10.1097/MD.0000000000005059.
294. Tanaka H, Yamaguchi T, Hachiya K, et al. Radiotherapy for locally recurrent rectal cancer treated with surgery alone as the initial treatment. *Radiation Oncology Journal.* 2017;35(1):71-77. doi:10.3857/roj.2016.02005.
295. Moriya Y; Treatment Strategy for Locally Recurrent Rectal Cancer, *Japanese Journal of Clinical Oncology*, Volume 36, Issue 3, 1 March 2006, Pages 127–131, <https://doi.org/10.1093/jjco/hyi247>
296. Cameron MG, Kersten C, Vistad I, Fosså S, Guren MG. Palliative pelvic radiotherapy of symptomatic incurable rectal cancer – a systematic review. *Acta Oncologica (Stockholm, Sweden).* 2014;53(2):164-173. doi:10.3109/0284186X.2013.837582.
297. Cameron MG, Kersten C, Vistad I, van Helvoirt R, Weyde K, Undseth C, Mjaaland I, Skovlund E6, Fosså SD, Guren MG. Palliative pelvic radiotherapy for symptomatic rectal cancer - a prospective multicenter study. *Acta Oncol.* 2016 Dec;55(12):1400-1407. Epub 2016 Jun 22.
298. Couch DG, Hemingway DM. Complete radiotherapy response in rectal cancer: A review of the evidence. *World Journal of Gastroenterology.* 2016;22(2):467-470. doi:10.3748/wjg.v22.i2.467.
299. Huang C-M, Huang M-Y, Ma C-J, et al. Neoadjuvant FOLFOX chemotherapy combined with radiotherapy followed by radical resection in patients with locally advanced colon cancer. *Radiation Oncology (London, England).* 2017;12:48. doi:10.1186/s13014-017-0790-3.
300. Hammond WA, Swaika A, Mody K. Pharmacologic resistance in colorectal cancer: a review. *Therapeutic Advances in Medical Oncology.* 2016;8(1):57-84. doi:10.1177/1758834015614530.
301. Tsai Y-J, Lin J-K, Chen W-S, et al. Adjuvant FOLFOX treatment for stage III colon cancer: how many cycles are enough? *SpringerPlus.* 2016;5(1):1318. doi:10.1186/s40064-016-2976-9.
302. Wolpin BM, Mayer RJ. Systemic Treatment of Colorectal Cancer. *Gastroenterology.* 2008;134(5):1296-1310. doi:10.1053/j.gastro.2008.02.098.

303. Gujral S, Conroy T, Fleissner C, Sezer O, King PM, Avery KN, Sylvester P, Koller M, Sprangers MA, Blazeby JM, et al. Assessing quality of life in patients with colorectal cancer: an update of the EORTC quality of life questionnaire. *Eur J Cancer*. 2007 Jul; 43(10):1564-73. Epub 2007 May 22.
304. Upadhyay S, Dahal S, Bhatt VR, Khanal N, Silberstein PT. Chemotherapy use in stage III colon cancer: a National Cancer Database analysis. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*. 2015;7(5):244-251. doi:10.1177/1758834015587867.
305. Kim JH. Chemotherapy for colorectal cancer in the elderly. *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2015;21(17):5158-5166. doi:10.3748/wjg.v21.i17.5158.
306. Theodore S. Hong and David P. Ryan. Adjuvant Chemotherapy for Locally Advanced Rectal Cancer: Is It a Given? *Journal of Clinical Oncology* 2015 33:17, 1878-1880
307. Huang C-M, Huang M-Y, Tsai H-L, et al. An observational study of extending FOLFOX chemotherapy, lengthening the interval between radiotherapy and surgery, and enhancing pathological complete response rates in rectal cancer patients following preoperative chemoradiotherapy. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*. 2016;9(5):702-712. doi:10.1177/1756283X16656690.
308. R. Labianca, B. Nordlinger, G. D. Beretta, S. Mosconi, M. Mandalà, A. Cervantes, D. Arnold. Early Colon Cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol* 2013; 24 (Suppl 6): vi64-vi72
309. Montal R, Merche MV, Anta B, Martínez N, Santos C, Sanjuan X, Paúles MJ, Pérez Martín F, Azuara D, Salazar R, Rojas RJ. SPRY2 and response to FOLFOX/CAPOX in metastatic KRAS mutated colorectal cancer. *Annals of Oncology*, Volume 26, Issue suppl\_4, 1 June 2015, Pages iv56–iv57,
310. Soeda H, Shimodaira H, Watanabe M, Suzuki T, Gamo M, Takahasi M, Komine K, Kato S, Ishioka C. KRAS mutation in patients with metastatic colorectal cancer does not preclude benefit from oxaliplatin-or irinotecan-based treatment. *Mol Clin Oncol*. 2014 May; 2(3): 356–362.
311. Petrović T., Hirurško-onkološki parametri promene operabilnosti lokalno uznapredovalog karcinoma rektuma nakon preoperativne radioterapije. Doktorska disertacija, Medicinski fakultet, Novi Sad 2005: 45-46
312. Yun JA, Huh JW, Kim HC, Park YA, Cho YB, Yun SH, Lee WY, Chun HK. Local recurrence after curative resection for rectal carcinoma: The role of surgical resection. *Medicine (Baltimore)*. 2016 Jul;95(27):e3942. doi: 10.1097/MD.0000000000003942.
313. Chang AJ1, Nahas CS, Araujo SE, Nahas SC, Marques CF, Kiss DR, Cecconello I. Early rectal cancer: local excision or radical surgery? *J Surg Educ*. 2008 Jan-Feb;65(1):67-72. doi: 10.1016/j.jsurg.2007.11.002.

314. Moosvi SR1, Manley K1, Hernon J1. The effect of rectal washout on local recurrence following rectal cancer surgery. *Ann R Coll Surg Engl.* 2018 Feb;100(2):146-151. doi: 10.1308/rcsann.2017.0202. Epub 2017 Nov 28.
315. Ellebæk SB, Fristrup CW, Mortensen MB. Intraoperative Ultrasound as a Screening Modality for the Detection of Liver Metastases during Resection of Primary Colorectal Cancer - A Systematic Review. *Ultrasound International Open.* 2017;3(2):E60-E68. doi:10.1055/s-0043-100503.
316. Shah AJ, Callaway M, Thomas MG, Finch-Jones MD. Contrast-enhanced intraoperative ultrasound improves detection of liver metastases during surgery for primary colorectal cancer. *HPB: The Official Journal of the International Hepato Pancreato Biliary Association.* 2010;12(3):181-187. doi:10.1111/j.1477-2574.2009.00141.x.
317. Namasivayam S, Martin DR, Saini S. Imaging of liver metastases: MRI. *Cancer Imaging.* 2007;7(1):2-9. doi:10.1102/1470-7330.2007.0002.
318. Kwon G, Kim KA, Hwang SS, et al. Efficiency of Non-Contrast-Enhanced Liver Imaging Sequences Added to Initial Rectal MRI in Rectal Cancer Patients. Zhang Z, ed. *PLoS ONE.* 2015;10(9):e0137320. doi:10.1371/journal.pone.0137320.
319. Zarour LR, Anand S, Billingsley KG, et al. Colorectal Cancer Liver Metastasis: Evolving Paradigms and Future Directions. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology.* 2017;3(2):163-173. doi:10.1016/j.jcmgh.2017.01.006.
320. Habib NA, Koh MK, Yografos G, Awad RW, Bottino G. Elective haptic resection for benign and malignant liver disease: early results See comments C, *Br. J. Surg.* 1939;80:1039-41.
321. Habib NA, Michail NE, Smith P. The use of hypothermia and circulatory arrest to control intraoperative bleeding from the inferior vena cava. *Surg. Today* 1996;26:217-8.
322. Abelson JS, Michelassi F, Sun T, Mao J, Milsom J, Samstein B, Sedrakyan A, Yeo HL. Simultaneous Resection for Synchronous Colorectal Liver Metastasis: the New Standard of Care? *J Gastrointest Surg.* 2017 Jun;21(6):975-982
323. Adam R, Delvart V, Pascal G, Valeanu A, Castaing D, Azoulay D, Giacchetti S, Paule B, Kunstlinger F, Ghemard O, Levi F, Bismuth H. Rescue surgery for unresectable colorectal liver metastases downstaged by chemotherapy: a model to predict long-term survival. *Ann Surg.* 2004 Oct;240(4):644-57; discussion 657-8.
324. Tsai MS, Su YH, Ho MC, Liang JT, Chen TP, Lai HS, Lee PH. Clinicopathological Features and Prognosis in Resectable Synchronous and Metachronous Colorectal Liver Metastasis. *Annals of Surgical Oncology* 2006. 14(2):786-794

325. Yan TD, Chiang G, Zhao J, Chan D, Morris DL. Lung metastases after liver resection or cryotherapy for hepatic metastasis from colorectal cancer—there is a difference! *HPB*, 2006; 8: 124-131
326. Riihimäki M, Hemminki A, Sundquist J, Hemminki K. Patterns of metastasis in colon and rectal cancer. *Scientific Reports*. 2016;6:29765. doi:10.1038/srep29765.
327. Vatandoust S, Price TJ, Karapetis CS. Colorectal cancer: Metastases to a single organ. *World Journal of Gastroenterology*. 2015;21(41):11767-11776. doi:10.3748/wjg.v21.i41.11767.
328. Zarour LR, Anand S, Billingsley KG, et al. Colorectal Cancer Liver Metastasis: Evolving Paradigms and Future Directions. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*. 2017;3(2):163-173. doi:10.1016/j.jcmgh.2017.01.006.
329. Qiu M, Hu J, Yang D, Cosgrove DP, Xu R. Pattern of distant metastases in colorectal cancer: a SEER based study. *Oncotarget*. 2015;6(36):38658-38666.
330. Cellini C, Hunt SR, Fleshman JW, Birnbaum EH, Bierhals AJ, Mutch MG. Stage IV rectal cancer with liver metastases: is there a benefit to resection of the primary tumor? *World J Surg*. 2010 May;34(5):1102-8. doi: 10.1007/s00268-010-0483-7.
331. Sheth KR, Clary BM. Management of Hepatic Metastases from Colorectal Cancer. *Clinics in Colon and Rectal Surgery*. 2005;18(3):215-223. doi:10.1055/s-2005-916282.
332. Fiorentini G, Sarti D, Aliberti C, Carandina R, Mambrini A, Guadagni S. Multidisciplinary approach of colorectal cancer liver metastases. *World Journal of Clinical Oncology*. 2017;8(3):190-202. doi:10.5306/wjco.v8.i3.190.
333. Nordholm-Carstensen A. Pulmonary nodules and metastases in colorectal cancer. *Dan Med J*. 2016 Jan;63(1):B5190.
334. Ridge CA, Solomon SB. Percutaneous ablation of colorectal lung metastases. *Journal of Gastrointestinal Oncology*. 2015;6(6):685-692. doi:10.3978/j.issn.2078-6891.2015.095.
335. Udare A, Sable N, Kumar R, Thakur M, Juvekar S. Solitary Osseous Metastasis of Rectal Carcinoma Masquerading as Osteogenic Sarcoma on Post-Chemotherapy Imaging: A Case Report. *Korean Journal of Radiology*. 2015;16(1):175-179. doi:10.3348/kjr.2015.16.1.175.
336. Christensen TD, Spindler K-LG, Palshof JA, Nielsen DL. Systematic review: brain metastases from colorectal cancer—Incidence and patient characteristics. *BMC Cancer*. 2016;16:260. doi:10.1186/s12885-016-2290-5.
337. Leea KC et al. Difficulty in diagnosis and different prognoses between colorectal cancer with ovarian metastasis and advanced ovarian cancer: An empirical study of different surgical

- adoptions. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*. Volume 56, Issue 1, February 2017, Pages 62-67
338. Fossum CC, Alabbad JY, Romak LB, et al. The role of neoadjuvant radiotherapy for locally-advanced rectal cancer with resectable synchronous metastasis. *Journal of Gastrointestinal Oncology*. 2017;8(4):650-658. doi:10.21037/jgo.2017.06.07.
339. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*. 1988;16(3):1215.
337. Efremidou EI, Liratzopoulos N, Papageorgiou SM, Romanidis K, Tourlis T, Kouklakis G, Manolas KJ. Colorectal carcinoma: correlation between age, gender and subsite distribution. *Chirurgia (Bucur)*. 2008 Nov-Dec;103(6):659-63.
338. Murphy G, Devesa SS, Cross AJ, Inskip PD, McGlynn KA, Cook MB. Sex Disparities in Colorectal Cancer Incidence by Anatomic Subsite, Race and Age. *International journal of cancer Journal international du cancer*. 2011;128(7):1668-1675. doi:10.1002/ijc.25481.
339. Bosman T, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND. *WHO Classification of Tumours of the Digestive System*, Book Review, International Agency for Research on Cancer, Lyon 2010, 4th Edition, *J Gastrointestin Liver Dis*, September 2013 Vol. 22 No 3: 354
340. Baber J, Anusionwu C, Nanavaty N, Agrawal S. Anatomical distribution of colorectal cancer in a Veterans Affairs Medical Center. *South Med J*. 2014 Jul;107(7):443-7. doi:10.14423/SMJ.0000000000000135.
341. Gomez D, Dalal Z, Raw E, Roberts C, Lyndon PJ. Anatomical distribution of colorectal cancer over a 10 year period in a district general hospital: is there a true "rightward shift"? *Postgrad Med J*. 2004 Nov;80(949):667-9.
342. Ihara, K., Yamaguchi, S., Ueno, N., Tani, Y., Shida, Y., Ogata, H., Domeki, Y., Okamoto, K., Nakajima, M., Sasaki, K., Tsuchioka, T., Mitomi, H., Kato, H. "Expression of DNA double-strand break repair proteins predicts the response and prognosis of colorectal cancer patients undergoing oxaliplatin-based chemotherapy". *Oncology Reports* 35.3 (2016): 1349-1355.
343. Jain P, Mondal SK, Sinha SK, Mukhopadhyay M, Chakraborty I. Diagnostic and prognostic significance of different mucin expression, preoperative CEA, and CA-125 in colorectal

- carcinoma: A clinicopathological study. *Journal of Natural Science, Biology, and Medicine*. 2014;5(2):404-408. doi:10.4103/0976-9668.136207.
344. Yan Li Y, Wangv W, Xiao J, Xu F, Liao D, Li Xie,1 Wang J, and Luo F. Overexpression of Rad51 Predicts Poor Prognosis in Colorectal Cancer: Our Experience with 54 Patients. *PLoS One*. 2017; 12(1): e0167868. Published online 2017 Jan 18. doi: 10.1371/journal.pone.0167868. PMCID: PMC5242438
345. Tennstedt P, Fresow R, Simon R , Marx A , Terracciano L , Petersen C , Sauter G , Dikomey E Borgmann K. RAD51 overexpression is a negative prognostic marker for colorectal adenocarcinoma. *Int. J. Cancer: 132, VC 2012 UICC*. 2013. 2118–2126
346. Markovic-Denic L, Cirkovic A, Zivkovic S, Stanic D, Skodric-Trifunovic V. Cancer mortality in central Serbia. *J BUON*. 2014 Jan-Mar;19(1):273-7.
347. Markowitz SD, Bertagnolli MM. Molecular origins of cancer: Molecular basis of colorectal cancer. *N Engl J Med* 2009; 361: 2449-2460.
348. Park Y, Hunter DJ, Spiegelman D, et al. Dietary fiber intake and risk of colorectal cancer: a pooled analysis of prospective cohort studies. *JAMA* 2005; 294: 2849-2857.
349. Barker HE, Paget JTE, Khan AA, Harrington KJ. The Tumour Microenvironment after Radiotherapy: Mechanisms of Resistance and Recurrence. *Nature reviews Cancer*. 2015;15(7):409-425. doi:10.1038/nrc3958.

## **BIOGRAFIJA AUTORA**



Jelena Petrović Šunderić

Rođena u Beogradu 22.5.1977.

Srednju školu na engleskom jeziku završila na Kipru 1996. i upisala Medicinski fakultet u Beogradu, završila 2002.

Od 2003-2008 volontirala na III odeljenju I hirurške klinike kod Ac

Prof dr Zorana Krivokapića.

Magisterijum na temu „Uloga preoperativnog zračenja karcinoma rektuma u sprečavanju nastanka lokalnog recidiva“ odbranila 2008.

Specijalistički ispit iz opšte hirurgije položila 2010.

Izrada doktorata na temu „Značaj određivanja RAD 51 genskog polimorfizma kao prediktornog prognostičkog markera kod kolorektalnog karcinoma“ je u toku.

2018. odbranila disertaciju iz uže specijalizacije, digestivne hirurgije, na temu „Značaj preoperativnog određivanja stadijuma karcinoma rektuma magnetom rezonancijom visoke rezolucije u oceni resektabilnosti karcinoma distalnog i srednjeg rektuma“.

2015. u Minhenu položila ispit Evropskog borda za hirurške kvalifikacije i stekla zvanje koloproktologa (prvog i još uvek jedinog iz Srbije) i postala jedini član Evropskog hirurškog borda iz Srbije.

Učestvovala u brojnim istraživanjima, između ostalog bila i glavni istraživač u Srbiji za LRC studiju (čuvena studija o značaju MRI visoke rezolucije u dijagnostici i određivanju stadijum karcinoma rektuma), čiji su rezultati objavljeni u najuglednijim stručnim svetskim časopisima.

Osnivač i sekretar Udruženja za ambulantnu hirurgiju Srbije, i organizator 3 stručna skupa sa međunarodnim učešćem na temu ambulantne hirurgije (2013, 2014, 2017).

Član je organizacionog odbora Evropskog kongresa iz ambulantne hirurgije u Budimpešti, maj 2018.

Član organizacionog odbora svih kongresa Društva koloproktologa Jugoslavije od 2004. godine.

Edukovala se u inostranstvu (Velika Britanija, Švajcarska, Norveška, Češka, Mađarska).

2015. provala 3 meseca na Ženevskom univerzitetu u Švajcarskoj na stipendiranoj obuci iz laparoskopske kolorektalne hirurgije.

Predavala na brojnim domaćim i međunarodnim skupovima u zemlji i inostranstvu.

Autor 10 i koautor preko 30 stručnih radova i poglavlja u monografijama i udžbenicima.

Pored Srpskog lekarskog društva, Udruženja za ambulantnu hirurgiju Srbije, Društva koloproktologa Jugoslavije (član predsedništva) i Evropskog hirurškog borda (EBS), član je Međunarodnog udruženja za ambulantnu hirurgiju (IAAS), Evropskog društva koloproktologa (ESCP), počasni član Mađarskog društva za ambulantnu hirurgiju.

Prilog 1.

## Izjava o autorstvu

Potpisani-a Jelena Petrović Šunderić

broj upisa \_\_\_\_\_

### Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

**Značaj određivanja RAD 51 genskog polimorfizma u cilju predikcije nastanka ili prognoze u lečenju kolorektalnog karcinoma kod populacije u Srbiji**

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

**Potpis doktoranta**

U Beogradu, 25.05.2018.



Prilog 2.

## Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora \_ Jelena Petrović Šunderić\_\_\_\_\_

Broj upisa \_\_\_\_\_

Studijski program \_\_\_\_\_

Naslov rada      Značaj određivanja RAD 51 genskog polimorfizma u cilju predikcije nastanka ili prognoze u lečenju kolorektalnog karcinoma kod populacije u Srbiji

Mentor Ac. Prof dr Zoran Krivokapić

Potpisana **Jelena Petrović Šunderić**

izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

**Potpis doktoranta**

U Beogradu, 25.05.2018.



A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Jelena Petrović Šunderić', is written over a horizontal line.

**Prilog 3.**

## **Izjava o korišćenju**

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

**Značaj određivanja RAD 51 genskog polimorfizma u cilju predikcije nastanka ili prognoze u lečenju kolorektalnog karcinoma kod populacije u Srbiji**

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poledini lista).

**Potpis doktoranta**

U Beogradu, 25.05.2018.



1. **Autorstvo** - Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. **Autorstvo – nekomercijalno**. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. **Autorstvo - nekomercijalno – bez prerade**. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. **Autorstvo - nekomercijalno – deliti pod istim uslovima**. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. **Autorstvo – bez prerade**. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. **Autorstvo - deliti pod istim uslovima**. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.