

Udio strome kao prognostički čimbenik kod karcinoma debelog crijeva

Flam, Josipa

Doctoral thesis / Disertacija

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:658780>

Rights / Prava: In copyright/Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: 2024-05-13



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Josipa Flam

UDIO STROME KAO PROGNOSTIČKI ČIMBENIK KOD KARCINOMA DEBELOG

CRIJEVA

Doktorska disertacija

OSIJEK, 2016.

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

Josipa Flam

**UDIO STROME KAO PROGNOSTIČKI ČIMBENIK KOD KARCINOMA DEBELOG
CRIJEVA**

Doktorska disertacija

OSIJEK, 2016.

Mentor rada: prof.dr.sc. Damir Gugić, dr.med.

Rad ima 62 lista

Rad je izrađen na Medicinskom fakultetu Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.

Klinički dio istraživanja proveden je na:

Zavodu za patologiju i sudsku medicinu, KBC Osijek

Zavod za onkologiju , KBC Osijek

SADRŽAJ

1.UVOD	1
1.1. Epidemiologija karcinoma debelog crijeva	1
1.2. Klasifikacija karcinoma debelog crijeva	1
1.3. Terapija karcinoma debelog crijeva	4
1.4. Mikrosatelitska nestabilnost	5
1.5. Značaj tumorske strome	6
2. HIPOTEZA	8
3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA	9
4. ISPITANICI I METODE	10
4.1. Ustroj studije	10
4.2. Ispitanici	10
4.3. Histolozke metode	11
4.4. Određivanje tumorske strome	11
4.4. Statističke metode	14
5. REZULTATI	15
5.1. Ispitanici	15
5.2. Patohistolozke značajke tumora	15
5.3. Analiza udjela strome prema patohistolozkim značajkama tumora	19
5.4. Utjecaj patohistolozkih i kliničkih značajki na preovljenje bolesnika	23
6. RASPRAVA	32
6.1. Utjecaj veličine tumora i T stadija na ishod bolesnika oboljelih od karcinoma debelog crijeva	32
6.2. Utjecaj N stadija tumora na ishod bolesnika oboljelih od karcinoma debelog crijeva	33
6.3. Utjecaj postojanja metastaza na ishod bolesnika oboljelih od karcinoma debelog crijeva	34

6.4. Utjecaj invazije krvnih i limfnih Šila i invazije Šivaca na ishod bolesnika oboljelih od karcinoma debelog crijeva	35
6.5. Utjecaj stupnja diferenciranosti tumora na ishod bolesnika oboljelih od karcinoma debelog crijeva	35
6.6. Utjecaj lokalizacije tumora na ishod bolesnika oboljelih od karcinoma debelog crijeva	36
6.7. Utjecaj udaljenosti od ruba resekcije na ishod bolesnika oboljelih od karcinoma debelog crijeva	37
6.8. Utjecaj udjela tumorske strome na ishod bolesnika oboljelih od karcinoma debelog crijeva	38
7. ZAKLJUČAK	41
8. SAŽETAK	42
9. SUMMARY	43
10. LITERATURA	44
11. ŽIVOTOPIS	51

POPIS KRATICA

T	veli ina primarnog tumora
N	stadij limfnih vorova
M	postojanje metastaza
AJCC	<i>American Joint Committee on Cancer</i>
MAC	modificirana Astler-COler klasifikacija
CEA	karcinoembrionalni antigen
CT	kompjutorizirana tomografija
DNK	deoksiribonukleinska kiselina
MSI	mikrosatelitska nestabilnost
MMR	<i>mismatch repair</i>
MSI-H	visoka mikrosatelitska nestabilnost
MSI-L	niska mikrosatelitska nestabilnost
MSS	mikrosatelitski stabilni
KBC	klini ki bolni ki centar
CI	<i>confidence interval</i> , interval pouzdanosti
LCL	<i>low confidence level</i>
UCL	<i>upper confidence level</i>
NA	nije postignuto
ESMO	European Society of Medical Oncology
NCCN	National Comprehensive Cancer Network)

POPIS TABLICA I SLIKA

Tablica 1.1. Definicija za T, N, M stadij

Tablica 1.2. Usporedba tri postojeće klasifikacije koje se koriste u kliničkoj praksi

Tablica 5.1. Vrijednosti medijana ukupnog preovljenja bolesnika s tumorima debelog crijeva s intervalima pouzdanosti prema T stadiju ($p=0,004$)

Tablica 5.2. Vrijednosti medijana preovljenja do progresije bolesti bolesnika s tumorima debelog crijeva s intervalima pouzdanosti prema T stadiju ($p=0,049$)

Tablica 5.3. Vrijednosti medijana ukupnog preovljenja bolesnika s tumorima debelog crijeva s intervalima pouzdanosti od 95% ($p<0,001$)

Tablica 5.4. Vrijednosti medijana preovljenja do progresije bolesti pacijenata s tumorima debelog crijeva s intervalima pouzdanosti od 95% ($p<0,001$)

Slika 4.1. Određivanje udjela strome u programu Adobe Photoshop CS2 kada tumor prekriva cijelu sliku

Slika 4.2. Određivanje udjela strome u programu Adobe Photoshop CS2, kada tumor ne prekriva cijelu sliku

Slika 5.1. Raspoložljiva veličina tumora debelog crijeva kod pacijenata oboljelih od karcinoma debelog crijeva

Slika 5.2. Raspoložljiva karcinoma debelog crijeva prema stadiju bolesti

Slika 5.3. Udaljenost tumora od ruba resekcije kod bolesnika oboljelih i operiranih od karcinoma debelog crijeva

Slika 5.4. Raspoložljiva udjela strome kod pacijenata oboljelih i operiranih od karcinoma debelog crijeva

Slika 5.5. Povezanost udjela tumorske strome i T stadija bolesti kod bolesnika s karcinomom debelog crijeva

Slika 5.6. Povezanost udjela tumorske strome i N stadija bolesti kod bolesnika sa karcinomom debelog crijeva

Slika 5.7. Kaplan-Meier krivulja ukupnog preovljenja bolesnika s karcinomom debelog crijeva s pouzdanim granicama nivoa 95%

Slika 5.8. Kaplan-Meierova krivulja preovljenja do progresije bolesti bolesnika s karcinomom debelog crijeva s pouzdanim granicama nivoa 95%

Slika 5.9. Kaplan-Meierova krivulja ukupnog preovljenja bolesnika s karcinomom debelog crijeva prema lokalizaciji tumora ($p=0,052$)

Slika 5.10. Kaplan-Meierova krivulja preovljenja do progresije bolesti bolesnika s karcinomom debelog crijeva prema lokalizaciji tumora ($p=0,023$)

Slika 5.11. Odnos ukupnog preovljenja bolesnika s tumorom debelog crijeva i stadija bolesti ($p<0,001$)

Slika 5.12. Odnos preovljenja do progresije bolesti kod bolesnika s tumorom debelog crijeva i stadija bolesti

Slika 5.13. Kaplan-Meierova krivulja odnosa ukupnog preovljenja u bolesnika sa tumorom debelog crijeva koji imaju udio tumorske strome $\leq 50\%$ i onih koji imaju $>50\%$ udjela tumorske strome

Slika 5.14. Kaplan-Meierova krivulja preovljenja do progresije bolesti u bolesnika sa tumorom debelog crijeva koji imaju udio strome $\leq 50\%$ i onih koji imaju $>50\%$ strome ($p=0,019$)

1.UVOD

1.1. Epidemiologija karcinoma debelog crijeva

Karcinom debelog crijeva velik je javnozdravstveni problem. Prema Registru za rak Republike Hrvatske kod muzkaraca se nalazi na drugom mjestu po uestalosti te in 17% svih karcinoma, a odmah iza karcinoma plu a koji in 18% svih karcinoma. Kod 0ena se nalazi na drugom mjestu po uestalosti s udjelom od 13%, dok je kod 0ena na prvom mjestu karcinom dojke koji in 26% svih karcinoma kod 0ena. (1)

Nezto je druga ija epidemiolozka situacija u svijetu. Kod muzkaraca se nalazi na tre em mjestu po uestalosti i in 8% od ukupno novootkrivenih karcinoma iza karcinoma prostate (koji in 27%) te bronha i plu a (koji in 14%). Kod 0ena se tako er nalazi na tre em mjestu po uestalosti iza karcinoma dojke (29%) te karcinoma bronha i plu a (13%) (2) Ono zto je vrlo zanimljivo primjetiti jest opadanje incidencije karcinoma debelog crijeva u razvijenim zemljama poput Amerike (3) kao i smanjenjenje stope mortaliteta ak za 47% ako se gleda 2011. godina u odnosu na 1990. godinu. Smatra se da je to smanjenje incidencije i mortaliteta posljedica prevencije karcinoma debelog crijeva te ranog otkrivanja putem *screeninga* i boljih mogu nosti lije enja. Bez obzira na smanjenje ukupne incidencije i mortaliteta pokazano je da je incidencija karcinoma debelog crijeva kod osoba mla ih od 50 godina u porastu te se predvi a da e stopa incidencije porasti ak za 124% kod pacijenata u dobi od 20 do 34 godine. Uzrok je toj pojavnosti nepoznat. (4) U Hrvatskoj, na0alost, joz uvijek raste incidencija karcinoma debelog crijeva, a za razliku od ostalih razvijenih zemalja u porastu je i mortalitet.

1.2.Klasifikacija karcinoma debelog crijeva

Stupnjevanje karcinoma debelog crijeva zasniva se na TNM-klasifikaciji, gdje T ozna ava primarni tumor, N zahva enost limfnih vorova, a M prisutnost udaljenih metastaza. (5) Za razliku od ostalih karcinoma T ne zna i veli inu tumora, ve dubinu prodora kroz stijenu crijeva (Tablica 1.1.) Karcinomi kolona i rektuma, bez obzira na razli iti terapijski pristup, dijele isti sustav stupnjevanja budu i da je ishod bolesti u odnosu na stadij bolesti gotovo jednak.(6)

Tablica 1.1. Definicija za T, N, M stadij

Primarni tumor (T)		
TX	Primarni se tumor ne može procijeniti	
T0	Nema dokaza primarnog tumora	
Tis	Karcinom <i>in situ</i> : intraepitalijalni tumor ili invazija <i>laminae propriae</i>	
T1	Tumor ulazi u podsluznicu	
T2	Tumor ulazi u mizi ni sloj crijeva	
T3	Tumor prolazu kroz mizi ni sloj crijeva u okolno masno tkivo	
T4	T4a	Tumor prolazi kroz povrzinu viscerarnog peritoneuma
	T4b	Tumor direktno prodire ili je prirastao uz okolna tkiva i organe
Regionalni limfni vorovi (N)		
NX	Regionalni limfni vorovi ne mogu se procijeniti	
N0	Nema metastaza u regionalne limfne vorove	
N1	Metastaza u 1–3 regionalna limfna vora	
	N1a	Metastaza u jedan regionalni limfni vor
	N1b	Metastaza u 2–3 regionalna limfna vora
	N1c	Nakupine tumorskih stanica u okolnom masnom tkivu, korijenu debelog crijeva bez metastaza u regionalne limfne vorove
N2	Metastaza u 4 ili više regionalnih limfnih vorova	
	N2a	Metastaza u 4–6 regionalnih limfnih vorova
	N2b	Metastaza u 7 ili više regionalnih limfnih vorova
Udaljene metastaze (M)		
M0	Nema udaljenih metastaza	
M1	Prisutne udaljene metastaze	
	M1a	Metastaze ograničene na jedan organ ili područje
	M1b	Metastaze u više od jednog organa ili područja ili metastaze potrbuznice

Prema AJCC (*American Joint Committee on Cancer*) *staging manual* (5), ovisno o TNM-statusu, bolesnici se mogu podijeliti u 4 stadija (I, II, III i IV), koji se s obzirom na prognozu klasificiraju u podstadije. Kroz povijest su prihvate ene i koriztene i dvije klasifikacije koje se još ponekad koriste u klini koj praksi, a to su klasifikacija po Dukesu (7) te po Astler Colleru (8) (Tablica 1.2.)

Tablica 1.2. Usporedba tri postojeće klasifikacije koje se koriste u klini koj praksi

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

MAC* modificirana Astler Coller klasifikacija

Kada se bolesniku dokaže karcinom debelog crijeva, kolonoskopski i biopsijom patohistolozi potvrdi, potrebno je u initi kompletne obradu kako bi se u inilo pravilno stupnjevanje, a time i adekvatno liječenje pacijent. Potrebna je kompletna krvna slika, biokemijski profil, određivanje CEA (karcinoembrionalni antigen) i po etni CT (kompjuterizirana tomografija) prisita, trbuha i zdjelice s kontrastom (9), a ako bolesnik nije u mogunosti primiti kontrast, potrebno je u initi magnetnu rezonanciju abdomena i zdjelice i CT toraksa bez kontrasta. Liječenje se karcinoma debelog crijeva i rektuma razlikuje jer je kod nemetastatskog karcinoma rektuma osnova liječenja kemoradioterapija nakon koje slijedi operativni zahvat, dok je kod karcinoma debelog crijeva osnova liječenja operativni zahvat nakon kojega slijedi, ako je potrebno, kemoterapija.

Stupnjevanje kolorektalnog karcinoma provodi se na osnovi patohistoloških preparata nakon kirurzkog zahvata te na osnovi prethodno navedenih radioloških pretraga. U patohistološkom nalazu treba se nalaziti sljedeće: stupanj diferenciranosti tumora, dubina prodora tumora kroz stijenu crijeva i zahvat enostavnih okolnih struktura (T), broj pregledanih limfnih vorova te broj zahvata enih limfnih vorova (N) (10), prisutnost udaljenih presadnica na potrbuznici ili ostalim strukturama (M) (11-13), status reseksijskih rubova (11, 13), zahvat ane krvnih i limfnih oila (14, 15), invaziju Oivaca(16, 17) i nakupine tumorskog tkiva izvan stijenke crijeva i limfnih vorova u masnom tkivu oko crijeva (18, 19).

1.3 Terapija karcinoma debelog crijeva

Poseban je problem kako tretirati bolesnika nakon operativnog zahvata (20). Kod bolesnika sa stadijem bolesti i ne indicira se nikakva daljnja terapija (21). Kod bolesnika sa stadijem III indicirana je daljnja kemoterapija nakon kirurzkog tretmana (22), dok poseban problem predstavljaju pacijenti stadija II. Oko 25% bolesnika sa stadijem II tumora ima povrat bolesti unutar 5 godina (23). Utjecaj dodatne kemoterapije kod bolesnika stadija II bio je temelj istraživanja nekoliko kliničkih studija. Rezultati metaanalize 5 studija pokazali su da su većinu koristi imali bolesnici sa stadijem III bolesti (24-26). Novi rezultati 12 kontroliranih kliničkih studija od 1988. do

2010. pokazali su zna ajnu dobit od dodane kemoterapije kod pacijenata sa stadijem II bolesti. (27).

S druge strane *Quasar collaborative group* (23) studija pokazala je malu dobit od kemoterapije u odnosu na pranje u pacijenata sa stadijem II tumora debelog crijeva. Dobit iznosi oko 3,6% te je ispod prihvatljive razine od 5% pa prema tome rutinska primjena kemoterapije u stadiju II nije indicirana.

Brojnim studijama dozlo se do nekih parametara koji zna e loziju prognozu za bolesnike oboljele od karcinoma debelog crijeva, a to su broj pregledanih limfnih vorova manji od 12 (28), invazija krvnih ili limfnih 0ila, invazija 0ivaca, nizak stupanj diferenciranosti tumora, mla a dob bolesnika, bliski reseksijski rubovi, primarni tumor ve i od 5 cm, perforacija za vrijeme operativnog zahvata ili prije operativnog zahvata (21, 29). Na osnovi prethodno navedenih parametara odlu ujemo ho emu li bolesnicima dati kemoterapiju.

U praksi esto vidimo bolesnike koji imaju dobre prognosti ke imbenike, no bez obzira na to vrlo brzo razviju metastatsku bolest, a i esto kod bolesnika s malim primarnim tumorom na emu metastatsku bolest u startu. Potrebna su daljnja istra0ivanja kako bi se tom popisu dodali joz neki parametri koji bi mogli to nije odrediti prognozu.

1.4. Mikrosatelitska nestabilnost

Jedan je od tih parametara i mikrosatelitska nestabilnost. U pojedinim bolesnika s kolorektalnim karcinomom dolazi do inaktivacije gena koji ispravljaju pogreznice DNK polimeraze u mikrosatelitskim sekvencama (*smismatch repair%*ili *MMR* geni) (30). Poznato je najmanje sedam gena *MMR* sustava: *hMLH1*, *hMLH3*, *hMSH2*, *hMSH3*, *hMSH6*, *hPMS1* i *hPMS2*, a nalaze su u oko 15 - 20 % sporadi nih kolorektalnih karcinoma (31). Mikrosatelitski su kratke ponavljanje sekvene DNK, koje se esto ponavljaju u genomu nekog organizma. Tumori s mikrosatelitskom nestabilnoz u (MSI tumori), koje zovemo joz i RER+ tumorima (od eng. *sReplication Error%*), obilje0ava velika akumulacija mutacija u odre enim kratkim (mikrosatelitskim) sekvencama koje se ponavljaju kroz genom (MSI-H, H od eng. *sHigh%*, a eez e su 100 - 1 000 puta od razine mutacija u normalnim stanicama (30, 32). Epigenetske promjene (naj eez e izazvane metilacijom) *hMLH1* i *hMSH2* naj eez i su uzrok *MMR* mutacija u karcinomu

debeloga crijeva (33). Osoba s mutacijom *MLH1* i *MSH2* nosi vjerovatnost nastanka kolorektalnog karcinoma oko 80 % do 45-te godine 0ivotu. U ovih je bolesnika ubrzan i nastanak carcinoma debelog crijeva, te se on može naći već oko 3 godine nakon urednog nalaza kolonoskopije. Novotvorine vezane uz ovaj genski poremećaj nastaju prvenstveno u oralnom crijevu, a ne kod žena. Kod pronalaska ovog tumora veća je lokalna invazija, ali nijednoj ukupnim stadijem bolesti nije je prisutnim udaljenim metastazama (34). Lako se smatra da je ovo put nastanka nepolipoznog karcinoma kolona, sve je vize dokaza da poremećaji *MMR* gena induciraju adenom-karcinom sekvencu, ali sa znatno kraćim vremenom pretvorbe od adenoma do karcinoma.

Screening se danas sistemski radi u mnogim zemljama, određivanjem MSI u tumorskom tkivu kolorektalnog i endometrijalnog karcinoma, bilo genetskom analizom ili imunohistohemijskom analizom svih MMR proteina (hMLH1, MSH2, MSH6, PMS2). Na osnovu nalaza karcinome kolona dijelimo u tri skupine mikrosatelitski visoko nestabilne (MSI-H), mikrosatelitski nisko nestabilne (MSI-L), te mikrosatelitski stabilne tumore (MSS). Mikrosatelitski stabilni tumori povezani su sa lozijom prognozom, dok su mikrosatelitski visoko nestabilni tumori povezani sa boljom prognozom i nikakvom uinkovitozom u fluoropirimidinske terapije. (35)

1.5. Značaj tumorske strome

Jednostavni koncept da tumorska progresija ovisi jedino o unutarnjim mogućnostima tumorskih stanica zadnjih se godina sve vize odbacuje. Sve vize dokaza upućuju na to da je tumorska progresija posljedica interakcije između tumorskih stanica i stanica strome koja ih okružuje (36,37). Dosad poznata istraživanja potvrdila su da tumorska stroma utječe na tumorski rast, angiogenezu i diseminaciju. Smatra se da stroma potiče tumorogenzu različitim mehanizmima koji uključuju remodeliranje ekstracelularnog matriksa, supresiju imunog odgovora i poremećaj regulatornih putova strome kojim djeluju na pokretljivost i agresivnost stanica karcinoma (38 - 40). Pokazano je kako stroma ima prognostičku vrijednost u karcinomu jednjaka (41, 42) te karcinomu dojke (43), posebno triple negativnom karcinomu dojke (44, 45).

Panayiotou i suradnici su u prosincu 2015. godine objavili rad u kojem su dokazali potpuno obrnutu situaciju na karcinomu endometrija. Pokazali su da je mali udio strome

povezan s lozijom prognozom i ostalim prognosti ki lozim karakteristikama kod karcinoma endometrija. Postavljena je pretpostavka da interakcija izme u tumorskih stanica i stanica strome varira me u razli itim karcinomima (46).

Udio strome tumora prethodno je istra0ivan na karcinomu debelog crijeva. Joz su 2007. godine Mesker i suradnici pokazali da je tumorska stroma neovisni pokazatelj pre0ivljenja u odnosu na satus limfnih vorova i stadij tumora (47).

2010. godine objavljen je rad Westa i suradnika kojim su dokazali da je manji udio tumorskih stanica nezavisni prediktor pre0ivljenja kod pacijenata s karcinomom kolona (48).

2012. godne zapo ela je VICTOR studija (49, 50) u koju je bilo planirano uklju iti 7000 pacijenata i ispitati u inkovitost rofecoxiba u lije enju pacijenata s karcinomom debelog crijeva stadija II i III. S obzirom na kardiotoksi nost rofecoxiba studija je bila prekinuta. Rezultati te velike studije na preko 700 pacijenata potvrdili su prethodna istra0ivanja i istaknuli stromu kao nezavisni prognosti ki imbenik kod karcinoma debelog crijeva stadija II i III (51), zto je dokazano i u istra0ivanju Parka i suradnika iz 2014. (52). Postavlja se zapravo logi no pitanje je li udio tumorske strome neovisni prognosti ki imbenik u pre0ivljenju kod karcinoma debelog crijeva.

2. HIPOTEZA

Predloženo istraživanje pretpostavlja da udio tumorske strome utječe na ishod bolesti kod bolesnika oboljelih od kolorektalnog karcinoma svih stadija. Otkrivamo da će se udio tumorske strome povezati povećavati u nekim stadijima tumora te da će pacijenti koji imaju veći udio tumorske strome imati loziju prognozu nego oni s manjim udjelom strome kako u preživljaju do progresije bolesti tako i u ukupnom preživljaju. Na osnovi gore navedenoga tumorska stroma može se izdvojiti kao neovisni prognostički imbenik kod pacijenata oboljelih od karcinoma debelog crijeva, koji je jednostavan, brz i jeftin za određivanje.

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Ciljevi su istraživanja sljede i:

1. Statistički kvantificirati ulogu udjela tumorske strome u odnosu na ukupno preovljenje te vrijeme do progresije bolesti.
2. Statistički usporediti odnos udjela tumorske strome s prethodno poznatim prognostičkim imbenicima kod karcinoma debelog crijeva (T stadij tumora, N stadij tumora, postojanje metastaza, postojanje invazije krvnih ili limfnih ošala, ili postojanje invazije oivca, stupanj diferenciranosti tumora, lokalizacija tumora).
3. Odrediti utjecaj prethodno poznatih karakteristika tumora (T stadij, N stadij, postojanje metastaza, stupanj diferenciranosti tumora, lokalizacija tumora) na ukupno preovljenje i preovljenje do progresije bolesti
4. Definirati parametre koji bi pridonijeli većoj kvaliteti rada, a time i boljim rezultatima uz manje trozkove liječenja.

4. ISPITANICI I METODE

4.1. Ustroj studije

Provedena je retrospektivna studija kojom su obuhva eni bolesnici kod kojih je 2006. i 2007. godine operiran karcinom debelog crijeva na Klinici za kirurgiju u Klini kom bolni kom centru Osijek. Retrospektivna studija odabrana je jer je kod bolesnika pra eno i ukupno preovljenje i vrijeme do progresije bolesti. Kod bolesnika se pratilo preovljenje te je kao minimalni razmak od operacije do vremena prikupljanja podataka trebalo pro i 5 godina. Kako je planiranje ovog istraivanja zapo eto krajem 2012. godine, bilo je logi no uzeti 2006. i 2007. godinu. S obzirom na to da se smjernice HZZO-a za lije enje karcinoma debelog crijeva nisu zna ajno mijenjale od 2006. godine, bolesnici su dobivali jednaku adjuvantnu terapiju te jednaku terapiju za metastatsku bolest.

4.2. Ispitanici

Istraivanjem su bili obuhva eni bolesnici koji su 2006. i 2007. godine operirani na Klinici za kirurgiju KBC-a Osijek, a nakon toga lije eni ili pra eni na Zavodu za onkologiju KBC-a Osijek. Iz analize su bili isklju eni bolesnici kod kojih je tumor dokazan samo kolonoskopijom, a nikada nije odstranjen, te oni bolesnici za koje se zna da su umrli unutar mjesec dana od operativnog zahvata (perioperativna smrtnost). Tako er, bolesnici koji su primali neoadjuvantnu onkolozku terapiju (neoadjuvantna kemoradioterapija kod karcinoma rektuma) nisu uzeti u analizu. Bolesnici koji su u anamnezi imali drugi zlo udni tumor ili su imali dva istodobno otkrivena karcinoma debelog crijeva tako er nisu uzeti u analizu. Za bolesnike koji su operirani na Klinici za kirurgiju, a nisu lije eni na Zavodu za onkologiju KBC-a Osijek, u analizu su uklju eni samo oni podaci koji su se mogli iz itati iz patohistolozih nalaza koji su dobiveni na Zavodu za patologiju i sudsku medicinu KBC-a Osijek.

4.3. Histolozke metode

Sa Zavoda za patologiju i sudsku medicinu KBC-a Osijek dobiveni su podaci o patohistolozkim značajkama samoga tumora (veličina tumora, T stadij tumora, broj odstranjenih limfnih vorova, broj limfnih vorova zauzetih tumorom, stupanj diferencijacije tumora, zahvaćanje krvnih i limfnih žila ili zahvaćanje liva, udaljenost tumora od resekciskog ruba te je li pacijentu odstranjena i metastaza prilikom operacije primarnog tumora). Za određivanje udjela strome koriztena su arhivska stakla sa Zavoda za patologiju i sudsku medicinu KBC Osijek.

Nakon prijema crijeva sa tumorom iz kirurzke sale, lumen tumora se otvori, te se ispere i fiksira u otopini 10% formalina do 24 sata. Nakon pregleda, opisa i mjerjenja tumora uzimaju se uzorci s rubova, iz centra tumora, te iz mesta najdubljeg prodora tumora kroz stijenu crijeva, na svaki centimetar tumora po jedan uzorak veličine 1-2 centimetra, debljine 3-4 mm. Nakon toga se tumorsko tkivo uklapa u parafinske blokove i rezne na debljinu 3-4 mikrometra. Zatim se deparafiniraju u ksilolu i dehidriraju u gradiranim alkoholima, te bojuju hematoksilin-eozinom. S obzirom na prethodne radove koji su istraživali udio strome u tumoru debelog crijeva (47, 48, 51, 52) na mjestu najdubljeg prodora tumora kroz stijenu crijeva patolog (B.D.) je pronazao mjesto sa najvećim udjelom strome, koje je fotografirano u povećanju 20 puta. Za fotografiranje je korizten Olympus BX41 mikroskop s digitalnim fotoaparatom Olympus C-4040 Digital Camera.

4.4. Određivanje udjela tumorske strome

U prethodnim radovima udio strome u tumoru određivan je subjektivno. Dva nezavisna patologa su procjenjivala udio strome, da li ima više ili manje od 50% strome, a ukoliko se nisu slagali, konzultiran je i treći patolog. (51,52). U radu Meskera i suradnika korizten je *software i image analiser* koji na internetu nije dostupan kako u nazaj bolnici, tako niti u ostalim bolnicama u Republici Hrvatskoj. Mi smo odljeli koristiti metodu koja će se moći koristiti u svim bolnicama, teće biti jednostavna i jeftina za koriztenje. Tako da smo razvili nazu metodu za određivanje udjela strome uz pomoći računalnog programa za obradu slike.

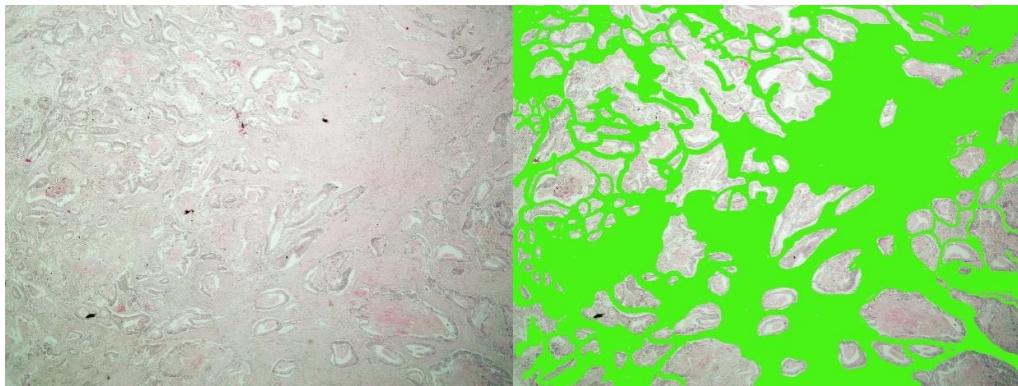
Udio tumorske strome je određen uz pomoć unalnog programa Adobe Photoshop CS2 (Adobe Creative Suite 2 Photoshop, Adobe Systems Incorporated, 345 Park Avenue, San Jose, California 95110. USA). Na fotografiji mesta sa najvećim udjelom tumora su no obojana stroma u zelenu boju (Slika 4.1.) Zelena boja je koristena s obzirom da se na standardnom bojanju hematoksilin-eozin nizta ne boja zelenom bojom. Na osnovu broja piksela određeno je udio strome. Ukupan broj piksela na fotografiji je bio 241968. Nakon što smo obojali stromu u zeleno, odredili smo broj piksela obojan zelenom bojom. Nakon toga smo izračunali udio strome po formuli:

$$\text{Udio strome} = \frac{\text{broj piksela obojan zelenom bojom}}{241968}$$

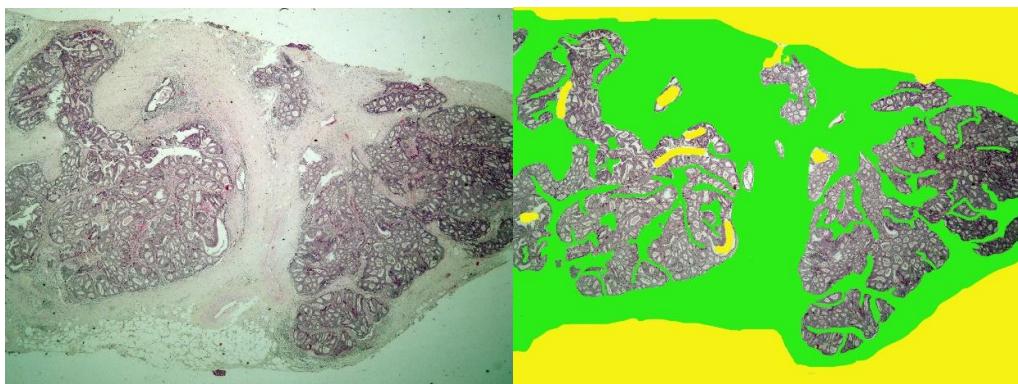
U većini preparata pokazali smo dobiti da tumor prekriva cijelu fotografiju, no na nekim preparatima to nije bilo moguće, a zbog veličine tumora (Slika 4.2.). U tom je slučaju dio koji nije pripadao tumoru, no obojen obojen Outom bojom. Tako je su područja nekroze obojena Outom bojom, a sluz koja je bila dio tumora nismo bojali Outom bojom, već je ostala dio tumora. Zatim smo ponovno, no obojali stromu u zelenu boju. Nakon toga smo izračunali udio strome u tumoru po formuli:

$$\text{Udio strome} = \frac{\text{broj piksela obojan zelenom bojom}}{(241968 \cdot \text{broj piksela obojan Outom bojom})}$$

Prijevodno su na anonimnim uzorcima učinjena testiranja razine unalnog programa jer u relevantnoj medicinskoj literaturi nije nađeno da je taj program koristen u teorije, tako da smo patolog (A.Y.) i glavni istraživač neovisno određivali udio strome te između naza dva oitanja nije bilo statistički znatanje razlike pa smo zaključili da nije potrebno dvostruko gledanje i računanje udjela strome na preparatima.



Slika 4.1. Određivanje udjela strome u programu Adobe Photoshop CS2 kada tumor prekriva cijelu sliku



Slika 4.2. Određivanje udjela strome u programu Adobe Photoshop CS2, kada tumor ne prekriva cijelu sliku

Iz povijesti bolesti pacijenata sa Zavoda za onkologiju dobiveni su podaci o spolu, dobi, datumu operativnog zahvata, vrsti operativnog zahvata, postojanju i sijelu metastaza te liječenju bolesnika. Također su dobiveni podaci o datumu ponovne pojave bolesti, bilo u obliku udaljenih metastaza ili lokalnog povrata bolesti, progresije bolesti, datumu zadnje kontrole i datumu smrti pacijenta koji su preminuli.

4.4 Statističke metode

Kategorijski podaci prikazano su apsolutnim i relativnim frekvencijama. Numerički podaci prikazani su aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom, a po potrebi navedene su vrijednosti medijana i kvartila te ostalih klasinih mjera deskriptivne statistike.

Ukupno preživljjenje i preživljene do progresije bolesti procijenjeno je Kaplan-Meierovom krivuljom. Razlike u ukupnom preživljjenju i preživljenu do progresije testirane su primjenom log-rank testa, te Cox-ovom regresijskom analizom.

Razina značajnosti je postavljena na 0.05.

Za statističku analizu korizten je statistički program STATISTICA64 (INA ICA 11, StatSoft.Inc. Tulsa, OK, SAD) te programski paket R, library "survival" za survival analysis (53).

5. REZULTATI

5.1. Ispitanici

Na Klinici za kirurgiju KBC-a Osijek 2006. i 2007. godine operirano je 257 bolesnika. Od toga je 4 bolesnika imalo istodobno dva otkrivena karcinoma debelog crijeva, 8 je bolesnika prethodno imalo karcinom debelog crijeva te je operiran bilo recidiv bilo novi primarni tumor debelog crijeva. Tri su bolensika u povijesti bolesti imala drugi maligni tumor (dvije bolesnice s karcinomom dojke i jedan bolesnik melanom). Patohistološki preparati za 7 bolesnika bili su tehni ki lozi te se iz njih nije mogao odrediti udio strome.

Iz toga proizlazi da je analiza udjela strome u injena za 236 bolesnika s operiranim karcinomom debelog crijeva. Od toga je 206 bolesnika lije eno i na Zavodu za onkologiju KBC-a Osijek, dok je ostalih 30 bolesnika samo operirano i nije lije eno na Zavodu za onkologiju KBC-a Osijek. Uglavnom su to bolesnici koji su u vrijeme operacije bili stariji od 80 godina.

Od 236 analiziranih bolesnika 130 (55,08%) su bili muzkarci, a 106 (44,92%) su bile žene. Ispitanici su bili u dobi od $66,23 \pm 11,44$ godina.

5.2. Patohistoložke značajke tumora

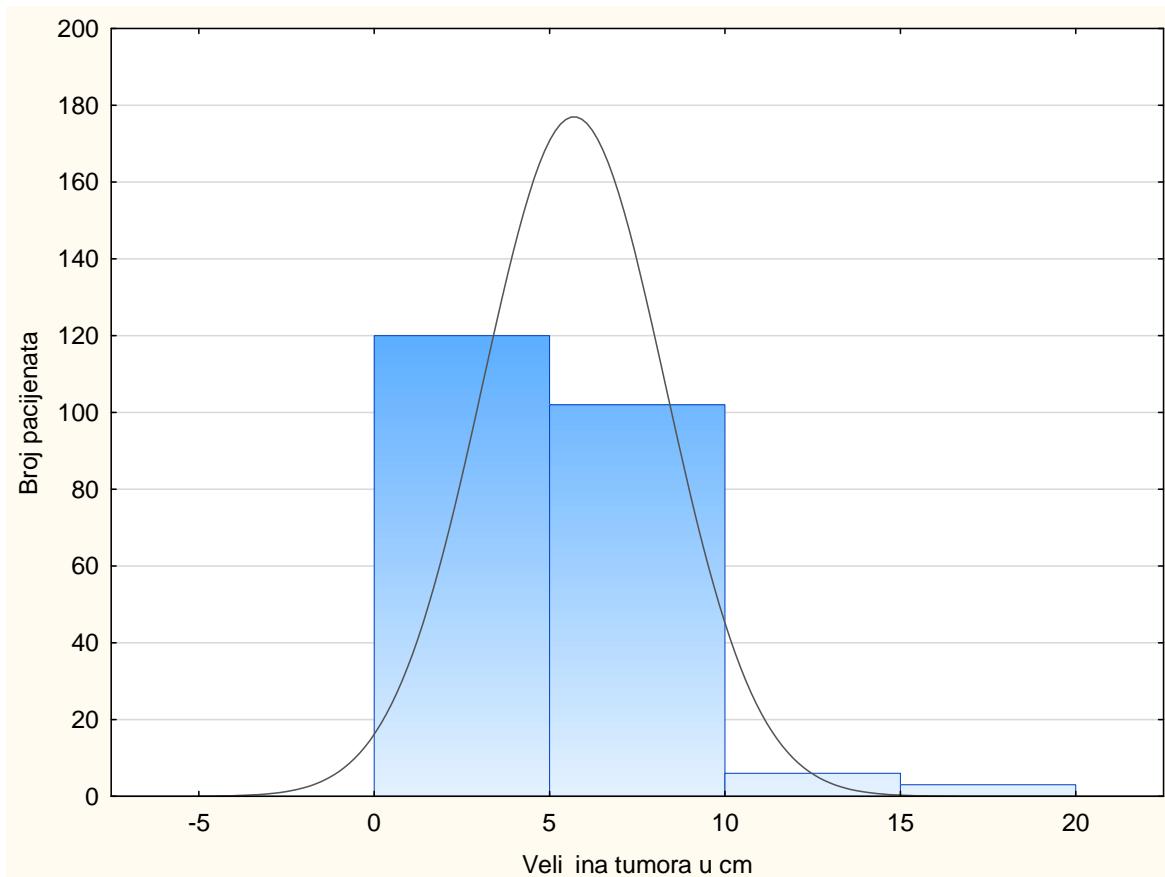
Ako se pogleda lokalizacija tumora na debelom crijevu, vidi se da je najviše tumora bilo na rektumu (84 ili 35,59%), zatim slijedi sigma u kojoj se nalazilo 68 ili 28,81% tumora.

Tumor u području cekuma i ascendensa imalo je 43, odnosno 18,22% bolesnika.

etrnaest (5,93%) pacijenata imalo je tumor u području descendenter kolona dok je 11 (4,66%) imalo tumor u području transverzalnog kolona i lijenalne fleksure. Najmanje pacijenata (5 ili 2,12%) imalo je tumor u području hepatalne fleksure.

Za svaki patohistološki preparat primarni je tumor opisan veličinom u centimetrima u dvije dimenzije te dubinom prodora kroz stijenu crijeva (T stadij). U analizu je uzeta veća vrijednost u centimetrima, pošto je ta vrijednost povezana sa ishodom bolesti.

Veličina tumora iznosila je $5,69 \pm 2,61$ cm, s medijanom od 5 cm (0,7 – 20 cm). Za 5 pacijenata veličina tumora nije se mogla odrediti zbog razgranosti preparata pri operativnom zahvatu. Rasподjela veličine tumora prikazana je na slici 5.1.



Slika 5.1. Raspodjela veličine tumora debelog crijeva kod pacijenata oboljelih od karcinoma debelog crijeva

Najvize bolesnika imalo je tumor T3 stadija (proboj kroz itavu stijenu crijeva i zirenje u okolno masno tkivo), ukupno 185 ili 78,72%. Dvadeset devet bolesnika (12,34%) imalo je tumor T2 stadija (tumor koji ulazi u mizi ni sloj, ali ga ne probija). T4 tumor (tumor koji probija potrbuznicu ili infiltrira okolne organe) imalo je 18 bolesnika (16,66%). Svega 3 bolesnika (1,28%) imalo je tumor T1 stadija. Za jednog se pacijenta T stadij nije mogao odrediti s obzirom na to da se u patohistološkom opisu opisuje kao rastrgani tumor.

Kod 232 pacijenta mogao se odrediti broj pregledanih limfnih vorova, dok se za 4 pacijenta broj limfnih vorova dao opisno (nekoliko%te ti bolesnici nisu uzli u analizu broja izvadenih limfnih vorova. Prosječno je pregledano 16 limfnih vorova, pri čemu postoje bolesnici kod kojih nije opisan nijedan limfni vor, dok je kod jednog bolesnika opisano 95 limfnih vorova. Kako je potrebno pregledati minimalno 12 imfnih vorova

da bi se dobio dobar stadij bolesti, odnosno da bi se patolog mogao izjasniti o N stadiju bolesti. Svi bolesnici koji su imali pregledano manje od 12 limfnih vorova, a me u pregledanim limfnim vorovima nije bilo onih zauzetih tumorom, ozna eni su nepoznatim statusom limfnih vorova. Ako je pregledano manje od 12 limfnih vorova, ali su limfni vorovi bili zauzeti tumorom, klasificirani su u N stadij prema broju zauzetih limfnih vorova.

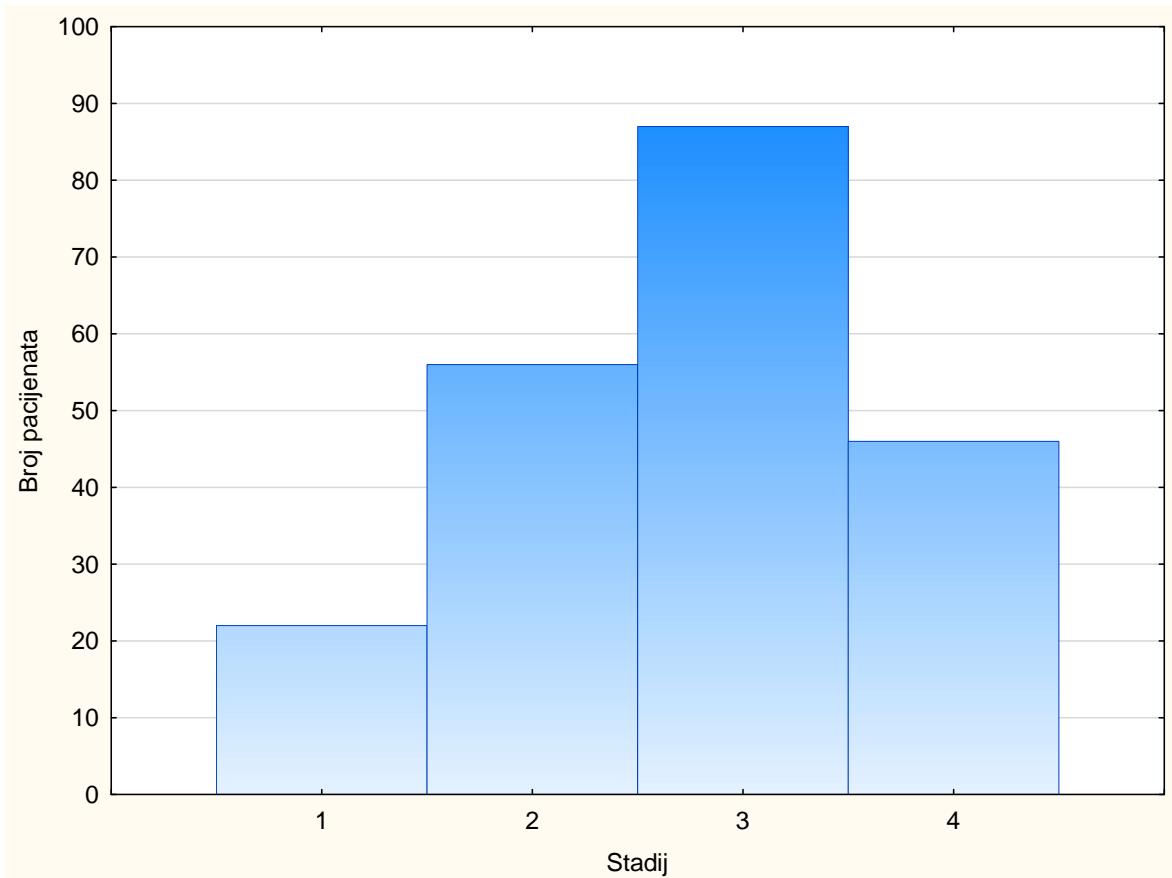
Za 24 bolesnika (10,17%) tako nedostaje status limfnih vorova (4 ima opisni broj limfnih vorova, a ostalih 20 ima izva eno manje od 12 limfnih vorova, a nijedan nije zauzet tumorom, te je kod tih bolesnika status limfnih vorova nepoznat). Od 212 pacijenata za koje postoji N status, N0 status, tj. bez zahva anja limfnih vorova tumorskim tkivom, ima 72 bolesnika (33,96%). Jedan do tri zauzeta limfna vora (N1 stadij) ima 56 bolesnika (26,42%), dok vize od tri zauzeta limfna vora ima 84 bolesnika (39,62%).

¥to se ti e metastatske bolesti, za vrijeme operacije bila je prisutna u 47 bolesnika (22,38%) i to naj ez e samo u jetri u 37 pacijenata, potrbuznici u 4 bolesnika, plu ima kod jednog bolesnika te u 3 bolesnika potrbuznica i jetra, a u 2 bolesnika jetra i plu a.

Za 26 bolesnika se ne zna jesu li u trenutku operacije imali metastaze jer isto nije bilo napisano na patohistološkom preparatu. Radi se o bolesnicima koji nemaju povijest bolesti na Zavodu za onkologiju. Za 3 je bolesnika koji nemaju povijest bolesti na Zavodu za onkologiju u patohistološkom izvjeztaju napisano da imaju metastatsku bolest te da je u injen samo palijativni operativni zahvat.

Raspodjela tumora po stadijima prikazana je na slici 5.2.

Tumori koji su imali T1 ili T2 stadij primarnog tumora, a nisu imali odgovaraju i broj limfnih vorova ili su imali nepoznato postojanje presadnica, stavljeni su u stadij bolesti I.

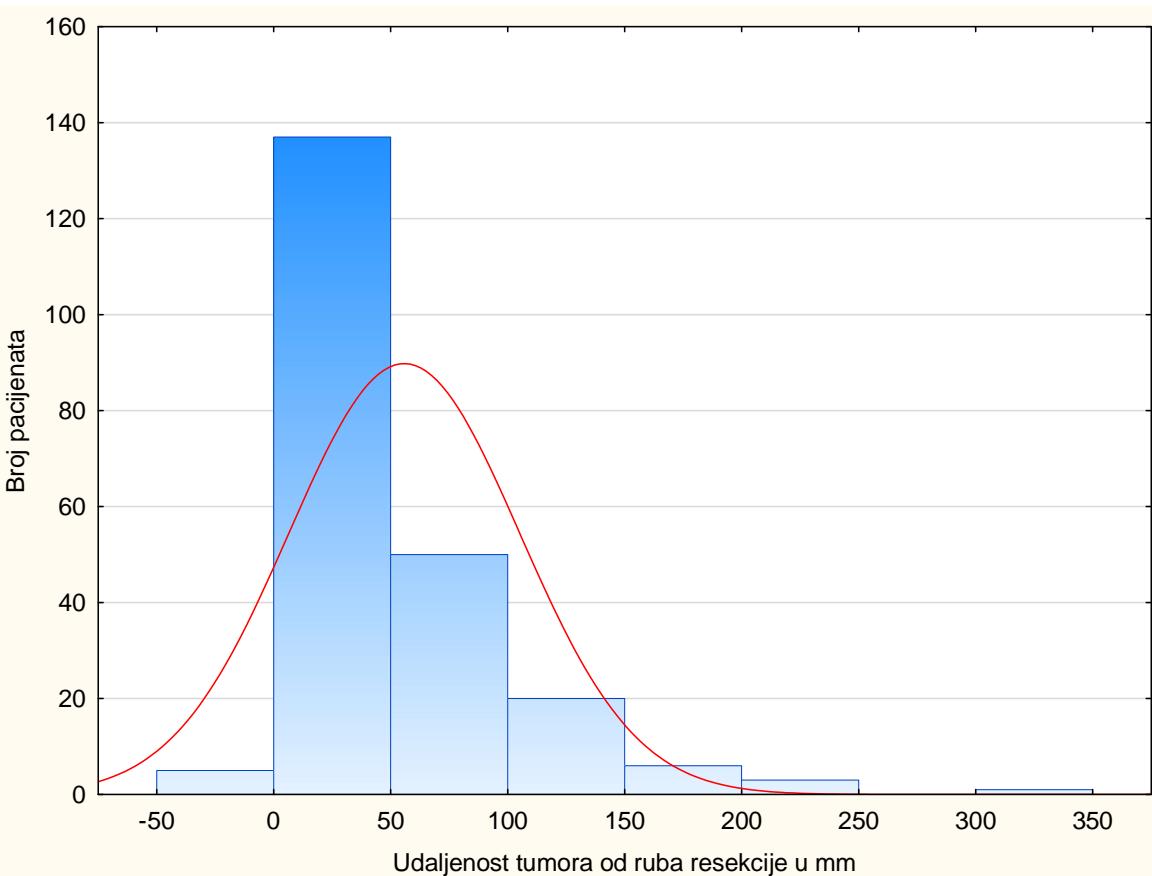


Slika 5.2. Raspodjela karcinoma debelog crijeva prema stadiju bolesti

Kod bolesnika je takođe gledano postojanje invazije krvnih i limfnih oila, te invazije oivaca. Kod 59 bolesnika (25,11%) bila je prisutna invazija krvnih ili limfnih oila ili invazija oivaca dok je 176 bolesnika (74,89%) nije imalo. Za jednog bolesnika nedostajali su podaci o invaziji krvnih i limfnih oila te oivaca.

Stupanj diferencijacije tumora itan je iz patohistoloških izvjeza. Dobro diferenciranih tumora bilo je 103 (43,64%), srednje diferenciranih tumora 90 (38,14%), a slabo diferenciranih tumora bilo je 12 (5,18%). Za 31 tumor nije bio određen stupanj diferencijacije.

Odredena je i udaljenost tumora od ruba resekcije. Prosječna udaljenost tumora od ruba resekcije bila je $5,58 \pm 4,93$ cm. Raspodjela udaljenosti od ruba resekcije prikazana je na slici 5.3.



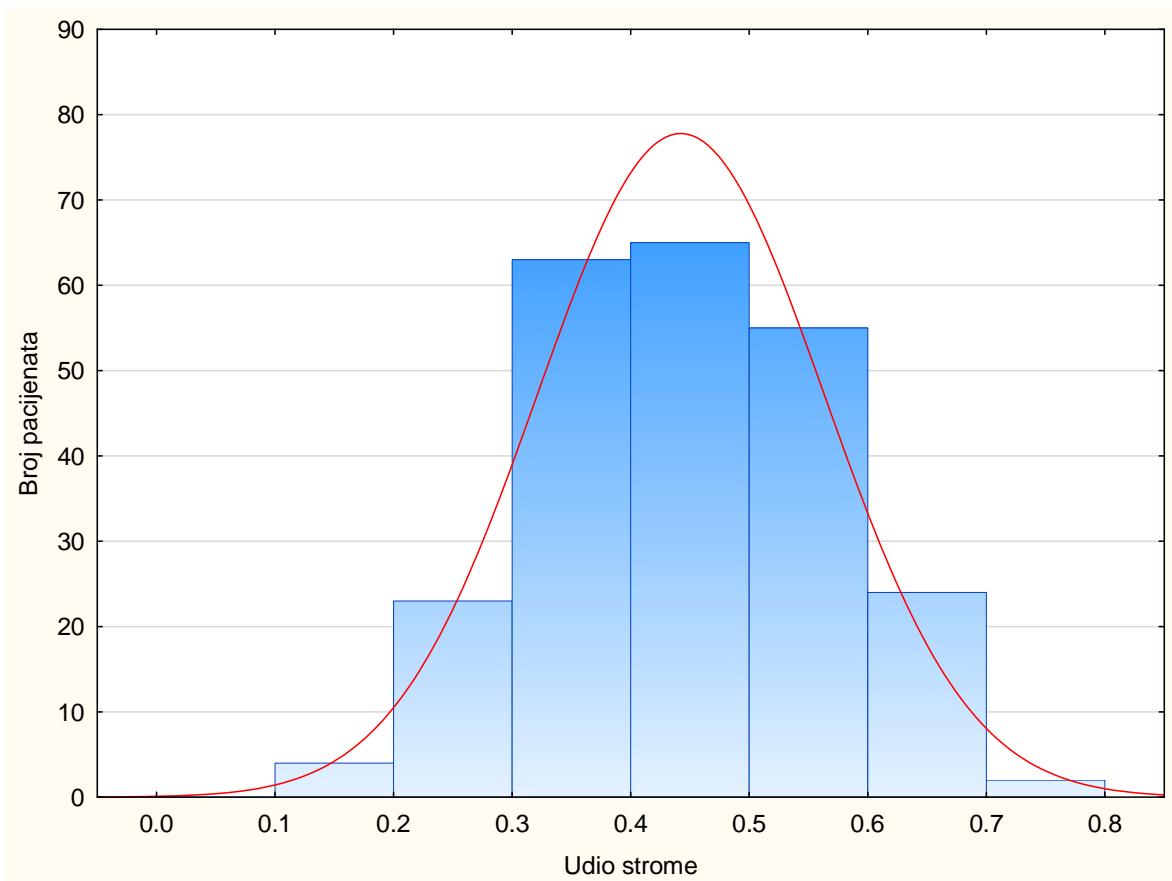
Slika 5.3. Udaljenost tumora od ruba resekcije kod bolesnika oboljelih i operiranih od karcinoma debelog crijeva

Adjuvantnu terapiju za karcinom debelog crijeva dobivalo je 140 bolesnika, od toga su 102 bolesnika (72,86%) primala kemoterapiju temeljenu na 5-fluorouracilu, a 38 (27,14%) bolesnika primilo je kemoradioterapiju. Kemoradioterapiju su primali bolesnici s karcinomom rektuma.

Od 89 bolesnika koji su u trenutku operacije imali metastatsku bolest ili su je razvili tijekom pra enja, kod 21 bolesnika (23,59%) u injena je operacija metastaza.

5.3. Analiza udjela strome prema patohistološkim znajkama tumora

Udio strome u tumorskom tkivu određen je za sve bolesnike koji su uzeti u analizu. Srednja vrijednost iznosi $44,23 \% \pm 12,10 \%$, a raspodjela udjela strome prikazana je na slici 5.4.



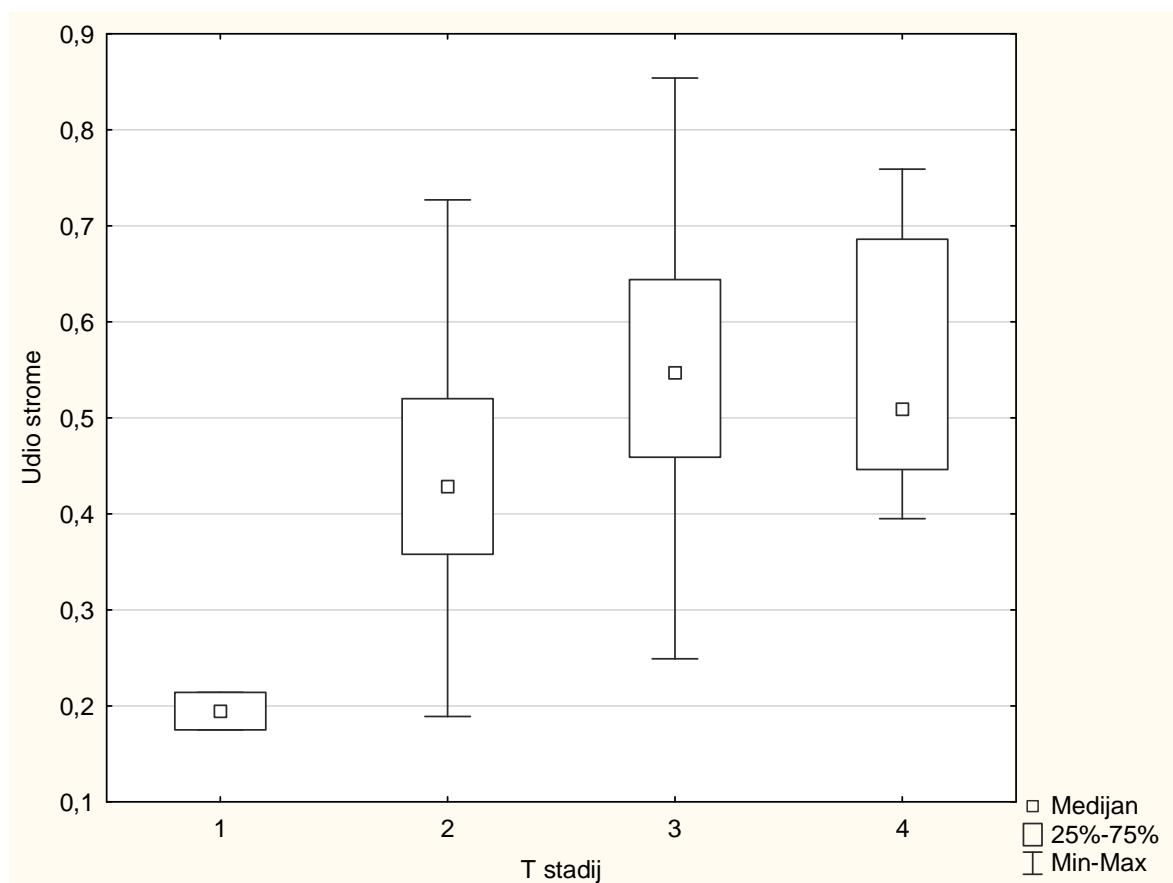
Slika 5.4. Raspodjela udjela strome kod pacijenata oboljelih i operiranih od karcinoma debelog crijeva

Kako bi se utvrdila razlika između udjela strome u muzkog i ženskog spola korizten je t-test o jednakosti očekivanja (54) te je dokazano da ne postoji statistički značajna razlika u udjelu strome između muzkog i ženskog spola ($p=0.314$).

Kako bi se analizirao udio strome prema lokalizaciji, koriztena je takođe analiza varijanci, pri čemu klasi na i Welchova korekcija ne upućuju na postojanje razlika u očekivanim vrijednostima po lokalizacijama ($p=0.459$ i $p=0.490$). Međutim zbog malog broja podataka za pojedine lokalizacije u injetu je i Kruskal-Wallis-ov test, koji takođe ne upućuje na postojanje dominacije udjela strome za neku vrijednost lokalizacije u odnosu na ostale ($p=0.424$). No kako postoji opravdana sumnja u jednakost varijanci,

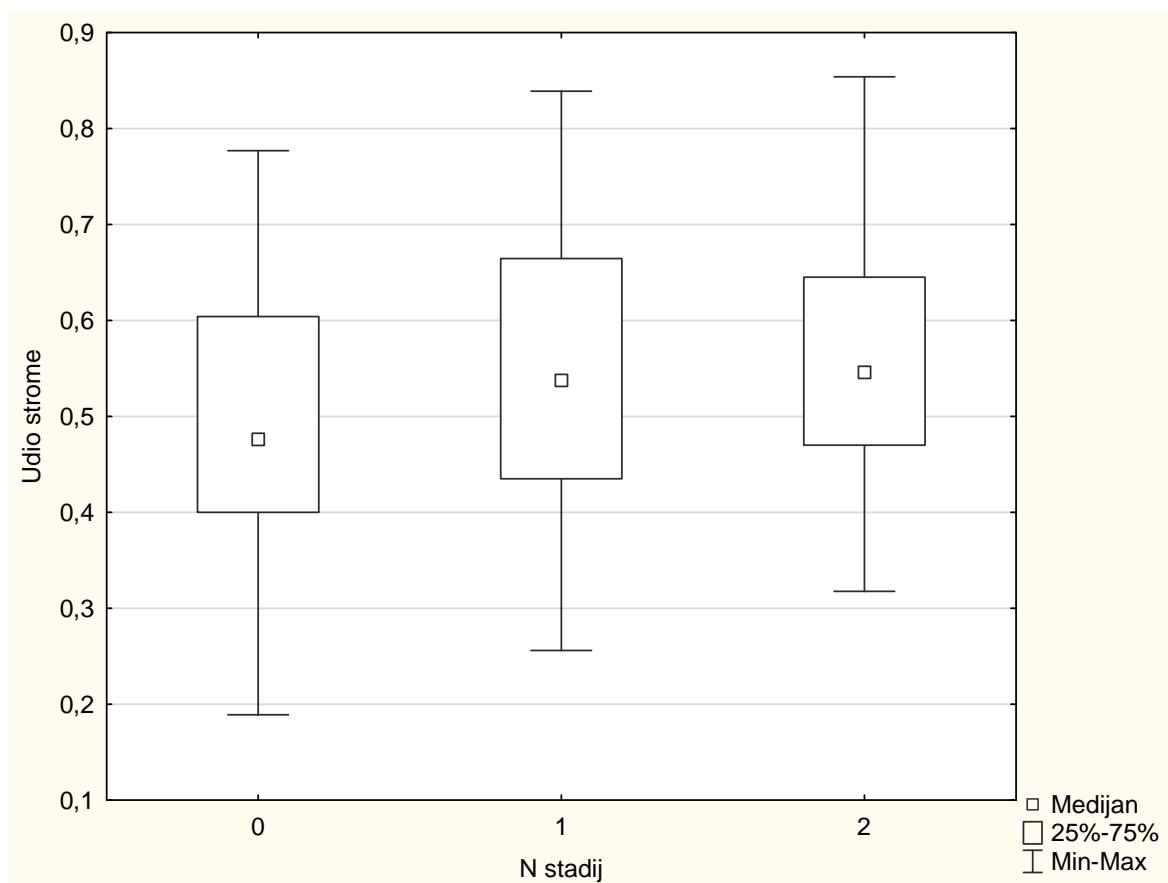
u injen je i medijan test, koji je potvrdio postojanje razlike u medijanima s p-vrijednošću od 0,035.

Prije negoli je započeta analiza udjela strome prema T stadiju, iz analize su isključeni pacijenti s T1 stadijem. Kako je medijan udjela strome znatno manji nego u ostalim T stadijima, a postoje samo 4 pacijenta sa ovim stadijem i rezultati nisu pouzdani, taj je stadij isključen iz analize i pokazalo se analizirati postoje li razlike u udjelu strome po T stadiju u preostale tri skupine. Analiza varijanci potvrdila je postojanje razlike u očekivanim vrijednostima s p-vrijednostima manjom od 0,002. S obzirom na to da se razlika u distribuciji strome za T2 i T3 stadij u istini vrlo malom, u injena je i post hoc analiza. Post hoc analiza (Scheffeov test) (56) potvrdila je da je razlika najizraženija između T2 i T3 stadija te da je ona statistički značajna ($p=0,002$). Odnos udjela strome i T stadija prikazan je na slici 5.5.



Slika 5.5. Povezanost udjela tumorske strome i T stadija bolesti kod bolesnika s karcinomom debelog crijeva

Analizom varijanci ispitivana je i razlika u očekivanim vrijednostima udjela strome po N stadiju bolesti. Dobivena je statistika značajna razlika u udjelu strome među N stadijima ($p=0,038$). Post hoc analiza (Schefféov test) pokazala je statistiku značajnu razliku u udjelu strome između N0 i N2 stadija ($p=0,046$), što je grafički prikazano na slici 5.6.



Slika 5.6. Povezanost udjela tumorske strome i N stadija bolesti kod bolesnika sa karcinomom debelog crijeva

Takođe je učinjena analiza varijanci u očekivanim udjelima strome u odnosu na stadij bolesti te je dobivena statistika značajna razlika ($p<0,001$). Vidi se statistika značajna porast očekivane vrijednosti udjela strome između stadija 1 i 2, dok post hoc analiza pokazuje kako ne postoji razlika u udjelu strome među ostalim stadijima.

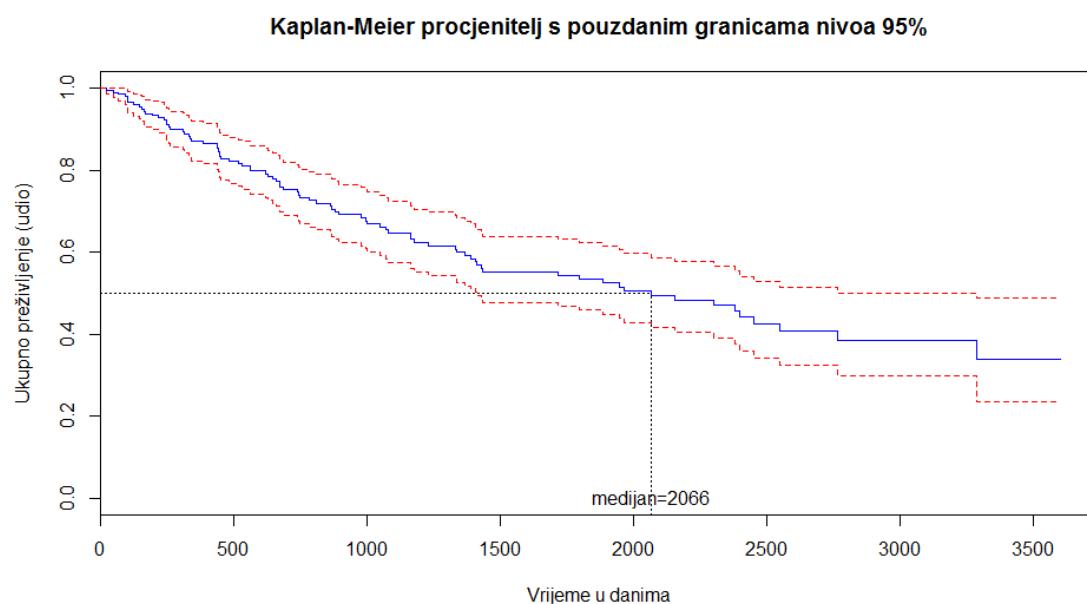
Analizom varijanci nije se pokazala statisti ki zna ajna razlika u udjelu strome me u bolesnicima koji su imali invaziju krvnih ili limfnih Oila ili invaziju Oivaca i onih kod kojih ista nije dokazana ($p=0,12$), kao ni me u onim bolesnicima koji su imali metastaze u trenu postavljanja dijagnoze i onih koji ih nisu imali ($p=0,63$).

Tako er ne postoji statisti ki zna ajna razlika u udjelu strome me u bolesnicima s obzirom na stupanj diferencijacije tumora ($p=0,221$).

5.4. Utjecaj patohistoložkih i kliničkih znakova na preživljivanje bolesnika

Ukupno preživljivanje definirano je vremenom proteklom od datuma operacije do datuma smrti, dok je vrijeme do progresije bolesti definirano kao vrijeme od datuma operacije do datuma progresije bolesti (bilo da se radi o progresiji već postoje ih metastaza ili nastanku lokalnog recidiva ili udaljenih metastaza). Ako za nekog bolesnika postoji datum smrti, a nema datuma progresije bolesti, datum smrti uzet je kao datum progresije bolesti.

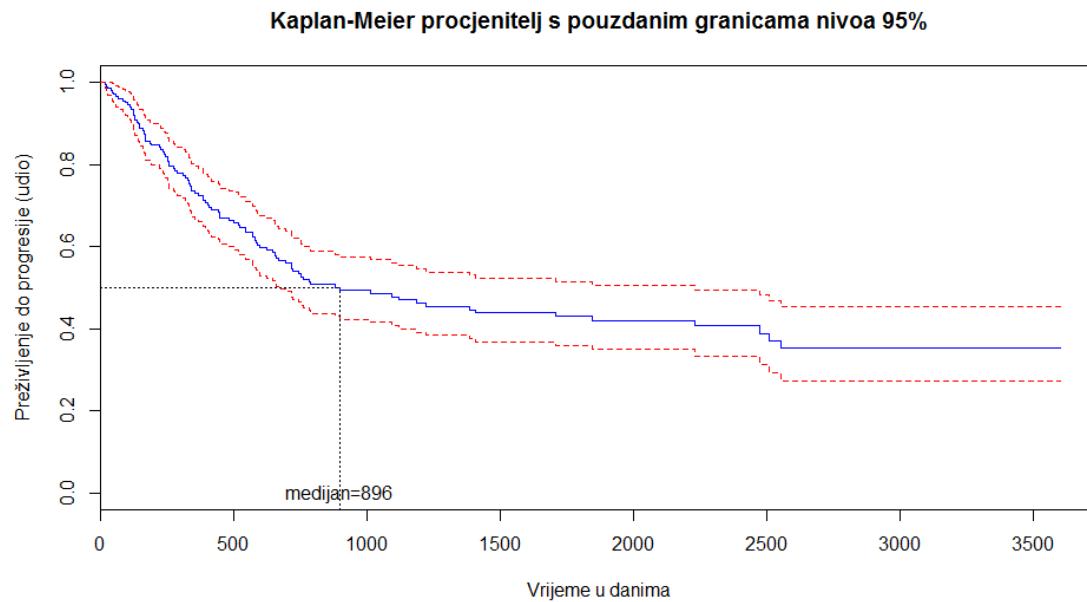
Medijan preživljena određen je Kaplan-Meierovim procjeniteljem (57) s pouzdanim granicama nivoa 95%, a krivulja ukupnog preživljavanja prikazana je na slici 5.7.



Slika 5.7. Kaplan-Meier krivulja ukupnog preživljavanja bolesnika s karcinomom debelog crijeva s pouzdanim granicama nivoa 95%

Medijan ukupnog preživljjenja iznosio je 2066 dana, odnosno 5,66 godina (CI 1412 - 2765).

Medijan vremena do progresije bolesti iznosio je 896 dana, odnosno 2,45 godina (CI 668-2229), a Kaplan-Meierova krivulja preživljena do progresije bolesti prikazana je na slici 5.8.

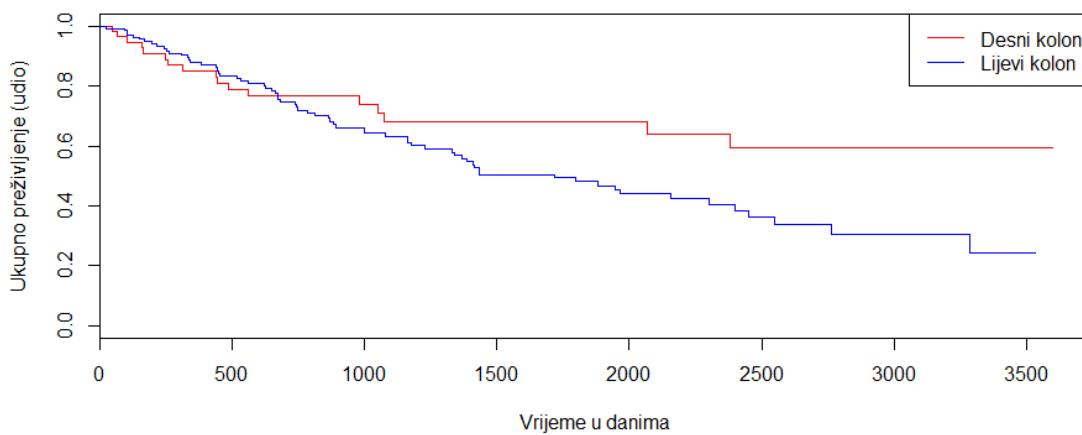


Slika 5.8. Kaplan-Meierova krivulja preživljjenja do progresije bolesti bolesnika s karcinomom debelog crijeva s pouzdanim granicama nivoa 95%

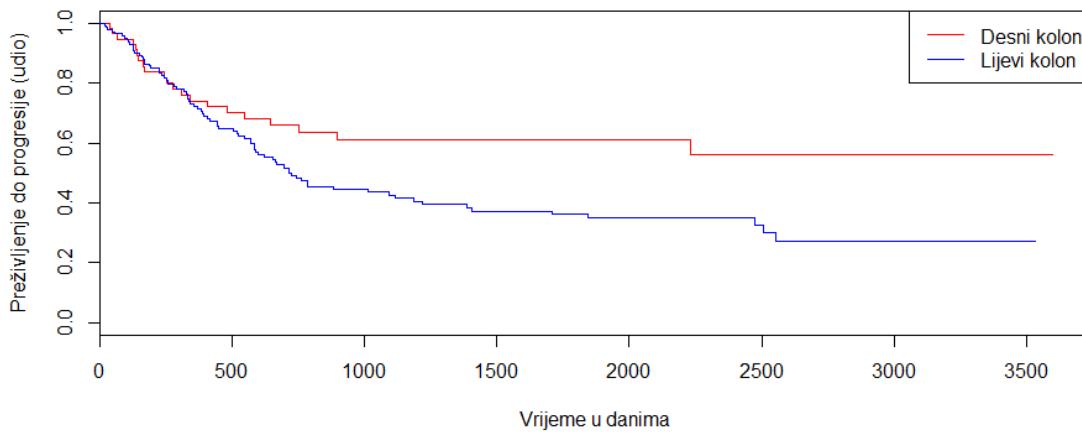
Analiza postojanja razlika u doživljaju u odnosu na kategorijalne varijable u injena je primjenom log-rank testa.

Ne postoji statistički značajna razlika u preživljaju u odnosu na spol ($p=0,268$) kao ni u vremenu do progresije bolesti ($p=0,482$).

Odnos ukupnog preživljjenja i lokalizacije tumora prikazan je na slici 5.9., dok je odnos vremena do progresije bolesti i lokalizacije tumora prikazan na slici 5.10.



Slika 5.9. Kaplan-Meierova krivulja ukupnog preživljivanja bolesnika s karcinomom debelog crijeva prema lokalizaciji tumora ($p=0,052$)



Slika 5.10. Kaplan-Meierova krivulja preživljivanja do progresije bolesti bolesnika s karcinomom debelog crijeva prema lokalizaciji tumora ($p=0,023$)

Treba primjetiti da su lokalizacije grupirane u tzv. desni kolon (cekum, ascendens, hepatalna fleksura, transverzum i lijenalna fleksura) te lijevi kolon (descendens, sigma i rektum). Ne postoji statistički značajna razlika u ukupnom preživljivanju s obzirom na lokalizaciju tumora ($p = 0,052$), ali postoji evidentno razdvajanje krivulja u korist desnog

kolona koje u nazem istraživanju ima dulji medijan ukupnog preživljjenja (1717 dana za lijevi kolon, dok medijan ukupnog preživljjenja za desni kolon nije dostignut).

No kako je prikazano na slici 5.10., postoji statistički značajna ($p=0,023$) razlika u medijanima vremena do progresije bolesti.

Također postoji jasna statistički značajna razlika u ukupnom preživljjenju u odnosu na T stadij bolesti ($p= 0,004$). Vrijednosti medijana ukupnog preživljjenja s 95% intervalima pouzdanosti dana je tablici 5.1.

Tablica 5.1. Vrijednosti medijana ukupnog preživljjenja bolesnika s tumorima debelog crijeva s intervalima pouzdanosti prema T stadiju ($p=0,004$)

T stadij	Broj bolesnika	Broj umrlih bolesnika	Medijan ukupnog preživljjenja	0.95 LCL*	0.95 UCL [“]
2	25	4	NA ^r	NA ^r	NA ^r
3	165	72	1948	1367	2452
4	13	8	892	447	NA ^r

* LCL Low Confidence Level “ UCL Upper Confidence Level r nije postignuto

Vrijednosti medijana vremena do progresije bolesti s 95% intervalima pouzdanosti dane u odnosu na T stadij prikazane su u tablici 5.2. Postoji statistički značajna razlika u vremenu do progresije bolesti u odnosu na T stadij $p=0,049$.

Tablica 5.2. Vrijednosti medijana pre0ivljenja do progresije bolesti bolesnika s tumorima debelog crijeva s intervalima pouzdanosti prema T stadiju ($p=0,049$)

T stadij	Broj bolesnika	Broj bolesnika s progresijom	Medijan ukupnog pre0ivljenja	0.95 LCL*	0.95 UCL [“]
2	25	7	NA ^r	2553	NA ^r
3	165	87	784	655	1710
4	13	8	442	258	NA ^r

* LCL Low Confidence Level “ UCL Upper Confidence Level r nije postignuto

Zauzetost limfnih vorova, odnosno N stadij, pokazuje jasnu povezanost s pre0ivljenjem ($p<0,001$), zto je prikazano u tablici 5.3.

Tablica 5.3. Vrijednosti medijana ukupnog pre0ivljenja bolesnika s tumorima debelog crijeva s intervalima pouzdanosti od 95% ($p<0,001$)

N stadij	Broj bolesnika	Broj umrlih bolesnika	Medijan ukupnog pre0ivljenja	0.95 LCL*	0.95 UCL [“]
0	58	14	NA	2397	NA
1	51	20	2155	1431	NA
2	76	44	810	560	1408

* LCL Low Confidence Level “ UCL Upper Confidence Level r nije postignuto

Zauzetost limfnih vorova, odnosno N stadij, pokazuje i jasnu povezanost s pre0ivljenjem do progresije bolesti ($p<0,001$), zto je prikazano u tablici 5.4.

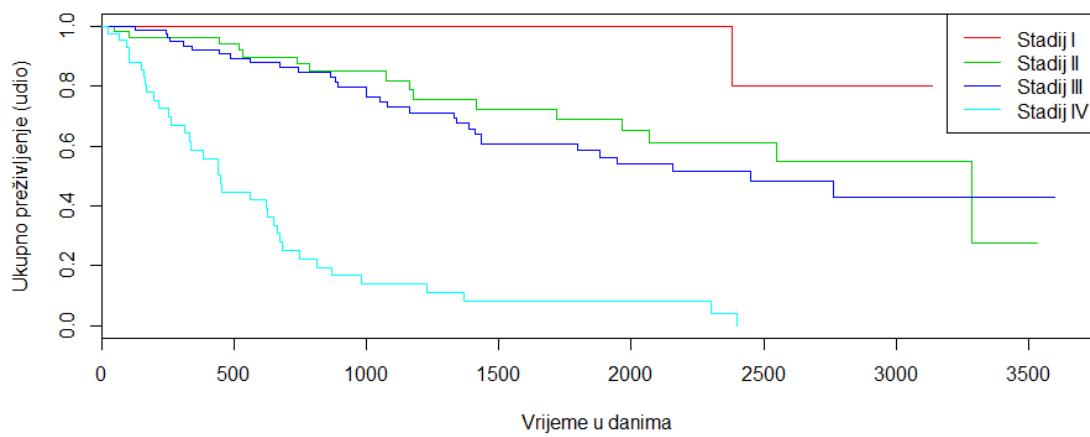
Tablica 5.4. Vrijednosti medijana preživljjenja do progresije bolesti bolesnika s tumorima debelog crijeva s intervalima pouzdanosti od 95% (p<0,001)

N stadij	Broj bolesnika	Broj bolesnika s progresijom	Medijan ukupnog preživljjenja	0.95 LCL*	0.95 UCL [“]
0	58	16	NA ^r	NA ^r	NA ^r
1	51	24	1184	722	NA ^r
2	76	52	405	316	595

* LCL Low Confidence Level “ UCL Upper Confidence Level r nije postignuto

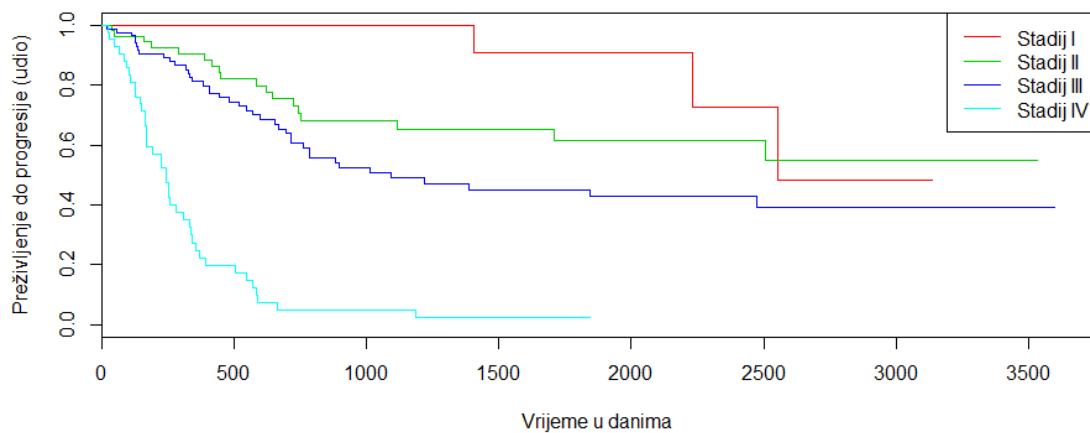
Tako da postoji statistički značajna razlika u ukupnom preživljjenju ($p<0,001$), sa medijanom ukupnog preživljjenja 447 dana (CI 330-671) kod pacijenata sa postojanjem metastaza u odnosu na 3287 (CI 2380-NA) kod pacijenata koji nemaju metastaze. Što se tiče vremena do pogresije bolesti, medijan je preživljjenja 241 dan (CI 168-334) za pacijente koji imaju metastaze, u odnosu na 2474 dana (CI 1385-NA) za pacijente koji nemaju metastaze ($p<0,001$).

Odnos ukupnog preživljjenja prema stadijima bolesti prikazan je na slici 5.11., na kojoj se vidi da postoji statistički značajna razlika među stadijima ($p<0,001$).



Slika 5.11. Odnos ukupnog preživljivanja bolesnika s tumorom debelog crijeva i stadija bolesti ($p<0,001$)

Vrlo je slična situacija s vremenom do progresije bolesti. Postoji statistički značajna razlika u vremenu do progresije bolesti među stadijima ($p<0,001$) što je i prikazano na slici 5.12.



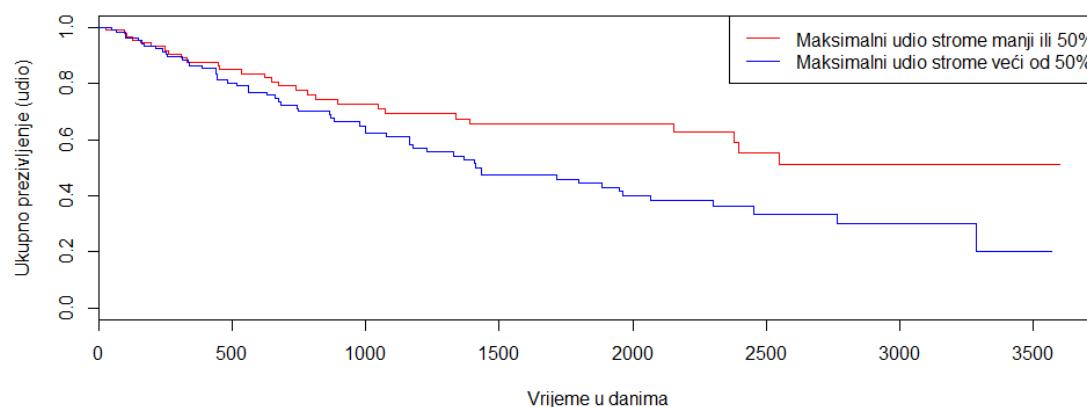
Slika 5.12. Odnos preživljivanja do progresije bolesti kod bolesnika s tumorom debelog crijeva i stadija bolesti

Pacijenti koji su imali metastaze imali su statisti ki zna ajno lozije ukupno pre0ivljenje u odnosu na one koji ih nisu imali (447 vs 3287 dana, p <0,001).

Kod pacijenata kod kojih su presadnice odstranjene postoji razlika u ukupnom pre0ivljenju koja je statisti ki zna ajna (medijan 2066 dana (CI 741-NA) vs 892 dana (CI 671-1163), p=0,003).

Tako er postoji klini ki zna ajna razlika u ukupnom pre0ivljenju izme u pacijenata s i bez invazije krvnih ili limfnih Oila, ili invazije Oivaca (medijan 1338 (CI 810-NA) vs 2301 (CI 1431-NA) dana), no ni ovdje razlika nije statisti ki zna ajna (p=0,059). Nasuprot tome dobivena je statisti ki zna ajna razlika u pre0ivljenju izme u pacijenata koji imaju invaziju krvnih ili limfnih Oila ili invaziju Oivaca u odnosu na one koji je nemaju (588 (CI 442-1844) vs 1385 (CI 742-NA) dana), p=0,029.

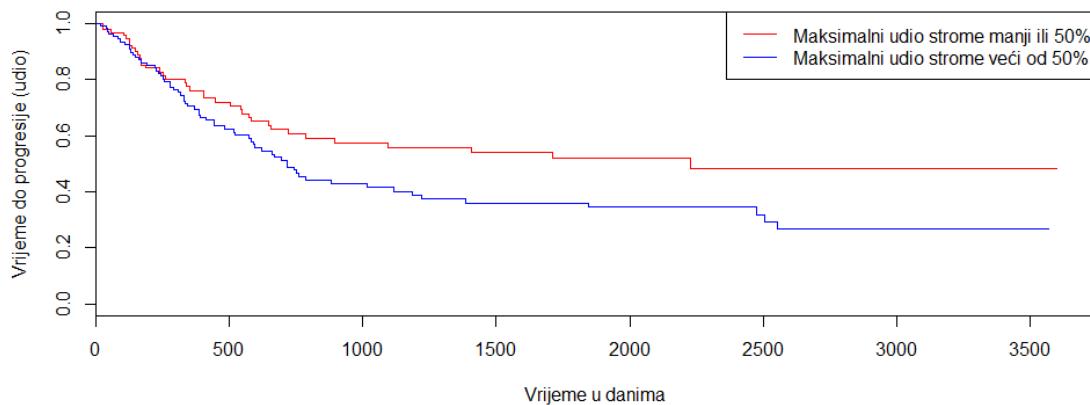
Prilikom odreivanja korelacije udjela strome i pre0ivljenja, pacijente smo podijelili u dvije skupine (one koji imaju tumore s manje i jednako 50% strome i one koji imaju tumore s vize od 50% stome). Krivulje ukupnog pre0ivljenja prikazane su na slici 5.13. Postoji statisti ki zna ajna razlika u ukupnom pre0ivljenju, te tako pacijenti koji imaju udio tumorske strome ve i od 50% imaju i statisti ki zna ajno kra e ukupno pre0ivljenje (p=0,016).



Slika 5.13. Kaplan-Meierova krivulja odnosa ukupnog preživljavanja u bolesnika sa tumorom debelog crijeva koji imaju udio tumorske strome <50% i onih koji imaju >50% udjela tumorske strome

Isto tako postoji i statisti ki znajna razlika u pre0ivljenju do progresije bolesti, zto je prikazano na slici 5.14. Bolesnici koji su imali udio tumorske strome >50% imali su i

statistički značajno dulje vrijeme do progresije bolesti u odnosu na one koji su imali udio tumorske strome manje ili jednako 50% ($p=0,019$).



Slika 5.14. Kaplan-Meierova krivulja preovljenja do progresije bolesti u bolesnika sa tumorom debelog crijeva koji imaju udio strome $\leq 50\%$ i onih koji imaju $>50\%$ strome ($p=0,019$)

6. RASPRAVA

Prilikom postavljanja dijagnoze zlo udnog tumora bolesnike naj e zanima kakva mu je prognoza. Kroz povijest se pojma prognoze pokuzao kvantificirati te su istra0ivane karakteristike tumora koje utje u na prognozu. Tako su izdvojeni parametri koji utje u na prognozu tumora. No u praksi se pokazalo da oni nisu dovoljno dobri za to nije odre ivanje prognoze pacijenata, te je potrebno tragati za novim , boljim imbenicima prognoze kod bolesnika oboljelih od umora debelog crijeva.

6.1. Utjecaj veli ina tumora i T stadija na ishod bolesnika oboljelih od karcinoma debelog crijeva

U nazoj analizi veli ina tumora nije imala utjecaj niti na ukupno pre0ivljenje ni na pre0ivljenje do progresije bolesti. U starijim verzijama NCCN-smjernica veli ina tumora od 5 cm bila je granica. Kod tumora stadija II ve ih od 5 cm bila je indicirana adjuvantna kemoterapija (58). U novoj verziji 2.16. veli ina se tumora ve a od 5 cm vize ne spominje kao imbenik koji utje e na odluku o davanju kemoterapije. (21)

S druge strane postoji jasna povezanost izme u T stadija primarnog tumora i pre0ivljenja. Primarni tumor T4 stadija smatra se visokim rizikom te se prema ESMO (*European Society of Medical Oncology*)- i NCCN (*National Comprehensive Cancer Network*)-smjernicama kod bolesnika stadija bolesti II, ali s T4 stadijem primarnog tumora indicira kemoterapija (21, 59).

Naze je istra0ivanje tako er pokazalo statisti ki zna ajnu povezanost izme u T stadija bolesti te ukupnog pre0ivljenja ($p=0.004$) i vremena do progresije bolesti ($p=0,045$), tako da pre0ivljenje opada s obzirom na dubinu prodora kroz stijenu crijeva.

Najvize bolesnika imalo je T3 stadij bolesti, zto je u skladu s prethodnim studijama (48, 51, 52) iako u manjem omjeru nego u navedenim studijama. Treba primijetiti da u nazem istra0ivanju ima izuzetno malo bolesnika koji su imali tumor T1 stadija (svega 3 bolesnika). Treba nazna iti da je taj rezultat i o ekivan jer su to tumori koji se otkriju uglavnom slu ajno.

Tako er, nazi su rezultati udjela tumorske strome prema T stadijima usporedivi s prethodno opisanim podacima. Tako kod nas postoji statisti ki zna ajna razlika u

udjelu strome između stadija T1, T2 i T3. U Huijbersovoj se studiji jasno vidi kako udio bolesnika koji imaju niski udio strome opada kako raste T stadij bolesti (T1 . 100%, T2 . 96,2%, T3 . 74,8%, T4 . 55%), što je potvrdila i Parkova studija ($p=0.027$) (51, 52).

6.2. Utjecaj N stadija bolesti na ishod kod bolesnika oboljelih od karcinoma debelog crijeva

Bolesnici koji imaju karcinom debelog crijeva stadija bolesti II, odnosno kod kojih nisu zahvaćeni limfni vorovi, imaju stopu preživljivanja 70 – 80% u odnosu na one koji imaju zahvaćene limfne vorove i u kojima je stopa petogodišnjeg preživljivanja 30 – 60% (60).

U nazem smo istraživanju dokazali da je vizi N stadij statistički značajno povezan s preživljivanjem ($p<0.001$) i za ukupno preživljivanje i za vrijeme do progredije bolesti, što je u skladu s prethodno objavljenim podacima.

Ako se pogleda udio strome u odnosu na N stadij tumora u Huijbersovoj analizi, postoji znacajni porast udjela strome kako raste N stadij, tako da u N0 stadiju svega 22,22% bolesnika (38 nasuprot 171 pacijent) ima visoki% udio strome, dok je taj omjer u N2 stadiju bolesti 50% (9 nasuprot 18 pacijenata). (51)

Postavlja se i pitanje koliko se vorova treba analizirati. Istraživanje INT-0089 pokazalo je da povećanje broja izvanrednih i analiziranih limfnih vorova dovodi do boljeg preživljivanja bolesnika, kako onih s pozitivnim limfnim vorovima tako i onih s negativnim limfnim vorovima (61).

Kasnije studije pokazale su povezanost poboljšanja preživljivanja s analizom 12 i više limfnih vorova (62, 63).

Ne zna se koji je to an razlog tog rezultata, no bez obzira na razlog preporuka je Američkog društva patologa da se bez obzira na T stadij bolesti kod pacijenta pregleda minimalno 10 – 14 limfnih vorova (64).

U nazem je istraživanju srednja vrijednost broja pregledanih limfnih vorova ($16,00 \pm 10,26$) bila u skladu s preporukama. Treba napomenuti da su 2006. i 2007. godine još uvek patohistološki izvještaji bili opisni te da se u pojedinim izvještajima mogla naći rečenica spregledano je nekoliko limfnih vorova%. Unazad nekoliko godina pisanje je patohistoloških izvještaja u Republici Hrvatskoj standardizirano te se u svakom

sustavno nalaze parametri koji su bitni klinički, a među njima i broj pregledanih limfnih vorova i broj limfnih vorova zauzetih tumorom.

6.3. Utjecaj postojanja metastaza na ishod bolesnika oboljelih od karcinoma debelog crijeva

Prema podacima iz literature oko 25% bolesnika sa karcinomom debelog crijeva pri postavljanju dijagnoze ima metastatsku bolest, prijeđu mu oko 75% bolesnika ima metastatsku bolest ograničenu na jetru. Ukupno petogodiznje preživljivanje za bolesnike s metastatskom bolesti iznosi između 5 i 10%, prijeđu mu one imaju neznačajno preživljivanje nego muzkarci (65).

Prema rezultatima istraživanja 22,38% bolesnika pri postavljanju dijagnoze imalo je metastatsku bolest, prijeđu mu je 78,26% imalo metastaze ograničene na jetru, što je u skladu s objavljenim podacima.

Priježivljivanje bolesnika s metastatskom bolesti statistički je znatno niže u odnosu na one koji nemaju metastaze tijekom postavljanja dijagnoze. Analizom preživljavanja bolesnika koji imaju metastaze u odnosu na one koji ih nemaju postoji statistički znatna razlika u medijanu ukupnog preživljavanja (447 vs 3287 dan, $p<0.001$).

Operacijom presadnica u jetri dobiva se poboljšanje preživljavanja te petogodiznje preživljivanje raste na do 35% (66).

6.4. Utjecaj invazije krvnih i limfnih žila te invazije oivaca na preživljivanje bolesnika oboljelih od kolorektalnog karcinoma

Velika metaanaliza Yang i suradnika (67) pokazala je da je postojanje invazije oivaca važan lož prognostički imbenik kod bolesnika s karcinomom debelog crijeva. Dobivene su statistički znatne razlike kako u ukupnom preživljavanju ($p<0,01$, HR 2,07) tako i u vremenu do progresije bolesti ($p<0,01$ HR 2,23) bolesnika oboljelih od karcinoma debelog crijeva. Na osnovi toga invazija oivaca uvrztena je u smjernice za liječenje karcinoma debelog crijeva (21) kao negativan prognostički imbenik. Smatra

se da svim bolesnicima koji imaju stadij II tumora i perineuralnu invaziju treba dati adjuvantnu kemoterapiju.

Invazija krvnih i limfnih 0ila tako er mo0e koristiti za identifikaciju bolesnika s agresivnjim tipovima karcinoma debelog crijeva. Karcinomi s prisutnom invazijom krvnih i limfnih 0ila ez e su slabije diferencirani i ez e imaju vize preoperativne vrijednost karcinoembrionalnog antiga, koji je tako er izdvojen kao negativni prognosti ki imbenik (68, 69).

Kod nazih bolesnika nije dobivena statisti ki zna ajna razlika u ukupnom pre0ivljenju izme u onih bolesnika koji imaju prisutnu invaziju krvnih ili limfnih 0ila i invaziju 0ivaca i onih koji je nemaju, iako se vidi razlika u medijanu ukupnog pre0ivljenja (1338 vs 2301 dan), dok je za vrijeme do progresije bolesti ta razlika statisti ki zna ajna ($p=0,029$).

6.5. Utjecaj stupnja diferenciranosti tumora na ishod bolesnika oboljelih od karcinoma debelog crijeva

Stupanj diferenciranosti tumora odre uje se na osnovi postotka Oljezdanih struktura unutar tumora. Tako se oni tumori koji imaju >95% Oljezdanih struktura smatraju stupnjem diferenciranosti 1, odnosno dobro diferenciranim tumorima, oni koji imaju >50% Oljezdanih struktura stupnjem diferenciranosti 2 ili srednje diferenciranim tumorima, oni s <50% Oljezdanih struktura stupnjem diferenciranosti 3, tj slabo diferenciranim tumorima, dok se one s udjelom Oljezdanih struktura <5% smatra stupnjem diferenciranosti 4, tj nediferenciranim tumorima. U klini koj se praksi stupanj diferenciranosti 3 i 4 obi no prikazuju zajedno kao slabo diferencirani tumori (70).

Karcinomi debelog crijeva naj ez e su dobro diferencirani. U studiji Derwingera i suradnika (71) pokazano je da su karcinomi debelog crijeva u 55,5% slu ajeva dobro diferencirani, u 35,7% srednje diferencirani, a u svega 8,8% slu ajeva slabo diferencirani. Stupanj diferenciranosti tumora u istoj se studiji pokazao kao nezavisni imbenik pri riziku metastaziranja. (71)

U nazem istra0ivanju bolesnici su prema stupnju diferenciranosti bili sli no raspore eni (50,24% imalo je dobro diferencirane tumore, 43,90% je imalo srednje diferencirane tumore, dok je 5,85% imalo slabo diferencirane tumore). Treba napomenuti da za 31 bolesnika nismo imali stupanj diferenciranosti tumora. Pisanjem patohistolozkih izvez a prema strukturiranom obrascu taj bi se problem trebao izbje i. U nazem se

istraživanju stupanj diferenciranosti nije pokazao prediktornim imbenikom za ukupno preživljjenje, kao ni za vrijeme do progresije bolesti, iako je rezultat za vrijeme do progresije bolesti na granici statističke značajnosti ($p=0,051$).

6.6. Utjecaj lokalizacije tumora na ishod bolesnika oboljelih od carcinoma debelog crijeva

Trenutno je vrlo aktualna razlika u ukupnom preživljjenju i vremenu do progresije bolesti u odnosu na lokalizaciju tumora. Najnovija istraživanja sugeriraju loziju prognozu bolesnika s metastatskim tumorima debelog crijeva koji se primarni tumor nalazi u području desnog kolona (cekum, ascendens, hepatalna fleksura, transverzalni kolon) u odnosu na one koji imaju tumor lijevog kolona (descendens, sigma, rektum, lijenalna fleksura). (72)

Naravno, u sredistu je svih istraživanja procjena i predviđanje odgovora na terapiju. Tako su metastatski tumori koji imaju primarno sijelo u lijevom kolonu predominantno RAS nemutirani, HER pozitivni i povezuju se s boljom prognozom. S druge strane, tumori koji su desnostrani i su KRAS i BRAF mutirani, pojavljuju se u starijih bolesnika te imaju loziju prognozu. Desnostrani su tumori i hipermutirani (mikrosatelitski instabilni) i hipermetilirani te su i u 0ena (73-75). Ono što treba naglasiti jest da bolesnici koji imaju visoku mikrosatelitsku nestabilnost nemaju korist od adjuvantne kemoterapije i imaju preživljjenje bez znakova bolesti u odnosu na pacijente koji su mikrosatelitski stabilni ili imaju nisku mikrosatelitsku nestabilnost (76). Tako je u ovom radu Yanga i suradnika pokazano da one imaju bolje preživljjenje u odnosu na muzkarce.

U srpnju 2016.godine u objavljen je lanak koji je na 91416 bolesnika s karcinomom debelog crijeva I – III stadija uspoređivao preživljjenje u odnosu na lijevu ili desnu lokalizaciju tumora. Prikazana je statistika koja značajno razlikuje kako u ukupnom preživljjenju ($HR=0,92$, 95 % CI: 0,89 - 0,94, $p<0,001$) tako i u karcinom specifičnom preživljjenju ($HR=0,90$, 95 % CI: 0,87 - 0,93, $p<0,001$). Ako se pogleda po stadijima, razlika je statistika koja značajno razlikuje I i II stadij bolesti, dok za stadij III bolesti lijevostrani i desnostrani tumori imaju sličnu prognozu (77).

Kada se svi ti parametri uzmu u obzir, naz rezultat statisti ki zna ajno boljeg vremena do progresije bolesti i klini ki boljeg (ali ne i statisti ki zna ajnog) ukupnog preovljenja bolesnika s desnostranim karcinomom kolona u odnosu na lijevostrani karcinom kolona i nije toliko iznena uju i. Ono zto bi svakako u narednim istraivanjima trebalo procijeniti, jest i utjecaj mikrosatelitske nestabilnosti na preovljenje s obzirom na stadij i razdiobu bolesnika s visokom mikrosatelitskom nestabilnosti u odnosu na lokalizaciju primarnog tumora.

6.7. Utjecaj udaljenosti tumora od ruba resekcije na ishod bolesnika oboljelih od karcinoma debelog crijeva

Jedno od vanih pitanja jest i udaljenost tumora od ruba resekcije. To pitanje nije toliko zna ajno u karcinomima kolona koliko u karcinomu rektuma pri odre ivanju udaljenosti od distalnog ruba resekcije. U prozlosti je postojala generalna preporuka da udaljenost od ruba resekcije bude minimalno 5 cm s obzirom na to da je mogu e na i intramuralno zirenje tumora na udaljenosti od 5 cm i vize. No kasnije su studije pokazale da je takvo zirenje tumora izuzetno rijetko i ako se i pojavljuje, obi no se ziri manje od jednog centimetra od mikroskopske margine tumora, a ukoliko se i ziri dalje od 1 cm, to je u tumorima koji su vrlo uznapredovali i kao takvi imaju loziju prognozu. Studije su pokazale da ne postoji zna ajna razlika u riziku lokalnog recidiva izme u onih pacijenata koji su imali rub resekcije manji od 5 cm i onih kod kojih je taj rub ve i od 5 cm (78, 79).

Postoje ak i studije koje su pokazale da distalni rub resekcije od 1 cm moe biti zadovoljavaju i za ve inu bolesnika (80).

Bez obzira na tu studiju generalno je prihva en stav da je, kad god je to mogu e, reseckjski rub od 2 cm minimalni rub koji se mora posti i.

Kada se pogledaju nazi podaci, vidi se da je prosje na udaljenost tumora od ruba resekcije $5,58 \pm 4,93$ cm. Ono zto se moe vidjeti iz slike 5.2. (udaljenost tumora od ruba resekcije) jest da je 138 pacijenata (58,48%) imalo udaljenost tumora od ruba resekcije 5 cm i manju, zto je opravdano samo u niskim karcinomima rektuma gdje se pokuzava o uvati mizi ili je udaljenost tumora od koone granice granice izrazito mala. Tako er ne postoji statisti ki zna ajna razlika u preovljenju s obzirom na udaljenost tumora od ruba resekcije.

Ono na zto uvijek treba obratiti pozornost, jest radijalni rub resekcije koji se mora uvijek adekvatno ozna iti. Kod nekih sijela kolona, kao zto je transverzalni kolon, koji su u potpunosti okru0eni potrbuznicom, radijalni rub resekcije je jedini adekvatni rub resekcije (64).

U studiji Birbecka i suradnika (71) na 608 pacijenata s karcinomom rektuma pokazano je da je pozitivni radijalni rub resekcije negativni prognosti ki faktor i za nastanak lokalnog recidiva i za ukupno pre0ivljenje. Pacijenti s pozitivnim radijalnim resekcijskim rubom imali su stopu povrata bolesti od 38,2 %, dok su oni s negativnim resekcijskim rubom imali stopu lokalnog povrata bolesti od 10,0%.

6.8. Utjecaj udjela tumorske strome na ishod bolesnika oboljelih od karcinoma debelog crijeva

Novim istra0ivanjima dozlo se do joz nekih parametara koji mogu imati prognosti ku vrijednost kod karcinoma debelog crijeva, a jedan je od tih i koli ina strome koja je prvo dokazana kao prognosti ki imbenik na karcinomima dojke i jednjaka (41-45).

Udio strome, odnosno tumorskih stanica, za prognozu karcinoma debelog crijeva do sada je objavljen u etiri rada.

Mesker i suradnici su na 122 bolesnika odre ivali udio tumorskih stanica kao derivat karcinom-stroma udjela. Bolesnici su bili podijeljeni u dvije skupine. Jedna je imala visok udio tumorskih stanica, dok je druga imala niski udio tumorskih stanica. Petogodiznje ukupno pre0ivljenje za one koji su imali visok udio tumorskih stanica u odnosu na one koji su imali nizak udio tumorskih stanica iznosi 73,0% nasuprot 15,2%. Tako er se vidi i poboljzanje petogodiznjeg vremena do progresije bolesti 67,4% kod tumora s visokim udjelom tumorskih stanica nasuprot 12,1% kod pacijenata s niskim udjelom tumorskih stanica (47).

Sljede a objavljena studija jest studija Westa i suradnika iz 2010. godine, koja je pokazala da je udio tumorskih stanica zna ajan prognosti ki imbenik u karcinomu debelog crijeva. Udio tumorskih stanica povezan je s udjelom strome te da tumor koji imaju manji udio tumorskih stanica imaju lozije pre0ivljenje. Taj podatak bio je vize izra0en u karcinomima kolona i stadiju III nego u karcinomima rektuma i stadija I i II (48).

Huijbers i suradnici su 2012. objavili veliku studiju na 710 pacijenata. Pacijenti su prvotno bili uključeni u VICTOR studiju (49,50), koja je ispitivala u inkovitost rofecoxiba u adjuvantnom liječenju karcinoma debelog crijeva. Uključeni su bolesnici sa stadijem tumora II i III. Studija je prekinuta zbog kardiotoksičnosti rofecoxiba. Udio strome procijenjen je neovisno od strane dvaju patologa te su tumori svrstani u dvije skupine: oni koji imaju visok udio strome (vize od 50%) te oni koji imaju nizak udio strome (manje od 50%). Analizom preovljenja pokazano je da postoji statistički značajna razlika u ukupnom preovljenju i preovljenju bez znakova bolesti za te dvije skupine, gdje su bolesnici s visokim udjelom strome imali statistički značajno ložije ukupno preovljenje ($p<0,001$) i preovljenje bez znakova bolesti ($p<0,001$) (51).

Šličan rezultat dobiven je i u studiji Parka i suradnika (52).

Granica udjela strome između visokog i niskog udjela postavljena je na 50%.

Nazaljnija studija je potvrdila ove rezultate sa statističkim značajnom razlikom u ukupnom preovljenju i preovljenju do povećanja bolesti kod bolesnika s karcinomom debelog crijeva.

Prvi izazov bio je na koji način odrediti udio tumorske strome, odnosno pokuzati objektivizirati udio tumorske strome.

Prijaznje studije su za određivanje udjela tumorske strome koristile subjektivnu metodu gdje su dva patologa neovisno gledala uzorke te procjenjivala da li u tumoru ima vize ili manje od 50% strome. Ukoliko su rezultati bili različiti, uključen je još jedan patolog koji je također procjenio udio tumorske strome (51, 52). Mesker i suradnici su koristili analizator slike sa kompjutorskim programom koji nije dostupan u svakoj bolnici. S obzirom da se u Republici Hrvatskoj karcinom debelog crijeva operira u svakoj bolnici, smatrali smo da metoda mora biti jednostavna, zirokodostupna i jeftina, te smo upotrijebili kompjutorski program za obradu slike, koji se pokazao vrlo praktičan u ovu svrhu, a istodobno je jednostavan, zirokodostupan (sa interneta se skida besplatno) i jeftin.

Drugi izazov bio je mjesto na kojem se određuje udio strome.

Kako objektivno nije moguće pregledati cijelo tumor i tako u njemu točno odrediti udio strome, tražili smo metodu za što to nije određivanje mesta sa kojega treba odrediti udio strome.

U prijaznjim istraživanjima prikazana je jaka heterogenost u udjelu tumorskih stanica unutar tumora, a isto tako udio strome nije isti u cijelom tumoru, što smo i dokazali nazim mjerjenjima, tako da neki preparati imaju velik raspon između 3 pregledana uzorka. Kako smo odredili udio strome u tri patohistološka preparata, primjetili smo da su udjeli strome za pojedinog pacijenta različiti. U karcinomu dojke neke studije su pokazale da bolju prognozu imaju tumori s visokim udjelom tumorskih stanica na periferiji tumora (82), dok su druge pokazale obrnutu situaciju kada se gleda cijeli tumor (83).

Vodeći se ranijim istraživanjima (47, 48, 51, 52), na mjestu najdubljeg prodora tumora, odredili smo mjesto sa najvećim udjelom strome. Ono što je manja ova metoda je što je ona i dalje subjektivna, te mjesto sa najvećim udjelom strome ovisi o procjeni patologa. Ono što bi se trebalo svakako učiniti u budućim istraživanjima je definirati i pokuzati objektivizirati mjesto na kojem će se odrediti stroma, te povezati broj bolesnika koji bi se obradio.

7. ZAKLJU CI

Na osnovi dobivenih rezultata i uspore ivanjem nazih rezultata s podacima iz recentne literature zaklju ili smo sljede e:

1. Ve i udio strome u nazem ispitivanju se pokazao kao statisti ki zna ajan parametar za ukupno pre0ivljenje i pre0ivljenje do progresije bolesti. Postoji jasna razlika i u ukupnom pre0ivljenju i u pre0ivljenju do progresije bolesti kod bolesnika koji imaju udio strome ve i od 50% i onih koji imaju udio strome jednak ili manji od 50%. Pri tome oni bolesnici koji imaju ve i udio strome imaju i loziju prognozu bolesti
2. Udio strome povezan je s ostalim poznatim lozim prognosti kim imbenicima. Dokazano je da je udio strome zna anije vizi u tumorima koji imaju vizi T stadij tumora, N stadij tumora te stadij bolesti. Udio strome nije zna ajno vizi u tumora koji su slabije diferencirani te koji imaju prisutnu invaziju krvnih ili limfnih Oila ili invaziju Oivaca.
3. Analizom pre0ivljenja dokazali smo da je ukupno pre0ivljenje i pre0ivljenje do progresije bolesti nazih pacijenata ovisno o prethodno poznatim lozim prognosti kim imbenicima kao zto su T stadij tumora, N stadij, postojanje metastaza, postojanje limfovaskularne invazije te gradus tumora.
4. Prema rezultatima dosadaznjih istra0ivanja te prema rezultatu nazeg istra0ivanja udio tumorske strome mogao bi se postaviti kao prognosti ki imbenik kod karcinoma debelog crijeva, a koji je izuzetno jednostavan i jeftin za odre ivanje i na osnovu njega mogli bi identificirati bolesnike koji imaju loziju prognozu.

8. SAŽETAK

Do sada su za karcinom debelog crijeva identificirani prognostički imbenici koji uvelike utječu na prognozu tumora (T stadij, N stadij, postojanje presadnica, postojanje limfovaskularne ili perineuralne invazije, stupanj diferenciranosti tumora, mikrosatelitska nestabilnost). Udio strome u tumoru pokazao se važnim prognostičkim imbenikom kod karcinoma jednjaka i dojke, a prethodna istraživanja potvrdila su da biste isti u inak mogao imati i kod karcinoma debelog crijeva. Tako je cilj ovoga rada ispitati je li udio strome povezan s prethodno poznatim prognostičkim imbenicima i ima li utjecaj na preživljjenje pacijenata.

Provedena je retrospektivna studija na pacijentima koji su 2006. i 2007. godine operirani u KBC-u Osijek zbog karcinoma debelog crijeva. Kod pacijenata su se odredili prognostički imbenici koji su otprije poznati te se ispitala njihova povezanost s udjelom strome i utjecaj udjela strome na ukupno preživljjenje i preživljjenje bez znakova bolesti.

U ispitivanju je bilo uključeno 236 pacijenata koji su operirani na Klinici za kirurgiju KBC-a Osijek 2006. i 2007. godine, a nakon toga njih je 306 lječeno na Zavodu za onkologiju KBC-a Osijek. Za svakog je pacijenta pomoću računalnog programa Adobe Photoshop CS2 određen udio strome na 3 patohistološka preparata, a nakon toga je određena srednja vrijednost. Gledala se povezanost tumorske strome s otprije poznatim prognostičkim imbenicima te se ispitao utjecaj tumorske strome na preživljjenje pacijenata.

Testiranjem smo dobili da je udio strome statistički značajno povezan s T stadijem, N stadijem, stadijem bolesti i lokalizacijom tumora unutar debelog crijeva. Dokazana je povezanost prognostičkih parametara s ukupnim preživljjenjem i preživljjenjem do progresije bolesti. Dokazali smo takođe da postoji statistički značajna razlika u ukupnom preživljjenju i preživljjenju do progresije bolesti u pacijenata koji imaju visoki u odnosu na one koji imaju niski udio strome (granica od 50%).

Na osnovu prethodno navedenog tumorska stroma biće moglo postaviti kao prognostički imbenik i prema tome koristiti u svakodnevnoj kliničkoj praksi.

9. SUMMARY

Stroma proportion as a prognostic factor in colorectal cancer

Today we know a lot prognostic factors for survival in colorectal cancer (as T stage, N stage, perineural, perivascular invasion, metastatic disease, microsatellite instability, tumor differentiation). We are trying to find more prognostic parameters for survival.

According to previous trials it is known that tumor stroma is high prognostic parameter in oesophageal and breast cancer and it seems that same effect tumor stroma has in colorectal cancer.

This is retrospective analysis of patients who undergo surgery in 2006 and 2007. We tried to analyse if tumor stroma has effect on overall survival and time to progression and it correlates with known prognostic parameters.

We included 236 patients with all tumor stages who undergo surgery due to diagnosis of colorectal cancer in 2006 and 2007. 230 of them had treatment at Department of oncology Clinical Hospital Centre Osijek

We found that tumor stroma percentage correlates with T and N stage disease, tumor localisation. We also found statistically significant difference in overall survival and progression free survival between stroma high and stroma low colorectal cancers. In summary, our study shows importance of tumor stroma proportion in determining outcome in patients with colorectal cancer. As it is simple to determine it could be incorporated into routine histopathological reporting as a prognostic parameter.

10. LITERATURA

1. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Registar za rak Republike Hrvatske. Incidencija raka u Hrvatskoj 2013., Bilten 38, Zagreb, 2015.
2. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 .
3. Cheng L, Eng C, Nieman LZ, Kapadia AS, Du XL. Trend sin colorectal cancer incidence by anatomic site and disease stage in United States from 1976 to 2005; Am J Clin Oncol, 2011 Dec; 34(6):573 – 580.
4. Bailey CE, Hu CY, You YN et al. Increasing disparities in the age related incidences of colon and rectal cancers i United States, 1975-2010. JAMA Surg 2015 Jan;150(1):17 – 22.
5. Edge S, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, Trott A. AJCC, Cancer Staging Manual, Seventh Edition, New York, Springer 2010
6. Gunderson LL, Jessup JM, Sargent DJ. Revised tomor and node categorization for rectal cancer based on surveillance, epidemiology and end result and rectal pooled analysis outcomes. J Clin Oncol 2010;28:256 – 263.
7. Dukes CE The classification of cancer of the rectum. The Journal of Pathology and Bacteriology, 1932, 35.3: 323 – 332.
8. Astler VB, Coller FA: The prognostic significance of direct extension of carcinoma of the colon and rectum. Ann Surg 1954; 139: 846.
9. Balthasar EJ, megibow AJ, Hulnick D, Naididi DP. Carcinoma of the colon: detection and preoperative staging by CT.- AJR An J Roentgend 1988;150: 301 – 306.
10. Parsons HM, Tuttle TM, Kuntz KM, et al. Association between lymph node evaluation for colon cancer and node positivity over the past 20 years. JAMA. 2011 Sep 14;306(10):1089 – 1097.
11. Compton CC, Greene FL. The staging of the colorectal cancer: 2004 and beyond. CA cancer J Clin 2004; 54:295 – 308
12. Compton CC. Updated protocol for the examination of specimens from patients with carcinomas of the colon and rectum, excluding carcinoid tumors, lymphomas, sarcomas, and tumors of the vermiform appendix: a basis for checklists. Cancer Committee. Arch Pathol lab Med 2000;124(7):1016 – 1025.

13. Compton CC, Fielding LP, Burgart LJ, Conley B, Cooper HS i sur. Prognostic factors in colorectal cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. Arch Pathol Lab Med. 2000;124(7):979 – 994.
14. Nissan A, Stojadinovic A, Shia J, Hoos A, Guillem JG et al..Predictors of recurrence in patients with T2 and early T3, N0 adenocarcinoma of the rectum treated by surgery alone. J Clin Oncol. 2006 ;24(25):4078 – 4084.
15. Washington MK, Berlin J, Branton P, Burgart LJ, Carter DK et al.Protocol for the examination of specimens from patients with primary carcinoma of the colon and rectum. Arch Pathol Lab Med. 2009;133(10):1539 – 1551.
16. Fujita S, Shimoda T, Yoshimura K, Yamamoto S, Akasu T et al. Prospective evaluation of prognostic factors in patients with colorectal cancer undergoing curative resection. J Surg Oncol. 2003;84(3):127 – 131.
17. Quah HM, Chou JF, Gonan M, Shia J, Schrag D et al. Identification of patients with high-risk stage II colon cancer for adjuvant therapy. Dis Colon Rectum. 2008;51(5):503 – 507.
18. Lo DS, Pollett A, Siu LL, Gallinger S, Burkes RL. Prognostic significance of mesenteric tumor nodules in patients with stage III colorectal cancer. Cancer. 2008 Jan 1;112(1):50 – 54.
19. Ueno H, Mochizuki H, Hashiguchi Y, Ishiguro M, Miyoshi M et.al. Extramural cancer deposits without nodal structure in colorectal cancer: optimal categorization for prognostic staging. Am J Clin Pathol. 2007 Feb;127(2): 287 – 294
20. Wishner JD, Baker JW Jr, Hoffman GC, Hubbard GW 2nd, Gould RJ. Et al. Laparoscopic-assisted colectomy. The learning curve. Surg Endosc 1995 ;9(11):1179 – 1183.
21. National Comprehensive Cancer Network, Guideliness for treating Cancer by site, version 2.2016.
22. Des Guetz G, Uzzan B, Morere JF, Perret G, Nicolas P. Duration of adjuvant chemotherapy for patients with non-metastatic colorectal cancer. Cochrane Database Syst Rev. 2010 Jan 20;(1):CD007046.
23. Gray R, Barnewell J, McConkey C et al. Adjuvant therapy versus observation in patients with colorectal cancer: a randomised study. Lancet 2007; 370: 2020 – 2029.

24. Efficacy of adjuvant fluorouracil and folinic acid in colon cancer. International Multicentre Pooled Analysis of Colon Cancer Trials (IMPACT) investigators. *Lancet*. 1995 Apr 15;345(8955):939-944.
25. Efficacy of adjuvant fluorouracil and folinic acid in B2 colon cancer. International Multicentre Pooled Analysis of B2 Colon Cancer Trials (IMPACT B2) Investigators. *J Clin Oncol*. 1999 May;17(5):1356-63.
26. Hanna NN, Onukwugha E, Choti MA, et al. Comparative analysis of various prognostic nodal factors, adjuvant chemotherapy and survival among stage III colon cancer patients over 65 years: an analysis using surveillance, epidemiology and end results (SEER)-Medicare data. *Colorectal Dis*. 2012 Jan;14(1):48-55.
27. Wu X, Zhang J, He X, Wang C, Lian L et al. Postoperative adjuvant chemotherapy for stage II colorectal cancer: a systematic review of 12 randomized controlled trials. *J Gastrointest Surg*. 2012 Mar;16(3):646-55.
28. Nedrebø BS, Søreide K, Nesbakken A, et al. Risk factors associated with poor lymph node harvest after colon cancer surgery in a national cohort. *Colorectal Dis*. 2013;15(6):e301-8.
29. Lykke J, Roikjaer O, Jess P; Danish Colorectal Cancer Group. The relation between lymph node status and survival in Stage I-III colon cancer: results from a prospective nationwide cohort study. *Colorectal Dis*. 2013 May;15(5):559-65.
30. Morán A, Ortega P, de Juan C, i sur. Differential colorectal carcinogenesis: Molecular basis and clinical relevance. *World J Gastrointest Oncol* 2010;2:151-8.
31. Hoeijmakers JH. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. *Nature* 2001;411:366-74.
32. Pawlik TM, Raut CP, Rodriguez-Bigas MA. Colorectal carcinogenesis: MSI-H versus MSI-L. *Dis Markers* 2004;20:199-206.
33. Ionov Y, Peinado MA, Malkhosyan S, Shibata D, Perucho M. Ubiquitous somatic mutations in simple repeated sequences reveal a new mechanism for colonic carcinogenesis. *Nature* 1993;363:558-61.
34. Vasen HFA, Nagengast FM, Meera Khan P. Interval cancers in hereditary non-polyposis colorectal cancer (Lynch syndrome). *Lancet* 1995;345:1183-4.
35. Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR et al. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familiar predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res* 1998;58:5248-5257.

36. Colotta F, Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A. Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability. *Carcinogenesis* 2009;30(7): 1073. 1081.
37. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011;144(5): 646. 674.
38. Kim JB, Stein R, O'Hare MJ. Tumour-stromal interactions in breast cancer: the role of stroma in tumourigenesis. *Tumor Biol* 2005 26(4): 173. 185.
39. Hu M, Polyak K. Microenvironmental regulation of cancer development. *Curr Opin Genet* 2008; 18(1): 27. 34.
40. Cirri P, Chiarugi. Cancer-associated-fibroblasts and tumour cells: a diabolic liaison driving cancer progression. *Cancer Metastasis Rev* 2012; 31(1-2): 195. 208.
41. Wang K, Ma W, Wang J, Yu L, Zhang X, et al. Tumor-stroma ratio is an independent predictor for survival in esophageal squamous cell carcinoma. *J Thorac Oncol* 2012;7(9):1457. 1461.
42. Courrech Staal EF, Wouters MW, van Sandick JW, Takkenberg MM, Smit VT et al. The stromal part of adenocarcinomas of the oesophagus: Does it conceal targets for therapy? *Eur J Cancer* 2010;46(4):720. 728.
43. Gujam FA, Edwards J, Mohammed MA, Going JJ, McMillan DC. The relationship between the tumour stroma percentage, clinicopathological characteristics and outcome in patients with operable ductal breast cancer. *Brit J Canc* 2014; 111: 157-165.
44. de Kruijf EM, van Nes JG, Van de Velde CJ, Putter H, Smit VT et al. Tumor-stroma ratio in the primary tumor is a prognostic factor in early breast cancer patients, especially in triple-negative carcinoma patients. *Breast Cancer Res Treat* 2011; 125(3): 687. 696.
45. Moorman AM, Vink R, Heijmans HJ, van der Palen J, Kouwenhoven EA. The prognostic value of tumour-stroma ratio in triple-negative breast cancer. *Eur J Surg Oncol* 2012;38(4):307. 313.
46. Panayiotou H, Orsi NM, Thygesen HH, Wright AI, Winder M et al. The prognostic significance of tumour-stroma ratio in endometrial carcinoma. *BMC Cancer*. 2015 Dec 16;15:955.
47. Mesker WE, Junggeburt JM, Szuhai K, de Heer P, Morreau H, Tanke HJ, Tollenaar RA. The carcinoma-stromal ratio of colon carcinoma is an independent factor for

- survival compared to lymph node status and tumor stage. *Cell Oncol* 2007; 29(5): 387. 398.
48. West NP, Dattani M, McShane P, Hutchins G, Grabsch J et al. The proportion of tumour cells is an independent predictor for survival in colorectal cancer patients. *Br J Cancer* 2010; 102(10): 1519. 1523.
49. Midgley RS, McConkey CC, Johnstone EC et al. Phase III randomized trial assessing rofecoxib in the adjuvant setting of colorectal cancer: final results of VICTOR trial. *J Clin Oncol* 2010; 28: 4575-4580.
50. Pendlebury S, Duchesne F, Reed KA et al. A trial adjuvant therapy in colorectal cancer: the VICTOR trial . *Clin Colorectal Cancer* 2003; 3: 58-60.
51. Huijbers A, Tollenaar RA, Pelt GW, Zeestraten EC, Dutton S et al. The proportion of tumor-stroma as a strong prognosticator for stage II and III colon cancer patients: validation in the VICTOR trial. *Ann Oncol* 2013; 24(1): 179. 185.
52. Park J, Richards C, McMillan D, Horgan P, Roxburgh C. The relationship between tumour stroma percentage, the tumour microenvironment and survival in patients with primary operable colorectal cancer. *Ann Oncol* 2014; 25(3): 644. 651.
53. David M Diez, Package sOlsurv%o <https://cran.r-project.org/web/packages/Olsurv/Olsurv.pdf> (10.11.2016)
54. Markowski CA, Markowski EP. Conditions for the Effectiveness of a Preliminary Test of Variance". *The American Statistician*. 1990; 44 (4): 322. 326.
55. Kruskal WH, Wallis WA. Use of ranks in one-criterion variance analysis. *J Amer Statist Assn*.1952; 47 (260): 583. 621.
56. Maxwell SE, Delaney HD. Designing Experiments and Analyzing Data: A Model Comparison. Lawrence Erlbaum Associates. 2004; pp. 217. 218.
57. Kaplan EL, Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Amer Statist Assn* 1958; 53(282): 457-481.
58. National Comprehensive Cancer Network, Guideliness for treating Cancer by site, version 2.2014.
59. Labianca R, Nordlinger B, Beretta GD, Mosconi S, Mandala M et al. Early Colon Cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol* 2013; 24(Suppl 6): 64-72.
60. Ong ML, Schofield JB. Assessment of lymph node involvement in colorectal cancer. *World J GastrointestSurg*. 2016 Mar 27; 8(3): 179. 192.

61. LeVoyer TE, Sigurdson ER, Hanlon AL, Mayer RJ, Macdonald JS, et al. Colon cancer survival is associated with increasing number of lymph nodes analyzed: a secondary survey of intergroup trial INT-0089. *J Clin Oncol* 2003; 21: 2912-2919.
62. Bilimoria KY, Palis B, Stewart AK, Bentrem DJ, Freel AC et al. Impact of tumor location on nodal evaluation for colon cancer. *Dis Colon Rectum*. 2008 Feb;51(2):154-61.
63. Lykke J, Roikjaer O, Jess P. The relation between lymph node status and survival in Stage I-III coloncancer: results from a prospective nation wide cohort study. *Colorectal Dis*. 2013 May;15(5):559-65.
64. Washington MK, Berlin J, Branton P, Burgart LJ, Carter DK, et al. Protocol for the examination of specimens from patients with primary carcinoma of the colon and rectum. *Arch PatholLab Med*. 2009 Oct;133(10):1539-51.
65. Bartlett DL, Chu E. Can metastatic colorectal cancer be cured? *Oncology (Williston Park)*. 2012 Mar;26(3):266-75.
66. Fong Y, Fortner J, Sub RL, Brennan MF, Blumgart LH. Clinical Score for Predicting Recurrence After Hepatic Resection for Metastatic Colorectal Cancer. Analysis of 1001 Consecutive Cases. *Ann Surg*. 1999 Sep; 230(3): 309.
67. Yang Y, Huang X, Sun J, Gao P, Song Y et al. Prognostic value of perineural invasion in colorectal cancer: a meta-analysis. *J Gastrointest Surg*. 2015 Jun;19(6):1113-22.
68. Lim SB, Yu CS, Jang SJ, Kim TW, Kim JH et al. Prognostic significance of lymphovascular invasion in sporadic colorectal cancer. *Dis Colon Rectum*. 2010 Apr;53(4):377-84.
69. Tarantino I, Warschkow R, Worni M, Merati-Kashani K, Köberle D et al. Elevated preoperative CEA is associated with worse survival in stage I. III rectal cancer patients. *Br J Cancer*. 2012 Jul 10; 107(2): 266. 274.
70. Compton CC. Updated protocol for the examination of specimens from patients with carcinomas of the colon and rectum, excluding carcinoid tumors, lymphomas, sarcomas, and tumors of the veriform appendix: a basis for checklists. *Cancer Committee*. *Arch Pathol Lab Med*. 2000 Jul;124(7):1016-25.
71. Derwinger K, Kodeda K, Bexe-Lindskog E, Taflin H. Tumour differentiation grade is associated with TNM staging and the risk of node metastasis in colorectal cancer. *Acta Oncol*. 2010;49(1):57-62.

72. Chusteka Z. Big Difference in Colorectal Cancer on Right vs Left Side, ASCO 2016, Annual Meeting.
73. Cancer Genome Atlas N. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature* 2012;487:330-337.
74. Popovici V, Budinska E, Tejpar S, et al. Identification of a poor-prognosis BRAF-mutant-like population of patients with colon cancer. *J Clin Oncol* 2012;30:1288-1295.
75. Tie J, Gibbs P, Lipton L, et al. Optimizing targeted therapeutic development: analysis of a colorectal cancer patient population with the BRAF(V600E) mutation. *Int J Cancer* 2011;128:2075-2084.
76. Yang L, Sun Y, Huang XE, Yu DS, Zhou JN, et al. Carcinoma microsatellite instability status as predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for stage II rectal cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015;16:1545-1551.
77. Warschkow R, Sulz MC, Marti L, Tarantino I, Schmied BM et al. Better survival in right-sided versus left-sided stage I - III colon cancer patients *BMC Cancer* 2016;16:554.)
78. Williams NS, Dixon ME, Johnson D. Reappraisal of the 5 cm rule of distal excision for carcinoma of the rectum: A study of distal intramural spread and of patients' survival. *Br J Surg.* 1983;70:150-154.
79. Wilson SM, Beahrs OH. The curative treatment of carcinoma of the sigmoid, rectosigmoid and rectum. *Ann Surg.* 1976; 183:556-565.
80. Shirouzu K, Isomoto H, Kakegawa. Distal spread of rectal cancer and optimal distal margin of resection for sphincter-preserving surgery. *Cancer.* 1995; 76:388-392.
81. Birbeck KF, Macklin CP, Tiffin NJ, Parsons W, Dixon MF, et al. Rates of circumferential resection margin involvement vary between surgeons and predict outcomes in rectal cancer surgery. *Ann Surg.* 2002 Apr;235(4):449-57.
82. Baak JP, Van Dop H, Kurver PH, Hermans J. The value of morphometry to classic prognosticators in breast cancer. *Cancer.* 1985 Jul 15;56(2):374-82.
83. Tanaka K, Yamamoto D, Yamada M, Okugawa H. Influence of cellularity in human breast carcinoma. *Breast.* 2004 Aug;13(4):334-40.

11. žIVOTOPIS

Ime i prezime: Josipa Flam

Datum i mjesto rođenja: 03.12.1979., Osijek, Hrvatska

Adresa stanovanja: elijska 4

31 000 Osijek

Školovanje:

- 2005 - danas Znanstveni poslijediplomski studij u području biomedicine i zdravstva
- 2009 - 2010. Stručni poslijediplomski studij iz kliničke onkologije
- 1998.- 2004. Studij medicine u Osijeku Medicinskog fakulteta u Osijeku,
Sveučilišta u Osijeku
(Akademski stupanj/zvanje- doktor medicine)
1994. - 1998. Opća gimnazija u Valpovu

Specijalizacija

2007. . 2011. radioterapija i onkologija, KBC Osijek, KBC Zagreb

Radno iskustvo:

2011. Ljekar specijalist radioterapeut onkolog
- 2007.-2011. Ljekar specijalizant iz radioterapije i onkologije
2004. . 2007. Znanstveni novak, Znanstvena jedinica KBC Osijek

Radno mjesto: Klinički bolnički centar Osijek

Odjel za radioterapiju i onkologiju

J.Huttlera 4, 31000 Osijek, Hrvatska

Telefon: 031 511 490

Fax: 031 512 219

E-mail: jflam@mefos.hr

Nastavna aktivnost:

2009.g. do danas sudjelovanje u nastavi pri Katedri za onkologiju i radioterapiju Medicinskom fakultetu u sustavu Sveu ilizta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.

2011.g. izbor u naslovno suradni ko zvanje asistenta iz znanstvenog podru ja Biomedicine i zdravstva, znanstvenog polja klini ke medicinske znanosti, znanstvene grane onkologija u Katedri za onkologiju i radioterapiju na Medicinskom fakultetu u sustavu Sveu ilizta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.

Znanstvena i stručna aktivnost:**Objavljeni radovi:**

1. Kurbel S, Flam J. Interstitial hydrostatic pressure: a manual for students. *Adv Physiol Educ.* 2007 Mar;31(1):116-7
2. Gugic D, Flam J, Šambi Penc M, Mrela M, Romi S. Breast metastases from gastric carcinoma . A case report. *Libri Oncologici.* 2007;35(1-3): 59-62

Kongresna priopćenja:

1. Flam J. Karcinom endometrija, usmeno izlaganje, 7.hrvatski onkolozki kongres s me unarodnim sudjelovanjem 2014.
2. Flam J. Novosti u lije enju carcinoma kolona, usmeno izlaganje, 8. Hrvatski onkolozki kongres s me unarodnim sudjelovanjem 2015.
3. Flam J. Optimalno lije enje raka jetre, usmeno izlaganje, 9.Hrvatski onkolozki kongres s me unarodnim sudjelovanjem 2016.
4. Gugi D, Flam J, Canjko I: Adjuvantna kemoterapija raka dojke u Hrvatskoj I svijetu tijekom zadnjih 25 godina, XXV. Znanstveni sastanak Bolesti dojke, HAZU 23.09.2015.
5. Gugi D, Flam J, Sambic Penc M, Eric S, Labudovic D, Dreznjak Madunic M: Suradljivost onkolozkih pacijenata u uzimanju enteralne prehrane. 9. Hrvatski onkolozki kongres s me unarodnim sudjelovanjem, 2016., prezentacija postera

Sudjelovanje na tečajevima trajne medicinske edukacije:

- 1.. Tečaj %Dijagnostike i terapijske dileme kod karcinoma prostate+, voditelj prof.dr.sc. A. Tucak, Sveučilištite J.J. Strossmayera , 2007.g.
2. Tečaj %Dijagnostike i terapijske dileme kod karcinoma dojke+, voditelj prof.dr.sc. J.Fajdi , Sveučilištite J.J. Strossmayera 2007.g.
3. Tečaj stalnog usavršavanja liječnika iz %Ultrazvuka dojke+ voditelj prof. I. Drinković, Hrvatski liječnički zbor, Hrvatsko senologozko društvo, 2006.g.

Članstva:

od 2004. Hrvatska liječnička komora