

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE

“CAROL DAVILA” BUCUREȘTI

ȘCOALA DOCTORALĂ

DOMENIUL CHIRURGIE GENERALĂ



***FACTORI DE PROGNOSTIC
PENTRU RECIDIVA PRECOCE ÎN
CANCERUL COLO-RECTAL***

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător științific:

Prof. Univ. Dr. Traian Pătrașcu

Doctorand:

Dr. Roxana Zaharia

București 2020

CUPRINS

LISTA LUCRĂRILOR ȘTIINȚIFICE PUBLICATE

ABREVIERI

INTRODUCERE

PARTEA GENERALĂ - STADIUL ACTUAL AL CUNOASTERII

1. Factorii de prognostic pentru recidiva cancerului colo-rectal

1.1 Factori demografici

1.1.1 Vârsta

1.1.2 Sexul

1.1.3 IMC și dieta

1.2 Factori clinici

1.2.1 Localizarea

1.2.2 Dimensiunea

1.2.3 Aspect macroscopic

1.2.4 Formele clinice

1.3 Factori histopatologici

1.3.1 Stadiul TNM

1.3.2 Tipul histopatologic și gradul de diferențiere tumorală

1.3.3 Componenta mucinoasă

1.3.4 Necroza tumorală

1.3.5 Ganglionii limfatici regionali

1.3.6 LNR (limph node ratio)

1.3.7 Invazia perivasculară

1.3.8 Infiltratul inflamator peritumoral

1.3.9 Invazia peritoneului

1.4 Factori biologici

1.4.1 Anemia și administrarea derivatelor de sânge

1.4.2 Antigen carcinoembrionar

1.4.3 Proteina C reactivă

1.4.4 Raport neutrofile-limfocite

1.4.5 Alți biomarkeri de inflamație sistemică

1.5 Carcinogeneza și factorii genetici

- 1.6 Tratamentul cancerului colo-rectal
 - 1.6.1 Tratamentul chirurgical și factorii perioperatorii
 - 1.6.2 Tratamentul neoadjuvant
 - 1.6.3. Tratamentul adjuvant
- 1.7 Urmărirea postoperatorie
- 1.8 Aprecierea riscului de recidivă postoperatorie
- 1.9 Modele de calcul ale riscului de recidivă

CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

- 2. Ipoteza de lucru și obiectivele proiectului
- 3. Metodologia generală a cercetării
- 4. Studiul 1: Aspecte demografice, clinice, biochimice, perioperatorii la pacienții cu cancer colo-rectal operat - studiu retrospectiv
 - 4.1 Introducere
 - 4.2 Ipoteza de lucru
 - 4.3 Material și metodă
 - 4.4 Rezultate
 - 4.5 Discuții
 - 4.6 Concluzii
- 5. Studiul 2: Identificarea și analiza factorilor prognostici ai recidivei precoce în cancerul colo-rectal operat - studiu prospectiv
 - 5.1 Introducere
 - 5.2 Ipoteza de lucru
 - 5.3 Material și metodă
 - 5.4 Rezultate
 - 5.5 Discuții
 - 5.6 Concluzii
- 6. Studiul 3: Corelații moleculare și imunohistochimice la pacienții cu cancer colo-rectal
 - 6.1 Introducere
 - 6.2 Ipoteza de lucru
 - 6.3 Material și metodă
 - 6.4 Rezultate
 - 6.5 Discuții
 - 6.6 Concluzii
- 7. Concluzii

BIBLIOGRAFIE

ANEXE

Introducere

Importantă problemă de sănătate publică, cancerul colo-rectal reprezintă a doua cauză de mortalitate prin cancer în Europa de Vest și în USA, țări unde prevalența este maximă [1]. În pofida evoluției tehnicilor de diagnostic precum și a implementării programelor de screening, a evoluției posibilităților terapeutice, chirurgicale și chimioterapice, doar unul din doi pacienți supraviețuiește la 5 ani [2]. În țara noastră incidența cancerului colo-rectal este în ascensiune, pe locul doi la ambele sexe, după cancerul bronho-pulmonar la bărbați și ocupând locul secund, de asemenea la sexul feminin după cel mamar, conform raportului EUCAN 2012 [3].

Capitol 1. Partea generală

Optimizarea tratamentului bazat pe factorii de prognostic joacă un rol important în managementul bolii neoplazice. Un factor prognostic furnizează informații despre evoluția bolii la un pacient, indiferent de terapia efectuată, în timp ce un factor predictiv oferă informații asupra efectului terapiei instituite [4, 5, 6].

După cum au fost identificați o serie de factori de risc pentru CCR, similar sunt studiați factori de risc pentru recidiva neoplaziei, factori demografici, clinici, anatomici, biochimici, histopatologici, genetici sau perioperatori [7].

Teza de doctorat este alcătuită dintr-o parte generală în care am efectuat un review al literaturii de specialitate axat pe domeniul de interes și contribuția personală, dezvoltată pe parcursul a 3 capitole, cu studii distincte.

Stadiul actual al cunoașterii se regăsește în Capitolul I, divizat în 9 subcapitole. În această parte a lucrării am căutat să identific factori potențial implicați în recidiva cancerului colo-rectal. Datorită duratei predeterminate a studiului doctoral, am analizat factorii prognostici potențiali, în relație cu riscul de recidivă precoce. Astfel, au fost evaluați factori demografici - vârsta [3, 8], sex [9, 10], dietă, indicele de masă corporală [11], factori clinici - localizarea [12], dimensiunea tumorii [13], simptomatologia la prezentare [14], factori biochimici - anemia [15], formula leucocitară [16], factori de inflamație [17], markeri tumorali [18], factori anatomopatologici - aspect histopatologic [19, 20], grading tumoral [21], stadiul TNM, limph

node ratio [22, 23], precum și factori perioperatori, în relație cu intervenția chirurgicală și evoluția postoperatorie.

Capitol 2. Ipoteza de lucru și obiectivele

Ratele de supraviețuire neomogene ale pacienților operați cu CCR, chiar și în cadrul aceleiași țări evidențiază fie o raportare diferită, fie o heterogenitate a caracteristicilor pacienților, caracteristici care depind de biologia tumorală (pacient) și altele care se află în relație cu intervenția chirurgicală sau cu tratamentul oncologic, constituindu-se ca și factori prognostici. Scopul proiectului de cercetare a fost de a identifica parametrii ce se pot asocia cu recidiva în cancerul colo-rectal, iar datorită duratei de cercetare limitate, au fost urmăriți acei factori potențial implicați în apariția recidivei precoce.

Obiectivele specifice au fost de identificare a factorilor prognostici clinici, biologici, imunologici și histologici pentru riscul de recidivă în lotul retrospectiv și validarea acestora în lotul prospectiv. În afara obiectivelor principale menționate au mai fost urmărite și calcularea ratele de recidivă postoperatorie precoce, calcularea intervalul liber de boală, cuantificarea tipului de intervenții chirurgicale, evaluarea complicațiilor postoperatorii, identificarea cauzelor de mortalitate perioperatorie, cuantificarea tipurilor de tumori pe baza examenului histopatologic, imunohistochimic și a gradului de asociere cu riscul de recidivă și supraviețuirea, stabilirea unor corelații între stadializarea preoperatorie și cea postoperatorie, a gradului de invazie tumorală, concordanța dintre examenele imagistice și descoperirile intraoperatorii sau corelații între diverși factori demografici, biologici și chimici și identificarea unor relații de cauzalitate.

Capitol 3. Metodologie

Studiul realizat este unul controlat, analitic, multicentric, având două componente: o componentă de analiză retrospectivă pe 13 ani, perioada de analiză fiind cuprinsă între 1 Ianuarie 2002 și 31 Decembrie 2014, metoda de studiu presupunând analiza descriptivă a datelor din foile de observație clinică și a arhivei electronice a spitalului; și o componentă prospectivă, desfășurată pe parcursul a 3 ani, între 1 Ianuarie 2015 și 31 Decembrie 2017, cu pacienți cu același diagnostic de boală, tratați și urmăriți pe o durată minimă de 24 luni postoperator. Pacienții din primele două studii au fost selectați din cadrul Clinicii de Chirurgie Dr. I. Juvara,

Spital Cantacuzino. Evenimentul final (end point) fiind reprezentat de decesul pacientului sau de apariția recidivei. Pentru îndeplinirea dezideratelor ultimul studiu au fost selectați pacienți cu același diagnostic internați în Oncologie Medicală I, Institutul Oncologic Al. Trestioreanu, București.

Prelucrarea statistică primară, ca reprezentarea grafică a diverselor subgrupe de pacienți, s-a realizat prin intermediul Microsoft Excel, iar analiza statistică a fost realizată cu MedCalc 14.1, datele cantitative fiind reprezentate atât ca valoare absolută cât și ca medie, iar datele calitative fiind exprimate ca frecvențe și procentaje. Pentru compararea diferențelor dintre medii a fost folosit testul *t student* pentru două loturi. Au fost selectate analizele specifice tipului de date dependente sau independente și pentru analiza asocierilor au fost folosite testele de corelație Pearson și Spearman. Analizele cu o valoare *p* mai mică decât 0.05 au fost considerate semnificative statistic. Au mai fost necesare și comparații ale frecvențelor de distribuție, a diferiților parametri, pentru care am folosit testul Chi Square, după caz riscul relativ (RR) și „odds ratio” (OR) pentru a ridica suspiciuni referitoare la șanse sau riscuri.

Capitol 4. Studiul 1: Aspecte demografice, clinice, biochimice, perioperatorii la pacienții cu cancer colo-rectal operat - studiu retrospectiv

Scopul acestui studiu retrospectiv este de a evalua diverse aspecte la pacienții cu CCR și de corelare a acestor observații cu evoluția ulterioară a cazului. Pornind de la datele identificate în literatura de specialitate, ne-am propus să analizăm parametrii potențial prognostici implicați în supraviețuire la pacienții cu CCR operat cu viză curativă.

Rezultate

Pe parcursul a 13 ani, numărul mediu de intervenții chirurgicale efectuate la nivelul colonului și rectului a fost de aproximativ 110 intervenții/an, reprezentând 3,74% din numărul total de intervenții chirurgicale desfășurate în clinica de Chirurgie Dr. I. Juvara, dar în procent crescător până la sfârșitul intervalului de studiu (de la 2,85% până la 5,28%). În urma selecției cazurilor conform criteriilor de includere și excludere am obținut un lot de 1359 pacienți. S-au selectat astfel 900 de cazuri de CC și 459 cazuri de CR, cu un raport de aproape 2/1 a predominanței localizării la nivelul colonului a neoplaziei.

În lotul retrospectiv, la pacienții cu CR, am constatat o creștere a incidenței corelată cu vârsta, cu un maxim în intervalul 66 -72 ani la femei și similar la bărbați cu o incidență maximă în intervalul 64 -71 ani. Am constatat încă un vârf de incidență la bărbați în intervalul 51-58 ani, dar cu o reprezentare mai mică. De asemenea, am constatat că 14.4% din bărbați au fost mai tineri de 50 de ani, în timp ce numai 8.3 % din femei au avut vârsta mai mică sau egală cu 50 ani.

În subgrupul pacienților cu CC nu se observă diferențe din punct de vedere al distribuției pe sexe în lotul studiat, cu o vârstă medie similară bărbați vs. femei (67.44 ani vs. 67.21 ani), inclusiv pentru pacienții sub 50 ani (11.67% vs. 11.41%).

În lotul pacienților din intervalul 2002-2014, în funcție de datele disponibile din arhiva electronică și foile de observație am constatat asocierea cu diabetul zaharat la 10.15% CR și 9.00% CC, cunoscut fiind că DZ tip I sau tip II și CCR prezintă factori de risc nutriționali similari ca promotori ai bolii. Obezitatea (IMC>35) am identificat-o sub 1.5 % cazuri, iar malnutriția sau cașexia neoplazică sub 2% din cazuri, când s-a asociat cu toate stadiile avansate, cu determinări secundare hepatice, și cel mai frecvent în tumorile de rect la vârstnici.

Un alt factor ce poate influența evoluția postoperatorie, cât și riscul de recidivă este anemia preoperatorie, pe care am obiectivat-o în 12.2% din cazuri CR și la 15.7% din cazuri CC. Anemia secundară în diverse grade a fost observată în toate cazurile cu determinări secundare hepatice (stadiul IV).

În lotul studiat am mai identificat patologii cardio-vasculară asociată (9.65% CR, 14.32% CC), ciroză hepatică/VHC (1.52% CR, 2.07%CC), litiază veziculară simptomatică cu efectuarea colecistectomiei (1.84% cazuri), ca intervenție chirurgicală asociată (fără a modifica rata de complicații postoperatorii sau riscul de recidivă în lotul studiat).

Din punct de vedere al localizării colonice, am remarcat preponderența la nivelul sigmoidului/ rectosigmoidului (42%), urmată de localizarea la nivelul colonului ceco-ascendent (28%), restul localizărilor, colon descendent, unghi hepatic, unghi splenic și colon transvers cu proporții între 7 și 9%.

Localizarea neoplaziei la nivelul rectului a fost constatată cu predominanța distribuției tumorilor la nivelul rectului inferior (52.55%).

În concluzie, în cazul cancerului de colon, relativ puține tumori au fost identificate în stadiile T1 sau T2 (27%), majoritatea fiind în stadiul T3 (45.67%) și T4. Statusul N0 a fost identificat în 38, 31% din cazuri, majoritar. Similar și în cazul CR statusul tumoral T3 (45.08%) și N1 au fost predominante.

Din punct de vedere al recidivei, am constatat că la nivelul colonului sigmoid respectiv, a joncțiunii, aceasta a avut frecvența cea mai mare (13.42 %), urmată de tumorile localizate la nivelul unghiului hepatic (7.69%) și colonului descendent (7.14 %). Pentru cancerul rectal cel mai frecvent au fost constatate recidive în localizările inferioare ale tumorilor.

Au mai fost evaluate și cuantificate tipurile de intervenții chirurgicale, evoluția postoperatorie, complicații și reintervenții, când acești parametri au fost disponibili.

Concluzii

Numărul mediu de intervenții efectuate asupra colonului și rectului pentru boala neoplazică a prezentat o creștere progresivă până la sfârșitul studiului (de la 2,85% la 5,28%), constatare corelată cu trendurile naționale și internaționale ale prevalenței bolii neoplazice.

Vârsta medie a pacienților cu CR la momentul diagnosticului a fost mult mai mică decât cea a pacienților cu CC (60 ani vs. 67 ani).

Un procent important de bărbați (14.4%) a prezentat debutul simptomatologiei și diagnosticul bolii neoplazice rectale înaintea vârstei de 50 de ani.

În ceea ce privește distribuția tumorilor de colon, am observat preponderența la nivelul joncțiunii rectosigmoidiene, urmată de localizarea la nivelul cecului sau colonului ascendent. Distribuția neoplaziei la nivelul rectului a evidențiat că majoritatea tumorilor se dezvoltă în partea inferioară, urmate de cele din segmentul superior.

Cauza principală a prezentării la medic și a spitalizării de urgență în cancerule de colon a fost ocluzia intestinală.

Pentru CC stadiul III TNM a predominat (45.67%), urmat de stadiul II (27%). Statutul N0 a fost identificat în proporție majoritară, 38.12%, conform descrierii microscopice, contrar aspectului macroscopic descris de chirurghi în cadrul evaluării intraoperatorii.

Similar, pentru pacienții cu CR, stadiul III TNM a fost majoritar (45.08%), urmat de stadiul II și IV (22.95%, respectiv 18.85%).

Fistula de anastomoză a fost cea mai frecventă complicație, celelalte complicații postoperatorii au apărut într-un procent mai mic.

Capitol 5. Studiul 2: Identificarea și analiza factorilor prognostici ai recidivei precoce în cancerul colorectal operat- studiu prospectiv

În acest studiu se intenționează identificarea factorilor asociați cu riscul de recidivă precoce, potențial al intervalului de timp, cu observarea tiparelor de apariție a recidivei. Scopul studiului fiind de identificare a abilității unor parametrii uzuali de a îndeplini dezideratele menționate și de a identifica subgrupul de pacienți high-risk și de a le oferi oportunitatea strategiei terapeutice optime și personalizate.

Rezultate

Vârsta pacienților cu recidivă CC (medie 64.93, min 39-max 90) nu a diferit major de vârsta pacienților fără recidivă (66.30, min 45-max 87), iar vârsta peste 60 de ani nu a constituit factor de risc pentru recidivă ($p=0.11$). Similar, și în cazul localizării rectale a neoplaziei, vârsta medie a pacienților fără recidivă (64.57, min 45-max 81) nu diferă față de cea a pacienților la care a survenit recidiva (63.18, min 44-max 88), iar vârsta peste 60 de ani nu constituie factor de risc ($p=0.47$).

Din punct de vedere al distribuției pe sexe a pacienților, nu s-a constatat o asociere din punct de vedere statistic între acest aspect și apariția recidivei, nici pentru cancerul de colon ($p=0.7546$), nici în cazul localizării rectale a neoplaziei ($p=0.39$).

Din punct de vedere al distribuției tumorilor la nivelul cadrului colic s-a evidențiat că majoritatea au fost reprezentate de tumori sigmoidiene (32.93%), urmate de ascendent/cecoascendent (23.17%), în timp ce pentru cancerului de rect am observat localizarea

predilectă a la nivelul porțiunii superioare în peste 50% din cazuri (51.16%), dar și cu cea mai mare rată de recidivă la acest nivel. În grupul studiat, al cazurilor cu CC, s-a constatat o proporție echiunitară a pacienților cu sau fără recidivă pe perioada studiului (48.71% vs. 51.28%). În schimb pacienții cu cancer rectal sunt mai predispuși să experimenteze recidive locale sau la distanță, într-o perioadă de până la 24 luni, conform datelor din lotul urmărit ($p < 0.0001$).

Atât la pacienții cu CR, cât și la cei cu CC nu s-a decelat o asociere semnificativă statistic între pacienții cu anemie ($Hb < 11 \text{ g/dl}$) din punct de vedere al prezenței sau absenței recidivei ($p = 0.8516$, respectiv $p = 0.9124$).

Datorită fenomenelor inflamatorii locale peritumorale sau sistemice s-a expectat ca valoarea absolută a numărului de leucocite și implicit a numărului de neutrofile să fie crescută la pacienții cu cancer colorectal.

Pentru analiza statistică a leucocitozei au fost luate în calcul următoarele valori prag ale leucocitelor: $< 8500/\text{mmc}$, $8500-11000/\text{mmc}$ și $> 11000/\text{mmc}$. În cazul pacienților cu CR și CC valoarea leucocitelor peste $11000/\text{mmc}$ nu constituie un factor predictiv al recidivei din punct de vedere statistic. Datorită procentului majoritar de pacienți (65.25%) cu valori ale leucocitelor sub valoarea prag de $8500/\text{mmc}$ s-a pornit de la premiza că acest parametru poate constitui un factor protector, iar analiza statistică a confirmat o puternică asociere între valoarea mică a numărului de leucocite și cazurile fără recidivă în primele 24 luni postoperator ($p = 0.0077$). Pentru CC rata recidivei a fost semnificativ statistic mai mare în grupul pacienților cu valori crescute ale neutrofilelor ($p = 0.0017$). Similar, s-a constatat că rata recidivei a fost semnificativ statistic mai mare în lotul pacienților cu CR și valori mai mari ale neutrofilelor ($p = 0.0433$).

Actual, indicatorul dintre numărul neutrofilelor raportat la numărul de limfocite (RNL) reprezintă un parametru mai sensibil și este utilizat frecvent la pacienții cu neoplazii în predicția evoluției ulterioare și a riscului de recidivă. În analiza efectuată s-a constatat că RNL se asociază cu riscul crescut de recidivă precoce la pacienții cu CC (95% CI 1.1191-2.2820, $p = 0.0099$), dar nu și la pacienții cu CR (posibil datorită lotului mic de pacienți din această categorie).

Un alt factor studiat, cu potențial prognostic, este scorul Glasgow modificat. Valorile prag pentru care s-a calculat sunt: pentru PCR a fost de $> / < 10 \text{ mg/L}$, iar pentru albumina serică $< / >$

3.5 g/dL. La pacienții cu CC la care a putut fi calculat s-a constatat o puternică asociere statistică cu recidiva precoce ($p < 0.0001$).

Dintre factorii anatomopatologici, secreția de mucină și implicit componenta mucinoasă constituie factor de risc pentru evoluție nefavorabilă în opinia multor autori. Dacă în cazul localizării colonice a neoplaziei nu s-a constatat o asociere, în cazul localizării rectale a bolii, s-a constatat pe rapoartele pieselor anatomopatologice mult mai frecvent și în proporții mai importante componenta mucinoasă manifestă (95% CI 0.2782 - 0.5510, $p < 0.0001$) și o relație directă cu riscul de recidivă.

Analiza descriptivă a decelat că atât pentru CR cât și pentru CC, gradul de diferențiere tumorală, și mai exact tumorile slab diferențiate (G3) au fost mai bine reprezentate ca frecvență în subgrupurile pacienților cu recidivă. Analiza statistică a confirmat această constatare, având o foarte bună corelație cu riscul de recidivă a bolii pentru CC ($p = 0.0034$) și pentru CR ($p = 0.0006$).

Analiza curbelor de supraviețuire Kaplan-Meier pentru intervalul liber de boală evidențiază că aproximativ 50% din cazurile de CR stadiul I recidivează la aproximativ 24 de luni postoperator, pentru stadiul II de boală recidiva la jumătate din pacienții analizați apare la 15 luni de la intervenția chirurgicală. Pentru tumorile rectale în stadiul III, datele sunt mai dramatice, astfel că în 50% din situații, recurența locală sau la distanță a apărut la 10 luni postoperator, în lotul studiat.

Raportul dintre ganglionii invadați și totalul celor excizați (LNR) reprezintă un predictor mult mai sensibil, capabil să selecteze pacienții cu potențială evoluție nefavorabilă în condițiile exerezei chirurgicale radicale. O valoare a LNR peste valoarea prag de 0.25 se asociază cu risc crescut de recidivă. În studiul efectuat am constatat o valoare prag de 0.22 la pacienții cu neoplazii de colon stadiile I-III ($p < 0.0001$). Similar și în cazul localizării rectale, aceeași valoare prag demonstrează o corelație semnificativă statistic între LNR și apariția precoce a recidivei ($p = 0.0001$). De asemenea, am constatat o corelație liniară între valoarea LNR și riscul de recidivă precoce.

Au mai fost evaluate simptomatologia anterioară internării, tabloul clinic, tipurile de intervenții chirurgicale, complicațiile postoperatorii, tipul recidivei, durata intervenției chirurgicale și a spitalizării.

Concluzii

Supraviețuirea la 24 de luni (și până la sfârșitul studiului) a fost superioară pentru pacienții cu cancer localizat la nivelul colonului, comparativ cu pacienții cu cancer localizat la nivelul rectului. Localizarea colonică a constituit un factor prognostic independent și pozitiv.

La pacienții care au suferit recidiva neoplaziei, colon sau rect, nu s-a identificat o diferență semnificativă statistic între bărbați sau femei, sau o corelație cu vârsta pacientului.

În studiul efectuat am dovedit că componentele celulare care alcătuiesc sistemul inflamator general s-au asociat semnificativ statistic, la analiza univariată, cu riscul de recidivă precoce, demonstrând un rol infaust. Dintre parametrii hematologici evaluați se confirmă valoarea prognostică a numărului absolut de neutrofile, a numărului de limfocite, cât și a raportului dintre acestea.

Un alt marker de inflamație sistemică cu valoare dovedită este scorul prognostic Glasgow, factor independent, negativ pentru riscul de recidivă și implicit supraviețuirea pacienților cu cancer de rect operat cu vază curativă ($p < 0.0001$).

Analiza statistică a evidențiat o corelație între prezența componentei mucinoase în cantitate mare (scor 2) la pacienții cu CR și o relație directă între acest parametru și riscul de recidivă.

Capitol 6. Studiul 3. Corelații moleculare și imunohistochimice la pacienții cu cancer colorectal

Actual este acceptat că CCR sporadic apare ca urmare a modificărilor leziunilor preneoplazice, într-un proces progresiv, prin activarea protooncogenelor (KRAS și BRAF) și ca urmare a inactivării genelor supresoare tumorale (APC, p16 sau p53) și genelor MMR (MLH1, MSH2, MSH6). Plecând de la constatările personale din practica curentă, din studiile descrise în capitolele anterioare ale tezei și din literatura de specialitate, mi-am propus să analizez particularitățile moleculare și imunohistochimice ale pacienților cu CCR.

Rezultate

În urma selecției cazurilor conform criteriilor de includere și excludere din subcapitolul precedent, s-a format un lot de 52 de pacienți.

Statusul RAS a fost evaluat la pacienții incluși în studiu prin studii moleculare. Mutațiile genelor KRAS și NRAS au fost identificate în 40.38% din cazuri (21 pacienți). De menționat că au existat 3 situații cu mutații KRAS negativ și NRAS pozitiv, dificil de apreciat și încadrat într-o categorie anume. Aceste situații s-au regăsit la pacienții cu cancer de colon.

În majoritatea cazurilor au fost identificate mutații la nivelul exonilor 2, 3 și 4 ai genei RAS, dar au fost și situații particulare cu decelarea unei mutații mai rare la nivelul codonului 61 (Q61H) sau la nivelul codonului 146 (A146 P/T/V).

Distribuția pe sexe a lotului studiat a evidențiat o predominanță a sexului feminin la pacienții cu status RAS pozitiv (55.10%), dar fără o asociere semnificativă din punct de vedere statistic ($p=0.4166$). A mai fost decelată o distribuție echiunitară a cazurilor RAS de tip sălbatic.

Vârsta medie a pacienților incluși în studiu este de 55.85 ani, cu limite între 33 și 82 de ani la momentul diagnosticului. Vârsta medie a lotului de femei este de 52.78 ani, mult mai scăzută decât vârsta lotului de bărbați (58.36 ani).

Din punct de vedere al localizării neoplaziei, am constatat o distribuție relativ omogenă a cazurilor la nivelul rectului și la nivelul colonului. Cazurile cu mutații NRAS/KRAS au predominat în cazul CC și mai puțin în CR. Tipul sălbatic NRAS/KRAS a fost identificat în proporții relativ mai mari la pacienții cu CR vs. CC (35.61% vs. 26.53%).

În grupul studiat au predominat tumori moderat diferențiate în proporție de 59.18%, urmate de cele slab diferențiate (32.65%). Am identificat și o asociere între prezența mutațiilor KRAS/NRAS și gradul de diferențiere G3 vs. G2, dar cu prag de semnificație statistică la limită ($p=0.0603$), posibil datorită numărului redus de pacienți.

Din punct de vedere al intervalului liber de boală, cuantificat ca numărul de luni până la momentul recidivei, asociat aspectului graficelor Kaplan-Meier, am constatat că pentru pacienții cu mutații RAS acesta este mult mai redus față de studiile anterioare. La 24 de luni postoperator

peste 90% din pacienți au prezentat recidivă, indiferent de localizarea neoplaziei sau de stadiu de boală.

Concluzii generale

1. Supraviețuirea la 24 de luni (și până la sfârșitul studiului) a fost superioară pentru pacienții cu cancer localizat la nivelul colonului, comparativ cu pacienții cu cancer localizat la nivelul rectului. Localizarea colonică a constituit un factor prognostic independent și pozitiv.
2. Am constatat că pacienții cu subtipul histopatologic mucinos au prezentat interval liber de boală mai mic. Dacă în cazul localizării colonice a neoplaziei nu s-a constatat o asociere, în cazul localizării rectale a bolii, s-a constatat pe rapoartele pieselor anatomopatologice mult mai frecvent și în proporții mai importante componenta mucinoasă manifestă ($p < 0.0001$) și o relație directă cu riscul de recidivă.
3. În studiul prospectiv efectuat, am constatat că o valoare a LNR peste valoarea prag de 0.22 se asociază cu risc crescut de recidivă la pacienții cu neoplazii de colon stadiile I-III ($p < 0.0001$). Similar și în cazul localizării rectale, aceeași valoare prag demonstrează o corelație semnificativă statistic între LNR și apariția precoce a recidivei ($p = 0.0001$). Și, mai important, am constatat o corelație liniară între valoarea acestui raport și riscul de recidivă.
4. Un alt marker de inflamație sistemică cu valoare prognostică este scorul Glasgow. Am demonstrat că scorul Glasgow modificat este un factor prognostic independent, negativ pentru riscul de recidivă și implicit supraviețuirea pacienților cu cancer de rect operat cu viză curativă ($p < 0.0001$). Opinăm că poate fi luat în considerare și utilizat de rutină în identificarea cazurilor cu risc crescut ce ar putea beneficia de urmărire postoperatorie intensivă și tratament adjuvant dedicat.
5. În studiul prospectiv efectuat am dovedit că componentele celulare care alcătuiesc sistemul inflamator general s-au asociat semnificativ statistic, la analiza univariată, cu riscul de recidivă precoce, demonstrând un rol infaust.
6. Am identificat aceeași asociere între RNL și recidiva precoce, dar doar pentru subgrupul pacienților cu CC ($p = 0.0099$).

7. În loturile studiate am constatat o asociere importantă între valoarea absolută crescută a neutrofilelor (peste valoarea prag de 7500/mmc) și apariția recurenței precoce a bolii, atât pentru CC ($p=0.0017$), cât și pentru CR (0.0433). Astfel, dintre parametrii hematologici evaluați se confirmă valoarea prognostică a numărului absolut de neutrofile, cât și în raport cu numărul de limfocite.
8. Am identificat că valoarea leucocitelor sub pragul de 8500 elemente/mmc poate constitui un factor prognostic independent și pozitiv.
9. Cazurile cu mutații NRAS/KRAS au predominat în cazul CC și mai puțin în CR. Tipul sălbatic NRAS/KRAS a fost identificat în proporții relativ mai mari la pacienții cu CR vs. CC (35.61% vs. 26.53%). Vârsta medie a pacienților incluși în studiu a fost de 55.85 ani, mult mai mică decât vârsta pacienților din studiile enunțate în capitolele anterioare.
10. În grupul studiat au predominat tumori moderat diferențiate în proporție de 59.18%, urmate de cele slab diferențiate (32.65%), cu o asociere între prezența mutațiilor KRAS/NRAS și gradul de diferențiere G3 vs. G2.

Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei

În studiul prospectiv efectuat am dovedit că unele din componentele celulare care alcătuiesc sistemul inflamator general s-au asociat semnificativ statistic, la analiza univariată, cu riscul de recidivă precoce, demonstrând un rol infaust. Dintre acestea, identificate în literatura de specialitate și confirmate statistic în studiile efectuate, se pot enunța următoarele valori prag cu aplicabilitate clinică: valoarea PCR preoperator peste 10 mg/L, valoarea absolută a neutrofilelor peste 7500/mmc, valoarea limfocitelor sub 1000/mmc, respectiv raportul lor cu valoare prag de 5, aceștia din urmă ca factori de prognostic negativ, și o valoare a leucocitelor sub 8500/mmc ca factor de prognostic independent și pozitiv.

Acești indicatori pot fi preluați din analizele preoperatorii ale pacienților și calculați facil pentru aprecierea evoluției postoperatorii, eventual pentru particularizarea tratamentului oncologic și a urmăririi ulterioare.

Considerăm că pe baza rezultatului hemoleucogramei prelevată la momentul internării, preoperator, se pot face predicții asupra riscului de recidivă prin calcule simple sau prin simpla apreciere în raport cu valorile prag definite în literatura de specialitate.

În mod normal evaluarea statusului nutrițional preoperator la pacienții cu cancer colo-rectal, este efectuat de rutină, prin dozarea proteinelor serice totale și a valorii albuminei. Prin prelevarea suplimentară a valorii preoperatorii a PCR, opinăm că scorul Glasgow poate fi luat în considerare și utilizat de rutină în identificarea cazurilor cu risc crescut ce ar putea beneficia de urmărirea postoperatorie intensivă și tratament adjuvant dedicat.

Dacă literatura de specialitate preconizează o valoare prag a LNR de 0.25, asociată cu evoluție potențial nefavorabilă a cazului, în analiza statistică efectuată am identificat această valoare prag ca fiind chiar mai mică, de 0.22. Opinez că acest parametru ar trebui inclus în raportul de anatomie patologică cu utilitate reală în predicția evoluției cazului.

Ar fi important ca în cazul în care pe raportul histopatologic se identifică o proporție de peste 10% celule secretoare de mucus, să se completeze cu testele imunohistochimice care să includă expresia proteinei MUC2/MUC1. Această testare ar trebui efectuată cât mai precoce, eventual în stadiul de diagnostic al cazului, la momentul efectuării colonoscopiei cu biopsie, cu rol în stabilirea extinderii exerezei chirurgicale.

Bibliografie selectivă:

1. Cancerstats, 2004; www.cancerresearchuk.org
2. McQuade RM , Stojanovska V, Bornstein JC, Nurgali K, Colorectal Cancer Chemotherapy: The Evolution of Treatment and New Approaches, Curr Med Chem, 2017;24(15):1537-1557.
3. National Cancer Institute Surveillance, Epidemiology, and End Results Program SEER 18 Regs Research Data, Nov 2015 Sub (2000-2013) National Cancer Institute, DCCPS, Surveillance Research Program, Surveillance Systems Branch. <http://www.seer.cancer.gov> , Published 2016. Accessed March 3, 2018.
4. Omene C, Tiersen A, Principles of gender specific medicine, Second Edition -The differences between male and female breast cancer (cap 42), 459-472, 2010.
5. Mahe ER, Independent prognostic factors:When is enough enough?—sort communication, 2014, Epidemiology, 4:176.
6. Oldenhuis CNAM, Oosting SF, Gietema JA, Vries EGE, Prognostic versus predictive value of biomarkers in oncology, 2008, May, 44(7):946-953.
7. Năstase A, Pâslaru L, Niculescu AM, Ionescu M, Dumitrașcu T, Herlea V, et al. Prognostic and predictive potential molecular biomarkers in colon cancer. Chirurgia (Bucur). 2011;106(2):177- 85.

8. Bailey CE, Hu CY, You YN, et al. Increasing disparities in the age-related incidences of colon and rectal cancers in the United States, 1975-2010. *JAMA Surg.* 2015;150(1):17–22.
9. Hansen IO, Jess P. Possible better long-term survival in left versus right-sided colon cancer - a systematic review. *Dan Med J.* 2012;59:A4444.
10. Bae JM, Kim JH, Cho NY, Kim TY, Kang GH. Prognostic implication of the CpG island methylator phenotype in colorectal cancers depends on tumour location. *Br J Cancer.* 2013;109:1004–1012.
11. Gillis C, Nguyen TH, Liberman AS, Carli F. Nutrition adequacy in enhanced recovery after surgery: a single academic center experience. *Nutr Clin Pract.* 2015;30:414–419.
12. Halvorsen TB, Johannesen E. DNA ploidy, tumour site, and prognosis in colorectal cancer. A flow cytometric study of paraffin-embedded tissue. *Scand J Gastroenterol.* 1990;25(2):141–8.
13. Kornprat P, Pollheimer MJ, Lindtner RA, Schlemmer A, Rehak P, Langner C, Value of Tumor Size as a Prognostic Variable in Colorectal Cancer, *American Journal of Clinical Oncology*: February 2011, Vol 34 (1): 43-49.
14. Angelescu N, *Tratat de patologie chirurgicala, Patologia chirurgicala a colonului*, Editura Medicala, Bucuresti, 2003.
15. PangQY, ran An, Hong-Liang L, Perioperative transfusion and the prognosis of colorectal cancer surgery: a systemativ review and meta-analysis, *World Journal of Surgical Oncology*, 2019, 17(7). doi: 10.1186/s12957-018-1551-y.
16. Dimitriou N, Felekouras E, Karavokyros I, Alexandrou A, Pikoulis E, Griniatsos J, Neutrophils to lymphocyte ratio as a useful prognosticator for stage II coloerctal cancer patients, *BMCCancer*, 2018, Dec 3;18(1):1202.
17. Mallappa S, Sinha A, Gupta S, Chadwick SJD, Preoperative Neutrophil to Lymphocyte Ratio >5 Is a Prognostic Factor for Recurrent Colorectal Cancer, *Colorectal Dis*, 2013 Mar;15(3):323-8.
18. Selcukbiricik F, Bilici A, Tural D, Erdamar S, Soyuluk O, Buyukunal E, Demirelli F, Serdengecti S. Are high initial CEA and CA 19-9 levels associated with the presence of K-ras mutation in patients with metastatic colorectal cancer? *Tumour Biol.* 2013;34:2233–2239.
19. Benedix F, Kuester D, Meyer F, Lippert H. Influence of mucinous and signet-ring cell differentiation on epidemiological, histological, molecular biological features, and outcome in patients with colorectal carcinoma. *Zentralbl Chir.* 2013 Aug;138(4):427-33.
20. Chew MH, Yeo SA, Ng ZP, et al. Critical analysis of mucin and signet ring cell as prognostic factors in an Asian population of 2,764 sporadic colorectal cancers. *Int J Colorectal Dis* 2010; 25:1221–1229.
21. A. Olariu, A. Bartoş, D. Bartoş, C. Neciu, L. Mocan, F. Zaharie, R. Bodea, C. Iancu, *Evaluarea factorilor de prognostic în cancerul de colon*, 2012, *Chirurgia* 107 (2): 174-179.

22. De Divitiis C, Nasti G, Montano M, Fisichella R, Iaffaioli RV, Berretta M, Prognostic and predictive response factors in colorectal cancer patients: Between hope and reality, *World J Gastroenterol*. 2014 Nov 7; 20(41): 15049–15059.
23. Steven L Chen, Scott R Steele, John Eberhardt, Kangmin Zhu, Anton Bilchik, Alexander Stojadinovic, Lymph Node Ratio as a Quality and Prognostic Indicator in Stage III Colon Cancer, *Ann Surg*, 2011 Jan;253(1):82-7.